

Cafer Turgut

**Entwicklung und Anwendung  
eines Biotests mit *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdcourt  
zur ökotoxikologischen Prüfung von Pflanzenschutzmitteln  
in Gewässern**



Cuvillier Verlag Göttingen

Aus dem Institut für Landschafts- und Pflanzenökologie  
der Universität Hohenheim  
Fachgebiet Pflanzenökologie und Ökotoxikologie

**Entwicklung und Anwendung  
eines Biotests mit *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdcourt  
zur ökotoxikologischen Prüfung von Pflanzenschutzmitteln  
in Gewässern**

Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Agrarwissenschaft

der Fakultät Agrarwissenschaft

von  
Dipl. -Ing. agr.  
Cafer Turgut  
aus Tire / Türkei

2003

## **Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek**

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2002  
Zugl.: Hohenheim, Univ., Diss., 2003  
ISBN 3-89873-848-5

Die vorliegende Arbeit wurde am 17. Januar 2003 von der Fakultät Agrarwissenschaft der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaft“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung: 19. August 2003

1. Prodekan Prof. Dr. K. Stahr

Berichterstatter, 1. Prüferin: Priv. Doz. Dr. A. Fomin

Mitberichterstatter, 2. Prüfer: Prof. Dr. V. Römheld

3. Prüfer: Prof. Dr. A. Fangmeier

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2003  
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen  
Telefon: 0551-54724-0  
Telefax: 0551-54724-21  
[www.cuvillier.de](http://www.cuvillier.de)

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2003

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-89873-848-5

---

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>KENNTNISSTAND .....</b>	<b>4</b>
2.1	Kultivierungsbedingungen für Makrophyten .....	4
2.2	Makrophyten als Testorganismen für Pflanzenschutzmittel .....	9
2.3	Biologie und Ökologie von <i>Myriophyllum aquaticum</i> .....	12
<b>3.</b>	<b>ZIELSETZUNG DER ARBEIT .....</b>	<b>16</b>
<b>4.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>17</b>
4.1	Kultivierung von <i>Myriophyllum aquaticum</i> .....	17
4.1.1	Nährlösungen und pH-Werte .....	18
4.1.2	Sedimente und Kohlenstoffquellen .....	19
4.1.3	Wirkungskriterien.....	22
4.2	Untersuchte Pflanzenschutzmittel .....	23
4.2.1	Herbizide .....	23
4.2.2	Fungizide .....	33
4.2.3	Insektizid.....	34
4.3	Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln.....	36
4.3.1	Unmarkierte Substanzen .....	36
4.3.2	<sup>14</sup> C-markierte Substanzen .....	38
4.4	Durchführung der Toxizitätsversuche mit Sedimenten aus der Donau.....	40
4.5	Statistische Auswertung.....	40
4.5.1	Kultivierungsbedingungen .....	40
4.5.2	Ökotoxikologische Untersuchungen.....	41
<b>5.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>42</b>
5.1	Kultivierung von <i>M. aquaticum</i> unter sterilen Bedingungen.....	42
5.1.1	Wachstum in verschiedenen Nährlösungen .....	42
5.1.2	Einfluss von Saccharose als Kohlenstoffquelle auf das Pflanzenwachstum.....	43
5.1.3	Wirkung unterschiedlicher pH-Werte der Nährlösungen auf das Wachstum .....	45

5.1.4	Untersuchungen zur Ermittlung eines geeigneten Sediments als Bewurzelungssubstrat .....	46
5.1.5	Wachstum und Empfindlichkeit von <i>M. aquaticum</i> im Verlaufe eines Jahres .....	47
<b>5.2</b>	<b>Kultivierung von <i>M. aquaticum</i> unter insterilen Versuchsbedingungen .....</b>	<b>48</b>
5.2.1	Wachstum in unterschiedlichen Nährlösungen unter Zugabe von NaHCO <sub>3</sub> .....	48
5.2.2	Wachstum in unterschiedlichen Nährlösungen unter Zugabe von CaCO <sub>3</sub> .....	52
<b>5.3</b>	<b>Vorschlag einer Verfahrensdurchführung für einen Biotest mit <i>M. aquaticum</i>.....</b>	<b>56</b>
<b>5.4</b>	<b>Untersuchungen zur Toxizität von Pflanzenschutzmitteln auf <i>M. aquaticum</i> .....</b>	<b>58</b>
5.4.1	Wirkung von Herbiziden auf das Wachstum von <i>M. aquaticum</i> .....	58
5.4.1.1	Wirkung von 2,4 Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) auf das Wachstum .....	58
5.4.1.2	Wirkung von Dichlorprop-P auf das Wachstum .....	60
5.4.1.3	Wirkung von Dicamba auf das Wachstum.....	61
5.4.1.4	Wirkung von Pyridat auf das Wachstum .....	62
5.4.1.5	Wirkung von Propiquizafoxop auf das Wachstum .....	64
5.4.1.6	Wirkung von Terbutryn auf das Wachstum .....	66
5.4.1.7	Wirkung von Triflursulfuron-methyl auf das Wachstum.....	67
5.4.1.8	Wirkung von Metsulfuron-methyl auf das Wachstum.....	68
5.4.1.9	Wirkung von Thifensulfuron-methyl auf das Wachstum.....	70
5.4.1.10	Wirkung von Amidosulfuron auf das Wachstum .....	71
5.4.1.11	Wirkung von Rimsulfuron auf das Wachstum .....	73
5.4.1.12	Wirkung von Glyphosat auf das Wachstum.....	74
5.4.1.13	Wirkung von Trifluralin auf das Wachstum .....	75
5.4.1.14	Wirkung von Pendimethalin auf das Wachstum .....	77
5.4.2	Wirkung von Fungiziden auf das Wachstum von <i>M. aquaticum</i> .....	78
5.4.2.1	Wirkung von Chlorothalonil auf das Wachstum .....	78
5.4.2.2	Wirkung von Propiconazol auf das Wachstum .....	79
5.4.3	Wirkung von Insektiziden auf das Wachstum .....	81
5.4.3.1	Wirkung von Parathion .....	81
5.4.4	Vergleich der EC <sub>50</sub> -Werte aller getesteten Pflanzenschutzmittel .....	82
<b>5.5</b>	<b>Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup>C-markierten Pflanzenschutzmitteln.....</b>	<b>86</b>
5.5.1	Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup> C-markiertem Trifluralin .....	86
5.5.2	Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup> C-markiertem Triasulfuron .....	87
5.5.3	Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup> C-markiertem Terbutryn.....	89
5.5.4	Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup> C-markiertem Atrazin.....	90
5.5.5	Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup> C-markiertem Cycloxydim .....	92
<b>5.6</b>	<b>Untersuchungen zur Wirkung von Flusssedimenten auf <i>M. aquaticum</i> .....</b>	<b>93</b>

---

<b>6.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>96</b>
6.1	Kultivierung von <i>M. aquaticum</i> unter sterilen Bedingungen.....	96
6.2	Kultivierung von <i>M. aquaticum</i> unter insterilen Versuchsbedingungen .....	100
6.3	<b>Vergleich der Toxizität von Pflanzenschutzmitteln auf <i>M. aquaticum</i> mit anderen aquatischen Organismen .....</b>	<b>101</b>
6.3.1	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure , Dichlorprop-P, Dicamba, Propiquizaop .....	101
6.3.2	Triflursulfuron-methyl, Thifensulfuron-methyl, Metsulfuron-methyl, Amidosulfuron, Rimsulfuron.....	103
6.3.3	Trifluralin, Pendimethalin, Glyphosat, Pyridat, Terbutryn .....	106
6.3.4	Chlorothalonil, Propiconazol, Parathion.....	108
6.4	<b>Vergleich der Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln bei <i>M. aquaticum</i> mit anderen Pflanzen .....</b>	<b>109</b>
6.5	<b>Vergleich der Wirkung von Sedimenten aus der Donau auf <i>M. aquaticum</i> mit anderen Testorganismen.....</b>	<b>113</b>
6.6	<b>Zusammenfassende Beurteilung der Eignung von <i>M. aquaticum</i> als Testorganismus für PSM und Sedimente.....</b>	<b>114</b>
<b>7.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>116</b>
<b>8.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>118</b>
<b>9.</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>120</b>
<b>10.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>134</b>



## 1 Einleitung

Die Verwendung von Pflanzenschutzmitteln (PSM) ist aus der Land- und Forstwirtschaft nicht mehr wegzudenken. Der Einsatz birgt aber auch Risiken für die Umwelt. So stellt sich beispielsweise die Frage nach dem Verbleib von PSM in der Umwelt. Die ausgebrachten PSM können sowohl Oberflächengewässer als auch Sedimente durch Niederschlagswasser, Abdrift, Reinigung von Spritzgeräten, Brühreste sowie Austrag aus behandelten Flächen durch Runoff, Dränagen oder Interflow kontaminieren (Abb. 1, Giessler 1988; Ganzelmeier 1995; Roberts 1998). Insbesondere der Austrag von PSM durch Runoff, der bei bis zu 5 % der applizierten Wirkstoffmenge liegt (Schneider et al. 1997; Senseman et al. 1997), trägt zur Belastung der Gewässer bei. Zahlreiche Messungen zeigen, dass hohe PSM-Konzentrationen sowohl im Gewässer als auch im Sediment vorkommen (Iwakuma et al. 1993; Zaranyika et al. 1994; Muir et al. 1995; Schwackhamer et al. 1998; Turgut und Fomin 2002). Im Allgemeinen sind sedimentsorbierte Umweltchemikalien persistenter, weniger mobil und höher konzentriert als freilösliche in der Wassersäule (Larson 1989). Im Speziellen gilt auch für PSM, dass stark an Materialien adsorbierte Substanzen eine hohe Persistenz aufweisen und gegen Abbau gut geschützt sind (Cotham und Bidleman 1989).

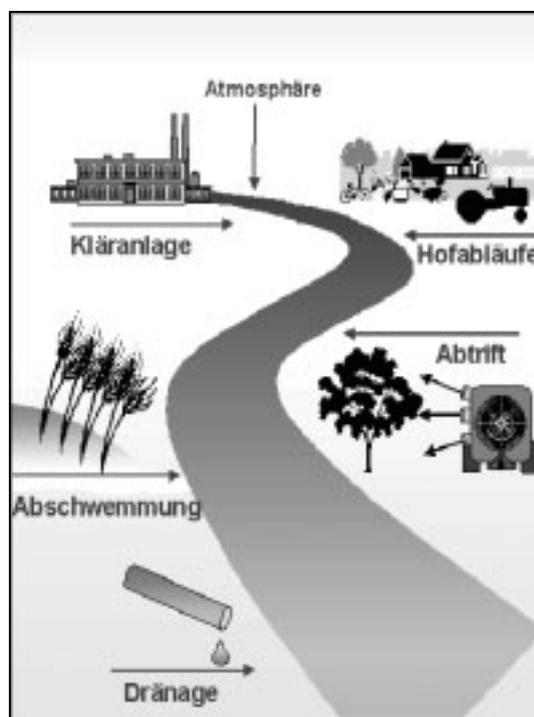


Abb. 1: Mögliche Eintragspfade von Pflanzenschutzmitteln in Gewässer (BBA 2001)

Auf diese Weise gelangen PSM besonders für Organismen, die auf oder nahe dem Gewässerboden leben, zur Exposition. Sedimente sind Lebensraum für bakterielle, aber auch für tierische und pflanzliche Organismen (Ahlf 1995). Vor allem wurzelnde Makrophyten sind gefährdet (Lee 1992). Sie sind ein wichtiger Bestandteil aquatischer Ökosysteme (Janauer 2001), da sie Primärproduzenten und Habitatsressource für andere Organismen sind und einen Lebensraum von Organismen sowie ein Rückzugsgebiet und Schutzhabitat vieler Fische darstellen (Diel 1988; Jeppesen et al. 1998). Außerdem sind sie eine proteinreiche Nahrungsquelle für Wasservögel (Mitchell und Perrow 1998). Wurzelnde Makrophyten werden häufig als Futter für Haustiere verwendet, und die Herstellung von Kompost ist verbreitet. Durch ihre Nutzung als Futterquelle können die PSM in die Nahrungskette von Organismen eingetragen werden und weiter zu Konsumenten wie Fische, Vögel, marine Mammalien und Menschen gelangen. Die Bioakkumulation von Umweltchemikalien in höheren trophischen Ebenen und die Auswirkungen auf Reproduktionsprozesse bei Organismen ist insbesondere am Beispiel des Insektizids DDT aufgezeigt worden (Lee 1992).

Eine vorsorgende Prüfung der Toxizität und Umweltrelevanz von PSM wird durch die Gesetzgebung in Deutschland reguliert. Allerdings gibt es hierbei Defizite. So wird die Abschätzung der Gefährdung wurzelnder Makrophyten durch PSM bei der Einzelsubstanzprüfung sowohl der Zulassungsprüfung für PSM (PflSchG 1986) als auch der Umweltchemikalienprüfung (ChemG 1990) nicht berücksichtigt. Bislang werden als Vertreter der aquatischen Pflanzen nur Algen sowie Wasserlinsen als Testorganismen eingesetzt.

Die Praxis zeigt allerdings, dass keine von beiden Organismengruppen zur Abschätzung der Toxizität von Umweltchemikalien im Sediment geeignet ist (Keddy et al. 1995). Bereits für gelöste Schadstoffe wird die Verwendung von Algen als Vertreter der Pflanzen kritisch diskutiert und Wasserlinsen als alternative Organismen vorgeschlagen (Fletscher 1991; Sallenave und Fomin 1997). Für eine direkte Sedimenttestung sind allerdings auch Wasserlinsen aufgrund ihrer nicht wurzelnden Lebensweise (Landolt und Kandeler 1987) nicht geeignet. Außerdem gehören Wasserlinsen zu den monokotylen Pflanzen und können in einigen Fällen der Testung von PSM nicht als Vertreter der dikotylen Pflanzen eingesetzt werden.

Die Notwendigkeit und Möglichkeit der Verwendung wurzelnder, dikotyler Makrophyten als Testorganismen ist aus wissenschaftlicher Sicht seit langem immer wieder betont worden (z. B. Fletscher 1990; Freemark et al. 1990; Keddy et al. 1995; Fairchild et al. 1997; Lewis et al. 2001). Wurzelnde Makrophyten treten direkt in Kontakt mit dem Sediment und haben ein gut entwickeltes Wurzelsystem. Untersuchungen haben gezeigt, dass diese Pflanzen

Nährstoffe und Schwermetalle auch über ihre Wurzeln aufnehmen und von dort in die oberen Teile der Pflanzen translokieren können (Guilizzoni 1991).

Erste Untersuchungen haben gezeigt, dass insbesondere Myriophyllum-Arten aufgrund ihrer Lebensweise und günstigen Kultivierungseigenschaften die Anforderungen an einen Testorganismus sowohl für eine Substanzprüfung von PSM (Roshon et al. 1999) als auch für eine Sedimentprüfung von Umweltchemikalien erfüllen könnten.

## 2 Kenntnisstand

### 2.1 Kultivierungsbedingungen für Makrophyten

#### Zusammensetzung der Nährlösungen

Bislang wurden zahlreiche Experimente mit Makrophyten unter Laborbedingungen durchgeführt, bei denen die Pflanzen unter optimalen Licht- und Temperaturbedingungen gehalten und für ein besseres Wachstum mit Nährlösungen unterschiedlicher Zusammensetzung versorgt werden. Da der Nährstoffbedarf der Pflanzen sogar innerhalb einer Art unterschiedlich sein kann (Marschner 1995), sind in der Literatur verschiedene Nährmedien beschrieben worden, die eine ausreichende Nährstoffversorgung gewährleisten.

