

Goethe-Universität Frankfurt am Main
Institut für Ökologie, Evolution und Diversität
Abteilung für aquatische Ökotoxikologie



Bachelorarbeit zum Thema:

**Effekte von Herbiziden als Einzelsubstanz und als Mischung auf das vegetative
Wachstum von *Lemna gibba***

Zur Erlangung des Grades Bachelor of Science Biowissenschaften

Vorgelegt von:

Anna-Isabell Abt

*14.05.1999

E-Mail: s1345910@stud.uni-frankfurt.de

Matrikelnummer: 6677282

Studiengang: Bachelor Biowissenschaften

Abgabe: 25.10.2021

Erstgutachter: Dr. Matthias Oetken

Zweitgutachter: Prof. Dr. Jörg Oehlmann

Kurzbeschreibung

Wasser ist eine lebensnotwendige Ressource, deren Bedarf aber auch die Verunreinigung zunehmend ansteigt.

Neben unterschiedlichen mechanischen Eingriffen und chemischen Eintragspfaden stellt auch die Landwirtschaft einen großen Beitrag zur Belastung von Gewässern dar. Durch massiven Gebrauch von Dünge- und Pflanzenschutzmitteln gelangen insbesondere bei Starkregenereignissen große Mengen der chemischen Substanzen in Gewässer. Dort erfolgt der Transport im Gewässer, aber auch die Aufnahme und Anreicherung der Verbindungen in aquatischen Lebewesen, sogenannte Nicht-Zielorganismen. Die toxischen Wirkungen der Pflanzenschutzmittel können sich ebenfalls auf aquatische Nicht-Zielorganismen auswirken. Da chemische Substanzen in einem Gewässer miteinander reagieren können, werden Mischungstoxizitäten untersucht um Grenzwertrichtlinien aufzustellen.

Unterschiedliche Projekte wie auch das NiddaMan Projekt, welches zu großen Teilen durch die Goethe-Universität Frankfurt geleitet wurde, beschäftigen sich mit der Analyse von Gewässern und Möglichkeiten deren Qualität zu bessern.

Die folgende Arbeit untersucht die toxische Wirkung von vier Herbiziden auf das vegetative Wachstum des aquatischen Nicht-Zielorganismus *Lemna gibba*. Die Herbizide Diflufenican, Metolachlor, Terbuthylazin und Isoproturon wurden anhand der OECD Testrichtlinie 221, zunächst als Einzelsubstanzen und dann in einer Mischung getestet. Die Mischungstoxizität wurde durch das Konzept der Konzentrationsadditivität modelliert, dabei konnte die Hypothese „In der Mischung verhalten sich die vier Mischungskomponenten konzentrationsadditiv“ verifiziert werden. Zwar liegt keine vollständige Überschneidung der experimentell und hypothetisch erstellten Mischungstoxizität vor, dennoch verlaufen diese ähnlich genug um von einer Konzentrationsadditivität der Einzelsubstanzen in Mischung auszugehen. Für die Einzelsubstanzen zeigt Diflufenican die höchste toxische Wirkung auf das vegetative Wachstum von *Lemna gibba*, gefolgt von Terbuthylazin, Metolachlor und Isoproturon.

Abstract

Water is a vital resource that is not just increasing in demand but also in its pollution levels.

In addition to various mechanical interventions and chemical entry paths, agriculture also makes a major contribution to the pollution of waters. Due to the massive use of fertilizers and crop protection agents, large amounts of the chemical substances enter water, especially in the case of heavy rain events. There, the transport in the water takes place but also the uptake and enrichment of the compounds in aquatic organisms, so-called non-target organisms. The toxic effects of the plant protection products may also affect the non-target aquatic organisms. Since chemical substances can react with one another in a water, mixing toxicants are investigated in order to establish limit guidelines.

Various projects as well as the NiddaMan project, which was largely led by the Goethe-University Frankfurt, deal with the analysis of waters and ways to improve their quality.

The following work investigates the toxic effect of four herbicides on the vegetative growth of the aquatic non-target organism *Lemna gibba*. The herbicides diflufenican, metolachlor, terbuthylazine and isoproturon were tested using OECD Test Guideline 221, first as individual substances and then in a mixture. The mixing toxicity was modeled by the concept of concentration additivity and the hypothesis „*In mixture, the four mixing components behave concentration additive*“ could be verified. Although there is no complete overlap of the experimentally and hypothetically produced mixing toxicity, these proceed similarly enough to assume a concentration additivity of the individual substances in mixture. Diflufenican shows the highest toxic effect for the individual substances, followed by terbuthylazine, metolachlor and isoproturon.

Inhaltsverzeichnis

Kurzbeschreibung.....	II
Abstract	III
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Abkürzungsverzeichnis	X
1. Einleitung.....	1
1.1 Allgemeines	1
1.2 Belastungen und Toxizität	2
1.2.1 Mischungstoxizität.....	4
1.3 Pestizide und die Landwirtschaft	5
1.4 Fragestellung und Hypothese der Arbeit	7
2. Material und Methoden	9
2.1 Testorganismus	9
2.2 Testsubstanzen.....	11
2.3 Durchführung	15
2.4 Auswertung	17
2.4.1 CA-Modell.....	18
3. Ergebnisse.....	19
3.1 Einzelsubstanztest	19
3.2 Mischungstoxizität	23
3.3 Sekundäre Effekte	24
4. Diskussion.....	28
4.1 Einzelsubstanzen	28
4.1.1 Substanzeigenschaften.....	29
4.2 Mischung	30
4.2.1 Wirkort und Wirkmechanismus	30
4.2.2 Herbizide Wirkungsketten.....	32
4.3 Umwelt / Nutzen / Anwendung	33
4.4 Einfluss der Testbedingungen	37
4.4.1 Abweichung zur OECD	37
5. Fazit	38

Literaturverzeichnis	39
Eigenständigkeitserklärung	44

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Landwirtschaft und Pestizide (ARD 2021).....	6
Abbildung 2: <i>Lemna gibba</i> (eigene Aufnahme)	9
Abbildung 3: Inkubator mit Zucht und Replikaten (eigene Aufnahme).....	16
Abbildung 4: Konzentrationswirkungsbeziehung Diflufenican. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von <i>Lemna gibba</i> in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Diflufenican [$\mu\text{g/L}$], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.	19
Abbildung 5: Konzentrationswirkungsbeziehung Metolachlor. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von <i>Lemna gibba</i> in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Metolachlor [$\mu\text{g/L}$], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.	20
Abbildung 6: Konzentrationswirkungsbeziehung Terbuthylazin. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von <i>Lemna gibba</i> in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Terbuthylazin [$\mu\text{g/L}$], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.	20
Abbildung 7: Konzentrationswirkungsbeziehung Isoproturon. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von <i>Lemna gibba</i> in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Isoproturon [$\mu\text{g/L}$], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.	21
Abbildung 8: Vergleich der Konzentrationswirkungsbeziehung der vier Herbizide. Kurvenverläufe der EC_x von Diflufenican (blau), Terbuthylazin (rot), Metolachlor (grün) und Isoproturon (grau), in Abhängigkeit der logarithmierten Herbizidkonzentration [mM/L].	22
Abbildung 9: Vergleich der Kurvenverläufe CA-Modell und experimentelle Mischung. Abgebildet ist der durch das CA-Modell modellierte Kurvenverlauf (blau) und der experimentelle Kurvenverlauf der konzentrationsadditiven Mischung (rot). Der Kurvenverlauf zeigt den EC_x in Abhängigkeit der logarithmierten Mischungskonzentration [mM/L].	24

Abbildung 10: Fronds einer Negativkontrolle. Die Fronds sind hellgrün und leicht buckelig (eigene Aufnahme).....	26
Abbildung 11: Wurzeln einer Negativkontrolle. Die Wurzeln sind hellgrün und wachsen lang bis zum Boden des Testgefäßes (eigene Aufnahme).....	26
Abbildung 12: Fronds bei 280 µg/L Diflufenican. Die Fronds wachsen weiß (eigene Aufnahme).....	26
Abbildung 13: Wurzeln bei 280 µg/L Diflufenican. Die Wurzeln wachsen weiß oder bleichen aus (eigene Aufnahme).....	26
Abbildung 14: Fronds bei 218 µg/L Metolachlor. Die Fronds wachsen sehr klein, braun und buckelig (eigene Aufnahme).....	26
Abbildung 15: Wurzeln bei 218 µg/L Metolachlor. Die Wurzeln wachsen leicht verkürzt (eigene Aufnahme).	26
Abbildung 16: Fronds bei 512 µg/L Terbutylazin. Die Fronds weisen keine veränderte Gestalt auf (eigene Aufnahme).	27
Abbildung 17: Wurzeln bei 512 µg/L Terbutylazin. Die Wurzeln wachsen stark verkürzt (eigene Aufnahme).	27
Abbildung 18: Fronds bei 620 µg/L Isoproturon. Die Fronds weisen keine veränderte Gestalt auf (eigene Aufnahme).	27
Abbildung 19: Wurzeln bei 620 µg/L Isoproturon. Die Wurzeln wachsen stark verkürzt (eigene Aufnahme).	27
Abbildung 20: Fronds bei EC₉₀ der Mischung. Es sind keine neuen Fronds gewachsen (eigene Aufnahme).	27
Abbildung 21: Wurzeln bei EC₉₀ der Mischung. Die Wurzeln sind hell und in Nähe der Wasseroberfläche (eigene Aufnahme).....	27

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Systematik Testorganismus: <i>Lemna gibba</i> (Haeupler & Muer 2007).....	9
Tabelle 2: Eigenschaften Diflufenican. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021a) und PPDB (PPDB 2021a).....	11
Tabelle 3: Eigenschaften Metolachlor. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021b) und PPDB (PPDB 2021b).....	12
Tabelle 4: Eigenschaften Terbuthylazin. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021c) und PPDB (PPDB 2021c).	13
Tabelle 5: Eigenschaften Isoproturon. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021d) und PPDB (PPDB 2021d).....	14
Tabelle 6: Übersicht Herbizidkonzentrationen für Einzelsubstanztest. Tabelle mit den getesteten Konzentrationen in µg/L der einzelnen Herbizide. Ausgehend vom EC ₅₀ (grauhinterlegte Spalte).....	16
Tabelle 7: Übersicht Herbizidkonzentrationen für Mischungstoxizität. Tabelle mit den von GraphPad Prism 5 berechneten EC _x -Werten, Herbizidkonzentrationen in mg/L. Für den EC ₁ und EC ₉₉ konnten keine nutzbaren Daten berechnet werden. (In Mischung getestete EC-Werte grau hinterlegt).....	17
Tabelle 8: Übersicht Herbizidkonzentrationen für CA-Modell. Tabelle mit den von GraphPad Prism 5 berechneten EC _x -Werten der Einzelsubstanzen, Herbizidkonzentrationen in mM/L. Für den EC ₁ und EC ₉₉ konnten keine nutzbaren Daten berechnet werden.	22
Tabelle 9: Übersicht EC-Werte für das CA-Modell und Mischungsexperiment. Tabelle mit den durch Excel berechneten EC _x -Werten in mM/L, für das CA-Modell und mit GraphPad Prism 5 berechneten EC _x -Werten des Mischungsexperiments in mM/L.	23

Tabelle 10: Übersicht sichtbarer Gestaltwandlung von Fronds und Wurzeln.	
Die Tabelle zeigt die Auswirkungen auf die Gestalt der neugewachsenen Fronds und Wurzeln, ausgelöst durch die unterschiedlichen Herbizide im Vergleich zur Negativkontrolle / Lösemittelkontrolle mit Verweis auf Abbildungen. Dabei wird stets die Auswirkung der höchsten getesteten Konzentration abgebildet. Falls Auswirkungen auf die neun Fronds der Zucht vorliegen sind diese in Klammern gesetzt.	25

Abkürzungsverzeichnis

BCF	bioconcentration factor; Biokonzentrationsfaktor
CA	concentration addition; Konzentrationsadditivität
DMSO	Dimethylsulfoxid
EC	effect concentration; Effektkonzentration
EU	Europäische Union
FuE	Forschung und Entwicklung
IA	independent action; unabhängige Wirkung
IR	Inhibition der Wachstumsrate
JD-UQN	Umweltqualitätsnorm für den Jahresdurchschnitt
K _{ow}	1-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient
LC	lethal concentration; letale Konzentration
LMK	Lösemittelkontrolle
LOEC	lowest observed effect concentration
NK	Negativkontrolle
NOEC	no observed effect concentration
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
PPDB	Pesticide Properties Database
PS	Photosystem
RAK	regulatorisch akzeptable Konzentration
TSCF	Transpirationsstromkonzentrationsfaktor
ZHK-UQN	Umweltqualitätsnorm für die zulässige Höchstkonzentration

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

Wasser ist die Quelle des Lebens und bietet einer Vielzahl von Organismen einen Lebensraum. Ein jedes Lebewesen ist auf das Vorhandensein von Wasser angewiesen. Nicht nur für die Ernährung ist Wasser unerlässlich, auch die tägliche Hygiene und viele Freizeitaktivitäten basieren auf der Wassernutzung. Auch in der Wirtschaft spielt Wasser als Energiequelle, Rohstoff und Transportmedium eine entscheidende Rolle. Es ist von großer Bedeutung diese lebenswichtige Ressource effektiv zu schützen (Umweltbundesamt 2021).

In den vergangenen 50 Jahren ist das Umweltbewusstsein um ein Vielfaches gestiegen. Die wichtigsten Umweltprobleme der heutigen Zeit sind in aller Munde. Es handelt sich dabei um die Klimaerwärmung, die Zerstörung der Ozonschicht, die Zerstörung von Lebensräumen mit einhergehendem Artensterben sowie der Chemikalienbelastung unserer Umwelt (Fent 2013). Mit steigender Wasserknappheit in heißen Sommermonaten, Überschwemmungen und Starkregenereignissen gelangt das Thema Wasser immer intensiver in unsere Köpfe, drängt sich gar in unser Gedächtnis.

Die Ökotoxikologie beschäftigt sich mit den Auswirkungen von Chemikalien auf die belebte Umwelt und trägt eine essentielle Rolle, um die mit Chemikalien verbundenen Gefahren zu erkennen und abzuwenden (Fent 2013).

In unserer modernen Gesellschaft sind Chemikalien von wesentlicher Bedeutung. Mehr als 95 % aller zu produzierenden Waren sind auf die Anwendung von Chemikalien angewiesen. Neben den gewünschten Vorteilen kann bei nicht fachgerechtem Umgang sowohl der Mensch, als auch seine Umwelt großen Schaden nehmen (Wang et al. 2020).

Durch die Entwicklung virtueller Datenbanken wird der kostenlose Zugang zu Informationen über die chemischen Eigenschaften neuer Industriechemikalien, bestehender Chemikalien, sowie Bioziden und Pestiziden öffentlich. Die von der OECD entwickelte online Datenbank eChemPortal ermöglicht unter anderem einen schnellen Zugriff auf Expositions- und Gebrauchsinformationen sowie Eigenschaften und Auswirkungen auf den Menschen und seine Umwelt (GHS 2021).

1.2 Belastungen und Toxizität

Die stoffliche Belastung von Gewässern erfolgt durch umfassende Schadstoffeinträge aus der Atmosphäre, Böden und Oberflächen. Jede kommunale Kläranlage trägt zum Anstieg der Schadstoffbelastung aufgrund des Eintrags organischer und anorganischer Restbelastungen im Abwasser bei. Bei Starkregenereignissen erfolgt der Eintritt von schädlichen Substanzen aus Böden und Oberflächen. Einen besonders hohen Einfluss trägt die Landwirtschaft. Durch Düngemittel werden vor allem Stickstoff und Phosphor sowie Pestizide direkt über Abflüsse oder durch Abdrift in die den Äckern nahegelegenen Gewässer geleitet. Auch die Konzentration von Stickoxiden, Schwefeloxiden und Schwermetallen nimmt in Gewässern drastisch zu (Schwoerbel & Brendelberger 2013).

Gelangt eine Chemikalie in ein Gewässer, so können physikalische Transportprozesse und chemisch-biologische Transformationsprozesse einen Austausch zwischen den Umweltbereichen auslösen. Dabei nehmen Substanzeigenschaften wie molekulare Struktur, Fettlöslichkeit oder Abbaubarkeit und die Charakteristik der Umwelt z.B. Temperatur und pH-Wert eine entscheidende Schlüsselrolle ein. Das Netzwerk zwischen Gewässer, Böden, Luft und Biota und deren potentieller Austausch ist bei der Toxizitätsbestimmung zu beachten und stets in Verbindung zu setzen. Chemikalien aus Gewässern können unter anderem mittels Bioakkumulation in den Metabolismus der Biota gelangen oder sich durch Adsorption in den Böden anreichern. Durch Volatilisation gelangen Stoffe aus dem Wasser in die Atmosphäre. Substanzen mit einer geringen Hydrophilie und geringem Dampfdruck adsorbieren besonders gut an Böden. Wenig hydrophile Substanzen mit hohem Dampfdruck werden schnell in die Atmosphäre abgegeben. Lipophile Stoffe bestehen lange im Gewässer und ermöglichen eine gute Bioakkumulation, da sie leicht membrangängig sind, wodurch sie weit verbreitet in Nahrungsnetzen aufzufinden sind (Fent 2013). Daraus folgen drei hauptsächliche Auswirkungen auf die Gewässer. Zum einen steigt das Bild der Eutrophierung zum anderen kommt es zu direkten toxischen und indirekt toxischen Wirkungen auf die Gewässerorganismen. Direkte toxische Wirkungen können reversibel oder irreversibel sein, sie beeinflussen die Lebensfunktion eines Individuums und können zum Tod führen. Indirekte toxische Wirkungen entstehen durch Wechselbeziehungen im Ökosystem und durch Veränderung der Umwelt- und Habitatsbedingungen (Fent 2013).

Eutrophierung ist der anthropogen verschuldete Phosphateintrag in Gewässer, wobei Phosphat als essentieller pflanzlicher Nährstoff eine erhöhte pflanzliche Primärproduktion auslöst. Die Zunahme der pflanzlichen Primärproduktion kann außerdem durch die verbesserte Verwendbarkeit von Gewässernährstoffen begründet sein. Phosphat gelangt dabei durch häusliche oder industrielle Abwässer, Niederschläge und die Landwirtschaft (Dünger, Silo- und Viehwirtschaft) in die Gewässer. Die Problematik dahinter lässt sich wie folgt erklären. Liegt ein Überschuss an Nährstoffen vor, so steigt die pflanzliche Biomasse rasch an. Daraus ergibt sich wiederum ein Übermaß an Nahrung für Konsumenten und Destruenten, wodurch deren Biomasseanteil im Nahrungsnetz ansteigt. Je mehr Biomasse vorhanden ist, umso mehr tote Biomasse muss unter hohem Sauerstoffverbrauch mikrobiell abgebaut werden. Dies verringert zum einen die lebenswichtige Sauerstoffverfügbarkeit und löst zusätzlich die Phosphatmobilisierung aus Sedimenten aus. Das Gewässer befindet sich dann in einem Kreislauf, der die Wasserqualität immer weiter verschlechtert (Schwoerbel & Brendelberger 2013).

Dem Gewässerschutz innerhalb der EU dient die Wasserrahmenrichtlinie, diese beinhaltet unterschiedliche Ziele und Vorschriften, um den Zustand und die Nutzung aquatischer Ökosysteme zu bessern. Dabei trägt jeder Mitgliedsstaat die Aufgabe Bestandsaufnahmen und Zielbestimmungen zu ermitteln und somit für einen verbesserten Zustand der Gewässer zu sorgen (BMU 2021a).

Ziel der WRRL war es bis 2015 für einen guten ökologischen und chemischen Zustand der Gewässer zu sorgen. Dieses Vorhaben wurde bis in das Jahr 2027 verzögert. Um diesen guten Zustand zu erlangen, sollen unter anderem Uferzonen naturbelassen bleiben oder renaturiert werden sowie Schadstoffkonzentrationen einen genormten Grenzwert nicht überschreiten. Im Allgemeinen sollen sich die aktuellen Gewässerzustände nicht verschlechtern. Deutschland steht damit weiterhin vor einer großen Aufgabe, beispielsweise wird in ca. 92 % der Flüsse das Ziel des Vorkommens von typischen Pflanzen und Fischarten nicht eingehalten (BUND 2021b).

1.2.1 Mischungstoxizität

Die toxische Wirkung einer Substanz ist abhängig von deren Konzentration. Es werden daher sogenannte Konzentrationswirkungsbeziehungen erstellt, wobei die Konzentration der Substanz auf der x-Achse und der durch die Konzentration ausgelöste Effekt auf der y-Achse abgebildet wird. Charakteristisch ist der halblogarithmische, sigmoidale Kurvenverlauf. Am Wendepunkt dieser Kurve befindet sich der EC_{50} oder LC_{50} . Der EC_x gibt die Konzentration an, welche einen x-prozentigen Effekt bewirkt. Beispielsweise der EC_{50} der Wachstums- hemmung gibt die Konzentration an, bei welcher das Wachstum um 50 % gehemmt wird. Der LC_x gibt die Konzentration an, bei welcher x-prozent der Versuchsorganismen sterben. Des Weiteren lassen sich anhand solcher Kurven der NOEC und LOEC bestimmen. Der LOEC gibt die niedrigste Konzentration an, bei der die Substanz einen statistisch signifikanten Effekt auslöst. Der NOEC ist die Konzentration unmittelbar unter dem LOEC, hier liegt kein statistisch signifikanter Effekt mehr vor (Fent 2013).

Aufgrund der großen Schadstoffvielfalt liegen chemische Stressoren in einem Gewässer nie einzeln vor, sondern in Mischungen. Die Toxizität vermischter Schadstoffe wird als Mischungstoxizität bezeichnet. Für die ökotoxikologische Bewertung eines Gewässers sollte stets die Mischungstoxizität untersucht werden, um die schädliche Wirkung von Substanzen in einem Gewässer realitätsgetreu bewerten zu können (LANUV 2021). Dennoch werden nach EU-Recht hauptsächlich Einzelstoffbewertungen durchgeführt (BMU 2021b).

Es gibt zwei Konzepte, welche anhand von Konzentrationswirkungsbeziehungen der Einzelsubstanzen eine Abschätzung der Mischungstoxizität ermöglichen. Es handelt sich dabei um das Konzept der Konzentrationsadditivität und das Konzept der unabhängigen Wirkung (Kunz 2011).

Man spricht von CA, wenn die Mischungskomponenten einen ähnlichen Wirkmechanismus aufweisen und denselben Wirkort besitzen. Somit kann bei einer konzentrationsadditiven Wirkung eine Mischungskomponente durch eine äqui-effektive Substanzkonzentration ausgetauscht werden. Dabei verändert sich der betrachtete Effekt nicht, solange die Substanzkonzentration tatsächlich gleich effektiv ist (Escher & Vermeirssen 2008).

Die IA basiert auf der unähnlichen Wirkung der Substanzen mit verschiedenen Wirkorten. Diese Stoffe zeigen in Mischung unabhängige Wirkungen, da sie auf dem Weg zu ihren Wirkorten nicht miteinander wechselwirken können (Escher & Vermeirssen 2008).

Kommt es durch Wechselwirkungen der Substanzen zu einer Verstärkung des Effektes, wobei die Mischungstoxizität signifikant höher ist, spricht man von Synergismus („mehr als additiven Effekten“), verringert sich der Effekt, handelt es sich um Antagonismus („weniger als unabhängigen Effekten“) (Escher & Vermeirssen 2008).

Die Auswahl der genannten Konzepte steht im Zwiespalt, da eine allgemeine Kategorisierung von Substanzen in ähnliche oder unähnliche Wirkung nur schwer zutreffen ist. Es ist möglich, dass auf molekularer Ebene eine definitive Unterscheidung aufgrund der unabhängigen Auslösung eines Primäreffektes möglich ist. In höheren Organisationsstufen können aber dennoch Kombinationswirkungen auftreten, welche als konzentrationsadditiv einzustufen sind (Walter 2002). Für Mischungen aus organischen Stoffen zeigen die Konzepte eine hohe Genauigkeit basierend auf der Vorhersagequalität, wenn die Mischungskomponenten alle eine ähnliche oder eine unähnliche Wirkweise besitzen (Kunz 2011).

Geht man in der Umweltrisikanalytik von realen Mischungen aus, so sind die Wirkweisen der Mischungskomponenten nicht eindeutig in ähnlich oder unähnlich einzuteilen. Deshalb wird für realistische Gemische das CA-Modell als „worst case estimation“ angesehen (Kunz 2011).

Die Konzentrationsadditivität gilt als eines der am meisten genutzten Konzepte und wird in der Umweltrisikobewertung empfohlen (Escher & Vermeirssen 2008).

1.3 Pestizide und die Landwirtschaft

Damit Nutzpflanzen gesund wachsen und so den bestmöglichen Ertrag bringen, nutzt die Landwirtschaft eine Vielzahl chemischer Substanzen. In Deutschland sind ca. 800 Pflanzenschutzmittel mit etwa 250 Wirkstoffen zugelassen. Doch bei der Verwendung, so fachgerecht sie auch ausgeführt wird, gelangt eine große Menge der schädlichen Wirkstoffe in die Umwelt (Müller 2015). Unter einem Pestizid versteht sich eine chemische Substanz, welche eine giftige Wirkung auf den entsprechenden Zielorganismus ausübt. Unterschieden wird anhand der Zielorganismen in die Gruppe der Insektizide, womit unerwünschte Insekten bekämpft werden. Die Gruppe der Fungizide, welche zur Bekämpfung der Pilze eingesetzt wird und die Herbizide, welche gegen Pflanzen wirken (BUND 2021a).

Feine Sprühnebel (siehe Abb. 1) gelangen durch den Wind verweht auf benachbarte Grünflächen oder setzen sich auf der Wasseroberfläche ab. Durch Bewirtschaftung der Felder

bis auf den letzten Zentimeter und somit bis in die Gewässergräben hinein ist eine Kontamination des Gewässers durch den Auftrag von Pestiziden nicht zu verhindern (Müller 2015). Bei Regen werden frisch aufgetragene Substanzen direkt in das Gewässer gespült. Aber auch durch die Abflüsse von landwirtschaftlichen Höfen kommt es zum Eintrag der Pflanzenschutzmittel in das Gewässer (Schwoerbel & Brendelberger 2013).



Abbildung 1: Landwirtschaft und Pestizide (ARD 2021)

Sowohl aquatisch, als auch terrestrisch lebende Tiere und Pflanzen werden den toxischen Wirkungen ausgesetzt, obwohl diese nicht im Ziel der Bekämpfung stehen. Die toxische Wirkung kann direkt einsetzen, wobei der Organismus innerhalb eines kurzen Zeitraumes Krankheitssymptome zeigt oder stirbt, einige Stoffe wie das Atrazin zeigen erst über einen langen Expositionszeitraum hinweg ihre Wirkweise (Fent 2013).

Hierbei wird klar wie wichtig es ist, dass chemische Substanzen, welche bewusst in die Umwelt freigesetzt werden, zuvor in Kurz- und Langzeitstudien auf ihre Toxizität getestet werden müssen. Eine unbedachte Freisetzung kann für das Aussterben ganzer Populationen und damit einhergehend zu Ungleichverteilung innerhalb einer Biozönose führen. Dabei ist stets zu bedenken, dass sich Schadstoffe durch die Nahrungskette anreichern können und somit nicht in einem einzelnen Organismus verbleiben. Damit ein Pestizid innerhalb Deutschlands für den Gebrauch freigegeben wird, muss durch Testverfahren belegt werden, dass es durch dessen Einsatz keine Auswirkungen auf Ökosysteme, die biologische Vielfalt und Nicht-Zielorganismen gibt. Dass durch die Verwendung des Pestizids somit eine gesundheitliche Gefährdung von Mensch und Tier ausgeschlossen werden kann. Hierfür arbeiten das Bundesamt für Verbraucherschutz, das Bundesamt für Risikobewertung und das Umweltbundesamt Hand in Hand (Müller 2015).

In Laborversuchen, Halbfreilandversuchen und Freilandversuchen wird anhand von OECD-Richtlinien die Belastung durch Pestizide an Nicht-Zielorganismen erforscht. Für die Gewässerökosysteme handelt es sich bei den Nicht-Zielorganismen unter anderem um die Regenbogenforelle als Testorganismus der Fische oder um die Wasserlinse als Repräsentant der höheren aquatischen Pflanzen. Auswirkungen der schädlichen Substanzen werden dabei auf unterschiedliche Messgrößen getestet, wie beispielsweise auf die Mortalität, die Fortpflanzung, die Abundanz oder die Biomasse (Müller 2015).

1.4 Fragestellung und Hypothese der Arbeit

Die Auswahl der Herbizide, welche in dieser Arbeit verwendet wurden, bezieht sich auf die im Rahmen des NiddaMan-Projekts im Einzugsgebiet der Horloff gemessenen Pflanzenschutzmittel. Das NiddaMan-Projekt untersuchte von 2015 bis 2018 das Einzugsgebiet der Nidda auf unterschiedliche Einträge von Spurenstoffen und förderte damit Erkenntnis und Lösungsansätze, um die Ziele der Wasserrahmenrichtlinie zu beschleunigen (NiddaMan 2016). Die Horloff ist mit einer Länge von 44,5 km und einem Einzugsgebiet von 279,2 km² der drittgrößte Zufluss der Nidda (Ratz 2019). Sie durchfließt unter anderem Naturschutzgebiete, Vogelschutzgebiete und Flora-Fauna-Habitat-Gebiete. Doch die Gewässerzustände gelten in vielen Bereichen als nicht zufriedenstellend und entsprechen nicht den Anforderungen der WRRL. Dies veranlasste Untersuchungen des Pestizideintrags nach Starkregenereignissen in den Monaten März bis August, wo der Anbau von Getreide und Raps seinen Höhepunkt zeigt. Die Probennahme erfolgte an drei Standorten, deren Wahl charakterisiert eine Vielfalt der Probestellen unter Berücksichtigung von „Nähe der Agrarlandschaften“, „Erreichbarkeit“ und „stabilen Wasserständen, die bei Niederschlägen stark ansteigen“ (Reutter 2019). Von 20 Starkregenereignissen konnten acht die ereignis-gesteuerten Probennehmer in den Untersuchungsgebieten auslösen. Es zeigen sich teils weitreichende Überschreitungen der Pestizidkonzentrationen, welche deutlich über den RAK liegen (Reutter 2019, Ratz 2019).