Hoagland-Nährlösung ist reich an Makronährstoffen im Gegensatz zu den Jungnickel & Augsten, Gaudet- und Andrew-Nährlösungen, obwohl Gaudet-Nährlösung sehr reich an Mikronährstoffen ist (siehe Kapitel 4.1.1).

Am häufigsten wird die Hoagland Nährlösung verwendet (siehe Kapitel 3.1.1, Hoagland und Arnon 1938). Diese ist mehrfach modifiziert worden (z. B. ASTM 1991; Hinman und Klaine 1992). Wilson et al. (2000) verwendeten eine 10%-ige Hoagland-Nährlösung für die Kultivierung emerser Makrophyten. Auch für Lemnaceen wurden verschiedene Konzentrationen der Hoagland-Nährlösung als geeignet angesehen (ASTM 1991).

Kane und Albert (1989) haben dagegen Murashige und Skoog-Nährlösung bei Versuchen mit *Myriophyllum*- und *Proserpinaca*-Arten bevorzugt. Sutton et al. (1969) ließen *Myriophyllum brasiliense* zunächst in voller Hoagland-Nährlösung wachsen und setzten die Pflanzen während eines Biotests in eine 50%-ige Hoagland-Nährlösung um. Die Erniedrigung der Nährstoffkonzentration führte zu einer Erhöhung der Empfindlichkeit der Pflanzen für Schadstoffe (Sutton 1985).

Eine Nährlösung nach Gaudet wird überwiegend bei Untersuchungen zur Ernährung aquatischer Pflanzen eingesetzt (Bristow und Whitcombe 1971), da Gaudet einen höheren Mikronährstoffgehalt hat. Selim et al. (1989) optimierten die Andrews-Nährlösung speziell im Hinblick auf das Wachstum von *M. spicatum*. Insbesondere für Toxizitätsversuche mit *M. sibiricum* erwies sich die Andrews-Nährlösung als vorteilhaft (Roshon et al. 1996). In einigen Experimenten wurde die Kultivierung von Makrophyten erfolgreich entweder in Leitungswasser oder in Teichwasser durchgeführt (Bruner und Batterson 1984).

### **pH-Werte der Nährlösungen**

Der pH Wert einer Nährlösung beeinflusst die Mobilität und Verfügbarkeit der darin enthaltenen Nährstoffe des Sediments und wirkt sich direkt auf die Aufnahme und das Wachstum von Pflanzen aus (Marschner 1995). So nimmt die gelöste Konzentration von  $\text{CO}_2$  mit zunehmendem pH-Wert ab, wobei sich gleichzeitig die  $\text{HCO}_3^-$ - und  $\text{CO}_3^-$ -Konzentrationen erhöhen (Miller 1985). Bowes (1985) berichtet, dass nur wenige submerse Makrophyten bei einem pH-Wert kleiner als 4 und größer als 10 wachsen können. Bei den meisten Laboruntersuchungen werden pH-Werte zwischen 5 und 6 eingestellt (Greenberg et al. 1992; Powell et al. 1996). Fleming et al. (1991) benutzten beispielsweise einen pH-Wert von 5,7 zur Kultivierung von *Potamogeton pectinatus* und auch verschiedene *Myriophyllum*-Arten wurden bei diesem pH-Wert vermehrt (Kane et al. 1991, Kane und Gilman 1991). Dagegen kultivierten Selim et al. (1989) *M. spicatum* in einem Nährmedium mit einem pH größer als 6.

### **Sedimente**

Zur Durchführung von Laboruntersuchungen werden für wurzelnde Makrophyten verschiedene Substrate als Sedimente verwendet. Bei Untersuchungen mit *Hydrilla verticillata* wurden sowohl natürliche Sedimente als auch Sand als Bewurzelungssubstrat eingesetzt (Bruner und Batterson 1984; Cassidy und Rodgers 1989; Hinman und Klaine 1992). Ausschließlich Sand wurde zur Kultivierung von *Elodea canadensis* (Forney und Davis 1981) und *Potamogeton schweinfurthii* (Denny 1972) verwendet. Bruner und Batterson (1984) verwendeten bei ihren Arbeiten mit *H. verticillata* außer Sand, auch kalkhaltige Mergel und eine Mischung aus 30 % Sand und 70 % Kompost. Auch für *Myriophyllum*-Arten werden verschiedene Substrate für Laboruntersuchungen als geeignet beschrieben. Roshon et al. (1996) benutzten Turface<sup>®</sup> für ihre Experimente mit *M. sibiricum*.

Ein spezielles Substrat wurde von Hoffman et al. (1984) zur Kultivierung von *M. spicatum* entwickelt. Es besteht aus einem Teil Vermikulit Ton, drei Teilen Torf, einem Teil Sand und fünf Teilen Kalkgestein. Andere Autoren haben zur Kultivierung von *M. spicatum* eine Sand-Torf Mischung (3:1) (Westerdahl und Hall 1987) oder Gartenerde und Perlit (3:1) (Kane und Albert 1989) verwendet.

### **Kohlenstoffquelle**

Wie alle Pflanzen benötigen auch untergetauchte (submerse) Wasserpflanzen Kohlenstoff für ihr Wachstum. Allerdings können sie den Nährstoff nicht direkt aus der Luft aufnehmen, sondern müssen ihn dem Wasser entnehmen. Viele submerse Pflanzen können Bikarbonat-

Ionen für die Photosynthese nutzen. Da die Löslichkeit und Verfügbarkeit dieser Kohlenstoffquelle im Wasser allerdings begrenzt ist, stellt die Kohlenstoffquelle einen kritischen Punkt für submerse Wasserpflanzen dar (Prins et al. 1982; Lucas 1983).

Faktoren im Wasser wie der pH-Wert (Miller 1985; Sand-Jensen 1983; Adams 1985), die Alkalität (Penuelas und Menendez 1990; Madsen und Sand-Jensen 1991), die Turbulenz (Keeley und Sandquist 1992), sowie Licht und Temperatur (Allen und Spence 1981; Raven 1970; Spence und Maberly 1985) können das Verhältnis von  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  im Wasser und damit die Art der Kohlenstoffassimilation beeinflussen. Das Verhältnis von  $\text{CO}_2$  zu  $\text{HCO}_3^-$  variiert je nach Jahres- und Tageszeit, wodurch auch die Kohlenstoffassimilation beeinflusst wird (Bowes 1985; Keeley und Sandquist 1992). So findet man zwischen verschiedenen Süßwasserökosystemen einen etwa 20-fachen Unterschied in der Höhe an gelöstem organischen Kohlenstoff (Adams 1985).

Verschiedene Arten innerhalb einer Makrophyten-Gattung können sich in ihrer Fähigkeit zur Assimilation von  $\text{HCO}_3^-$  unterscheiden (Prins et al. 1982). Selbst innerhalb einer Pflanzenart gibt es eine große Plastizität bezüglich der Fähigkeit zur Nutzung von  $\text{HCO}_3^-$  (Bowes 1985; Keeley und Sandquist 1992; Madsen und Sand-Jensen 1991, 1994), wobei diese Fähigkeit meistens bei niedrigeren  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen induziert und bei höheren Konzentrationen unterdrückt wird (Madsen und Sand-Jensen 1994). Auch unterschiedliche Pflanzenteile variieren in ihrer Fixierung von  $\text{HCO}_3^-$ . Dadurch unterscheiden sich verschiedene Pflanzenteile wie Stängel, Knospe, Blatt und jüngere Sprossen mancher submerser Makrophyten in der Art ihres Kohlenstoff-Metabolismus (Prins et al. 1982; Salvucci und Bowes 1982; Mitchell und Orr 1985; Spence und Maberly 1985). Insbesondere das Alter der Pflanze beeinflusst die Aufnahmerate an Kohlenstoff (Nalewajko und Godmaire 1993).

Auch bei den aquatischen Makrophyten gibt es Arten, die verschiedene Möglichkeiten der Kohlenstofffixierung nutzen (Spence und Maberly 1985; Madsen und Sand-Jensen 1991; Keeley und Sandquist 1992). Alle Wasserpflanzen können gelöstes  $\text{CO}_2$  bis zu einem gewissen Grad nutzen. Anatomische Anpassung wie feine Blätter, eine dünne Kutikula und epidermale Chloroplasten ermöglichen es manchen Arten,  $\text{CO}_2$  sehr effektiv aus dem Wasser aufzunehmen (Madsen und Sand-Jensen 1991). Andere Arten können atmosphärisches  $\text{CO}_2$  oder  $\text{CO}_2$  aus dem Sediment nutzen (Bristow 1975; Bowes und Salvucci 1989; Madsen und Sand-Jensen 1991). Gerade das Sediment stellt eine wichtige anorganische Quelle für manche submersen Pflanzen dar. Auf Grund der Respiration von Wurzeln und Bodenorganismen kann die  $\text{CO}_2$  Konzentration im Bodenwasser etwa 2 mal höher als im freien Wasser sein (Bowes und Salvucci 1989). In Experimenten, in denen  $^{14}\text{C}$ -markiertes  $\text{CO}_2$  den Wurzeln von *Lobelia dortmanna*, *Isoetes lacustris* und *Littorella uniflora*

zugeführt wurde, konnte markierter Kohlenstoff später auch in den Blättern nachgewiesen werden (Bowes und Salvucci 1989). Bei den genannten Arten können bis zu 90 % des Kohlenstoff-Bedarfs über das Sediment abgedeckt werden. Allerdings besitzen nicht alle Arten diese Fähigkeit. So nehmen Arten wie *Myriophyllum*, *Vallisneria*, *Heteranthera* und *Hydrilla* weniger als 1,5 % ihres Bedarfs an Kohlenstoff aus dem Sediment auf (Bowes und Salvucci 1989).

Die Konzentration an Bikarbonaten ist im Süß- und Salzwasser meist höher als die von  $\text{CO}_2$  (Madsen und Sand-Jensen 1991). Insbesondere in alkalischem Wasser ist die  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration ziemlich hoch bei gleichzeitig limitierten  $\text{CO}_2$ -Angebot. Somit stellt  $\text{HCO}_3^-$  für viele Makrophyten-Arten eine alternative Kohlenstoffquelle dar (Prins et al. 1982). Die Fähigkeit zur Nutzung von Bikarbonaten für die Photosynthese erlaubt einigen submersen Pflanzen ein Wachstum auch in Gewässern mit einem pH-Wert größer als 8,3 (Mitchell und Orr 1985).

Pflanzen, die Bikarbonat-Ionen nutzen können, haben zwei Möglichkeiten diese aufzunehmen (Madsen und Sand-Jensen 1991): Die erste Möglichkeit besteht darin, dass Bikarbonat-Ionen an der Blattunterseite absorbiert und durch Säuren innerhalb der Zellwand in  $\text{CO}_2$  umgewandelt werden. Die Hydroxy-Ionen werden von der Blattoberfläche in einem polarisierten Transportprozess ausgeschieden (Mitchell und Orr 1985). Dieser Prozess wird durch den Transport von Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  und/oder  $\text{Na}^+$ ) aus der Lösung, die in Kontakt mit der Blattunterseite steht, zur Blattoberseite begleitet. Die zweite Möglichkeit ist, dass die Hydroxy-Ionen im Wasser zu Kohlenstoff umgewandelt und als  $\text{CO}_2$  von den Pflanzen aufgenommen werden (Madsen und Sand-Jensen 1991).

Vor allem monokotyle Arten submerser Makrophyten nutzen Bikarbonat-Ionen (Spence und Maberly 1985; Madsen und Sand-Jensen 1991). Andere Arten, wie *Elodea canadensis* (Allen und Spence 1981; Madsen und Sand-Jensen 1994), *Myriophyllum spicatum* (Mitchell und Orr 1985; Owttrim und Colman 1989; Keeley und Sandquist 1992), *Ranunculus aquatilis* (Keeley und Sandquist 1992), *Potamogeton crispus* (Allen und Spence 1981; Sand-Jensen 1983), *P. pectinatus* (Sand-Jensen 1983) und *Ruppia cirrhosa* (Penuelas und Menendez 1990) sind in der Lage, sowohl  $\text{CO}_2$  als auch  $\text{HCO}_3^-$  zu nutzen.

*Fontinalis antipyretica*, *Potamogeton polygonifolius* (Allen und Spence 1981; Black et al. 1981), *Urticularia purpurea* (Moeller 1978), *Myriophyllum hippuroides* (Prins et al. 1982), *M. brasiliensis* (Adams 1985; Keeley und Sandquist 1992) und *M. verticillatum* (Keeley und Sandquist 1992) gehören alle zu den  $\text{C}_3$ -Pflanzen, wobei die gleichen physiologischen und biochemischen Prozesse ablaufen wie bei terrestrischen Pflanzen. Dagegen findet man bei

aquatischen C<sub>4</sub> Pflanzen im Gegensatz zu terrestrischen Pflanzen keine Leitbündel vom Kranz-Typ (Madsen und Sand-Jensen 1991). Manche aquatische Pflanzen, die CO<sub>2</sub> im Dunkeln fixieren können, zeigen einen CAM-ähnlichen Metabolismus. Diesen als Aquatic-Acid-Metabolism (AAM) bezeichneten Stoffwechselweg ist mit dem Crassulaceen-Acid-Metabolism (CAM) terrestrischer Pflanzen vergleichbar. Der AAM findet hauptsächlich bei submersen Pflanzen statt, die keine Spaltöffnungen aufweisen. Beim AAM erfolgt die Kohlenstoff-Aufnahme durch Diffusion von CO<sub>2</sub> in die Pflanze während der Nacht, wenn die CO<sub>2</sub>-Konzentration innerhalb der Pflanze sehr niedrig ist (Cockburn 1985). Als Vertreter der AAM-Pflanzen finden sich Arten wie *Isoetes howellii* (Keeley und Sandquist 1992), *I. lacustris*, *I. orcuttii* und *I. bolandrei* (Keeley und Sandquist 1992). AAM-Pflanzen wachsen aufgrund dieses Stoffwechselweges bevorzugt bei leicht sauren pH-Werten (Madsen und Sand-Jensen 1991).

Die Einleitung von CO<sub>2</sub> oder Luft in eine Laborkultur von Wasserpflanzen stellt eine erfolgreiche Möglichkeit zur Wachstumssteigerung dar. Dabei wurden unterschiedliche Kohlenstoff-Konzentrationen bei der Belüftung oder ein angereichertes CO<sub>2</sub>/Luft-Gemisch in das Aquarium, Kulturmedium oder Bechergläser eingeleitet (Hoffman et al. 1984; Ailstock et al. 1991). In Experimenten mit *M. spicatum* wurden die Pflanzen kontinuierlich mit Luft, die 0,5 % CO<sub>2</sub> enthielt, belüftet (Netherland und Lembi 1992). Auch Selim et al. (1989) leiteten bei *M. spicatum* mit 0,5 bis 1 % CO<sub>2</sub> angereicherte Luft in eine modifizierte Andrews-Nährlösung.

In anderen Untersuchungen wurde Saccharose als Kohlenstoff-Quelle für submerse Makrophyten angeboten. Christopher und Bird (1992) verwendeten bei ihren Untersuchungen eine Nährlösung von Murashigo & Skoog mit 3 % Saccharose. Auch Roshon und Stephenson (1995) haben 3 % Saccharose bei der Kultivierung von *M. sibiricum* einer Andrews-Nährlösung zugesetzt. Ebenso wird in einer ASTM-Richtlinie (1991) zur Kultivierung von *L. gibba* der Zusatz von Saccharose empfohlen. Medien für Gewebekulturen enthalten meistens 2 % (Dixon 1985; Morris et al. 1985) oder 3 % Saccharose (Kane und Gilman 1991; Morris et al. 1985). Neben Saccharose wird auch Glukose als organische Kohlenstoffquelle bei der Kultivierung aquatischer Pflanzen verwendet (Huebert et al. 1990).