Die Notwendigkeit einer Mischungstoxizitätsprüfung wurde bereits im Abschnitt 1.2.1 erläutert. Es soll im Folgenden geprüft werden, wie sich der toxische Effekt einer Mischung auf das vegetative Wachstum der Süßwasserpflanze *Lemna gibba*, unter Beachtung

des Effekts der Einzelkomponenten auswirkt. Dabei wird eine konzentrationsadditive Wirkung der Mischungskomponenten erwartet.

Dafür wird folgende Hypothese betrachtet: *In der Mischung verhalten sich die vier Mischungskomponenten konzentrationsadditiv.*

Die Verwendung des Konzepts der CA und die Hypothese erklärt sich wie folgt. Das Herbizid Diflufenican hemmt die Synthese von Carotinoiden, diese schützen die Photosysteme bei hoher Lichtintensität in Form des non-photochemical Quenching. Ist die Lichtintensität zu hoch und die Kapazität der Lichtenergienutzung im Photosystem überschritten, bilden sich Triplett-Chlorophylle, welche Energie auf Sauerstoff übertragen und somit für die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies verantwortlich sind. Carotinoide können die Lichtenergie von Triplett-Chlorophyllen und reaktiven Sauerstoffspezies löschen und somit eine photooxidative Schädigung des Photosyntheseapparats abwenden. Wenn durch die Wirkung des Diflufenicans die Carotinoide abgebaut werden, werden reaktive Sauerstoffspezies gebildet und der Photosyntheseapparat beeinträchtigt (Rakovic 2014). Terbutylazin hemmt die Photosynthese im Photosystem II (PPDB 2021c) durch Hemmung der Hill-Reaktion und CO₂-Sorption im Chloroplasten (Cañero et al. 2011). Isoproturon stört ebenfalls den Elektronentransport im PS II durch konkurrierende Bindung mit Plastochinon an das D1-Protein in der Thylakoidmembran (Knauert et al. 2008). Metolachlor hemmt die Synthese von Chlorophyll, Proteinen, Fettsäuren, Isoprenoiden und Flavonoiden, wodurch die Zellteilung und das Pflanzenwachstum eingeschränkt werden (Machado & Soares 2021). Die Thylakoidmembran ist aufgebaut aus unterschiedlichen Proteinen und Lipiden. Das Photosystem ist ein Komplex aus Chlorophyll und Protein, Fettsäuren stellen die Bausteine der Membran dar (MPI 2021). Somit kann ohne das Vorhandensein von Fettsäuren keine Thylakoidmembran synthetisiert werden und keine Photosysteme eingelagert werden.

Alle Herbizide wirken somit an den Photosystemen, welche in die Thylakoidmembranen der Chloroplasten eingelagert sind. Die Wirkmechanismen der vier Herbizide sind primär verschieden. Da sich alle Herbizide durch ihre Wirkung am Photosyntheseapparat negativ auf die Photosyntheseleistung auswirken und damit das Wachstum der Pflanzen inhibieren, wird eine konzentrationsadditive Wirkung vermutet.

2. Material und Methoden

2.1 Testorganismus

Tabelle 1: Systematik Testorganismus: *Lemna gibba* (Haeupler & Muer 2007)

Abteilung	Spermatophyta
Unterabteilung	Magnoliophytina (Angiospermae)
Klasse	Liliopsida (Monocotyledoneae)
Unterklasse	Arecidae
Ordnung	Arales
Familie	Lemnaceae
Gattung	<i>Lemna</i>
Art	<i>Lemna gibba</i>

Die OECD-Testrichtlinie zur Bewertung der Toxizität von Substanzen für Süßwasserpflanzen setzt als Testorganismus die Wasserlinse *Lemna* voraus. Gestattet ist die Versuchsdurchführung mit den Arten *Lemna gibba* (siehe Abb.2) und *Lemna minor* (OECD 2021). Die nachfolgenden Versuche wurden mit *Lemna gibba* durchgeführt, zu Deutsch die buckelige Wasserlinse.

Die Charakterisierung „buckelig“ ergibt sich aufgrund der schwach gewölbten Oberseite der ovalen Sprossglieder, nachfolgend als Fronds bezeichnet. Von jedem Frond geht eine Wurzel aus, welche vollständig im Wasser versinkt, die Oberfläche der freischwimmenden Fronds ragt aus dem Wasser heraus und steht mit der Luft in Kontakt (Haeupler & Muer 2007). Die vegetative Vermehrung erfolgt über mitotische Teilung der Mutterfronds, wobei Tochterfronds hervorgehen (OECD 2021).



Abbildung 2: *Lemna gibba* (eigene Aufnahme)

Lemna gibba ist eine sommergrüne Wasserpflanze, bei der in den kalten Jahreszeiten die Fronds absterben. Aufzufinden ist die buckelige Wasserlinse von der Küste bis ins Flachland, über das Alpenvorland und Mittelgebirge, bis in das süddeutsche Schichtstufenland und die zentraleuropäische Mittelgebirgsschwelle. Das Habitat entspricht nährstoffreichen, stehenden Gewässern, wo sich die Pflanzenindividuen zu einer freischwimmenden Pflanzendecke anreichern (Haeupler & Muer 2007).

Aus diesem Grund kann die Wasserlinse der Gattung *Lemna* auch als Bioindikator für eutrophe Gewässer anerkannt werden. Hierbei fungiert *Lemna* als Pflanze zur Phytosanierung, sie reinigt Gewässer durch die Aufnahme von Schadstoffen, z.B. bei übermäßiger Phosphatkonzentration und speichert diese nach Umwandlung. Somit kann die Wasserlinse aktiv gegen die Eutrophierung von Gewässern eingesetzt werden. Nach Abschöpfen der Pflanzendecke können diese aufgrund ihres hohen Eiweiß- und Stärkegehaltes als Tierfutter oder zur Herstellung von Biogas und Bioethanol genutzt werden (Pflanzenforschung 2020). *Lemna gibba* gilt laut der roten Liste als ungefährdet (Haeupler & Muer 2007).

Die, in dem Versuch verwendeten, Pflanzen stammen aus der Zucht der Abteilung aquatische Ökotoxikologie. Diese wird im Inkubator bei 24 °C und 66 % Luftfeuchtigkeit aufbewahrt. Die Zucht erfolgt in einer abgedeckten Kristallierschale mit dem von der OECD-Richtlinie vorgeschriebenen Nährmedium 20X AAP (OECD 2021).

2.2 Testsubstanzen

Tabelle 2: Eigenschaften Diflufenican. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021a) und PPDB (PPDB 2021a).

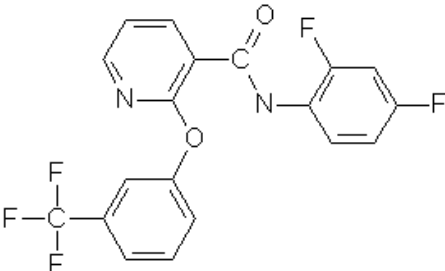
Identifikation		Quelle
CAS-Name	N-(2,4-Difluorphenyl)-2-(3-(trifluormethyl)phenoxy)-3-pyridincarboximid	GESTIS
CAS-Nummer	83164-33-4	GESTIS
Pestizidtyp	Herbizid	PPDB
Einführung	1985	PPDB
Wirkungsweise	Bleichung durch Carotinoidbiosynthese-hemmung	PPDB
Physikalisch chemische Eigenschaften		
Stoffgruppe	Carboxamid	PPDB
Strukturformel		GESTIS
Summenformel	C ₁₉ H ₁₁ F ₅ N ₂ O ₂	GESTIS
Molare Masse	394,30 g/mol	
Schmelzpunkt	160 °C	
log K _{ow}	4,2	PPDB
Wasserlöslichkeit	praktisch unlöslich in Wasser; 0,05 mg/L	GESTIS /PPDB
Aggregatzustand und Eigenschaft	Feststoff, farbloses Pulver	GESTIS
Degradation		
Water-sediment DT ₅₀	175 Tage	PPDB
Water phase only DT ₅₀	-	
Aqueous photolysis DT ₅₀	133 Tage bei pH 7	
Aqueous hydrolysis DT ₅₀	stabil bei 20 °C und pH 7	
Abbaubarkeit	nicht leicht biologisch abbaubar	
pH-Sensitivität	ja	
Ökotoxikologische Daten		
BCF	1276 L/kg	PPDB
Fische <i>Cyprinus carpio</i>	LC ₅₀ > 0,099 mg/L ; akut 96 h	
Aquatische Invertebraten <i>Daphnia magna</i>	EC ₅₀ > 0,24 mg/L ; akut 48 h	
Wasserpflanzen <i>Lemna gibba</i>	EC ₅₀ (Biomasse) 0,056 mg/L ; akut 7 d	
Algen <i>Scenedemus subspicatus</i>	EC ₅₀ (Wachstum) 0,00025 mg/L ; akut 72 h	

Tabelle 3: Eigenschaften Metolachlor. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021b) und PPDB (PPDB 2021b).

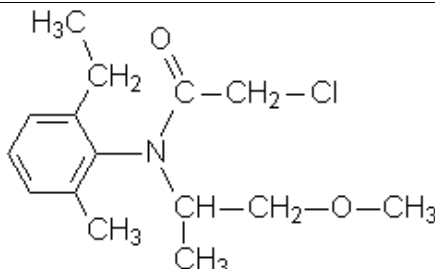
Identifikation		Quelle
CAS-Name	2-Ethyl-6-methyl-N-(1'-methyl-2'-methoxyethyl)chloracetanilid	GESTIS
CAS-Nummer	51218-45-2	GESTIS
Pestizidtyp	Herbizid	PPDB
Einführung	1976	
Wirkungsweise	Synthesehemmung langkettiger Fettsäuren (Zellteilung), reduziert die Samenkeimung	
Physikalisch chemische Eigenschaften		
Stoffgruppe	Chloracetamid	PPDB
Strukturformel		GESTIS
Summenformel	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	GESTIS
Molare Masse	283,80 g/mol	GESTIS
Schmelzpunkt	- 62,1 °C	
log K _{ow}	3,4	PPDB
Wasserlöslichkeit	530 mg/L	
Aggregatzustand und Eigenschaft	cremefarbene bis farblose Flüssigkeit	
Degradation		
Water-sediment DT ₅₀	365 Tage	PPDB
Water phase only DT ₅₀	88 Tage	
Aqueous photolysis DT ₅₀	stabil	
Aqueous hydrolysis DT ₅₀	stabil	
Abbaubarkeit	-	
pH-Sensitivität	-	
Ökotoxikologische Daten		
BCF	68,8 L/kg	PPDB
Fische <i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC ₅₀ > 3,9 mg/L ; akut 96 h	
Aquatische Invertebraten <i>Daphnia magna</i>	EC ₅₀ > 0,707 mg/L ; akut 48 h	
Wasserpflanzen <i>Lemna gibba</i>	EC ₅₀ (Biomasse) > 0,043 mg/L ; akut 7 d	
Algen <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	EC ₅₀ (Wachstum) > 57,1 mg/L ; akut 72 h	
Sonstiges: Isomerie	Molekül mit 2 chiralen Zentren. Isomerenmischung mit R- und S-Enantiomeren	

Tabelle 4: Eigenschaften Terbutylazin. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021c) und PPDB (PPDB 2021c).

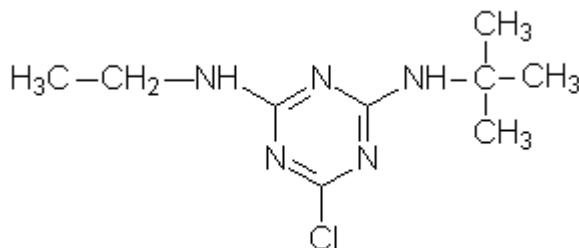
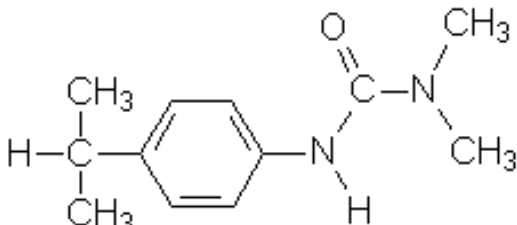
Identifikation		Quelle
CAS-Name	6-chloro-N-(1,1-dimethylethyl)-N'-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine	PPDB
CAS-Nummer	5915-41-3	GESTIS
Pestizidtyp	Herbizid, Mikrobiozid, Algizid	PPDB
Einführung	1967	PPDB
Wirkungsweise	Hemmung der Photosynthese (PS II)	PPDB
Physikalisch chemische Eigenschaften		
Stoffgruppe	Triazine	PPDB
Strukturformel	<div><chem>CC(C)Nc1nc(Cl)n(CNCC)c1</chem></div>	GESTIS
Summenformel	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	GESTIS
Molare Masse	229,71 g/mol	
Schmelzpunkt	175 °C	
log K _{ow}	3,4	PPDB
Wasserlöslichkeit	praktisch unlöslich in Wasser; 6,6 mg/L	GESTIS /PPDB
Aggregatzustand und Eigenschaft	Feststoff, weißes Pulver, unangenehmer Geruch	GESTIS
Degradation		
Water-sediment DT ₅₀	70 Tage	PPDB
Water phase only DT ₅₀	6 Tage	
Aqueous photolysis DT ₅₀	stabil	
Aqueous hydrolysis DT ₅₀	stabil	
Abbaubarkeit	nicht leicht biologisch abbaubar	
pH-Sensitivität	nein	
Ökotoxikologische Daten		
BCF	34 L/kg	PPDB
Fische <i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC ₅₀ > 2,2 mg/L ; akut 96 h	
Aquatische Invertebraten <i>Daphnia magna</i>	EC ₅₀ > 21,2 mg/L ; akut 48 h	
Wasserpflanzen <i>Lemna gibba</i>	EC ₅₀ (Biomasse) 0,0128 mg/L ; akut 7 d	
Algen <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	EC ₅₀ (Wachstum) 0,012 mg/L ; akut 72 h	

Tabelle 5: Eigenschaften Isoproturon. Angaben zur Identifikation, physikalisch-chemischen Eigenschaften, Degradation und ökotoxikologische Daten. Quellen entsprechen GESTIS (GESTIS 2021d) und PPDB (PPDB 2021d).

Identifikation		Quelle
CAS-Name	N,N-dimethyl-N'-(4-(1-methylethyl)phenyl)urea	PPDB
CAS-Nummer	34123-59-6	GESTIS
Pestizidtyp	Herbizid	PPDB
Einführung	1971	PPDB
Wirkungsweise	Hemmung der Photosynthese (PS II)	PPDB
Physikalisch chemische Eigenschaften		
Stoffgruppe	Urea	PPDB
Strukturformel		GESTIS
Summenformel	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	GESTIS
Molare Masse	206,29 g/mol	
Schmelzpunkt	157,3 °C	
log K _{ow}	2,5	PPDB
Wasserlöslichkeit	70,2 mg/L	
Aggregatzustand und Eigenschaft	farblose Kristalle	
Degradation		
Water-sediment DT ₅₀	149 Tage	PPDB
Water phase only DT ₅₀	40 Tage	
Aqueous photolysis DT ₅₀	48 Tage	
Aqueous hydrolysis DT ₅₀	1560 Tage	
Abbaubarkeit	-	
pH-Sensitivität	nein	
Ökotoxikologische Daten		
BCF	177 L/kg	PPDB
Fische (<i>Testorganismus unbekannt</i>)	LC ₅₀ > 18 mg/L ; akut 96 h	
Aquatische Invertebraten (<i>Testorganismus unbekannt</i>)	EC ₅₀ > 0,58 mg/L ; akut 48 h	
Wasserpflanzen <i>Lemna minor</i>	EC ₅₀ (Biomasse) 0,031 mg/L ; akut 7 d	
Algen <i>Navicula pelliculosa</i>	EC ₅₀ (Wachstum) 0,013 mg/L ; akut 72 h	

2.3 Durchführung

Die Durchführung des Toxizitätstests erfolgt anhand der OECD-Testrichtlinie 221. Ziel ist es innerhalb von sieben Tagen substanzbezogene Auswirkungen auf das vegetative Wachstum der Pflanzen zu bestimmen. Die primäre Messgröße ist die Frondzahl, als sekundäre Messgröße wurde das Trockengewicht bestimmt. Pro Herbizid werden mindestens fünf unterschiedliche Konzentrationen getestet. Für jede Konzentration wurden drei Replikate angesetzt. Die Testgefäße müssen aus sterilen Glaswaren bestehen, welche eine Mindestdtiefe von 20 mm und ein Mindestvolumen von 100 mL bieten. Die Versuche wurden mit Weck®Gläsern (290 mL Fassungsvermögen) durchgeführt und am Tag vor Versuchsbeginn mit Aceton ausgespült. Ebenso wurden alle weiteren Glaswaren, die für den Test benötigt wurden, zuvor mit Aceton gereinigt, um Algenwachstum bzw. Kontamination beim Test zu vermeiden.

Für den Versuchsorganismus *Lemna gibba* dient 20X AAP als Nährmedium, welches aus fünf Stammlösungen zusammengestellt wird. Für einen Liter Nährmedium werden von allen Stammlösungen 20 mL mit 900 mL TKA-Wasser vermischt. Bei den Einzelsubstanztests wird eine entsprechend benötigte Menge an Stammlösung mit der höchsten, zu testenden, Herbizidkonzentration (diese liegt oberhalb des EC_{50}) versetzt und dann in ausgewählten Verdünnungsreihen verdünnt (siehe Tab. 6). Alle Herbizide wurden mit dem Lösemittel Dimethylsulfoxid gelöst, sodass maximal ein 0,01-prozentiger Lösemittelanteil besteht. Für die Mischungstoxizität wurden zunächst anhand der Daten der Einzelsubstanztests unterschiedliche EC_x -Werte berechnet und die jeweiligen vier Konzentrationen pro EC_x -Wert in einer Mischung getestet (siehe Tab. 7).

Neben den drei Replikaten pro Konzentration wurden je drei Replikate einer Negativ- und einer Lösemittelkontrolle hergestellt. Die Negativkontrolle besteht lediglich aus Nährmedium, die Lösemittelkontrolle aus einer 0,01-prozentigen Mischung von DMSO und Nährmedium.

Um ein möglichst steriles Arbeiten zu gewährleisten wurde unter einer Clean Bench gearbeitet. In jedes der Weck®Gläser wurden 200 ml Lösung und neun Fronds eingesetzt. Die Gläser wurden mit einer Uhrglasschale abgedeckt und randomisiert im Inkubator (siehe Abb.3) aufgestellt. Schattenbildung ist dabei zu vermeiden.



Abbildung 3: Inkubator mit Zucht und Replikaten (eigene Aufnahme)

An den Tagen drei, sechs und sieben wurde die Frondzahl der einzelnen Replikate bestimmt und auf mögliche Veränderungen wie Algenwachstum oder Verfärbungen kontrolliert. An Tag sieben wurde zusätzlich das Trockengewicht bestimmt, wofür kleine Uhrglasschalen für drei Stunden bei 120 °C im Ofen und danach im Exsikkator getrocknet wurden, um das Leergewicht bestimmen zu können. An Tag sieben wurden pro Replikat die Pflanzen auf das zugehörige Uhrglas gegeben und bei 60 °C über Nacht im Ofen und dann im Exsikkator getrocknet.

Um einen Wachstumsvergleich aus Zucht und Replikaten zu erhalten wurden zusätzlich zehn Uhrglasschalen mit je neun Fronds getrocknet. An Tag acht wurden die Schalen gewogen und die Differenz bestimmt.

Tabelle 6: Übersicht Herbizidkonzentrationen für Einzelsubstanztest. Tabelle mit den getesteten Konzentrationen in µg/L der einzelnen Herbizide. Ausgehend vom EC₅₀ (grau hinterlegte Spalte).

Herbizid				
Konzentrationen in µg/L	Diflufenican	Metolachlor	Terbuthylazin	Isoproturon
	280	218	512	620
	56	43	256	310
	11,2	8,6	128	155
	2,24	1,72	64	77,5
	0,448	0,344	32	31
	0,0896	0,0688	16	6,2
		0,01376	8	1,24
	-	-	4	0,248
	-	-	0,8	0,0496
	-	-	0,16	0,00992

Tabelle 7: Übersicht Herbizidkonzentrationen für Mischungstoxizität. Tabelle mit den von GraphPad Prism 5 berechneten EC_x-Werten, Herbizidkonzentrationen in mg/L. Für den EC₁ und EC₉₉ konnten keine nutzbaren Daten berechnet werden. (In Mischung getestete EC-Werte grau hinterlegt).

EC-Wert	Herbizidkonzentrationen in mg/L			
	Diflufenican	Metolachlor	Terbuthylazin	Isoproturon
1	-	-	-	-
5	0,005152	0,02361	0,00588	0,01763
10	0,007307	0,02942	0,008725	0,02785
20	0,01067	0,03735	0,01567	0,04576
30	0,01373	0,04377	0,02312	0,06364
40	0,01689	0,04985	0,03181	0,0834
50	0,02041	0,05617	0,04262	0,1069
60	0,02467	0,06329	0,05711	0,137
70	0,03033	0,07208	0,07857	0,1796
80	0,03902	0,08447	0,1159	0,2497
90	0,05701	0,1072	0,2082	0,4103
95	0,08085	0,1336	0,3571	0,6482
99	-	0,2172	-	1,78

2.4 Auswertung

Die erhobenen Daten der Frondzahlen sowie des Trockengewichts wurden in eine Excel-Tabelle übertragen.

Laut der OECD-Testrichtlinie kann der Testdurchlauf als valide gewertet werden, sobald in der Kontrolle die Verdopplungszahl der Fronds unter 60 Stunden (2,5 Tagen) liegt. Dies entspricht einer siebenfachen Zunahme innerhalb einer Woche. Außerdem muss die spezifische Wachstumsrate der NK mindestens 0,275 d⁻¹ entsprechen (OECD 2021).

In Excel wurde die spezifische Wachstumsrate [μ /d-1], die Verdopplungszeit T [d], die Inhibition der Wachstumsrate IR [%] und die x-Wachstumsrate der Negativkontrolle berechnet, sowie die Trockenmasse in mg. Zunächst wurde ein Vergleich der Trockenmassen von Negativkontrolle und Zucht gezogen. Mit Hilfe von GraphPad Prism 5 wurde im Anschluss ein Vergleich der Frondzahl von Negativ- und Lösemittelkontrolle gezogen. Für jeden der drei Zähltag wurde die NK und LMK mittels einem ungepaarten t-Test analysiert. Wenn die Analyse einen nicht signifikanten Unterschied ergab, wurden die Werte der NK und der LMK zu einer Kontrolleinheit zusammengefasst. Es folgte die Berechnung des EC₅₀ für die logarithmierten Werte der Trockenmasse und Frondzahl an Tag sieben.

Durch eine nicht lineare Regressionsanalyse wurde anhand der logarithmierten Werte der Frondzahl an Tag sieben eine Konzentrationswirkungsbeziehung der Einzelsubstanzen mit sigmoidalem Verlauf erstellt. Die unterschiedlichen EC_x -Werte, welche für die Bestimmung der Mischungstoxizität benötigt werden, wurden anhand dieser Graphen mit GraphPad Prism 5 berechnet. Dazu wurde ebenfalls eine nicht lineare Regressionsanalyse, mit der Option „Find EC anything“ durchgeführt, worüber jeder gewünschte EC_x -Wert (siehe Tab. 7) berechnet werden kann. Die berechneten EC_x -Werte wurden zunächst in mM/L umgerechnet (siehe Tab. 8) und dann in eine weitere Excel-Tabelle eingefügt, hier wurde das CA-Modell erstellt. Der Kurvenverlauf der experimentellen Mischung wurde nach dem gleichen Prinzip wie bei den Einzelkonzentrationen durchgeführt. Zunächst wurden die Daten der Frondzahl an Tag sieben in GraphPad Prism 5 analysiert und dann die EC_x -Werte berechnet, diese wurden in Excel zu einem Graphen zusammengesetzt.

2.4.1 CA-Modell

Das CA-Modell ermöglicht das Erstellen eines Graphen, welcher den Verlauf der Mischungstoxizität der gewählten Herbizide vorhersagt.

Die Berechnung der quartären Mischung basiert auf folgender Formel (Rajapakse et al. 2001):

$$EC_{mix} = \left[\frac{\sum p_i}{EC_i} \right]^{-1}$$

EC_{mix} ist die Gesamtkonzentration, welche nötig ist, um einen Effekt E auszulösen. p_i entspricht dem prozentualen Anteil der Konzentration i in der Gesamtkonzentration. EC_i ist die Konzentration von i , welche benötigt wird, um den Effekt E als Einzelsubstanz auszulösen.

Daraus ergibt sich bei einer Mischung von vier Herbiziden:

$$EC_{mix} = \left[\frac{p_1}{EC_{x_1}} + \frac{p_2}{EC_{x_2}} + \frac{p_3}{EC_{x_3}} + \frac{p_4}{EC_{x_4}} \right]^{-1}$$

3. Ergebnisse

3.1 Einzelsubstanztest

Die folgenden Konzentrationswirkungsbeziehungen wurden mit GraphPad Prism 5 erstellt. Für eine bessere Übersicht wurden die Datenpunkte der negativen Achsenbereiche entfernt. Die folgenden Messdaten beinhalten alle Datenpunkte. Die jeweilig getesteten Konzentrationen sind in Tabelle 6 nachzulesen. Für die Auswertung der Versuche wurde die Frondzahl an Tag sieben genutzt. Die Daten der Biomasse wurden vernachlässigt und sind auf der beigefügten CD hinterlegt.

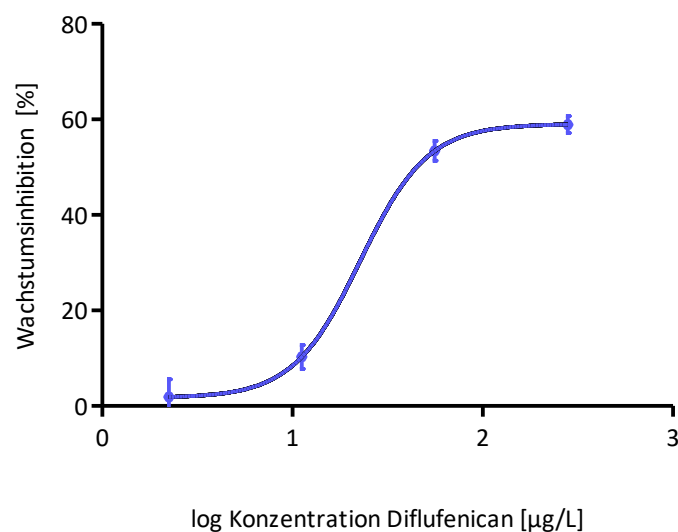


Abbildung 4: Konzentrationswirkungsbeziehung Diflufenican. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von *Lemna gibba* in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Diflufenican [µg/L], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.

Der EC_{50} von Diflufenican (siehe Abb. 4) beträgt 20,41 µg/L mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 14,78-28,19 µg/L. Für den EC_{10} wurde eine Konzentration von 7,307 µg/L berechnet, das 95 %-Konfidenzintervall liegt bei 4,989-10,70 µg/L. Bei einer Konzentration von 280 µg/L liegt eine Wachstumsinhibition von ca. 58,93 % vor. Die Herbizidkonzentration von 2,24 µg/L löst eine Wachstumsinhibition von ca. 1,9 % aus.

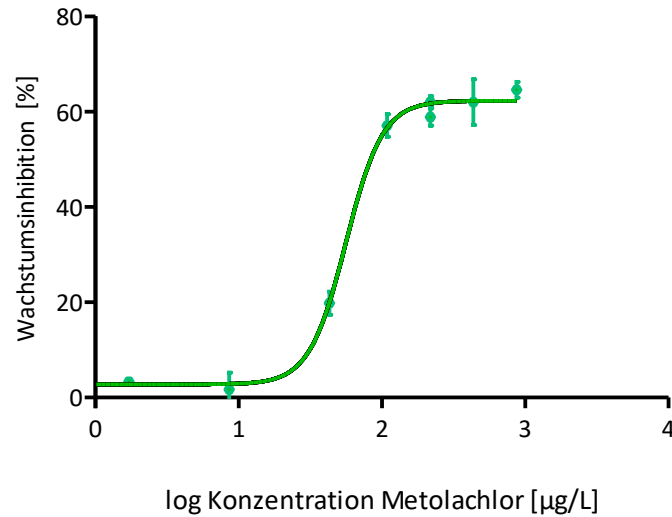


Abbildung 5: Konzentrationswirkungsbeziehung Metolachlor. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von *Lemna gibba* in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Metolachlor [µg/L], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.

Der EC₅₀ für Metolachlor (siehe Abb. 5) beträgt 56,17 µg/L mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 49,02-64,36 µg/L. Der EC₁₀ liegt bei 29,42 µg/L mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 23,78-36,39 µg/L. Die höchste Konzentration von 872 µg/L erzeugt eine Wachstumsinhibition von ca. 64,64 %. Eine Wachstumsinhibition von ca. 3,6 % wurde bei eingesetzter Konzentration von 0,0688 µg/L erzielt.