Bei einigen Laborversuchen mit *M. spicatum* oder *Hydrilla verticillata* wurde eine gefilterte NaHCO<sub>3</sub>-Lösung nach dem Autoklavieren zur Nährlösung zugegeben, um die Sterilität zu gewährleisten (Netherland und Lembi 1992). Auch bei Kulturen von *Ceratophyllum demersum* und *M. heterophyllum* erwies sich eine 10 %-ige Hoagland-Nährlösung, die mit 200 mg/l NaHCO<sub>3</sub> versetzt war, als gut geeignet (Byl und Klaine 1991).

## 2.2 Makrophyten als Testorganismen für Pflanzenschutzmittel

Fast alle in der Literatur beschriebenen Testmethoden mit Makrophyten beziehen sich auf emerse Arten der Wasserlinsen (Lemnaceen) (Wang 1990; ASTM 1991). Lemnaceen eignen sich gut für Untersuchungen von Effekten der Oberflächengewässer an der Luft-Wasser Schnittstelle (Taraldsen und Norberg-King 1990). Frond-, Pflanzen-, und Wurzelanzahl, Frisch- oder Trockengewicht, Wurzellänge,  $^{14}\text{C}$ -Aufnahme und Pigmentgehalte sind häufige Wirkungskriterien bei Biotests mit *Lemna*- und *Spirodela*-Arten (Wang 1990; Sallenave und Fomin 1997, Moser 1999; Feiler und Krebs 1999).

In zahlreichen Untersuchungen ist die Wirkung von PSM auf Wasserlinsen nachgewiesen worden. Feiler und Krebs (1999) untersuchten die Wirkung von Glyphosat, Dichlobenil, Atrazin und 2,4-D auf *Lemna minor* über sieben Tage. Anhand der  $\text{EC}_{50}$ -Werte zeigte sich eine abnehmende Wirkung von Atrazin, Dichlobenil, 2,4-D bis Glyphosat in 96 Stunden dauernden Biotests mit *L. minor*.

Fairchild et al. (1997) verglichen die Wirkung von 16 Herbiziden. Demnach reagierten die Pflanzen empfindlich auf Sulfonylharnstoffe (Metsulfuron, Chlorsulfuron) und Acetaniliden (Alachlor und Metolachlor). Grossmann et al. (1992) verwendeten *L. paucicostata*, mit der sie ein Substanzscreening durchführten. Die meisten der untersuchten Substanzen verursachten eine 50 % Wachstumshemmung bei Konzentrationen  $<10^{-7}$  M (Grossmann et al. 1992). Fairchild et al. (1998) fanden, dass die Triazin-Herbizide Atrazin und Metribuzin eine stärkere Wirkung auf das Wachstum von *L. minor* zeigten als Alachlor und Metolachlor nach 96 Stunden. Die Toxizität nahm in der Reihenfolge Metribuzin, Atrazine, Metolachlor und Alachlor ab.

In Kanada werden die Wirkungen von Pflanzenschutzmitteln anhand der erwarteten Konzentrationen zur Abschätzung der Gefahr für Nicht-Zielorganismen eingesetzt (Peterson et al. 1994). In einer Untersuchung wurde die Wirkung von 23 Pflanzenschutzmitteln auf *L. minor* nach 7 Tagen ermittelt. Zwölf der Pflanzenschutzmittel reduzierten das Wachstum der Pflanzen um mehr als 50 %.

In einigen Experimenten wurde nachgewiesen, dass die Wirkung von PSM auf Pflanzen in Abhängigkeit von der Art der Belastung stark variieren kann. PSM können entweder einer Nährlösung oder dem Sediment zugegeben werden (Hartman und Martin 1984, 1985). Beispielsweise ist die Wirkung von Glyphosat auf *L. minor* nach Gabe über die Nährlösung etwa 5 mal höher als über die Gabe in das Sediment (Hartman und Martin 1984). Im Gegensatz dazu ist die Toxizität von Alachlor, das in das Sediment gemischt wurde, höher als bei einer Gabe über die Nährlösung (Hartman und Martin 1985). Carbofuran zeigte

dagegen bis zu einer Konzentration von 10 mg/l keine Wachstumsunterschiede (Hartman und Martin 1985).

In den letzten Jahren wächst das Interesse, inwieweit PSM eine Wirkung auch auf wurzelnde Makrophyten haben. Allerdings liegen bislang nur wenige Untersuchungen dazu vor. Am häufigsten wurden bisher Untersuchungen mit Arten der Gattungen *Myriophyllum* (Forsthy et al. 1997; Fairchild et al. 1998; Roshon et al. 1999), *Potamogeton* (Forsthy et al. 1997), seltener dagegen mit Arten der Gattung *Elodea*, *Ceratophyllum* und *Najas* (Fairchild et al. 1998) durchgeführt.

*Myriophyllum sibiricum* wurde bei verschiedenen Experimenten zur Wirkung der PSM Imazapyr, Metsulfuron-methyl, Sulfometuron-methyl, 2,4 D, Glyphosat, Hexazinone und Atrazine, Diquat, Fluridone, Hexazinone und Metalochlor eingesetzt (Roshon and Stephenson 1995; Roshon et al. 1999). Die Experimente wurden mit Andrews-Nährlösung in Reagenzgläsern mit Turface<sup>®</sup> als Substrat durchgeführt. Als Wirkungskriterien wurden vor allem der Längenzuwachs, die Wurzelanzahl und das Wurzeltrockengewicht, aber auch der Pigmentgehalt, die Pflanzenfläche, die Membran-Integrität und das Frischgewicht herangezogen (Roshon et al. 1996).

Christopher und Bird (1992) testeten die Wirkung einiger Herbizide (2,4 D, Atrazine, Glyphosate, Thidiazuron, Linuron) auf das Wachstum von *M. spicatum*. Nach einer fünftägigen Versuchsdauer konnten sie Wachstumsänderungen an den Wurzeln, den Blättern, den Trieben und der Knospenzahl feststellen. Dabei nahm die Hemmung des Wachstums von 2,4 D über Atrazin und Glyphosat zu Thidiazuron ab. Linuron zeigte bei Konzentrationen unter 100 mg/l keinen Effekt.

*Ceratophyllum demersum*, *Elodea canadensis*, *M. heterophyllum* und *Najas sp.* wurden mit und ohne Sediment kultiviert und die Wirkung von PSM (Atrazine, Metribuzin, Alachlor und Metolachlor) in ASTM Nährlösung untersucht (Fairchild et al. 1998). Nach einer Versuchsdauer von 14 Tagen wurde das Wirkungskriterium Frischgewicht bestimmt. Die relative Empfindlichkeit der Pflanzen in Bezug auf die getesteten PSM nahm in der Reihenfolge *Ceratophyllum*, *Najas*, *Elodea*, *Myriophyllum* ab. Die Toxizität der untersuchten PSM ging von Metribuzin über Atrazine und Alachlor zu Metolachlor zurück.

Neben Laboruntersuchungen wurden einige Experimente mit Makrophyten unter Freilandbedingungen, in sogenannten „Enclosures“ durchgeführt (Stephenson und Kane 1984; Forsyth et al. 1997). Forsyth et al. (1997) haben die Wirkung von drei Einzelsubstanzen sowie eine Mischung aus Clopyralid, Picloram und 2,4 D sowie 2,4 D und Picloram auf *Potamogeton pectinatus* und *Myriophyllum sibiricum* untersucht. Als Wir-

kungskriterien dienten Frischgewicht, Blüten- und Knollenproduktion. Die Untersuchungen wurden in 1 m<sup>2</sup> und 50-70 cm tiefen „Enclosures“ durchgeführt. Alle PSM, außer Picloram, wirkten sich auf das Wachstum der beiden Pflanzen gleichermaßen negativ aus. Picloram konnte auf *Potamogeton* keine, bei *Myriophyllum* dagegen starke Wirkungen hervorrufen.

In Experimenten an einem Teich, in dem „Enclosures“ etwa 5 cm in das Sediment eingelassen waren, wurde die Wirkung von Linuron und Methyl-Parathion untersucht (Stephenson and Kane 1984). Nach 28 Tagen wurde festgestellt, dass die Kontrolle ohne Linuron eine hohe Anzahl an Pflanzen von *Potamogeton crispus*, *P. pectinatus*, *P. natans* und *Chara vulgaris* enthielten, die Belastung mit Linuron dagegen in den „Enclosures“ einen völligen Stopp der Vegetationentwicklung hervorrief. Durch Methyl-parathion dagegen konnte keine Wirkung auf die Biomasse und die Artenzusammensetzung festgestellt werden.

Als häufigstes Kriterium bei der Ermittlung der Wirkung von PSM auf Makrophyten wird der Längenzuwachs verwendet (Denny 1972; Barko et al. 1982; Nielsen und Sand-Jensen 1991). Netherland und Lembi (1992) fanden heraus, dass der Längenzuwachs von *M. spicatum* und *Hydrilla verticillata* als empfindliches Wirkungskriterium bei Untersuchungen zur Hemmung der Gibberellinsynthese neben physiologischen Parametern wie die Photosynthese, dem Pigmentgehalt oder der Respiration herangezogen werden kann.

In anderen Versuchen konnte gezeigt werden, dass beispielsweise durch die Wurzeln von *Vallisneria americana* höhere Konzentrationen an organischen Umweltchemikalien im Vergleich zu oberirdischen Pflanzenteilen absorbiert werden (Lovett-Doust et al. 1994). In diesem Fall kann auch die Wurzelzahl und Wurzellänge ein wichtiges Wirkungskriterium sein. Eine Stimulation der Bildung von lateralen Sprossen und Wurzeln konnte auch bei *M. sibiricum* und *Hydrilla verticillata* (Netherland und Lembi 1992), *Potamogeton schweinfurthii* und *P. thunbergii* (Denny 1972) beobachtet werden.

Bei vielen wurzelnden Wasserpflanzen machen Wurzeln und Rhizome den größten Teil der Biomasse aus (Bristow and Whitcombe 1971). Einige Autoren nehmen an, dass der Hauptteil des von den Wurzeln absorbierten Wassers und den darin gelösten Nährstoffen aus dem Sediment stammen (Bristow 1975; Pederson und Sand-Jensen 1993), während andere vermuten, dass die von der Pflanze benötigten Nährstoffe über die Blätter und Sprosse aus dem Wasser aufgenommen werden (Sutton 1985). Denny (1972) demonstrierte an Versuchen mit 6 verschiedenen Makrophyten-Arten, dass sowohl Wurzeln als auch Sprosse Nährstoffe absorbieren. Dabei waren bei *Ceratophyllum demersum* und *Potamogeton schweinfurthii* die Sprosse, dagegen bei *P. thunbergii* die Wurzeln von größerer Bedeutung für die Nährstoffaufnahme. *Myriophyllum brasiliense*, *M. spicatum* und

*Elodea densa* absorbieren 90 %, 59 %, und 74 % des benötigten Phosphats über die Wurzeln (Bristow und Whitcombe 1971).

Frisch- und Trockengewicht sind Parameter, die normalerweise für die Abschätzung der Biomasse von Makrophyten benutzt werden können. Meistens ist das Frischgewicht schwer zu bestimmen, da an der Pflanzenoberfläche Wasser haftet und zu größeren Messfehlern führt. Daher muss das Wasser erst mit einem saugfähigen Papier von der Pflanzenoberfläche entfernt werden (Westerdahl und Hall 1987; Byl und Klaine 1991; Fairchild et al. 1994). Bei Messungen zum Biomasse-Zuwachs wird meistens das Anfangs- und Endgewicht bestimmt und die Differenz gebildet (Fleming et al. 1991). Dies ist allerdings bei sterilen Kulturen aufgrund der Kontamination beim Wägevorgang schwierig. Das Trockengewicht wird nach Trocknung der Pflanzen bei 105 °C für 24 Stunden (Westerdahl und Hall 1987; Walsh et al. 1991; Roshon et al. 1996) oder bei 70-80 °C für 24 und 48 Stunden (Guilizzoni et al. 1984; Godmaire und Nalewajko 1989) bestimmt. Da die getrockneten Pflanzen bis zu 10 % Feuchtigkeit aus der Umgebungsluft absorbieren können, müssen die Pflanzen in Exsikkatoren aufbewahrt werden (Westlake 1974).

In Experimenten mit zwei Lemnaceen-Arten empfahlen Cowgill et al. (1991) Chlorophyll a und Chlorophyll b als geeignete Wirkungskriterien. Auch Westerdahl und Hall (1987) haben die Pigmentgehalte zur Wirkung von Sedimenten auf *M. spicatum* und *H. verticillata* herangezogen. Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass vor allem *Myriophyllum*-Arten für die Bestimmung der Toxizität von PSM geeignet sind. Bislang liegen allerdings entsprechende Arbeiten nur über *M. sibiricum* vor. Diese Art ist sehr schwer erhältlich und es erscheint hinsichtlich einer Anwendung günstiger, andere Arten wie z. B. *M. aquaticum* auf ihre Eignung als Testorganismus zu prüfen.

### **2.3 Biologie und Ökologie von *Myriophyllum aquaticum***

*Myriophyllum aquaticum* (Velloso) Verdcourt (Tausendblatt) (syn. *M. brasiliense*) wird systematisch der Abteilung der Spermatophyta und der Familie Haloragaceae zugeordnet. Bei der Gattung *Myriophyllum* handelt es sich um eine weltweit verbreitete Pflanze, die ungefähr 40 Arten umfasst (Cook et al. 1974). Der Ursprung von *M. aquaticum* ist Südamerika, wobei sie Ende des 1800 Jahres durch den Menschen in Nordamerika eingeführt wurde. Im Zuge ihrer ubiquitären Verbreitung wurde sie 1919 in Südafrika, 1920 in Japan, 1929 in Neuseeland, 1960 in Australien und 1970 in England nachgewiesen. Stellenweise findet man sie auch in Ost- und Südostasien sowie in Nordaustralien.

*M. aquaticum* ist eine im Sumpf wachsende sowie im Gewässer untergetauchte, wurzelnde, krautige Pflanze, die sehr lichtliebend ist. Sie ist in der Lage, sich an höhere Nährstoffgehalte im Gewässer anzupassen (Mühlberg 1980), wobei sie überwiegend langsam fließende oder stehende Gewässer bevorzugt. Wenn sie sich am Ufer bewurzeln können, erfolgt eine Ausdehnung mehrere Meter über der Wasseroberfläche.

Wachsen die Triebe über die Wasseroberfläche, wirft *Myriophyllum* die submers gebildeten Blätter unter Wasser ab. *M. aquaticum* wird durch den Wind bestäubt und streckt deshalb ihre Sprosse zur Blütezeit hoch über den Wasserspiegel hinaus (Olberg 1963).

In den Achseln der Luftblätter bilden sich kurzgestielte Blüten. Die Pflanzen blühen meistens im Frühjahr, wobei eine Blütenbildung bei manchen Pflanzen auch im Herbst beobachtet wurde. *M. aquaticum* ist zweihäusig (Abb. 2 a), d. h. nur, wenn an einem Verbreitungsort sowohl männliche als auch weibliche Pflanzen vorkommen, kann eine Vermehrung durch die Bildung von Samen erfolgen. So ist z. B. bekannt, dass Populationen in Nordamerika ausschließlich aus weiblichen Pflanzen bestehen und eine Verbreitung somit nur vegetativ erfolgt (Casper und Krausch 1981; De Witt 1990).