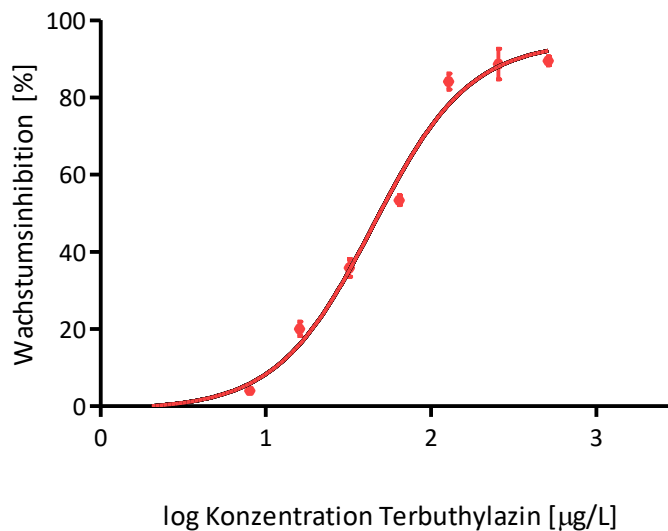


Abbildung 6: Konzentrationswirkungsbeziehung Terbutylazin. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von *Lemna gibba* in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Terbutylazin [µg/L], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.

Der EC_{50} von Terbutylazin (siehe Abb. 6) beträgt $42,62 \mu\text{g/L}$ mit einem 95 %-Konfidenzintervall von $35,41\text{-}51,30 \mu\text{g/L}$. Der EC_{10} liegt bei $8,725 \mu\text{g/L}$ mit einem 95 %-Konfidenzintervall von $6,196\text{-}12,29 \mu\text{g/L}$. Bei einer Konzentration von $512 \mu\text{g/L}$ liegt eine Wachstumsinhibition von etwa 89,47 % vor, eine Inhibition von 3,97 % wurde durch die Konzentration von $8 \mu\text{g/L}$ erzielt.

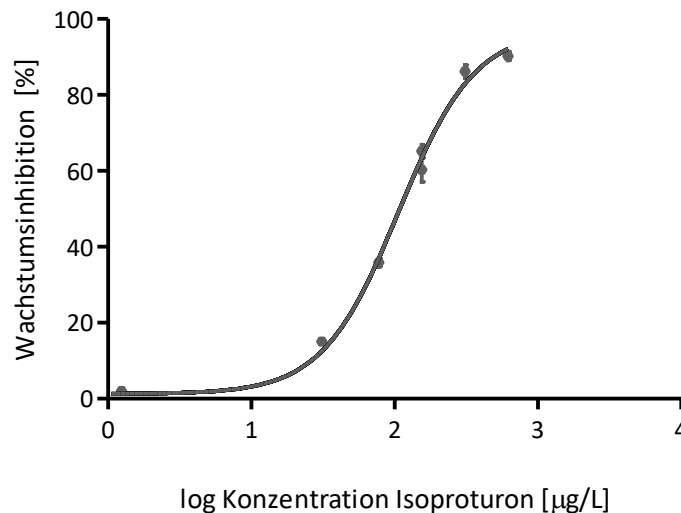


Abbildung 7: Konzentrationswirkungsbeziehung Isoproturon. Kurvenverlauf der Wachstumsinhibition [%] der Frondzahl von *Lemna gibba* in Abhängigkeit der logarithmierten Konzentrationen von Isoproturon [$\mu\text{g/L}$], ermittelt anhand IR [%] an Versuchstag sieben.

Der EC_{50} von Isoproturon (siehe Abb. 7) liegt bei $106,9 \mu\text{g/L}$ mit einem 95 %-Konfidenzintervall von $94,98\text{-}120,2 \mu\text{g/L}$. Der EC_{10} beträgt $27,85 \mu\text{g/L}$ mit einem 95 %-Konfidenzintervall von $22,55\text{-}34,40 \mu\text{g/L}$. Eine Wachstumsinhibition von ca. 90,25 % besteht bei der Konzentration von $620 \mu\text{g/L}$. Die eingesetzte Konzentration von $1,24 \mu\text{g/L}$ erzeugt eine Inhibition von 2,05 %.

Anhand der Konzentrationswirkungsbeziehungen wurden die EC_x der Einzelsubstanzen berechnet. Damit diese für die Mischungstoxizität nutzbar sind und die Toxizitäten der Einzelsubstanzen verglichen werden können, müssen die Werte in mM/L umgerechnet werden (siehe Tab. 8).

Tabelle 8: Übersicht Herbizidkonzentrationen für CA-Modell. Tabelle mit den von GraphPad Prism 5 berechneten EC_x-Werten der Einzelsubstanzen, Herbizidkonzentrationen in mM/L. Für den EC₁ und EC₉₉ konnten keine nutzbaren Daten berechnet werden.

EC _x	Herbizidkonzentrationen in mM/L			
	Diflufenican	Terbuthylazin	Metolachlor	Isoproturon
5	0,000013067	0,000025597	0,0000831924	0,0000854664
10	0,000018532	0,000037983	0,000103665	0,000135011
20	0,0000270613	0,000068216	0,000131607	0,000221834
30	0,0000348221	0,000100649	0,000154228	0,000308513
40	0,0000428365	0,000138479	0,000175652	0,000404305
50	0,0000517639	0,000185538	0,000197921	0,000518228
60	0,0000625682	0,000248618	0,000223009	0,000664146
70	0,0000769231	0,00034204	0,000253982	0,000870661
80	0,0000989627	0,000504549	0,000297639	0,001210491
90	0,000144589	0,00090636	0,000377731	0,001989044
95	0,000205052	0,001554569	0,000470754	0,003142331

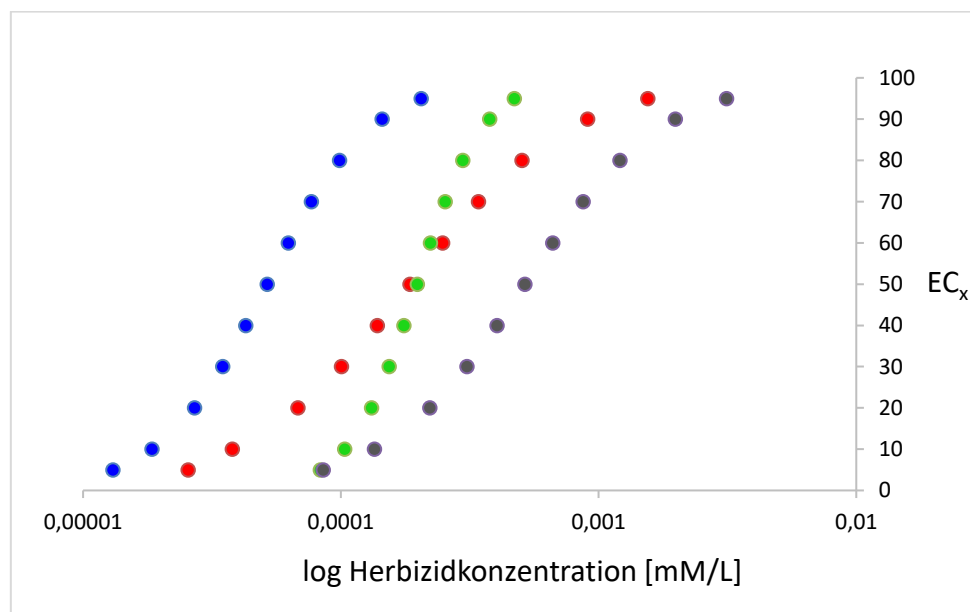


Abbildung 8: Vergleich der Konzentrationswirkungsbeziehungen der vier Herbizide. Kurvenverläufe der EC_x von Diflufenican (blau), Terbuthylazin (rot), Metolachlor (grün), und Isoproturon (grau), in Abhängigkeit der logarithmierten Herbizidkonzentration [mM/L].

Die Konzentrationswirkungsbeziehung von Diflufenican (siehe Abb. 8) zeigt einen allein-stehenden Kurvenverlauf, der EC₁₀ wird bei einer Konzentration von $1,85 \cdot 10^{-5}$ mM/L erreicht, die hier maximale Hemmung von 95 % ergibt sich bei $2,05 \cdot 10^{-3}$ mM/L. Darauf folgt Terbuthylazin mit einem EC₁₀ = $3,79 \cdot 10^{-5}$ mM/L, eine 95-prozentige Hemmung des Wachstums

wird bei einer Konzentration von $1,55 \cdot 10^{-3}$ mM/L erzielt. Für Metolachlor beträgt der $EC_{10} = 1,03 \cdot 10^{-4}$ mM/L, der $EC_{95} = 4,7 \cdot 10^{-4}$ mM/L. Hier kommt es zu einer Überschneidung der Kurven von Terbutylazin und Metolachlor im Bereich des EC_{60} , der Kurvenverlauf von Metolachlor zeigt eine hohe Steigung. Isoproturon erreicht einen $EC_{10} = 1,35 \cdot 10^{-4}$ mM/L, der Kurvenverlauf zeigt keine Überschneidungen mit den anderen Kurven. Eine Hemmung von 95 % wird bei einem $EC_{95} = 3,14 \cdot 10^{-3}$ mM/L erreicht.

3.2 Mischungstoxizität

Der Kurvenverlauf des CA-Modells wurde anhand der EC_x -Werte aus Tabelle 8 und der Formel aus 2.4.1 berechnet. Die Kurve der experimentell bestimmten Mischung, eingesetzte Konzentrationen siehe Tabelle 7, ergibt sich anhand der EC_x -Werte des Mischungsexperiments (siehe Tab. 9).

Tabelle 9: Übersicht EC -Werte für das CA-Modell und Mischungsexperiment. Tabelle mit den durch Excel berechneten EC_x -Werten in mM/L, für das CA-Modell und mit GraphPad Prism 5 berechneten EC_x -Werten des Mischungsexperiments in mM/L.

EC_x	CA-Modell	Mischung (experimentell)
5	0,0000518308	0,0000996
10	0,0000737975	0,0001342
20	0,000112180	0,0002249
30	0,000149553	0,0003170
40	0,000190318	0,0004200
50	0,000238363	0,0005436
60	0,000299585	0,0007037
70	0,000385901	0,0009324
80	0,000527910	0,0013140
90	0,000854431	0,0022020
95	0,001343176	0,0035430

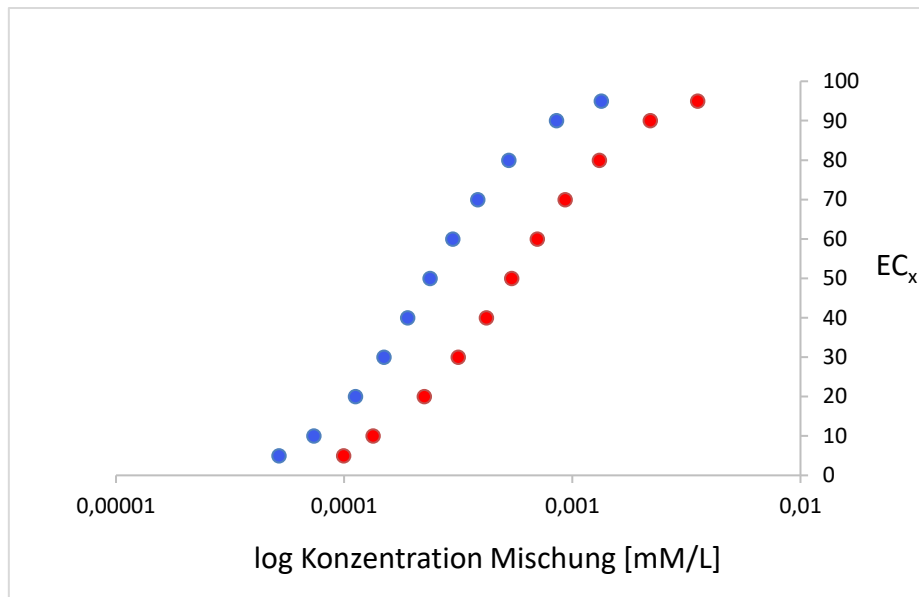


Abbildung 9: Vergleich der Kurvenverläufe CA-Modell und experimentelle Mischung. Abgebildet ist der durch das CA-Modell modellierte Kurvenverlauf (blau) und der experimentelle Kurvenverlauf der konzentrationsadditiven Mischung (rot). Der Kurvenverlauf zeigt den EC_x in Abhängigkeit der logarithmierten Mischungskonzentration [mM/L].

Der Kurvenverlauf des CA-Modells (siehe Abb. 9) zeigt einen $EC_{10} = 7,37 \cdot 10^{-5}$ mM/L und einen $EC_{50} = 2,38 \cdot 10^{-4}$ mM/L. Eine Hemmung des Wachstums von 95 % wird bei einer Konzentration von $EC_{95} = 1,34 \cdot 10^{-3}$ mM/L erzielt. Für eine 10-prozentige Hemmung zeigt die experimentelle Mischung einen $EC_{10} = 1,34 \cdot 10^{-4}$ mM/L und eine Hemmung von 50 % bei $EC_{50} = 5,44 \cdot 10^{-4}$ mM/L. Eine Wachstumshemmung von 95 % wird durch einen $EC_{95} = 3,54 \cdot 10^{-3}$ mM /L erreicht.

3.3 Sekundäre Effekte

Neben dem negativen Einfluss auf das vegetative Wachstum der Pflanzen, wurden Änderungen der Gestalt festgestellt und fotografiert. Tabelle 10 und die folgenden Abbildungen 10-21 zeigen die, visuell wahrnehmbaren, Effekte der unterschiedlichen Herbizide auf die Pflanzen. Dabei wird hier stets die Auswirkung der höchsten getesteten Konzentration abgebildet.

Tabelle 10: Übersicht sichtbarer Gestaltwandlung von Fronds und Wurzeln. Die Tabelle zeigt die Auswirkungen auf die Gestalt der neugewachsenen Fronds und Wurzeln, ausgelöst durch die unterschiedlichen Herbizide im Vergleich zur Negativkontrolle / Lösemittelkontrolle mit Verweis auf Abbildungen. Dabei wird stets die Auswirkung der höchsten getesteten Konzentration abgebildet. Falls Auswirkungen auf die neun Fronds der Zucht vorliegen, sind diese in Klammern gesetzt.

Herbizid	Auswirkungen Fronds	Auswirkungen Wurzeln	Siehe Abbildung
NK / LMK	leicht buckelig, hellgrün	lang, hellgrün	11;12
Diflufenican	weiß (teils ausgebleichen)	weiß (teils ausgebleichen)	13
Metolachlor	klein, buckelig, braun	leicht verkürzt	14;15
Terbuthylazin	normal entsprechend NK	stark verkürzt (weiß, abgebrochen, in Nähe der Wasseroberfläche schwimmend)	16;17
Isoproturon	normal entsprechend NK	stark verkürzt, (weiß, abgebrochen, an der Oberfläche schwimmend)	18;19
Mischung	kein Wachstum neuer Fronds	(hell, in Nähe der Wasseroberfläche schwimmend)	20;21



Abbildung 10: Fronds einer Negativkontrolle.
Die Fronds sind hellgrün und leicht buckelig (eigene Aufnahme).



Abbildung 11: Wurzeln einer Negativkontrolle.
Die Wurzeln sind hellgrün und wachsen lang bis zum Boden des Testgefäßes (eigene Aufnahme).

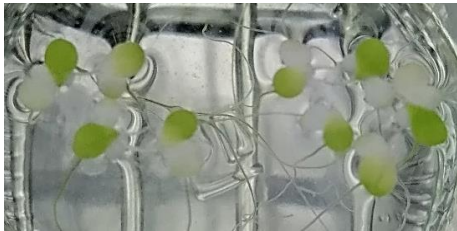


Abbildung 12: Fronds bei 280 µg/L Diflufenican.
Die Fronds wachsen weiß (eigene Aufnahme).