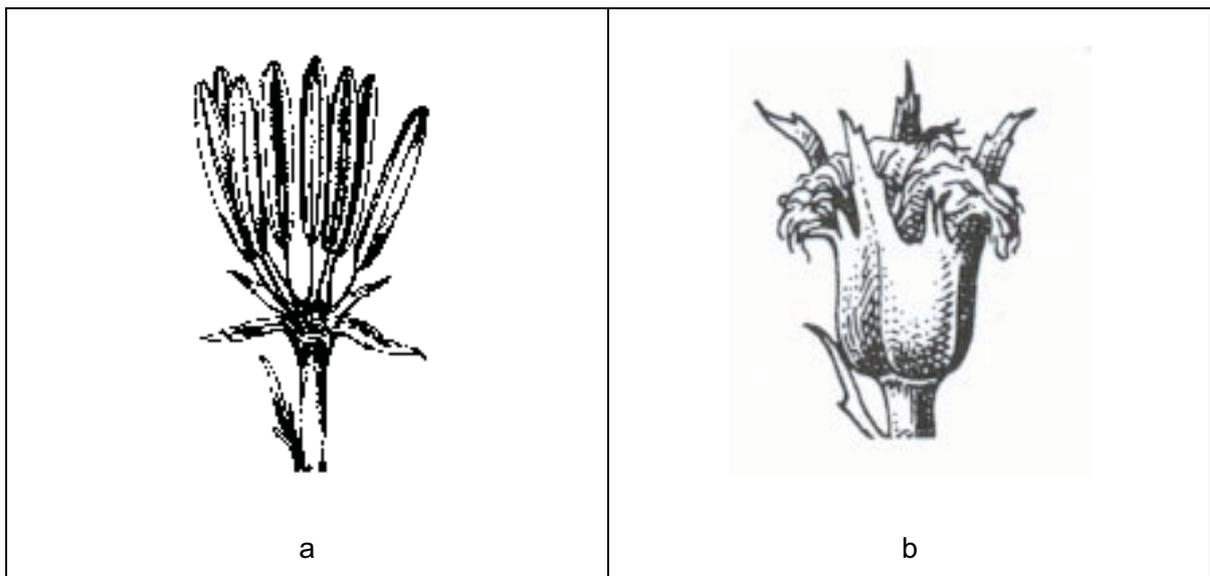


Abb. 2: a: männliche Blüte der Pflanzen von *Myriophyllum aquaticum* b: weibliche Blüte (Casper und Krausch 1981)

Die weiblichen Blüten entwickeln sich dicht über der Wasseroberfläche und haben nur reduzierte Kronblätter, während sich die männlichen Blüten weit oberhalb des Wasserspiegels entwickeln und vier weiße oder rosa Kronblätter haben (De Witt 1990).

*M. aquaticum* bildet keine Knollen oder andere reproduktiven Überdauerungsorgane wie Turionen, die z. B. von Wasserlinsen bekannt sind. Eine vegetative Vermehrung erfolgt bei *M. aquaticum* durch Sprossfragmente, die sich unter geeigneten Bedingungen bewurzeln.

Über der Wasseroberfläche (emers) wachsend ist *M. aquaticum* eine kräftige dikotyle Pflanze, die mit fleischig dicken Stängeln über einen Meter lang werden kann (Abb. 3). Die Blätter sind hellblaugrün, grob und kurz und glänzen samtartig. Unter der Wasseroberfläche (submers) wachsend sind die Pflanzen hellgrün, wenig turgeszent und haben 1,5-3,5 cm lange Blätter, die in 4-6 Quirlen auftreten. Die Blätter sind federförmig in schmale und spitzenförmige Segmente zerteilt, von denen sich 4-8 auf jeder Seite des Hauptnervs befinden. Die Blätter besitzen einen geringen Blatt-Turgor, wohingegen der Stängel von *M. aquaticum* von robuster Struktur ist.

Morphologisch unterscheiden sich die Wasserblätter von *M. aquaticum* stark von den Luftblättern. Die Wasserblätter haben sehr dünne Kutikula, keine Spaltöffnungen und die Zellen ihrer Epidermisschichten enthalten Chlorophyllkörner. Außerdem ist ihr Palisaden- und Schwammparenchym zurückgebildet. In den Blattspreiten ist ein ausgeprägtes Durchlüftungssystem ausgeprägt (Mühlberg 1980).

Wie auch bei den Blättern unterscheiden sich die submers gewachsenen Sprosse von denen der emers gewachsenen. Bei den unter Wasser gewachsenen Sprossen ist die Kutikula äußerst schwach, in Form eines zarten Häutchens, ausgebildet. Außerdem sind die Leitgewebe meist zu einem zentralen Strang vereinigt, um welchen sich ein Durchlüftungssystem anordnet (Abb. 4).

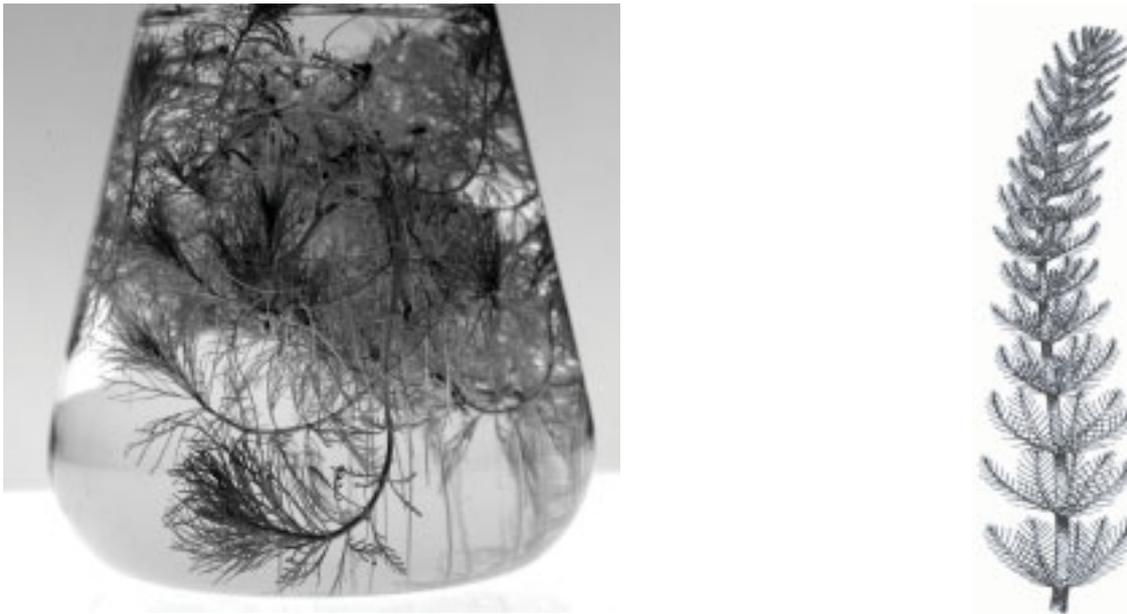


Abb. 3: Submerse (links) und emerse (rechts) Pflanzen von *Myriophyllum aquaticum*.

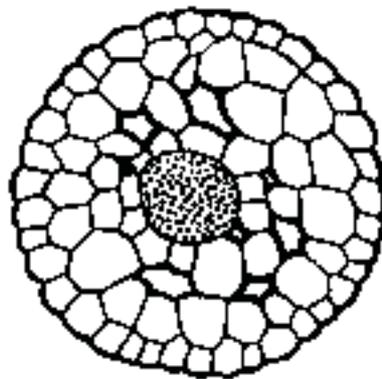


Abb. 4: Querschnitt durch die Fieder eines Wasserblatts von *Myriophyllum aquaticum*.

### 3 Zielsetzung der Arbeit

Das erste Ziel der Arbeit war die Entwicklung eines Biotests mit *Myriophyllum aquaticum* zur Ermittlung der Toxizität von Pflanzenschutzmitteln (PSM) sowohl im Freiwasser als auch im Sediment von Gewässern am Beispiel einer wurzelnden Makrophyte. Zu diesem Zweck wurden die für das Wachstum optimalen Kultivierungsbedingungen der Pflanzen im Hinblick auf geeignete Nährlösung, pH-Wert, Kohlenstoffquelle und Bewurzelungssubstrat untersucht. Diese Wachstumsbedingungen waren für die weiteren Untersuchungen zur Substanzprüfung unter axenischen Bedingungen notwendig. Darüber hinaus mussten in ähnlicher Weise auch die Wachstumsparameter für eine insterile Kultivierung für Untersuchungen von Umweltproben ermittelt werden. Im Vordergrund stand dabei die Suche nach einer geeigneten Kohlenstoffquelle, die ein optimales Wachstum der Pflanzen ermöglichen sollte.

Ein zweites Ziel der Untersuchungen war die Prüfung der Toxizität von verschiedenen Pflanzenschutzmitteln auf *M. aquaticum*. Es wurden unterschiedliche Substanzgruppen an PSM ausgewählt, um die Aussagekraft des neuen Biotests anhand vieler verschiedenartiger Verbindungen mit unterschiedlichen Stoffeigenschaften zu beurteilen. Hierzu sollte am Beispiel der Sulfonylharnstoffe auch die Empfindlichkeit der Pflanzen innerhalb einer Gruppe geprüft werden. Außerdem wurde die Eignung der ausgewählten Wirkungskriterien eingeschätzt. Die Wirkungen wurden mit Hilfe von Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen bestimmt und die EC<sub>50</sub>-Werte anhand der Wirkungskriterien ermittelt.

Als dritter Schwerpunkt wurden Experimente zur Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln bei *M. aquaticum* durchgeführt. Hierfür sollte die Fähigkeit zur Aufnahme von PSM durch die Wurzeln und die Translokation in die oberen Pflanzenteile untersucht werden. Es war notwendig, ein System zu entwickeln, das eine Abgrenzung zwischen Wurzeln und oberen Pflanzenteilen bei submerser Wachstumsweise ermöglicht und gleichzeitig ein ungehindertes Wachstum der Pflanzen garantiert. Mit diesem Versuchsdesign sollte eine Applikation <sup>14</sup>C-markierter Substanzen in den Wurzelraum erfolgen, ohne dass die Substanzen in den Sprossbereich diffundieren. Im Vergleich hierzu wurde auch durch eine Applikation der <sup>14</sup>C-markierten Substanzen in den oberen Sprossbereich die Aufnahmefähigkeit der Pflanze durch obere Pflanzenteile und Wurzeln geprüft. Ein viertes Ziel bestand in ersten Untersuchungen zur Ermittlung der Toxizität schadstoffbelasteter Sedimentproben mit *M. aquaticum* unter insterilen Bedingungen. Hauptschwerpunkt bestand in der Festlegung geeigneter Wirkungskriterien.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Kultivierung von *Myriophyllum aquaticum*

Die *Myriophyllum*-Pflanzen wurden in steriler Form von der Bundesanstalt für Gewässerkunde in Koblenz erhalten und seit 5 Jahren im eigenen Labor weiterkultiviert.

Die Anzucht erfolgte unter sterilen Bedingungen, d. h. alle Lösungen und weitere dazu benötigte Materialien wurden im Autoklaven (Fa. Tuttnauer Co. Ltd. Jerusalem) 20 Minuten bei 121 °C und 1,1 bar Druck autoklaviert. Die einzelnen Arbeitsschritte sowohl vor der Versuchsdurchführung als auch während der Exposition wurden in einer Sterilbank (LaminAir der Firma Heraeus Holding GmbH) durchgeführt.

Zwei Kultivierungsformen wurden parallel unter sterilen Bedingungen gehalten. Zum einen eine Flüssigkultur mit submersen Pflanzen, zum anderen eine Kultur mit emersen Pflanzen, die auf einem festen Medium wuchsen. Die Pflanzen beider Kultivierungsformen unterscheiden sich stark in ihrer Morphologie (siehe Kapitel 2.3).

*M. aquaticum* kann relativ einfach sowohl emers als auch submers über Stecklinge vermehrt werden. In der emersen Vermehrung wurden die 1-2 cm großen Spross- oder Apikalsegmentstücke mit mindestens 2 Quirlen in ein festes Nährmedium gesteckt. Bei diesem Nährmedium handelt es sich um eine mit Agar verfestigte Nährlösung nach Jungnickel & Augsten (Jungnickel und Augsten 1986, Tab. 4), der 10 g/l Glucose zugegeben wurde. Die emersen Kulturen wurden als Stammkultur alle 8-10 Wochen in ein neues Medium umgesetzt. Von dieser Stammkultur wurden submers Pflanzensegmente in Hoagland-Nährlösung mit 30 g/l Saccharose weiter vermehrt. Hierfür wurden emerse Triebe aus der Stammkultur mit 1-2 cm Länge und mindestens 2 Quirle entnommen und in 500 ml Erlenmeyerkolben in die entsprechende Nährlösung überführt. Danach wurden diese submersen Kulturen 4-6 Wochen weiter geführt.

#### Expositionsbedingungen

Die Temperatur im Lichtregal lag tagsüber bei  $24 \pm 1$  °C und nachts bei  $20 \pm 1$  °C. Die Strahlung betrug zwischen 120 und 180  $\mu\text{mol Photonen/m}^2/\text{s}$  mit einem Tag-/Nachtrhythmus von 16 h Licht und 8 h Dunkel. Die Luftfeuchte schwankte im Bereich von 20 bis 30 %.

#### 4.1.1 Nährlösungen und pH-Werte

In vorliegender Arbeit wurde in Anlehnung an andere makrophytische Testsysteme Hoagland- und Andrews-Nährlösung mit 30 g/l Saccharose eingesetzt (siehe Kapitel 2.1). In den Tabellen 1 und 2 sind die Zusammensetzungen der verwendeten Nährlösungen aufgeführt.

Tab. 1: Andrews Nährlösung (Selim et al. 1989)

Stammlösung	Bestandteile	Zusammensetzung pro Liter	Endkonzentration der Nährlösung (mmol/l)
A (1:200)	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	37,76 g	0,8
	$\text{KNO}_3$	16,16 g	0,8
	KCl	746 mg	0,0504
B (1:200)	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	19,72 g	0,4008
C (1:1000)	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	169 mg	0,0011598
	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	115 mg	0,000402
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	155 mg	0,0022794
	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	12,50 mg	0,0000502
	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$	3,70 mg	0,000003
D (1:200)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	5,44 g	0,2
E (1:100)	$\text{Na}_2\text{EDTA}$	372 mg	0,01
	$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	278 mg	0,01

#### Testdurchführung

Für die Versuche wurden 3-4 wöchige submerse Kulturen verwendet. Von den gewachsenen Trieben wurden 3 cm lange Stücke abgeschnitten und in Reagenzgläser mit Sediment eingepflanzt. Jeden zweiten Tag wurde die Sprosslänge gemessen und die Pflanzen in der Expositionsvorrichtung neu randomisiert. Nach 14 Tagen wurden die Pflanzen aus den Reagenzgläsern herausgenommen und die entsprechenden Wirkungskriterien (siehe Wirkungskriterien in Kapitel 4.1.3) untersucht. Alle Experimente wurden in 5 Wiederholungen durchgeführt.

#### pH Werte

Für die Untersuchungen zum Einfluss des pH-Werts auf *M. aquaticum* wuchsen die Pflanzen in Hoagland-Nährlösung mit 30 g/l Saccharose. Folgende pH-Werte wurden in den

Testansätzen untersucht: pH 3, 4, 5 und 6, wobei die pH-Werte je nach Fragestellung mit KOH oder HCl eingestellt wurden. Ab einem pH-Wert größer als 6 entwickelte sich eine Trübung in der Nährlösung, so dass höhere pH-Werte nicht untersucht wurden. Der pH-Wert wurde jeweils zu Beginn der Exposition und bei Versuchende gemessen.

Tab. 2: Hoagland-Nährlösung nach ASTM (1991)

Stammlösung	Bestandteile	Zusammensetzung pro Liter	Endkonzentration der Nährlösung (mmol/l)
Stammlösung A (1:50)	$\text{Ca}(\text{NO}_3) \times 4 \text{H}_2\text{O}$	59 g	5,0
	$\text{KNO}_3$	75,76 g	15,0
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	34 g	5,0
	6N HCl	6 ml	0,72
Stammlösung B (1:1000)	Weinsäure	3 g	0,02
Stammlösung C (1:1000)	$\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$	5,4 g	0,02
Stammlösung D (1:100)	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	50 g	2,03
Stammlösung E (1:1000)	$\text{H}_3\text{BO}_3$	2,86 g	0,04
	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,22 g	0,0008
	$\text{NaMoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,12 g	0,0005
	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,08 g	0,0003
	$\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	3,62 g	0,02

#### 4.1.2 Sedimente und Kohlenstoffquellen

Das Substrat ist ein wichtiger Faktor für die Bewurzelung und die Aufnahme der Nährstoffe durch die Wurzeln, weswegen verschiedene Substrate verglichen wurden. Für die Untersuchungen wurden Sand (15 g), Turface<sup>®</sup> (5 g) (Fa. Profile Products Inc.), eine Sand/Turface<sup>®</sup> Mischung (6 g Sand plus 2,5 g Turface<sup>®</sup>) und eine Bodenmischung nach OECD (10% Sumpfmooos-Torf, 20% Kaolin (Porzellan) und 70 % Sand) als Sediment verwendet. Turface<sup>®</sup> besteht aus 100% natürlicher Tonerde in granulierter Form und wird nicht als Chemikalie oder Düngemittel eingesetzt. Es kann davon ausgegangen werden, dass Turface nicht toxisch ist und einen neutralen pH-Wert besitzt. Die entsprechende Menge der Substrate wurde in Reagenzgläser gefüllt, mit 50 ml Hoagland-Nährlösung überschichtet, verschlossen und autoklaviert.

### **Kohlenstoffquellen für sterile Versuchsdurchführung**

Um die Auswirkungen der Kohlenstoffquelle einer Nährlösung zu untersuchen, wurden Versuche mit 10 g/l, 20 g/l und 30 g/l Saccharose durchgeführt. Hierbei wurde ausschließlich die Hoagland-Nährlösung verwendet, da sie in Vorversuchen bessere Wachstumsergebnisse als die Andrews-Nährlösung zeigte.

Die Pflanzen der submersen Stammkultur wurden in 1-2 cm große Segmente geschnitten und in die Hoagland-Nährlösung gegeben. Nach 3-4 Wochen wurden 3 cm große Pflanzenteile ausgewählt und ins Sediment überführt. Jeden zweiten Tag wurde die Pflanzenlänge gemessen. Nach 14 Tagen Expositionsdauer wurden die Wirkungskriterien untersucht.

### **Kohlenstoffquelle für insterile Versuchsdurchführung**

Bei der Untersuchung von Umweltproben muss eine Testdurchführung unter insterilen Bedingungen möglich sein, da eine Sterilisierung der zu untersuchenden Probe eine starke Veränderung der Probeninhaltsstoffe verursachen würde.

*M. aquaticum* ist in der Lage, je nach Bedingungen sowohl  $\text{CO}_2$  als auch  $\text{HCO}_3$  zu verwenden (siehe Kapitel 2). Daher wurde Andrews- (Tab. 1), halbkonzentrierte Andrews-, Hoagland- (Tab. 2), Gaudet- (Tab. 3), Jungnickel & Augsten-Nährlösung (Tab. 4) und Leitungswasser als Nährlösung getestet und die Wachstumsleistungen der Pflanzen unter Zugabe von entweder  $\text{CaCO}_3$  oder  $\text{NaHCO}_3$  miteinander verglichen. Die Nährlösungen wurden mit folgenden Konzentrationen angesetzt: 5 mg/l  $\text{CaCO}_3$ , 10 mg/l  $\text{CaCO}_3$ , 50 mg/l  $\text{NaHCO}_3$ , 100 mg/l  $\text{NaHCO}_3$ , 200 mg/l  $\text{NaHCO}_3$  und 400 mg/l  $\text{NaHCO}_3$ .

Die Reagenzgläser wurden mit 5 g Turface als Bodensubstrat gefüllt und dann mit 50 ml Nährlösung aufgefüllt. Die Pflanzen, die von einer sterilen Stammkultur stammten, wurden zunächst mit destilliertem Wasser mindestens 3 mal gespült und in Erlenmeyerkolben für etwa 3 Tage zur Anpassung überführt. Nach dieser Zeit wurden 3 cm große Triebspitzen abgeschnitten und in die Reagenzgläser eingepflanzt. Die weitere Durchführung der Versuche und die Bewertung wurden in Anlehnung an die zuvor beschriebenen Versuche durchgeführt.

Tab. 3: Nährlösung nach Gaudet (1963)

Stammlösung	Bestandteile	Zusammensetzung pro Liter	Endkonzentration der Nährlösung (mmol/l)
1 (1:1000)	$\text{Ca}(\text{NO}_3) \times 4 \text{H}_2\text{O}$	30 g	1,27
	$\text{KNO}_3$	8 g	0,8
	KCl	6,5 g	8,6
2 (1:1000)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	1,9 g	0,1
	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	20 g	1,6
	$\text{Mg SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	75 g	3
	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	0,34 g	0,02
	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,3 g	0,001
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,15 g	0,024
3 (1:1000)	KJ	0,075 g	
	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,004 g	0,00028
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,0008 g	0,000023
	NaFe EDTA	0,5 g	

Tab. 4: Nährlösung nach Jungnickel und Augsten (1986)

Stammlösung	Bestandteile	Zusammensetzung pro Liter	Endkonzentration der Nährlösung (mmol/l)
1 (1:100)	$\text{KNO}_3$	81 g	8
2 (1:100)	$\text{Ca}(\text{NO}_3) \times 4 \text{H}_2\text{O}$	23,6 g	1
3 (1:100)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	20,4 g	1,5
4 (1:100)	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	24,6 g	1
	$\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	0,210 g	0,013
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,031 g	0,005
	$\text{NaMoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,00968 g	0,0004
5 (1:100)	NaEDTA (Titriplex III)	4,86 g	0,13
	$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	3,9 g	0,14
	D-Glucose	10 g	

### 4.1.3 Wirkungskriterien

Folgende physiologischen und morphologischen Wirkungskriterien wurden in allen Versuchen ermittelt: Gehalt an Chlorophyll a, b, Carotinoiden, Wurzelzahl und –länge, Seitentriebzahl und –länge und Frischgewicht. Darüber hinaus erfolgte eine visuelle Bonitur der Pflanzen.

Der Längenzuwachs wurde jeden zweiten Tag an der Reagenzglaswand markiert und am Ende des Versuches vermessen. Aus diesen Daten wurde eine Wachstumskurve erstellt und die Fläche unter Kurve durch folgende Formel berechnet (Roshon et al. 1996).

$$\text{Fläche unter Kurve} = \sum_{i=2}^n \frac{IH_{i-1} + IH_i}{2} \cdot (T_i - T_{i-1})$$

Hierbei ist:

$IH_i$  = die Erhöhung vom Anfang des Experiments

$T$  = Expositionszeit des jeweiligen Messpunkts

Nach Ende der Exposition wurde die Anzahl der Wurzeln bestimmt und die jeweilige Wurzellänge mit einem Lineal gemessen. Entsprechend wurden auch die Seitentriebzahl und die Seitentrieblänge bestimmt.

Während der Exposition wurden die Pflanzen visuell bonitiert. Bei der Bonitur wurden Chlorosen, die Blattform (dick oder dünn), die Stängeldicke und unterschiedliche Phänotypformen berücksichtigt.

Zur Bestimmung der Pigmentgehalte bei Versuchsende wurden aus dem apikalen Segment der Pflanzen 50 mg Frischgewicht entnommen und 24 Stunden in 96 % Ethanol bei 4 °C extrahiert. Anschließend wurde die extrahierte Lösung bei den Wellenlängen 665, 649 und 470 nm am Photometer gemessen und mit Hilfe der unten angegebenen Formeln aus den gemessenen Adsorptionen die Pigmentgehalte nach Lichtenthaler und Wellburn (1983) berechnet.

$$\text{Chlorophyll a (Chla)} = 13,95 A_{665} - 6,88 A_{649}$$

$$\text{Chlorophyll b (Chlb)} = 24,69 A_{649} - 7,32 A_{665}$$

$$\text{Carotinoide} = \frac{1000A_{470} - 2,05Chla - 114,8Chlb}{245}$$

## 4.2 Untersuchte Pflanzenschutzmittel

Alle Untersuchungen wurden mit Handelspräparaten durchgeführt. Die Ergebnisse sind auf die Wirkstoffmenge umgerechnet.

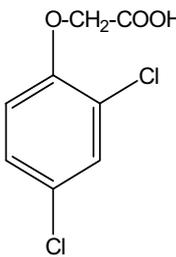
Die Beschreibung der Wirkstoffe wurde aus folgenden Quellen zusammengestellt: Börner (1995), Anonym (1990), Tomlin (1994), Roberts (1998) sowie Perkow und Ploss (1999).

### 4.2.1 Herbizide

#### 2,4 Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

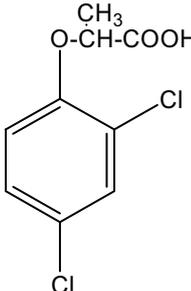
Der Wirkstoff wird gegen Unkräuter in Getreide eingesetzt. Er gelangt bevorzugt über die Blätter, Wurzeln und die grünen Stängel in die Pflanzen. Der Wirkstoffmechanismus ist noch nicht ganz klar. Der Hauptangriffspunkt im Stoffwechsel der Pflanzen dürfte der Wuchsstoffhaushalt sein, denn die Verbindung zeigt ähnliche Effekte wie die natürlichen Wuchsstoffe. Der Wirkstoff verursacht ein abweichendes verstärktes und undifferenziertes Wachstum der Pflanzen („Wuchsstoffe“). Hierbei wird die Nukleinsäure und Proteinsynthese durch die Stimulierung der RNS-Polymerasen unmittelbar beeinflusst.

Der Wirkstoff wird nicht auf Flächen ausgebracht, von denen die Gefahr einer Abschwemmung in Gewässer – insbesondere durch Regen oder Bewässerung gegeben ist.

Präparat	U 46 D (BASF) 50% EC
Chemische Bezeichnung	(2,4-Dichlorphenoxy)acetic acid
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Phenoxycarbonfettsäure
Wasserlöslichkeit	311 mg/l (pH 1, 25 °C)
Dampfdruck	1 x 10 <sup>-5</sup> Pa (20 °C)
Log Kow	2,58-2,83 (pH 1)
Koc	60

## Dichlorprop-P

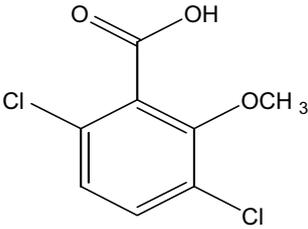
Der Wirkstoff ist ein Unkrautbekämpfungsmittel und wird gegen Mischverunkrautungen in Getreide eingesetzt. Die Wirkung ist ähnlich wie die von 2,4-D. Außerdem ist der Gewässerschutz wie bei 2,4-D zu beachten.

Präparat	Duplosan DP (BASF) 60% EC
Chemische Bezeichnung	( <i>R</i> )-2-(2,4-dichlorphenoxy)propionic acid
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Phenoxycarbonsäure
Wasserlöslichkeit	350 mg/l (20 °C)
Dampfdruck	$6 \times 10^{-5}$ Pa (20 °C)
Log Kow	1,77
Koc	50

## Dicamba

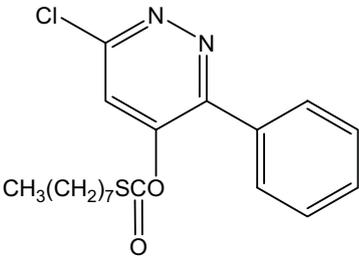
Der Wirkstoff wird gegen zweikeimblättrige Unkräuter in Mais angewendet. Der Wirkstoff verteilt sich in der ganzen Pflanze. Der Wirkstoff beeinflusst den Wuchsstoffhaushalt der Pflanzen, wird im meristematischen Gewebe angereichert und verursacht Schadsymptome, die mit denjenigen der Phenoxycarbonfettsäuren vergleichbar sind.

Dicamba ist im Boden relativ mobil. Deshalb darf es in grundwasserempfindlichen Bereichen nicht angewendet werden. Zur Verhinderung des Eintrags von Wirkstoffen in Oberflächen- und Grundwasser wird Dicamba in gefährdeten Flächen nicht eingesetzt. Bei der Ausbringung muss mindestens ein Abstand von 10 m zu Oberflächengewässern eingehalten werden.

Präparat	Banvel 4S (Syngenta) 48% EC
Chemische Bezeichnung	3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Benzosäurederivat
Wasserlöslichkeit	6,5 g/l (25 °C)
Dampfdruck	$4,5 \times 10^{-3}$ Pa (25 °C)
Log Kow	0,6 (pH 5), -0,8 (pH 7)
Koc	2

## Pyridat

Pyridat ist ein Kontaktherbizid zur Bekämpfung von Unkräutern in verschiedenen Kulturen. Die Schädigung der empfindlichen Pflanzen kommt durch eine Hemmung der Photosynthese zustande.

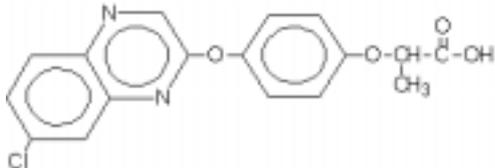
Präparat	Lentagran EC (Syngenta) 45% EC
Chemische Bezeichnung	6-chloro-3-phenylpyridazin-4-yl-S-octylthiocarbonate
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	1,2-Diazine
Wasserlöslichkeit	1,5 mg/l (20 °C)
Dampfdruck	$1.33 \times 10^{-7}$ Pa (25 °C)
Log Kow	>3
Koc	110

Die selektive Wirkung von Pyridat beruht neben einem unterschiedlichen Aufnahmeverhalten vor allem auf der Fähigkeit der unempfindlichen Pflanzen, die herbizidwirksamen Hauptmetabolite durch Bildung von glykosidischen Konjugaten schnell zu inaktivieren. Der Zeitraum für die Metabolisierung im Boden ist kurz; die Halbwertszeit beträgt nur 8 bis 20

Tage. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit und der starken Adsorption an die organische Fraktion ist die Mobilität im Boden gering. Es muss mindestens ein Abstand von 10 m zu Oberflächengewässern bei der Anwendung eingehalten werden. Der Wirkstoff ist für Fischnährtiere als toxisch eingestuft.

### Propaquizafop

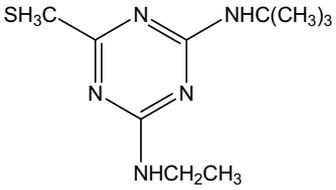
Propaquizafop wird zur Bekämpfung von einjährigen Ungräsern und Ausfallgetreide in Nachlaufverfahren in Winterraps, Zucker-, Futterrüben und Kartoffeln eingesetzt. In empfindlichen Pflanzen werden die Esterverbindungen zu den jeweiligen Säuren hydrolysiert, die im Gegensatz zu den angewendeten lipophilen Herbiziden sowohl im Xylem als auch im Phloem transportiert und vor allem im meristematischen Gewebe angereichert werden. Erst durch die in der Pflanze stattfindende Hydrolyse wird die eingesetzte Verbindung in eine phytotoxisch wirksame, wasserlöslichere und damit translozierbare Form überführt. Die entstehenden Säuren bewirken Veränderungen der Zellmembran und bedingen dadurch eine Unterbrechung der Zellteilung und Zellvergrößerung im Meristem mit einer nachfolgenden Wachstumsdepression.