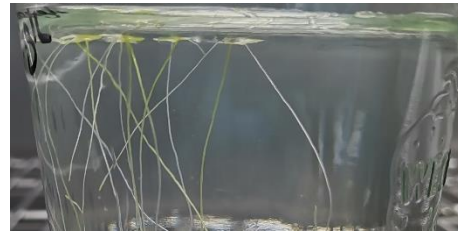


Abbildung 13: Wurzeln bei 280 µg/L Diflufenican.
Die Wurzeln wachsen weiß oder bleichen aus (eigene Aufnahme).



Abbildung 14: Fronds bei 218 µg/L Metolachlor.
Die Fronds wachsen sehr klein, braun und buckelig (eigene Aufnahme).

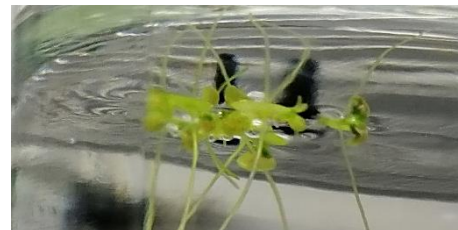


Abbildung 15: Wurzeln bei 218 µg/L Metolachlor.
Die Wurzeln wachsen leicht verkürzt (eigene Aufnahme).



Abbildung 16: Fronds bei 512 µg/L Terbutylazin.
Die Fronds weisen keine veränderte Gestalt auf (eigene Aufnahme).

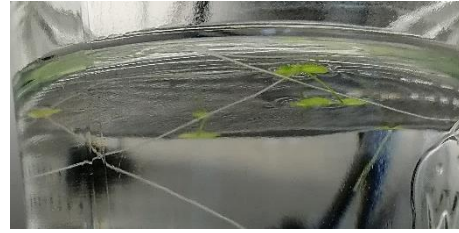


Abbildung 17: Wurzeln bei 512 µg/L Terbutylazin.
Die Wurzeln wachsen stark verkürzt (eigene Aufnahme).



Abbildung 18: Fronds bei 620 µg/L Isoproturon.
Die Fronds weisen keine veränderte Gestalt auf (eigene Aufnahme).



Abbildung 19: Wurzeln bei 620 µg/L Isoproturon.
Die Wurzeln wachsen stark verkürzt (eigene Aufnahme).



Abbildung 20: Fronds bei EC₉₀ der Mischung.
Es sind keine neuen Fronds gewachsen (eigene Aufnahme).



Abbildung 21: Wurzeln bei EC₉₀ der Mischung.
Die Wurzeln sind hell und in Nähe der Wasseroberfläche (eigene Aufnahme).

4. Diskussion

4.1 Einzelsubstanzen

Ein Vergleich der EC_x der getesteten Einzelsubstanzen zeigt einen deutlichen Unterschied der Toxizitäten. Je geringer der EC_{50} einer Substanz ist, umso toxischer wirkt diese Substanz, da nur eine geringe Substanzkonzentration nötig ist, um eine Hemmung von 50 % auszulösen.

Diflufenican erreicht eine 50-prozentige Wachstumshemmung bei geringster Substanzkonzentration $EC_{50} = 20,41 \mu\text{g/L}$, der Literaturwert liegt bei $56 \mu\text{g/L}$ (PPDB 2021a). Darauf folgt Terbuthylazin mit einem $EC_{50} = 42,62 \mu\text{g/L}$, der Literaturwert beträgt $12,8 \mu\text{g/L}$ (PPDB 2021c). Der Test mit Metolachlor zeigt einen $EC_{50} = 56,17 \mu\text{g/L}$, hier liegt der Literaturwert bei $43 \mu\text{g/L}$ (PPDB 2021b). Für Isoproturon wird die höchste Substanzkonzentration $EC_{50} = 106 \mu\text{g/L}$ benötigt, um eine Wachstumshemmung von 50 % zu erreichen, der Literaturwert liegt bei $27,85 \mu\text{g/L}$ (PPDB 2021d).

Da in der Literatur die EC_{50} für die Biomassen und nicht für die Frondzahlen oder die EC_{10} zu finden sind, können keine eindeutigen Vergleiche gezogen werden.

Bei Betrachtung der Einzelsubstanzen in einer gemeinsamen Abbildung (siehe Abb. 8) fällt auf, dass Diflufenican die giftigste Substanz ist, die Kurve erreicht bei geringsten Konzentrationsmengen die maximale Wachstumshemmung von 95 %. Dabei liegt keine Überschneidung mit den Kurvenverläufen der anderen Herbizide vor. Es folgt die Kurve von Terbuthylazin, wobei eine Überschneidung mit dem Kurvenverlauf von Metolachlor im Bereich des EC_{60} zu beobachten ist. Terbuthylazin erreicht eine bis zu 50-prozentige Hemmung des Wachstums bei geringeren Konzentrationen, als dies bei Metolachlor der Fall ist. Die Steigung der Kurve ist deutlich geringer, so wird der EC_{60} bis EC_{95} erst bei höheren Konzentrationen erreicht. Damit mittels Metolachlor der EC_{50} erreicht werden kann, müssen höhere Konzentrationen der Substanz eingesetzt werden, als es bei Terbuthylazin der Fall ist. Die Steigung der Kurve ist deutlich höher, sodass Metolachlor einen EC_{95} bei geringerer Konzentration als Terbuthylazin erreicht. Da in einem realen Gewässer nur geringe Konzentrationen vorliegen und eine 95-prozentige Hemmung damit ausgeschlossen werden kann, wird der EC_{10} bzw. EC_{50} zur Beurteilung der Toxizität betrachtet. Aufgrund dieser Ergebnisse kann Terbuthylazin als toxischer eingestuft werden. Für das Erreichen einer

Hemmung durch Isoproturon sind die höchsten Konzentrationen nötig, daher ist dieses Pesticid im Experiment die Substanz mit der geringsten Toxizität.

4.1.1 Substanzeigenschaften

Die folgenden und weitere Substanzeigenschaften sind in den Tabellen 2-5 abgebildet.

Die Aufnahme der Herbizide über die Wurzel wird durch die große Oberfläche der Wurzelhaare gewährleistet. Die Herbizide werden in den Wurzelapoplasten aufgenommen, dieser endet an der Endodermis. Um in den Symplasten zu gelangen, muss der Caspary-Streifen überquert werden können. An den Regionen der Wurzelspitzen ist der Caspary-Streifen nur vermindert ausgeprägt, sodass Herbizide hauptsächlich dort in den Symplasten aufgenommen werden können. Je geringer der pH-Wert einer schwachen Säure, umso höher die Absorptionsrate über die Wurzel. Nach Aufnahme schwacher Säuren in das Cytoplasma ($\text{pH} = 7,5$) dissoziieren diese und die Herbizidanionen werden akkumuliert. Über die Wurzeln aufgenommene Herbizide werden durch den Transpirationssog im Xylem transportiert. Verdunstet das Wasser an der Blattoberfläche, wird das Wasser von den Wurzeln bis in die Sprossspitze gezogen. Durch Rückstrom aus dem Symplasten in den Apoplasten gelangen die Herbizide in die Xylembahnen. Bei Angiospermen wie *Lemna gibba* bilden die Wasserleitsysteme neben den Tracheiden, auch die Tracheen. Herbizide, die ihren Wirkort in den Chloroplasten besitzen, werden so mit dem Transpirationsstrom in die Blätter transportiert. Die Xylemtranslokation wird definiert durch den Transpirationsstromkonzentrationsfaktor. Ein maximaler TSCF liegt bei einem $\log K_{ow} = 1,8$ vor (Hock et al. 1995).

Für die Interaktion einer Substanz mit einem Organismus ist ein Überqueren der Zellmembranen notwendig, dies erfolgt per Diffusion oder über Proteinkanäle. Moleküle mit hoher Lipophilie und geringer Wasserlöslichkeit können leicht durch die Phospholipiddoppelschichten diffundieren. Umso höher der Lipidgehalt des Organismus und die Lipophilie der Substanz, desto höher die Bioakkumulation. Der $\log K_{ow}$ einer Substanz ermöglicht Einschätzung der, zu erwartenden, Bioakkumulation. Ab einem $\log K_{ow} > 3$ kann eine Bioakkumulation der Substanz erwartet werden (Hock 1995). Bis auf Isoproturon ($\log K_{ow} = 2,5$) besitzen alle getesteten Herbizide einen $\log K_{ow} > 3$, für Diflufenican liegt der Wert am Höchsten, mit einem $\log K_{ow} = 4,2$ (PPDB 2021d, 2021a).

Der Biokonzentrationsfaktor gibt das Verhältnis von Stoffkonzentration im Organismus zu Stoffkonzentration im Umgebungsmedium an, es wird sich dabei auf ein experimentell bestimmtes Gleichgewicht von Aufnahme und Elimination der Substanz bezogen (Hock 1995). Die Einordnung des BCF gemäß der REACH-Verordnung klassifiziert Substanzen zwischen 10-100 als mäßig bioakkumulativ, ab 100-1000 bioakkumulativ und bei einem BCF zwischen 1000-5000 wird von hoch bioakkumulativ gesprochen (BG BAU 2021). Die Herbizide Metolachlor und Terbutylazin werden hiernach als mäßig bioakkumulativ eingeschätzt, Isoproturon als bioakkumulativ und Diflufenican mit einem BCF = 1276 L/kg (PPDB 2021a) gilt als hoch bioakkumulativ.

Es besteht somit ein hohes Potential, dass sich alle vier Herbizide in ihrer belebten Umwelt und damit in der Nahrungskette anreichern. Zudem werden Diflufenican und Terbutylazin als biologisch nicht leicht abbaubar eingestuft (PPDB 2021a, 2021c).

Der DT_{50} gibt an nach wieviel Tagen 50 % der ursprünglich vorhandenen Herbizidmenge im Wasser aufgelöst ist. Bei einer siebentägigen Versuchsdauer ist zu bedenken, dass für Terbutylazin $DT_{50} = 6$ Tage (PPDB 2021c), am sechsten Versuchstag nur die Hälfte der ursprünglich eingesetzten Konzentration vorhanden ist. Somit werden die Auswirkungen auf die Frondzahl an Tag sieben abgeschwächt. Um weitere Verfälschungen zu vermeiden, wurde auf nachjustieren der Konzentration verzichtet. Terbutylazin gehört nicht nur zu den Herbiziden, sondern auch zu den Mikrobioziden und Algiziden (PPDB 2021c), somit erhöht sich das Schädigungspotential weiterer Nicht-Zielorganismen.

4.2 Mischung

Ein Vergleich des modellierten und experimentell geprüften Kurvenverlaufs der Mischung zeigt große Ähnlichkeit. Dennoch erwies sich die experimentelle Mischung als weniger toxisch, hier sind höhere Konzentrationen nötig, um die jeweiligen Hemmungen auszulösen. Das CA-Modell zeigt einen Kurvenverlauf mit höherer Steigung, dieser ist toxischer.

4.2.1 Wirkort und Wirkmechanismus

Wie in Abbildung 9 gezeigt verhalten sich die getesteten Substanzen in einer quartären Mischung konzentrationsadditiv. Eine Konzentrationsadditivität wird dann erwartet, wenn die Mischungskomponenten denselben Wirkort besitzen und einen ähnlichen Wirkmechanismus aufweisen (Escher & Vermeissen 2008).

Die Annahme, dass es sich beim selben Wirkort um die Chloroplasten handelt und die Wirkmechanismen ähnlich genug sind, um von einer Konzentrationsadditivität auszugehen, wurde bestätigt.

Dennoch ist keine vollständige Übereinstimmung der experimentell ermittelten und der mittels dem CA-Modell erstellten Kurve zu beobachten. Im Folgenden werden daher die unterschiedlichen Wirkweisen der vier Herbizide diskutiert und auf Abweichungen eingegangen, welche mögliche Differenzen der zwei Kurvenverläufe begründen könnten.

Terbuthylazin gehört zur Stoffgruppe der Triazine, darunter in die Gruppe der Chlortriazine. Herbizide dieser Stoffgruppe hemmen den Elektronentransport im PS II. Ebenfalls ein Herbizid, welches den Elektronentransport im PS II hemmt, ist das Isoproturon, dieses gehört zu den Phenylharnstoffen (Hock et al. 1995). Die oxygene Photosynthese der höheren Pflanzen besteht aus zwei Photosystemen, PS I/II und findet in den Chloroplasten statt. Durch das PS II wird im Licht Plastochinon reduziert und Sauerstoff gebildet (Hock 1995). Das PS II besteht aus einer Einheit, welche aus 15 hydrophoben Polypeptiduntereinheiten zusammengesetzt ist, dazu zählen das D1 und D2 Protein. Sie sind für die primäre Ladungstrennung und den Elektronentransport zuständig. D1 und D2 unterscheiden sich aufgrund ihrer Plastochinonbindestellen. Das proteingebundene Plastochinon Q_A liegt festgebunden an der Bindestelle von D2, während Q_B temporär an der D1 - Bindestelle knüpft. Dadurch können hier Herbizide binden, welche dann die Reduktion des Plastochinons Q_B verhindern und den Elektronentransport hemmen (Hock et al. 1995). Im Normalfall übernimmt Q_B zwei Elektronen von Q_A und verlässt als Hydrochinon den PS II-Komplex, es folgt ein neues Q_B (Hock 1995). Die Herbizide des PS II unterscheiden sich in ihrer Bindungsart an den Plastochinonbindestellen, welche durch Aminosäureverknüpfungen ermöglicht werden. Zusätzlich hemmen die Herbizide das Entfernen geschädigter D1 Proteine aus der Membran durch Bindung. Sobald eine Schädigung des D1 Proteins vorliegt, kommt es im Normalfall zum schnellen Ersatz in Folge des pflanzlichen Photooxidationsschutzmechanismus (Hock et al. 1995). Der Photosyntheseapparat wird somit zerstört.

Diflufenican gehört zur Stoffgruppe der Carboxamide und führt zu Chlorosen, welche auf einen Mangel an Carotinen durch Hemmung der Carotinoidbiosynthese zurückzuführen sind (Hock et al. 1995). Die membrangebundenen Pigment-Protein-Komplexe des Photosyntheseapparats bestehen neben Chlorophyll auch aus akzessorischen Pigmenten, den Carotinoiden.

Carotinoide absorbieren Licht und übertragen diese Energie auf Chlorophyll. Werden die Chlorophylle durch diese Lichtenergie angeregt, kommt es zu einem Triplettzustand der Chlorophylle, welche ihre gesammelte Energie auf Sauerstoff übertragen, wodurch dieser zu Singulett-Sauerstoff reagiert. Dies führt zur Oxidation unterschiedlicher Kompartimente des Photosyntheseapparats. Um diese Oxidation zu verhindern, übernehmen Carotinoide die überschüssige Energie der Triplettchlorophylle und geben diese in Form von Wärme ab. Durch die Herbizidwirkung kommt es zur Verringerung der Carotinoid-konzentration, wodurch die Energieabführung nicht mehr gegeben ist. Es folgt das Ausbleichen der Chlorophylle bei Lichteinfall und die Pflanzenbestandteile erscheinen weiß, die Photosyntheseleistung ist stark eingeschränkt. Diflufenican gehört zu den Phytoendesaturasehemmstoffen, in in-vitro Tests wurde gezeigt, dass bei zunehmender Konzentration des Herbizids, die Carotinoidbildung abnimmt und dafür Phytoen angehäuft wird, sowie eine photooxidative Störung des Chlorophylls auftritt. Phytoen ist die Vorstufe von Carotinoiden im Carotinoidbiosyntheseweg (Hock 1995).