Präparat	Agil (Syngenta) 10% EC
Chemische Bezeichnung	2-Isopropylideneamino-oxyethyl-( <i>R</i> )-2-[4-(6-chloroquinoxalin-2-yloxy)phenoxy]propionate
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Aryloxy-phenoxypropionsäure
Wasserlöslichkeit	0,63 mg/l (25 °C)
Dampfdruck	<math>10^{-10}</math>
Log Kow	4,78 (25 °C)
Koc	411

Die eigentliche Wirkung kommt durch eine Beeinflussung des Stoffwechsels zustande. Die Verbindung hemmt die Acetyl-CoA-Carboxylase und damit den ersten Teilschritt der de-novo-Biosynthese von Fettsäuren. Der Wirkstoff ist für Algen, Fischnährtiere und Fische als toxisch eingestuft.

## Terbutryn

Der Wirkstoff hemmt die Photosynthese durch Beeinflussung des Elektronentransports im Photosystem II. Darüber hinaus ergeben sich einige indirekte Wirkungen, wie die Beeinflussung des Wuchsstoff-, Nukleinsäure- und Stickstoffmetabolismus. Die Mobilität im Boden ist gering.

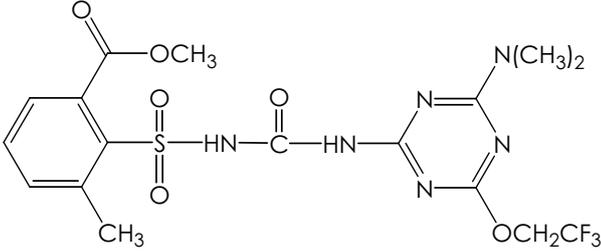
Präparat	Hora Terbutryn EC (Syngenta) 45% EC
Chemische Bezeichnung	N <sup>2</sup> -tert-Butyl-N <sup>4</sup> -ethyl-6-methylthio- 1,3,5-triazine-2,4-diamine
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	s-Triazine
Wasserlöslichkeit	22 mg/l (25 °C)
Dampfdruck	2,3 x 10 <sup>-4</sup> Pa (25 °C)
Log Kow	3,65 (25 °C)
Koc	330-1060

## Sulfonylharnstoffe

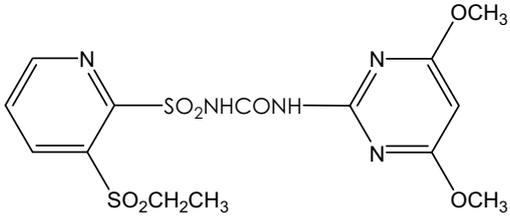
Die herbiziden Eigenschaften der Sulfonylharnstoffe wurden Mitte der 70-er Jahre von Levitt (1982) erstmals beschrieben. Sulfonylharnstoffe sind bisher zur Anwendung im Getreide, auf Wiesen, Weiden, in Mais- und Kartoffelkulturen gelangt. Die Substanzen werden über die Blätter und Wurzeln aufgenommen und in der Pflanze sowohl im Phloem als auch im Xylem transportiert. Häufig auftretende Symptome sind Anthocyanbildung, Gefäßverfärbungen, Chlorosen, Nekrosen und schließlich Absterbeerscheinungen. Die beschriebene Wirkung wird primär durch eine Hemmung der Acetolactat-Synthase verursacht. Hierbei handelt es sich um ein Schlüsselenzym bei der Biosynthese der Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin. Die unmittelbare Folge ist eine Hemmung der Zellteilung im meristematischen Gewebe der Pflanzen. Die Sulfonylharnstoffe sind giftig für Algen, Fischnährtiere und Fische. Der Abbau kann sich jedoch in kalten, trockenen und schweren Böden mit einem hohen pH-Wert erheblich verzögern. Die Verlagerung der Sulfonylharnstoffe im Boden nimmt mit steigendem pH-Wert und abnehmendem Gehalt an organischer Masse zu. Zwischen den

einzelnen Wirkstoffen dieser Substanzklasse besteht jedoch erhebliche Unterschiede, wie nachfolgende Übersicht zeigt.

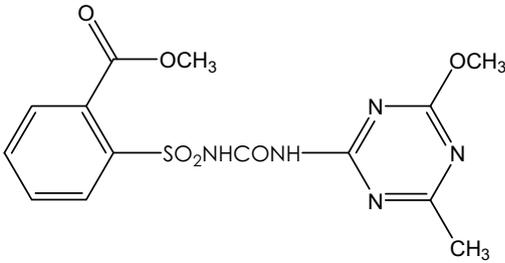
### Triflursulfuron-methyl

Präparat	Debut (DuPont) 50% WG
Chemische Bezeichnung	Methyl 2-[[4-dimethylamino-6-(2,2,2-trifluoroethoxy)-1,3,5-triazin-2-yl]carbamoylsulfamoyl]-3-methylbenzoate
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Sulfonylharnstoffe
Wasserlöslichkeit	1 mg/l (pH 3), 3 mg/l (pH 5), 110 mg/l (pH 7), 11000 mg/l (pH 9)
Dampfdruck	$<1 \times 10^{-5}$ Pa (25 °C)
Log Kow	2,34 (pH 5), 0,96 (pH 7)
Koc	25-132

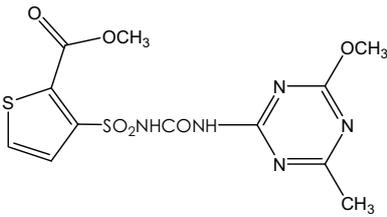
### Rimsulfuron

Präparat	Cato (DuPont) 25% WG
Chemische Bezeichnung	1-(4,6-Dimethoxypyrimidin-2-yl)-3-(3-ethylsulfonyl-2-pyridylsulfonyl)urea
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Sulfonylharnstoffe
Wasserlöslichkeit	7,3 g/l (pH 7), 25 °C
Dampfdruck	$1,5 \times 10^{-6}$ Pa (25 °C)
Log Kow	0,29 (pH 5), -1,47 (pH 7)(25 °C)
Koc	19-63

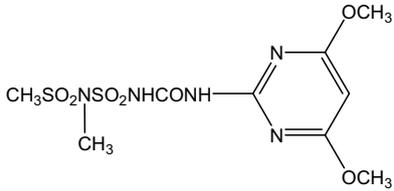
**Metsulfuron-methyl**

Präparat	Gropper (DuPont) 20 % WG
Chemische Bezeichnung	Methyl 2-[(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl)carbamoylsulfamoyl]-benzoate
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Sulfonylharnstoffe
Wasserlöslichkeit	0,55 g/l (pH 5), 2,79 g/l (pH 7)
Dampfdruck	$1,1 \times 10^{-10}$ Pa
Log Kow	1,8 (pH 5), 0,018 (pH 7)
Koc	4,61

**Thifensulfuron-methyl**

Präparat	Harmony (DuPont) 75% WG
Chemische Bezeichnung	Methyl 3-[(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl)carbamoylsulfamoyl]-thiophene-2-carboxylate
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Sulfonylharnstoffe
Wasserlöslichkeit	230 mg/l (pH 5), 6270 mg/l (pH 7)
Dampfdruck	$1,7 \times 10^{-8}$ Pa (25 °C)
Log Kow	-1,57 (pH 7, 25 °C)
Koc	13 (25 °C)

**Amidosulfuron**

Präparat	Hoestar (Aventis) 75% WG
Chemische Bezeichnung	1-(4,6-Dimethoxyprimidin-2-yl)-3-(N-methyl-N-methylsulfonylsulfamoyl)urea
Strukturformel	 <chem>CN(C)S(=O)(=O)NC(=O)Nc1nc(OC)c(OC)c1</chem>
Wirkstoffgruppe	Sulfonylharnstoffe
Wasserlöslichkeit	9 mg/l (pH 5,8)
Dampfdruck	$1,3 \times 10^{-5}$ Pa (20 °C)
Log Kow	1,63 (pH 2, 20 °C)
Koc	27

## Glyphosat

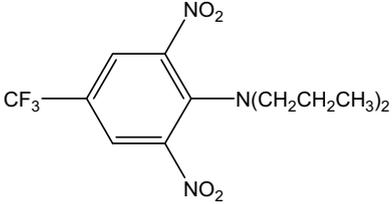
Glyphosat ist ein Totalherbizid und beeinflusst die Biosynthese der aromatischen Aminosäuren durch eine Hemmung der EPSP (3-Phospho-5-enolpyruvylshikimat)-Synthase. Daraus folgt die Akkumulation der Shikimisäure und ein Absterben der ober- und unterirdischen Teile der behandelten Pflanzen. Der Wirkstoff wird im Boden nach der Desorption schnell durch Mikroorganismen metabolisiert. Die Halbwertszeit beträgt lediglich 3 Tage. Je nach Bodentyp, Mikroflora und den jeweils herrschenden Klimabedingungen ergeben sich jedoch z. T. erhebliche Abweichungen. Die Mobilität des Wirkstoffs ist bedingt durch die starke Adsorption an die Bodenbestandteile und durch den schnellen mikrobiellen Abbau äußerst gering.

Präparat	Roundup Ultra (Monsanto) 36% EC
Chemische Bezeichnung	N-(Phosphonomethyl)glycine
Strukturformel	$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{NHCH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{P}(\text{OH})_2$
Wirkstoffgruppe	Organophosphor
Wasserlöslichkeit	12 g/l (25 °C)
Dampfdruck	Sehr niedrig
Log Kow	-4,1
Koc	30-20100

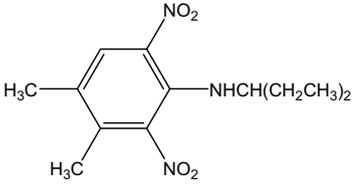
## Dinitroaniline

Haupteinsatzgebiete der Dinitroaniline sind Getreide (Trifluralin, Pendimethalin), Winterraps (Trifluralin) und Mais (Pendimethalin) sowie einige Gemüsearten und Sonnenblumen. Die Dinitroaniline werden bevorzugt über die Wurzeln vom Keimling aufgenommen. Typische Symptome einer Schädigung sind das Stagnieren des Wurzel- und Sprosswachstums und ein Anschwellen der Wurzelspitzen. Die phytotoxische Wirkung wird durch eine Hemmung der Photosynthese und der Atmung verursacht. Die Dinitroaniline werden im Boden stark adsorbiert. Dadurch ist ihre Mobilität eingeschränkt und ihre Persistenz relativ hoch. Dinitroaniline sind sehr giftig für Algen, Fischnährtiere und Fische. Zur Verhinderung des Eintrags von Wirkstoffen in Oberflächen- und Grundwasser werden Dinitroaniline in gefährdeten Flächen nicht eingesetzt. Es muss mindestens ein Abstand von 10 m zu Oberflächengewässern bei der Anwendung eingehalten werden.

**Trifluralin**

Präparat	Triflurex (Stähler) 48% EC
Chemische Bezeichnung	2,6-Dinitro-N,N-dipropyl-4-trifluoromethylaniline
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Dinitroaniline
Wasserlöslichkeit	0,184 mg/l (pH 5), 0,221 mg/l (pH 7) (25 °C)
Dampfdruck	$9,5 \times 10^{-3}$ Pa (25 °C)
Log Kow	5,07
Koc	6400-13400

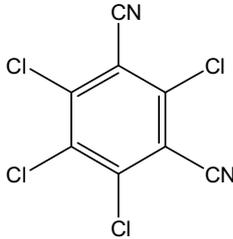
**Pendimethalin**

Präparat	Stomp SC (BASF) 40% EC
Chemische Bezeichnung	N-(1-Ethylpropyl)-2,6-dinitro-3,4-dimethylaniline
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Dinitroaniline
Wasserlöslichkeit	0,3 mg/l (20 °C)
Dampfdruck	$4 \times 10^{-3}$ Pa (25 °C)
Log Kow	5,18
Koc	5000-17200

## 4.2.2 Fungizide

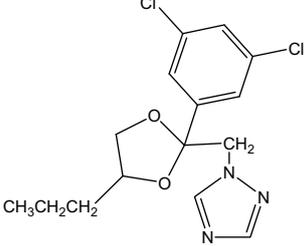
### Chlorothalonil

Der Wirkstoff ist ein nicht systemisches Fungizid. Er wird für ein breites Spektrum zur Kontrolle von Pflanzenkrankheiten in verschiedenen Kulturen eingesetzt. Chlorothalonil beeinflusst enzymatische Funktionen durch Interaktion mit Proteinsulfhydryl-Gruppen und Glutathionen.

Präparat	Daconil Extra (Urania) 50% EC
Chemische Bezeichnung	2,4,5,6-tetrachloro-1,3-benzenedicarbonitrile
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Chloronitrile
Wasserlöslichkeit	0,6-1,2 mg/l (25 °C)
Dampfdruck	0,076 mPa (25 °C)
Log Kow	2,89
Koc	1600-14000

### Propiconazol

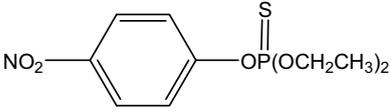
Propiconazol ist ein systemisches Fungizid und beeinflusst die Ergosterol-Biosynthese und hemmt die Steroidsynthese. Der Wirkstoff hat ein breites Spektrum und wird zur Kontrolle vieler Pflanzenkrankheiten in Getreide, Reis, Mais usw. verwendet.

Präparat	Desmel (Hora) 25% EC
Chemische Bezeichnung	1-[[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl]methyl]-1H-1,2,4-triazole
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Triazolderivat
Wasserlöslichkeit	100 mg/l (20 °C)
Dampfdruck	1,7 x 10 <sup>-4</sup> Pa
Log Kow	3,72 (pH 6,6, 25 °C)
Koc	604

#### 4.2.3 Insektizid

##### Parathion

Der Wirkstoff wird gegen beißende und saugende Insekten eingesetzt. Er hemmt die Cholinesterase in Insekten. Zwischen der behandelten Fläche und einem Oberflächengewässer muss je nach Kultur zwischen 10 und 50 m Abstand gehalten werden. Der Wirkstoff ist sehr giftig für Algen, Fische und Fischnährtiere. In manchen Ländern ist der Wirkstoff bereits verboten.

Präparat	E 605 (Bayer) 50% EC
Chemische Bezeichnung	O,O-diethyl O-(4-nitrophenyl) phosphorothioate
Strukturformel	
Wirkstoffgruppe	Organische Phosphorsäureester
Wasserlöslichkeit	11 mg/l (20 °C)
Dampfdruck	$1,5 \times 10^{-3}$
Log Kow	3,83
Koc	5000

### Durchführung der Toxizitätsversuche

Alle Experimente mit Pflanzenschutzmitteln wurden unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Die Stammkulturen wurden in Hoagland-Nährlösung mit 30 g/l Saccharose weiterkultiviert. Von den Pflanzen wurde nach ihrer 3-4 wöchigen Vermehrung des Pflanzenmaterials 3 cm lange Triebspitzen abgeschnitten. Reagenzgläser wurden mit 5 g Turface® und 50 ml Hoagland-Nährlösung unter Zugabe von 30 g/l Saccharose gefüllt und autoklaviert. Die 3 cm langen Pflanzentriebe wurden dann in der Sterilbank in die Reagenzgläser mittels Impföse eingepflanzt. Anschließend wurden die Pflanzen mit den entsprechenden Konzentrationen der Pflanzenschutzmittel belastet.

Alle Pflanzenschutzmittel wurden in sterilem destilliertem Wasser gelöst und in 6 bis 8 verschiedenen Konzentrationen als Einzelapplikation der Nährlösung zugegeben. Die Reagenzgläser sind mit einem Verschluss geschlossen und in die Lichtbank gestellt worden. Jeden zweiten Tag wurde der Längenzuwachs der Pflanzen am Reagenzglas markiert und nach 14 Tagen der Versuch abgeschlossen. Anschließend wurden die Wirkungskriterien bestimmt (siehe Kapitel 4.1.3).

## 4.3 Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln

### 4.3.1 Unmarkierte Substanzen

Für die Aufnahme der Pflanzenschutzmittel über die Wurzeln sollte eine Trennschicht zwischen Nährlösung und Sediment in den Reagenzgläsern vorhanden sein, um den Übergang von PSM aus dem Sediment in die Nährlösung (obere Teile der Pflanzen) zu verhindern. Erste Versuche wurden in Anlehnung an Hinman und Klaine (1992) wie folgt durchgeführt: Erst wurde Turface<sup>®</sup> in die Reagenzgläser gegeben und mit einer Mischung von 5 ml Nährlösung und Pflanzenschutzmittel aufgefüllt. Daraufhin wurde 1,5%-iger Agar mit einer Dicke von etwa 0,3 cm auf das Sediment gegossen. Danach wurde ein 1,5 mm dickes Teflonplättchen, das in der Mitte ein kleines Loch aufwies, auf den verfestigten Agar gelegt, auf den nochmal 1,5 %-iger Agar in 0,3 cm Dicke gegossen wurde. Anschließend wurden die Pflanzen durch die Agar- und Teflonschicht eingepflanzt und 50 ml Nährlösung dazugegeben. Eine Probenahme erfolgte am 1., 4., 7., 10. und 14. Tag nach dem Versuchsbeginn. Diese Versuche wurden mit 3 Wiederholungen durchgeführt, wobei jede Wiederholung mindestens 15 Pflanzen enthielt. Die weiteren Versuche wurden mit <sup>14</sup>C-markierten Substanzen durchgeführt. Die Ergebnisse mit den unmarkierten Substanzen von Trifluralin und 2,4-D sind in Anhang Tab. A1 und Anhang Tab. A2 dargestellt.

### Durchführung der Analyse von Trifluralin

5 Pflanzen von jeder Wiederholung wurden gewogen und dann in einem 250 ml-Becherglas nach Zugabe von 50 ml Aceton mit dem Zerkleinerungsgerät etwa 1 Minute homogenisiert. Das Homogenat wurde durch eine Filternutsche mit angefeuchtetem Rundfilter abgesaugt; der Filtrückstand wurde mit 50 ml Aceton, das als Spülflüssigkeit diente, nachgewaschen. Danach wurde die Flüssigkeit in einem 1 l Scheidetrichter mit 250 ml Wasser und 25 ml Natriumchloridlösung sowie mit 50 ml Dichlormethan mindestens 2 min kräftig geschüttelt. Die Extraktion wurde mit 50 ml Dichlormethan wiederholt. Die vereinigten Dichlormethanphasen wurden mit 30 g Natriumsulfat 30 min getrocknet. Das getrocknete Extrakt wurde durch ein Faltenfilter filtriert und das Gefäß und der Filter mit 3 ml Dichlormethan in 3 Anteilen nachgespült. Das Filtrat wurde im Rotationsverdampfer bis auf etwa 2 ml eingengt. Der Rückstand ist in 10 ml Dichlormethan aufgenommen worden. Zur Reinigung wurden 15 ml Elutionsgemisch in das Chromatographierohr eingeschlämmt, das bereits 1 cm hoch mit Dichlormethan beschickt war. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgelassen. Dann wurden 15 g Kieselgel und 1 g Aktivkohle in einem 50 ml Becherglas gut

durchgemischt und langsam mit 35 ml Elutionsgemisch angerührt. Unter stetigem Rühren wurde das Kohle-Kieselgel-Gemisch durch einen Trichter anfänglich langsam, dann in einem Guss in das Chromatographierohr gegeben. Das bereits durchgelaufene Eluat wurde zum Nachspülen des Einfüllgefäßes benutzt. Das Elutionsgemisch wurde bis auf 2 cm über dem Rand der Füllung abgelassen und dieses in kleinen Anteilen mit insgesamt 5 ml Dichlormethan quantitativ angegeben. Bereits durchlaufene Flüssigkeit und späteres Eluat wurden in einem 250 ml-Rundkolben aufgefangen. Die Elution der Säule erfolgte mit 140 ml des Elutionsgemisches. Das Eluat wurde im Rotationsverdampfer auf etwa 30 ml eingeeengt. Nach Überführen in einen 50 ml-Rundkolben wurde weiter auf etwa 2 ml eingeeengt und dann eine GC Messung durchgeführt.

### **Durchführung der Analyse von 2,4-D**

5 Pflanzen wurden gewogen und in einer Weithalsflasche mit 100 ml eines Methanol-Wasser-Gemischs versetzt. Dann wurde mit einem Ultra-Turrax unter Kühlung mit Eiswasser 10 min mazeriert. Das Mazerat wurde durch eine Porzellanfilternutsche abgesaugt. Der Filterkuchen wurde noch dreimal mit 10 ml des Methanol-Wasser-Gemischs nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte wurden in einem 1 l Rundkolben mit 10 ml Natronlauge alkalisiert und im Rotationsverdampfer bei 60 °C Badtemperatur bis zum wässrigen Rückstand eingeeengt. Der wässrige Abdampfrückstand wurde mit 50 ml Wasser in einen 250 ml-Scheidetrichter überführt und zweimal mit je 25 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die Dichlormethanextrakte wurden abgetrennt und verworfen. Die Wasserphase wurde mit 25 ml Schwefelsäure angesäuert und dreimal mit je 25 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten Dichlormethanphasen wurden durch Natriumsulfat filtriert. Filter und Natriumsulfat wurden mit 10 ml Dichlormethan nachgewaschen. Das gesamte Filtrat wurde in einem 100 ml Rundkolben im Rotationsverdampfer bei 30 °C Badtemperatur bis zur Trockenheit eingedampft. Zu diesem Rückstand wurde 5 ml des Veresterungsgemischs (1:9 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz.:Methanol) gegeben und unter gelegentlichem Umschwenken 10 min bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde es mit 15 ml Wasser versetzt und mit 10 ml n-Hexan geschüttelt. Nach dem Abtrennen der wässrigen Phase wurde die Hexanphase mit 15 ml Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und verworfen, die Hexanphase mit wenig Natriumsulfat getrocknet und dann wurden diese Proben im GC gemessen.

## Gaschromatographische Messung

Die Bedingungen für die Gaschromatographie werden in Tabelle 5 aufgeführt.

Tab. 5: Bedingungen für gaschromatographische Analytik

Gaschromatograph	Hewlett Packard (HP 5890) Serie II Autosampler HP 7673
Software	ChemStation
Trennsäule	Kapillärsäule SGE BP5, Länge 30 m, Innendurchmesser 0,25 mm, Säulenfilmdicke 0,25 µm
Detektor	ECD Electron Capture Detektor
Temperaturen	Injektor: 260 °C Detektor: 300 °C
Säulentemperaturprogramm (Trifluralin)	50 °C 2 min halten 30 °C min <sup>-1</sup> auf 140 °C, 2 min halten 5 °C min <sup>-1</sup> auf 200 °C 2 min halten
Säulentemperaturprogramm (2,4 D)	120 °C 1 min halten 30 °C min <sup>-1</sup> auf 180 °C 10 °C min <sup>-1</sup> auf 290 °C 2 min halten
Trägergas	N <sub>2</sub> ECD Qualität, Durchfluss 30 ml <sup>-1</sup>
Injektionsvolumen	1 µl

### 4.3.2 <sup>14</sup>C-markierte Substanzen

Die Versuche zur Aufnahme und Translokation radioaktiv markierter Substanzen wurden in zwei verschiedenen Varianten durchgeführt. Deren spezifische Aktivitäten sind in Tabelle 6 aufgelistet.

Tab. 6: Verwendete <sup>14</sup>C-markierte Pflanzenschutzmittel und Aktivitäten

Pflanzenschutzmittel	Aktivität der Substanz
Trifluralin	0,37 MBq/mg
Triasulfuron	0,11 MBq/mg
Terbutryn	0,29 MBq/mg
Atrazin	4,29 MBq/mg
Cycloxdim	1,421 MBq/mg

### Aufnahme von $^{14}\text{C}$ -markierten Substanzen durch Wurzeln und Translokation in die oberen Pflanzenteile

Die 5 cm großen Pflanzenstücke wurden zuerst bewurzelt. Anschließend wurden die Pflanzenstängel oberhalb der Wurzeln mit einer Schicht aus Kautschuk-Silikon (Fa. Roth) abgedichtet worden, damit der Eintritt von markierten Substanzen von unten nach oben verhindert wird. Über den Wurzeln wurde mit Nährlösung aufgefüllt. Nach einem Tag wurden alle Reagenzgläser auf ihre Dichte hin überprüft. Nach 7 Tagen Anpassungs- und Wachstumszeit wurde jede Pflanze mit 0,25  $\mu\text{Ci}$  Pflanzenschutzmittel im Wurzelbereich belastet. Die Probennahme erfolgte nach 1, 2, 3, 5 und 7 Tage nach der Belastung. Zur Probennahme wurden die Pflanzen erst aus den Reagenzgläsern entfernt und unter destilliertem Wasser gespült, um die Substanzen von der Pflanzenoberfläche zu entfernen. Danach wurden die Wurzeln von den oberen Teilen der Pflanzen getrennt und auf einem Fließpapier getrocknet, zwischen 2 Filterpapieren in Gitterpressen eingelegt und 4 h bei 90 °C getrocknet. Die Pflanzen wurden in obere Teile und Wurzeln aufgeteilt, um die Aufnahme und Translokation quantifizieren zu können. Nach der Bestimmung des Trockengewichts wurden die einzelnen Proben in aschefreie Filterpapiertüten überführt und zu Pillen gepresst. Die Proben wurden dann einzeln in einem Verbrennungsautomat (PACKARD Oxidizer Model 307) 1 min erhitzt. Das dadurch entstandene  $^{14}\text{CO}_2$  wurde mit Carbosorb II (Fa. Packard) gebunden. Anschließend wurde die Radioaktivität des Carbosorbs mit einem Flüssigszintillationsspektrometer gemessen (200CA TRI-CARB 3380 der Fa. Packard, USA).

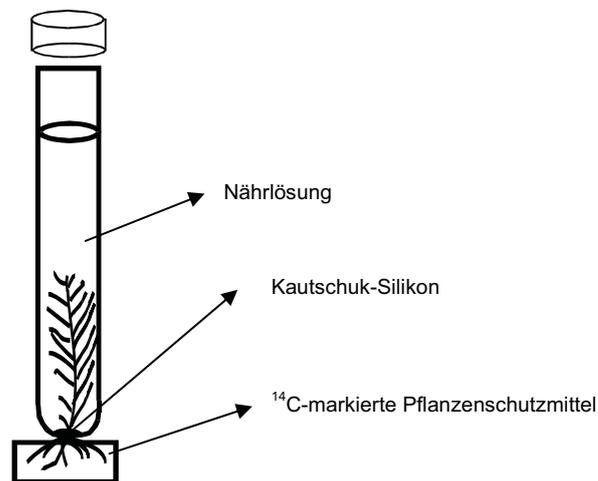


Abb. 5: Versuchsschema für die Aufnahme und Translokation von Pestiziden

## **Aufnahme durch Wurzeln und die oberen Teile der Pflanzen**

Die Pflanzen wurden wie in den bisher beschriebenen Versuchen (siehe Anzucht des Pflanzenmaterials) vermehrt und nach 3-4 Wochen wurden aus der Stammkultur 4-5 cm lange Stücke geschnitten. Diese Pflanzenstücke wurden in Turface eingepflanzt. Nach der Einpflanzung erfolgte innerhalb von 5 Tagen die Bewurzelung. Anschließend wurden je Pflanze bzw. je Reagenzglas mit 0,25  $\mu\text{Ci}$  der entsprechenden Substanz belastet. Die Probennahme erfolgte nach 1, 2, 3, 5 und 7 Tagen nach der Belastung. Die Probenvorbereitung und Analyse erfolgte wie oben beschrieben.

## **4.4 Durchführung der Toxizitätsversuche mit Sedimenten aus der Donau**

Die Sedimente aus der Donau wurden unter insterilen Bedingungen mit *M. aquaticum* getestet. Die Sedimente wurden durch die freundliche Unterstützung von Martina Duft und Michaela Tillmann vom IHI Zittau zur Verfügung gestellt. Die chemische Analyse an Nährstoffen, organischen Umweltchemikalien und Schwermetallen wurde am IHI Zittau durchgeführt. Die methodische Durchführung wurde detailliert in Duft et al. (2002) beschrieben.

Die Vermehrung der Pflanzen erfolgte zunächst in Anlehnung an die Pflanzenschutzmittel-Prüfung unter sterilen Bedingungen. Die Pflanzen wurden mit destilliertem Wasser gespült und in Erlenmeyerkolben unter insterilen Bedingungen zugeführt. Nach dreitägiger Anpassungszeit wurden 3 cm große Triebspitzen abgeschnitten, in Schnappdeckelgläser, die mit Sedimentproben gefüllt waren, eingepflanzt und diese in ein 600 ml-Becherglas gestellt. Die Experimente wurden in 5 Wiederholungen durchgeführt. Nach 14 Tagen wurden die Wirkungskriterien Frischgewicht, Wurzelzahl, Wurzellänge, Wurzelgewicht, Seitentriebzahl, Seitentrieblänge, Chlorophyll a, Chlorophyll b und Carotinoide bestimmt.

## **4.5 Statistische Auswertung**

### **4.5.1 Kultivierungsbedingungen**

Beim Vergleich der Testergebnisse wurden die Daten mit zwei Varianten des Mittelwertvergleichs „t Test“ ausgewertet. Gruppenvergleich z. B. mehr als 2 Gruppen wurde mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse des Tukey-Tests durchgeführt. Die Testgröße der Varianzanalyse genügt einer F-Verteilung und basiert auf dem Vergleich der Variation der

Gruppenmittelwerte. Zum Vergleich der signifikanten Unterscheidung wurde das Signifikanzniveau 0,05 ausgewählt. Diese Tests wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SigmaStat 2.03 berechnet.

#### 4.5.2 Ökotoxikologische Untersuchungen

Die Empfindlichkeit der Wirkungskriterien und die Toxizität der untersuchten Pflanzenschutzmittel wurden mit Hilfe des  $EC_{50}$  (EC = Effektive Konzentration) verglichen. Der  $EC_{50}$  gibt diejenige Konzentration an, bei der der gemessene Effekt 50% beträgt. Der  $EC_{50}$ -Wert wurde mit Hilfe der Dosis-Wirkungsbeziehung durch das logistische Modell von Streibig (1988) berechnet. Hier ergibt sich ein nicht linearer Zusammenhang. Diese Berechnungen wurden unter Verwendung von SigmaPlot 4.0 durchgeführt. Das logistische Modell von Streibig (1988) hat die folgende Formel:

$$y = C + \frac{D - C}{1 + e^{(b(\ln(x) - \ln(EC_{50})))}}$$

y=Wirkung; x=Konzentration; D=obere Grenze; C= untere Grenze; b= Steigung,

$EC_{50}$ = Konzentration, die 50% Wirkung verursacht

Dieser Wert ( $EC_{50}$ ) kann durch eine Transformation der Daten in einen linearen Zusammenhang überführt werden, so dass dann eine lineare Regression durchgeführt werden kann. Dadurch ist es zwar möglich, zwischen den Konzentrationen zu interpolieren, es muss aber bei dieser Art der Auswertung in Kauf genommen werden, dass Reaktionen im Bereich niedriger und hoher Konzentrationen nicht genau beschrieben werden können. Eine Verbesserung wird durch die Verwendung nichtlinearer Funktionen erreicht (Michel et al. 1999). Deswegen wurden in dieser Arbeit nichtlineare Funktionen für die Berechnungen von  $EC_{50}$ -Werten verwendet.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Kultivierung von *M. aquaticum* unter sterilen Bedingungen

#### 5.1.1 Wachstum in verschiedenen Nährlösungen

Der Vergleich des Wachstums von *M. aquaticum* in verschiedenen Nährlösungen zeigte, dass die Pflanzen allgemein in Hoagland-Nährlösung (NL) am besten wuchsen. Vor allem das Längenwachstum war etwa dreimal so hoch wie in Andrews-NL (Tab. 7). Der verstärkte Längenzuwachs war bereits ab Beginn des 2. Tages bis zum Ende der Versuchsdauer zu erkennen (Abb. 6).