Metolachlor gehört in die Stoffgruppe der Chloracetamide, sie besitzen eine hemmende Wirkung auf die Fettsäuresynthese und Membranfunktion (Hock et al. 1995). Chloracetamide verringern die Synthese von langkettigen Fettsäuren, wodurch das Ausbilden epicuticulärer Wachse verringert wird. Es wird vermutet, dass verschiedene Elongasen gehemmt werden, ein genauer Mechanismus ist nicht bekannt (Hock 1995). Bei der Einteilung des Wirkorts findet sich Uneinigkeit, so gilt das Herbizid zum einen als überwiegend bzw. ausschließlich außerhalb der Chloroplasten wirkend. Dennoch heißt es auch, dass in Chloroplasten unter anderem die Fettsäuresynthese stattfindet, wodurch Chloroplasten auch zum Wirkort von Herbiziden wie Metolachlor werden (Hock et al. 1995).

Dies könnte die leichte Verschiebung des experimentell ermittelten Graphen von dem CA-Modell erklären, da somit nicht alle vier Herbizide demselben Wirkort entsprechen.

4.2.2 Herbizide Wirkungsketten

Die primäre Wirkung eines Herbizids ergibt sich durch die molekulare Bindung an einem Proteinbindeort. Neben dieser Hauptwirkung kann es zu weiteren primären Nebenwirkungen kommen, wenn beispielsweise eine hohe Konzentration notwendig ist, um die eigentliche Hauptwirkung auszulösen. Durch die erhöhte Konzentration erhöht sich auch die Wahrscheinlichkeit von weiteren Bindungen an Targetproteine. Unter den sekundären

Wirkungen verstehen sich die Folgen aus der primären Wirkung, beispielsweise ein durch die Bindung an das Targetprotein ausgelöster Synthesausfall. Von tertiären Wirkungen spricht man bei visuell erkennbaren, später auftretenden Herbizidwirkungen wie Wachstumseffekten (Hock et al. 1995). Neben den untersuchten Wachstumseffekten wurden weitere visuell erkennbare Auswirkungen der Herbizide festgestellt, die in den Abbildungen 10-21 zu sehen sind. Da diese nicht dem primären Untersuchungsbild entsprechen, werden sie hier als „sekundäre Effekte“ aufgeführt. Diese Bezeichnung ist nur auf das Versuchsziel und nicht auf etwaige Wirkmechanismen zurückzuführen.

4.3 Umwelt / Nutzen / Anwendung

Um das potentielle Ausmaß der Herbizidnutzung verstehen zu können, ist es sinnvoll die Anwendung und Nutzung dieser zu betrachten.

Deutschland ist landwirtschaftlich sehr aktiv. Im Jahr 2019 wurde etwa 16,6 mio. ha der Landfläche landwirtschaftlich genutzt. Dabei wird etwa 70 % Ackerbau betrieben. Die größte Anbaumenge stellt Getreide dar, darunter große Mengen Weizen, Gersten und Roggen. Ebenfalls wird eine große Menge Mais angebaut, ca. 2,6 mio. ha, vor allem Silomais welcher zu Futterzwecken genutzt wird und Körnermais. Die Getreide Weizen und Gerste werden auf 3,1 mio. ha angepflanzt. Ertragreiche Ernte beginnt schon vor dem Aussähen, so wird in vielen Fällen eine konservierende Bodenbearbeitung eingesetzt, wobei mittels Grubber die Bodenschichten gelockert und vermischt werden. Dies erhält die Bodenstruktur und schont Bodenlebewesen. Ziel ist es eine geringere Anfälligkeit durch Wetterereignisse und eine verminderte Trockenheit zu gewährleisten. Solche Bedingungen eignen sich ideal für das Wachstum von Unkräutern, welche dann mit Vernichtungsmitteln bekämpft werden. Ohne diesen Einsatz würden etwa ein Drittel der Erträge ausbleiben, was bei Grundnahrungsmitteln ein weitreichendes Problem auslösen würde. Landwirte sind somit auf die Verwendung von Pflanzenschutzmitteln zum Erhalt ihrer Existenz angewiesen (BZL 2021). Eine nachhaltig verminderte Verwendung von Pflanzenschutzmitteln mittels unterschiedlicher Zielsetzungen wird durch den Nationalen Aktionsplan Pflanzenschutz angestrebt (NAP 2021).

Beim Auftragen der Herbizide gibt es unterschiedliche Modelle. Vorlaufherbizide werden vor dem Auflaufen der Kultur aufgetragen und wirken über die Böden, werden also über die

Wurzeln aufgenommen. Nachlaufherbizide können sowohl über die Böden als auch über die Blätter aufgenommen werden, das Auftragen erfolgt somit nachdem die Kulturen aufgelaufen sind. Die Vorsaateinarbeitung erfolgt durch Eintrag in die Böden, ohne dass die Kultur gesät wurde (Hock et al. 1995). Terbutylazin dient insbesondere als Ersatzherbizid für Atrazin und wird im Maisanbau durch Vorlaufenanwendung eingesetzt. Isoproturon wird sowohl in Vorlaufenanwendung, als auch in Nachlaufenanwendung, in Getreide gegen Gräser eingesetzt. Diflufenican wird in Vorlauf- und Nachlaufenanwendung in Getreide gegen dikotyle Unkräuter eingesetzt. Metolachlor findet als Herbizid unter anderem in Mais und Sojabohnen gegen Gräser und Dikotyle Anwendung. Aufgetragen wird es durch Vorlaufenanwendung oder Vorsaateinarbeitung (Hock et al. 1995).

Somit werden alle vier Herbizide als Pflanzenschutzmittel in den zwei größten Anbaubereichen Deutschlands eingesetzt, dem Maisanbau und dem Getreideanbau. Damit besteht ein großes Potential der Wirkung auf Nicht-Zielorganismen.

Agrarlandschaften sind durchzogen von kleinen Gewässern, welche einem hohen Eintrag von Pflanzenschutzmitteln ausgesetzt sind. Die Fließgewässerstrecke Deutschlands setzt sich hauptsächlich aus diesen kleinen Gewässern zusammen. Zum Schutz der Gewässer werden mittels Monitoringdaten und Toxizitätstests sogenannte regulatorisch akzeptable Konzentrationen bestimmt, diese Konzentrationen gelten als maximal tolerierbar und damit als wieder erholbar. Ziel des NAP ist es bis 2023 eine Überschreitung der RAK in kleinen Gewässern zu vermeiden. Neben den Überschreitungen der RAK werden auch Umweltqualitätsnormen für den Jahresdurchschnitt und zulässige Höchstkonzentrationen berechnet, um Belastungen langfristig reduzieren zu können (UBA 2021).

Die Werte der Überschreitungen beziehen sich im Folgenden auf die Monitoringdaten des 1. Teilprojekts des FuE-Vorhabens, welches in den Jahren 2005 bis 2015 bundesweit durch die Bundesanstalt für Gewässerkunde durchgeführt wurde. Alle vier Herbizide fallen unter die 20 am häufigsten Gefundenen (UBA 2021).

Die RAK für Diflufenican beträgt 0,025 µg/L und wurde anhand des Nicht-Zielorganismus *Desmodesmus subspicatus* bestimmt (ETOX 2021). Überschreitungen dieses Werts wurden 200-mal gemessen, damit steht Diflufenican hinter Chlorpyrifos an 2. Stelle der häufigsten RAK-Überschreitungen innerhalb der Herbizide (UBA 2021).

Für Isoproturon wurde ein RAK = 1,3 µg/L anhand des Nicht-Zielorgansimus *Navicula pelliculosa* bestimmt (ETOX 2021), dieser wurde 39-mal überschritten (UBA 2021).

Die RAK für Terbutylazin beträgt 1,9 µg/L, wurde bestimmt anhand Toxizitätstest mit *Daphnia magna* (ETOX 2021) und zeigt 14 Überschreitungen (ausgehend von einer RAK = 1,2 µg/L) (UBA 2021). Eine RAK = 1,22 µg/L für Metolachlor wurde durch Tests mit *Lemna gibba* bestimmt (ETOX 2021) und 70-mal überschritten (UBA 2021).

Die vier getesteten Herbizide finden sich auch unter den häufigsten JD-UQN-Überschreitungen. Angeführt von Diflufenican mit 621 Überschreitungen der JD-UQN = 0,009 µg/L. Für Isoproturon liegen 196 Überschreitungen bei einer JD-UQN = 0,3 µg/L vor. Zudem wurde die ZHK-UQN = 1 µg/L, 54-mal überschritten. Insgesamt 70 Überschreitungen der JD-UQN von 0,2 µg/L wurden für Metolachlor gemessen. Terbutylazin zeigt hier den geringsten Überschreitungswert von 55, bei einer JD-UQN = 0,5 µg/L (UBA 2021).

Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen RAK-Überschreitungen und landwirtschaftlichen Flächen im Bereich der Gewässer (UBA 2021).

Bei den Probennahmen im Einzugsgebiet der Horloff wurden 57 Pestizide, darunter 17 Metabolite gefunden. Als Folge der Starkregenereignisse wurden 40 unterschiedliche Pestizide, 11 Fungizide und 5 Insektizide detektiert. Im Monat Mai wurde der höchste Verunreinigungsgrad mit Pestiziden festgestellt. S-Metolachlor wies eine maximale Konzentration von 14,5 µg/L auf, dies entspricht einer 11,89-fachen Überschreitung der RAK. Für Terbutylazin wurde eine Konzentration von 8,69 µg/L gemessen, somit besteht eine 3,45-fach höhere Konzentration als die RAK es vorsieht. Die Konzentration von Diflufenican betrug 0,0470 µg/L, die RAK ist etwa halb so hoch. Für Isoproturon wurde keine Überschreitung festgestellt, die ermittelte Konzentration beträgt hier 0,01 µg/L (Reutter 2019). Auf die Probennahmen folgten in-vivo und in-vitro Tests, welche mit den Testorganismen *Daphnia magna* und *Cellulomonas uda* (Reutter 2019) sowie *Hyalella azteca*, *Chironimus riparius* und *Aliivibrio fischeri* durchgeführt wurden (Ratz 2019). Als Folge der Starkregenereignisse konnten hohe Pestizidkonzentrationen nachgewiesen werden, eine genaue Verknüpfung mit biologischen Antworten besteht aber nicht (Ratz 2019).

Ein Vergleich der Daten aus den Freilandproben mit den Laborversuchen kann nur hypothetisch erfolgen. Die Freilandbedingungen weichen, aufgrund der biotischen und abiotischen Einflüsse auf die Organismen, von den Bedingungen im Labor ab.

Die maximale Diflufenicankonzentration von 0,0470 µg/L (Reutter 2019) aus den Probenahmen der Horloff zeigten im Laborversuch keine Auswirkungen auf das vegetative Wachstum von *Lemna gibba*. Diese Konzentration liegt weit unter dem $EC_5 = 6,854 \mu\text{g/L}$. Bereits bei einer getesteten Konzentration von 0,448 µg/L konnten keine Auswirkungen auf das Wachstum beobachtet werden. Für die maximale Isoproturonkonzentration = 0,01 µg/L (Reutter 2019) konnte im Laborversuch ebenfalls keine hemmende Wirkung auf das Wachstum von *Lemna gibba* festgestellt werden. Es zeigten sich erste Hemmungen ab einer Konzentration von 1,24 µg/L. Der $EC_5 = 17,63 \mu\text{g/L}$ wird auch hier weit unterschritten. Die maximale Konzentration von S-Metolachlor = 14,5 µg/L (Reutter 2019) der Probennahme, liegt ebenfalls unterhalb des $EC_5 = 23,61 \mu\text{g/L}$ aus dem Laborversuch mit Metolachlor. Hemmungen zeigten sich im Laborversuch ab einer Konzentration von 0,0688 µg/L. Zu beachten ist auch hier die Differenz von S-Metolachlor zu Metolachlor. Die Messung der Terbutylazinkonzentration ergab eine Konzentration von 8,69 µg/L (Reutter 2019). Diese Konzentration zeigte im Laborversuch eine Hemmung des Wachstums von 10 %. Der $EC_{10} = 10,28 \mu\text{g/L}$ besitzt ein 95 %-Konfidenzintervall von 7,369-14,37 µg/L, in diesem ist somit die Freilandkonzentration enthalten. Die hohe Terbutylazinkonzentration hätte hier den höchsten Einfluss auf das vegetative Wachstum von *Lemna gibba*. Eine Mischung der Herbizide mit diesen Konzentrationen wäre weniger toxisch als die experimentelle Mischung dieser Arbeit.

Da neben diesen vier Herbiziden noch weitere 36 an den Probestellen der Horloff gemessen wurden, ist eine Vorhersage der Auswirkungen als Mischung nicht möglich. Auch wenn einige Maximalkonzentrationen der Horloff in den Laborversuchen keine Hemmung des Wachstums von *Lemna gibba* zeigen, liegen die Werte dennoch teilweise weit über den vorgegebenen RAK. Ein Einfluss auf die Gewässerqualität und Nicht-Zielorganismen ist dadurch in jedem Falle gegeben und muss vermindert werden.

4.4 Einfluss der Testbedingungen

Eine fehlerfreie Arbeit ist nie gegeben. Während der unterschiedlichen Testwochen gibt es einige Faktoren, welche zu Ungenauigkeiten oder Schwankungen der Testergebnisse geführt haben können. Innerhalb der Testwochen wurden die verwendeten Stammlösungen ca. dreimal frisch angesetzt, wodurch es nicht möglich war alle Versuche mit dem gleichen Medium anzusetzen. Ebenfalls konnte nicht gewährleistet werden, dass die Herbizide mit demselben DMSO gelöst wurden oder dass dieses zuvor keinerlei Verunreinigungen ausgesetzt wurde. Die Waagen, sowie die Messzylinder weisen eigene Fehlerbereiche auf. Insbesondere beim Abmessen mit den Messzylindern kann es je nach subjektiver Wahrnehmung zu Differenzen der Volumina kommen. Beim Einsetzen und Zählen der Fronds kann es leicht zu falschen Zählungen kommen oder bereits kleine neue Frondansätze werden übersehen. Die Gestaltwandlung der Fronds bei den Herbiziden Metolachlor und Terbutylazin erschweren das Zählen der Fronds, da diese nur minimal ausgeprägt oder optisch schwer trennbar sind.

4.4.1 Abweichung zur OECD

Die OECD-Testrichtlinie 221 sieht eine pH-Messung, Licht-Messung und tägliche Temperatur-Messung vor. Während der Versuchsdurchführung wurde weder das Licht noch die Temperatur gemessen. Die Testgefäße wurden im Inkubator bei 24 °C und 66 % Luftfeuchtigkeit inkubiert, dabei kann es bei längerem Öffnen des Inkubators zu Schwankungen kommen. Auch der pH-Wert wurde nicht getestet. Terbutylazin und Isoproturon gelten als nicht pH-sensitiv (PPDB 2021c, 2021d). Für Metolachlor wurde keine Angabe gemacht, Diflufenican gilt als pH-sensitiv (PPDB 2021b, 2021a). Durch das fehlende Testen der pH-Werte kann es hier also zur Beeinflussung der Ergebnisse gekommen sein. Außerdem ist es vorgesehen die Anzahl der Fronds pro Kolonien in allen Gefäßen identisch zu halten, beim Einsetzen wurde nur die gleiche Frondzahl, aber nicht die gleiche Anzahl Kolonien beachtet. Die OECD-Testrichtlinie schreibt zudem vor, dass Kulturen und Testgefäße nicht gemeinsam untergebracht werden, dies kann nicht gewährleistet werden, da nur ein Inkubator zur Verfügung steht (OECD 2021).

5. Fazit

Der wachstumsschädigende Einfluss von Herbiziden auf den Nicht-Zielorganismus *Lemna gibba* wurde eindeutig aufgezeigt. Alle vier Herbizide zeigen hemmende Auswirkungen auch bei Konzentrationen unterhalb der EC_{10} . In Mischung zeigen die Substanzen eine konzentrationsadditive Wirkung. Die Hypothese „*In der Mischung verhalten sich die vier Mischungskomponenten konzentrationsadditiv*“ konnte damit bestätigt werden. Dennoch liegt keine einheitliche Überschneidung der Kurvenverläufe des CA-Modells und des Experiments vor. Dafür können unterschiedliche Faktoren auslösend sein.

Für weiterführende Experimente wäre es von Interesse zu beobachten, welchen Einfluss ein nachjustieren der Terbutylazinkonzentration auf die Kurvenverläufe hätte. Ebenfalls wäre in Erwägung zu ziehen, den Versuch ohne Metolachlor durchzuführen, da hier Diskussionspotential besteht, ob der Wirkort im Vergleich zu den anderen Herbiziden ausreichend übereinstimmt. Da in einem realen Gewässer eine Vielzahl von Chemikalien auf die dort lebenden Organismen einwirken und miteinander wechselwirken, sind Toxizitätstests mit ausgewählten Substanzen nur bedingt aussagekräftig und realitätsgetreu, gegenüber den Einwirkungen einer Vielzahl von Stressoren. Die durchgeführten Versuche beinhalten eine ausschließliche Bewertung der Toxizität in vollständiger Wasserlösung, in einem realen Gewässer liegen weitere Organismen sowie Sedimente vor. Die Notwendigkeit der Eindämmung von Herbiziden und allgemein Pestiziden liegt auf der Hand und bedarf erhöhten Kontrollen, um langfristige Schäden zu vermeiden, sowie bereits bestehende Schäden vermindern zu können.

Literaturverzeichnis

- BG BAU (2021) - Berufsgenossenschaft der Bauwirtschaft (2021) | Biokonzentrationsfaktor BCF. Online verfügbar unter <https://www.bgbau.de/themen/sicherheit-und-gesundheit/gefahrstoffe/sicherheitsdatenblatt/biokonzentrationsfaktor-bcf/>, zuletzt aktualisiert am 05.09.2021, zuletzt geprüft am 06.09.2021.
- BMU (2021a) - Bundesumweltministeriums (2021): Die Europäische Wasserrahmenrichtlinie und ihre Umsetzung in Deutschland. Online verfügbar unter <https://www.bmu.de/themen/wasser-abfall-boden/binnengewasser/gewaesserschutzpolitik/deutschland/umsetzung-der-wrrl-in-deutschland>, zuletzt aktualisiert am 30.07.2021, zuletzt geprüft am 30.07.2021.
- BMU (2021b): Ökotoxische Kombinationswirkungen von Stoffgemischen - BMU-FKZ-Bericht. Online verfügbar unter <https://www.bmu.de/download/oekotoxische-kombinationswirkungen-von-stoffgemischen>, zuletzt aktualisiert am 27.05.2021, zuletzt geprüft am 27.05.2021.
- BUND (2021a): Pestizide: Definition, Einsatzgebiete, Wirkung und Risiken <https://www.bund.net/umweltgifte/pestizide/>, zuletzt aktualisiert am 19.05.2021, zuletzt geprüft am 19.05.2021.
- BUND (2021b): Die Wasserrahmenrichtlinie: Gewässerschutz von der Quelle bis zur Küste. Online verfügbar unter <https://www.bund.net/fluesse-gewaesser/wasserrahmenrichtlinie/>, zuletzt aktualisiert am 30.07.2021, zuletzt geprüft am 30.07.2021.
- BZL (2021) - Bundesinformationszentrum Landwirtschaft: Was wächst auf Deutschlands Feldern? (2021). Online verfügbar unter <https://www.landwirtschaft.de/landwirtschaft-verstehen/wie-arbeiten-foerster-und-pflanzenbauer/was-waechst-auf-deutschlands-feldern>, zuletzt aktualisiert am 02.09.2021, zuletzt geprüft am 02.09.2021.
- Cañero, Ana I.; Cox, Lucía; Redondo-Gómez, Susana; Mateos-Naranjo, Enrique; Hermosín, María C.; Cornejo, Juan (2011): Effect of the herbicides terbuthylazine and glyphosate on photosystem II photochemistry of young olive (*Olea europaea*) plants. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 59 (10), S. 5528–5534. DOI: 10.1021/jf200875u.
- Erstes Deutsches Fernsehen (ARD) (2021): Glyphosat – Gift, das sich vom Acker macht | W wie Wissen. DasErste.de. Online verfügbar unter <https://www.daserste.de/information>

/wissen-kultur/w-wie-wissen/glyphosat-142.html, zuletzt aktualisiert am 23.05.2021, zuletzt geprüft am 23.05.2021.

Escher, Beate Isabella; Vermeirssen, Etiënne (2008): Konzepte zur Beurteilung von Mischungen und Einbezug von Mischungen in die Ableitung von toxikologisch begründeten Qualitätskriterien für östrogenartig wirkende Stoffe: Mikroverunreinigungen in Schweizerischen Fließgewässern. Unter Mitarbeit von Eidgenössische Anstalt Für Wasserversorgung, Abwasserreinigung Und Gewässerschutz. Eawag (ETH Zurich). Online verfügbar unter <https://www.research-collection.ethz.ch/handle/20.500.11850/150720>.

ETOX (2021): Informationssystem Ökotoxikologie und Umweltqualitätsziele (2021). Online verfügbar unter <http://webetox.uba.de/webETOX/public/basics/literatur/download.do;jsessionid=D5D6C7CC7E47A3921A2A3EE9F08DDF68?id=528>, zuletzt aktualisiert am 08.09.2021, zuletzt geprüft am 08.09.2021.

Fent, Karl (2013): Ökotoxikologie. Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie. 4., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme.

GESTIS (2021a): Online verfügbar unter <https://gestis.dguv.de/data?name=531518>, zuletzt aktualisiert am 29.04.2021, zuletzt geprüft am 19.05.2021.

GESTIS (2021b): Online verfügbar unter <https://gestis.dguv.de/data?name=490728>, zuletzt aktualisiert am 29.04.2021, zuletzt geprüft am 25.05.2021.

GESTIS (2021c): Online verfügbar unter <https://gestis.dguv.de/data?name=510466>, zuletzt aktualisiert am 29.04.2021, zuletzt geprüft am 24.05.2021.

GESTIS (2021d): Online verfügbar unter <https://gestis.dguv.de/data?name=490706>, zuletzt aktualisiert am 29.04.2021, zuletzt geprüft am 28.05.2021.

GHS (2021): GHS Classifications (2021). Online verfügbar unter <https://www.echemportal.org/echemportal/page/133>, zuletzt aktualisiert am 09.02.2021, zuletzt geprüft am 19.05.2021.

Haeupler, Henning; Muer, Thomas (2007): Bildatlas der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands. 2., korr. u.erw. Aufl. Stuttgart (Hohenheim): Eugen Ulmer (Die Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands, / hrsg. vom BN, Bundesamt für Naturschutz ; 2).

- Hock, Bertold (Hg.) (1995): Schadwirkungen auf Pflanzen. Lehrbuch der Pflanzentoxikologie. 3., überarb. Aufl. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akad. Verl. (Spektrum-Lehrbuch).
- Hock, Bertold; Fedtke, Carl; Schmidt, Robert R. (1995): Herbizide. Entwicklung, Anwendung, Wirkungen, Nebenwirkungen ; 101 Tabellen. Stuttgart: Thieme.
- Knauert, Stefanie; Escher, Beate; Singer, Heinz; Hollender, Juliane; Knauer, Katja (2008): Mixture toxicity of three photosystem II inhibitors (atrazine, isoproturon, and diuron) toward photosynthesis of freshwater phytoplankton studied in outdoor mesocosms. In: *Environmental science & technology* 42 (17), S. 6424–6430. DOI: 10.1021/es072037q.
- Kunz (2011): Online verfügbar unter <https://www.dora.lib4ri.ch/eawag/islandora/object/eawag%3A7368/datastream/PDF/Kunz-2011-Mischungstoxizitaet-in-oberflaechengewaessern>, zuletzt geprüft am 04.06.2021.
- LANUV (2021): LANUV. Online verfügbar unter <https://www.lanuv.nrw.de/umwelt/oekotoxikologie/mischungstoxizitaet-in-oberflaechengewaessern>, zuletzt aktualisiert am 27.05.2021, zuletzt geprüft am 27.05.2021.
- MPI (2021): Lipide und Vitamine in Chloropl (2021). Online verfügbar unter https://www.mpimp-golm.mpg.de/32335/research_report_844326?c=32410, zuletzt aktualisiert am 05.06.2021, zuletzt geprüft am 05.06.2021.
- Machado, Manuela D.; Soares, Eduardo V. (2021): Exposure of the alga *Pseudokirchneriella subcapitata* to environmentally relevant concentrations of the herbicide metolachlor: Impact on the redox homeostasis. In: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 207, S. 111264. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111264.
- Müller, Arndt (Hg.) (2015): Pflanzenschutzmittel in Kleingewässern. Eine Kurzstudie. Unter Mitarbeit von Antje Zithier. Bündnis 90, Die Grünen; Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland; NABU - Naturschutzbund Deutschland; Landesanglerverband Mecklenburg-Vorpommern. Schwerin, Görslow: Fraktion Bündnis 90/Die Grünen im Landtag Mecklenburg-Vorpommern; Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland (BUND) Landesverband Mecklenburg-Vorpommern; NABU Landesverband Mecklenburg-Vorpommern; Landesanglerverband Mecklenburg-Vorpommern. Online

- verfügbar unter https://www.bund-mecklenburg-vorpommern.de/fileadmin/mv/PDF/Energie/151022_Pestizid-Broschuere-07_01.pdf, zuletzt geprüft am 19.05.2021.
- NAP (2021): NAP-Pflanzenschutz Ziele des NAP (2021). Online verfügbar unter <https://www.nap-pflanzenschutz.de/ueber-den-aktionsplan/ziele-des-nap/>, zuletzt aktualisiert am 03.09.2021, zuletzt geprüft am 03.09.2021.
- NiddaMan (2016): Startseite - NiddaMan. Online verfügbar unter <https://www.niddaman.de/>, zuletzt aktualisiert am 12.12.2016, zuletzt geprüft am 30.07.2021.
- OECD (2021): Test No. 221: *Lemna sp.* Growth Inhibition Test | READ online. Online verfügbar unter https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test_9789264016194-en#page1, zuletzt aktualisiert am 19.05.2021, zuletzt geprüft am 19.05.2021.
- Pflanzenforschung (2020): Wasserlinsen als Phosphor-Recycler. Online verfügbar unter <https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/journal/wasserlinsen-als-phosphor-recycler-zwei-studenten-mit-e-10848>, zuletzt aktualisiert am 17.09.2020, zuletzt geprüft am 19.05.2021.
- PPDB (2021a): Diflufenican (Ref: AE 088657). Online verfügbar unter <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/235.htm>, zuletzt aktualisiert am 12.05.2021, zuletzt geprüft am 19.05.2021.
- PPDB (2021b): Metolachlor (Ref: CGA 24705). Online verfügbar unter <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/465.htm>, zuletzt aktualisiert am 24.05.2021, zuletzt geprüft am 25.05.2021.
- PPDB (2021c): Terbutylazine. Online verfügbar unter <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/623.htm>, zuletzt aktualisiert am 12.05.2021, zuletzt geprüft am 24.05.2021.
- PPDB (2021d): Isoproturon (Ref: HOE 16410). Online verfügbar unter <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/409.htm>, zuletzt aktualisiert am 27.05.2021, zuletzt geprüft am 28.05.2021.
- Rajapakse, N.; Ong, D.; Kortenkamp, A. (2001): Defining the impact of weakly estrogenic chemicals on the action of steroidal estrogens. In: *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 60 (2), S. 296–304. DOI: 10.1093/toxsci/60.2.296.

- Rakovic, Jelena (2014): Effects of the carotenoid inhibiting herbicide diflufenican on the photosynthesis of benthic algae. Uppsala: SLU, Dept. of Aquatic Sciences and Assessment. Online verfügbar unter <http://stud.epsilon.slu.se/6961/>.
- Ratz, Dominik: Ratz 2019 - An assessment of pesticides in small running waters in areas intensively used for agriculture using in vivo and in vitro assays.
- Reutter 2019 - Event-Related Entry of Pesticides into Surface Waters - A Field Study of Toxic Effects on Aquatic Organisms in the Horloff Catchment Area.
- Schwoerbel, Jürgen; Brendelberger, Heinz (2013): Einführung in die Limnologie. 10. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum.
- Umweltbundesamt (2021): Wasser. Online verfügbar unter <https://www.umweltbundesamt.de/themen/wasser>, zuletzt aktualisiert am 19.05.2021, zuletzt geprüft am 19.05.2021.
- UBA (2021): Umsetzung des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pestiziden. Online verfügbar unter <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/umsetzung-des-nationalen-aktionsplans-zur>, zuletzt aktualisiert am 08.09.2021, zuletzt geprüft am 08.09.2021.
- Walter, Helge-Alexander (2002): Kombinationswirkungen von Umweltchemikalien - zur Analyse der milieuabhängigen Mischungstoxizität von Kontaminanten mit unbekanntem Wirkungsmechanismus in umweltrelevanten Konzentrationen. Unter Mitarbeit von Universitäts- Und Landesbibliothek Sachsen-Anhalt und Martin-Luther Universität.
- Wang, Zhanyun; Walker, Glen W.; Muir, Derek C. G.; Nagatani-Yoshida, Kakuko (2020): Toward a Global Understanding of Chemical Pollution: A First Comprehensive Analysis of National and Regional Chemical Inventories. In: *Environmental science & technology* 54 (5), S. 2575–2584. DOI: 10.1021/acs.est.9b06379#).

Eigenständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die Bachelorarbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe. Die Arbeit wurde noch nicht in einem anderen Studiengang als Prüfungsleistung verwendet.

Ort, Datum

Anna-Isabell Abt