Tab. 7: Ergebnisse der Wachstumsparameter der Nährmedien Hoagland und Andrews nach 14 Tagen. a, b: diese Werte zeigen einen signifikanten Unterschied bei  $p=0,05$ .

Wachstumsparameter/ Nährlösung	Hoagland mit 30 g/l Saccharose	Andrews mit 30 g/l Saccharose
Längenzuwachs (mm)	17,4 <sup>a</sup> ±4,56	5,0 <sup>b</sup> ±7,07
Frischgewicht (g)	0,1 <sup>a</sup> ±0,03	0,3 <sup>b</sup> ±0,02
Wurzelzahl	3,2 <sup>a</sup> ±0,50	9,8 <sup>b</sup> ±2,49
Wurzellänge (mm)	27,4 <sup>a</sup> ±5,80	20,3 <sup>b</sup> ±3,33
Chlorophyll a (µg/ml Pfl.extrakt)	6,9 <sup>a</sup> ±0,43	4,1 <sup>b</sup> ±0,44
Chlorophyll b (µg/ml Pfl.extrakt)	0,9 <sup>a</sup> ±0,11	0,5 <sup>b</sup> ±0,08
Carotinoide (µg/ml Pfl.extrakt)	1,5 <sup>a</sup> ±0,27	0,8 <sup>b</sup> ±0,11
Seitentriebzahl	1,6 <sup>a</sup> ±0,55	3,4 <sup>b</sup> ±0,89
Seitentrieblänge (mm)	12,5 <sup>a</sup> ±6,36	12,7 <sup>a</sup> ±0,84

Die Pflanzen zeigten in Hoagland-NL sowohl im Gesamtwachstum als auch bei der Wurzelentwicklung ein verstärktes Längenwachstum. Zusätzlich kam es zu einer Erhöhung des Pigmentgehaltes (Chlorophyll a, b und Carotinoide) (Tab. 7).

Im Vergleich dazu zeigten die Pflanzen in Andrews-NL eine signifikante Erhöhung der Wurzelzahl, der Seitentriebzahl und des Frischgewichts, jedoch kein erhöhtes Längen-

wachstum. Auch war das Dickenwachstum der Pflanzenstängel deutlich verstärkt, was ein höheres Frischgewicht im Gegensatz zu Pflanzen in Hoagland-NL zur Folge hatte.

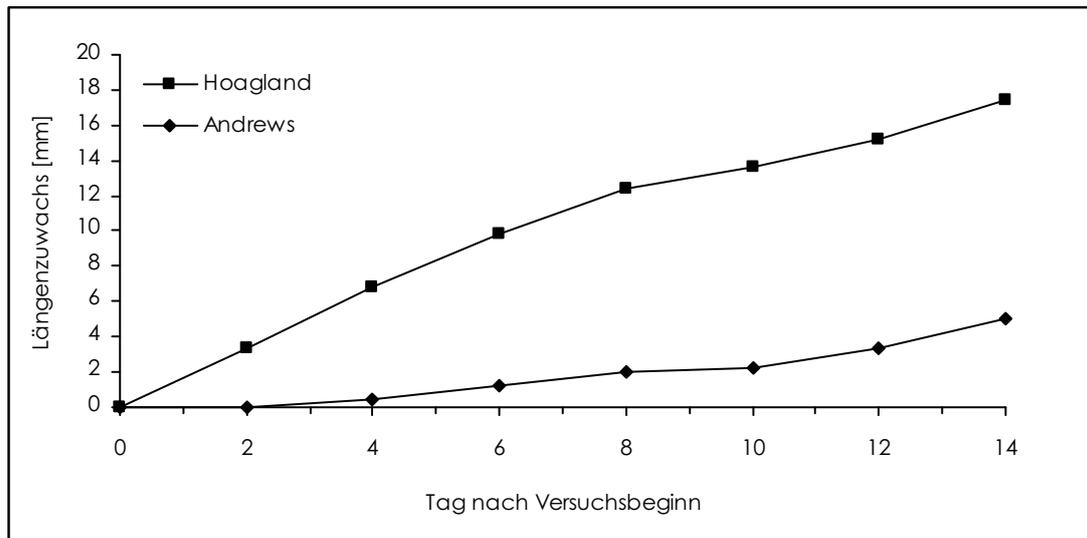


Abb. 6: Der Einfluß von Hoagland- und Andrews-Nährlösung auf das Längenwachstum von *M. aquaticum* im Verlauf von 14 Tagen.

### 5.1.2 Einfluss von Saccharose als Kohlenstoffquelle auf das Pflanzenwachstum

Basierend auf der Nährlösung nach Hoagland sind Versuchsreihen mit jeweils 10, 20 und 30 mg/l Saccharose durchgeführt worden. Mit zunehmendem Saccharose-Gehalt zeigte sich eine Erhöhung des Längenwachstum der Pflanzen, die bereits nach 2 Tagen zu erkennen war (Abb. 7). Die Versuchsreihe führte bei einer Konzentration von 10 g/l Saccharose zu einem verringerten Längenwachstum der Pflanzen. Dagegen konnte sowohl bei einer Saccharose-Konzentration von 20 g/l als auch 30 g/l eine verstärkte Längenentwicklung festgestellt werden. Eine Bestimmung des Frischgewichts des Pflanzenmaterials ließ trotz unterschiedlicher Mengenzugaben von Saccharose in die Nährlösung keine signifikanten Unterschiede erkennen. Bei einer Saccharose-Konzentration von 10 g/l wurde das höchste, bei 30 g/l ein mittleres und bei 20 g/l das niedrigste Frischgewicht erreicht (Tab. 8).

Auch die anderen Wirkungsparameter wie Seitentriebzahl, Seitentrieglänge und Wurzelanzahl zeigten keine signifikanten Unterschiede. Auch hier erreichten die Seitentriebzahl und die Wurzelanzahl bei 10 g/l Saccharose einen höheren Wert (Tab. 8).

Tab. 8: Veränderung verschiedener Wachstumsparameter bei unterschiedlichen Saccharose-Konzentrationen a, b, c: diese Werte zeigen einen signifikanten Unterschied bei  $p=0,05$  nach 14 Tagen.

Wirkungskriterien/ C-Quelle	10 g/l Saccharose	20 g/l Saccharose	30 g/l Saccharose
Längenzuwachs(mm)	6,2 <sup>a</sup> ±5,59	14,5 <sup>b</sup> ±4,20	17,4 <sup>b</sup> ±4,56
Frischgewicht (g)	0,096 <sup>a</sup> ±0,03	0,081 <sup>a</sup> ±0,03	0,086 <sup>a</sup> ±0,01
Seitentriebzahl	3,4 <sup>a</sup> ±1,34	2,5 <sup>a</sup> ±1,73	1,6 <sup>a</sup> ±0,55
Seitentrieblänge (mm)	8,2 <sup>a</sup> ±2,72	8,3 <sup>a</sup> ±4,29	12,5 <sup>a</sup> ±6,36
Wurzelsanzahl	4,8 <sup>a</sup> ±1,30	4,5 <sup>a</sup> ±1,29	4,6 <sup>a</sup> ±1,52
Wurzellänge (mm)	20,3 <sup>a</sup> ±4,37	26,2 <sup>b</sup> ±5,25	27,5 <sup>b</sup> ±5,81
Chlorophyll a (µg/ml Pfl. Extrakt)	3,9 <sup>a</sup> ±0,72	4,4 <sup>a</sup> ±0,43	5,5 <sup>b</sup> ±0,36
Chlorophyll b(µg/ml Pfl. Extrakt)	2 <sup>a</sup> ±0,38	2,28 <sup>a</sup> ±0,18	2,7 <sup>b</sup> ±0,26
Carotinoide (µg/ml Pfl. Extrakt)	1,0 <sup>a</sup> ±0,18	1,2 <sup>a</sup> ±0,07	1,4 <sup>b</sup> ±0,10

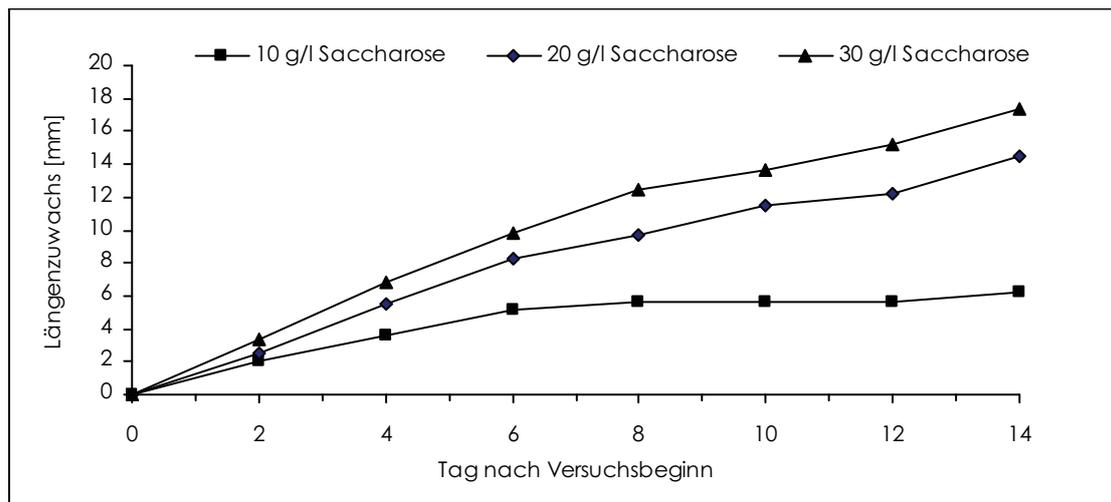


Abb. 7: Der Einfluss verschiedener Saccharose-Konzentrationen als Kohlenstoff-Quelle auf den Längenzuwachs von *M. aquaticum* im Verlauf von 14 Tagen.

Eine Untersuchung der Pigmentgehalte zeigte, dass *M. aquaticum* bei 30 g/l Saccharose höhere Pigmentgehalte (Chlorophyll a und b, Carotinoide) enthielt als mit 10 und 20 g/l Saccharose. Auffallend war, dass die geringsten Pigmentgehalte bei einer Zugabe von 10 g/l Saccharose auftraten. Allerdings konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Varianten ermittelt werden (Tab. 8). Bei einer visuellen Bonitur konnte man bereits erkennen, dass die Pflanzen bei 10 g/l Saccharose hellgrüne und z. T. chlorotische Blätter aufwiesen. Mit zunehmender Saccharose-Konzentration

verringerte sich das Auftreten von Chlorosen. Bei einem Saccharosegehalt von 30 mg/l entwickelten die Pflanzen einen dunkelgrünen Phänotyp.

### 5.1.3 Wirkung unterschiedlicher pH-Werte der Nährlösungen auf das Wachstum

Der höchste Zuwachs des Längenwachstums des Pflanzenhaupttriebs wurde bei einem pH-Wert von 6 erreicht (Tab. 9). Nährlösungen mit niedrigen pH-Werten führten zu kleineren Pflanzen, wobei bei pH 5 das kleinste Pflanzenwachstum zu beobachten war. Allerdings konnte insgesamt kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen pH-Varianten bezüglich des Längenzuwachses der Pflanzen errechnet werden.

Tab. 9: Veränderung der Wachstumsparameter von *M. aquaticum* in Abhängigkeit von unterschiedlichen pH-Werten in der Nährlösung nach 14 Tagen. a, b, c: diese Werte zeigen einen signifikanten Unterschied bei  $p=0,05$ .

Wirkungskriterien/ pH-Wert	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6
Längenzuwachs (mm)	19,6 <sup>a</sup> ±4,03	19,4 <sup>a</sup> ±2,88	16,6 <sup>a</sup> ±4,61	22,2 <sup>a</sup> ±5,26
Wurzelzahl	2,8 <sup>a</sup> ±1,09	3,2 <sup>a</sup> ±1,64	3,8 <sup>a</sup> ±1,30	3,4 <sup>a</sup> ±1,51
Wurzellänge (mm)	34,9 <sup>a</sup> ±16,50	28,1 <sup>a</sup> ±4,27	28,8 <sup>a</sup> ±9,49	28,4 <sup>a</sup> ±6,06
Frischgewicht (mg)	52,0 <sup>a</sup> ±11,00	54,0 <sup>a</sup> ±17	75,0 <sup>b</sup> ±12	73,0 <sup>b</sup> ±9,00
Chlorophyll a	5,9 <sup>a</sup> ±0,52	5,5 <sup>a</sup> ±0,25	4,3 <sup>b</sup> ±0,30	4,7 <sup>b</sup> ±0,23
Chlorophyll b	2,7 <sup>a</sup> ±0,20	2,6 <sup>a</sup> ±0,18	2,0 <sup>b</sup> ±0,14	2,3 <sup>b</sup> ±0,16
Carotinoide	1,5 <sup>a</sup> ±0,121	1,4 <sup>a</sup> ±0,09	1,1 <sup>b</sup> ±0,06	1,2 <sup>b</sup> ±0,06
Seitentriebzahl	2,8 <sup>c</sup> ±1,44	1,2 <sup>a</sup> ±0,45	3,8 <sup>bc</sup> ±1,79	2,2 <sup>c</sup> ±0,84
Seitentrieblänge (mm)	11,6 <sup>a</sup> ±4,88	14,4 <sup>a</sup> ±3,78	9,9 <sup>a</sup> ±3,28	8,8 <sup>a</sup> ±2,46
pH bei Versuchsende	3,2	3,9	4,2	4,8

Bei der Untersuchung des Pigmentgehalts (Chlorophyll a, b und Carotinoide) konnten bei pH 3 und pH 4 im Vergleich zu pH 5 und 6 höhere Werte bestimmt werden. Beim Wurzelwachstum wurde die höchste Wurzelzahl bei pH 5 ermittelt, dagegen zeigten die Pflanzen bei pH 3 eine höhere Wurzellänge im Vergleich zu den anderen Versuchsvarianten. Allerdings war bei keinem der Wirkungskriterien ein signifikanter Unterschied

zwischen den pH-Varianten nachzuweisen. Nur das Frischgewicht wies bei pH 5 und pH 6 signifikante Unterschiede im Vergleich zu den niedrigeren pH-Werten auf.

#### 5.1.4 Untersuchungen zur Ermittlung eines geeigneten Sediments als Bewurzelungssubstrat

Wie aus Abbildung 8 ersichtlich ist, wurde bei Pflanzen, die in Turface® wuchsen, der höchste Längenzuwachs mit durchschnittlich 42 mm erreicht. Demgegenüber wurde bei Sand als Sediment der geringste Wachstumszuwachs mit einem Durchschnittswert von 35 mm ermittelt. Bei Verwendung des Turface®-Sand-Gemischs wurden mittlere Werte von durchschnittlich 37 mm gemessen. Der Längenzuwachs in reiner Nährlösung ohne Turface® wurde nicht bestimmt, da eine Ermittlung der Länge der schwimmenden Pflanzen in Nährlösung methodisch nicht möglich war. Ebenso trat bei Pflanzen in Turface ein deutlich höherer Pigmentgehalt auf, gefolgt von Sand und dem Gemisch aus Turface und Sand (Abb. 8).

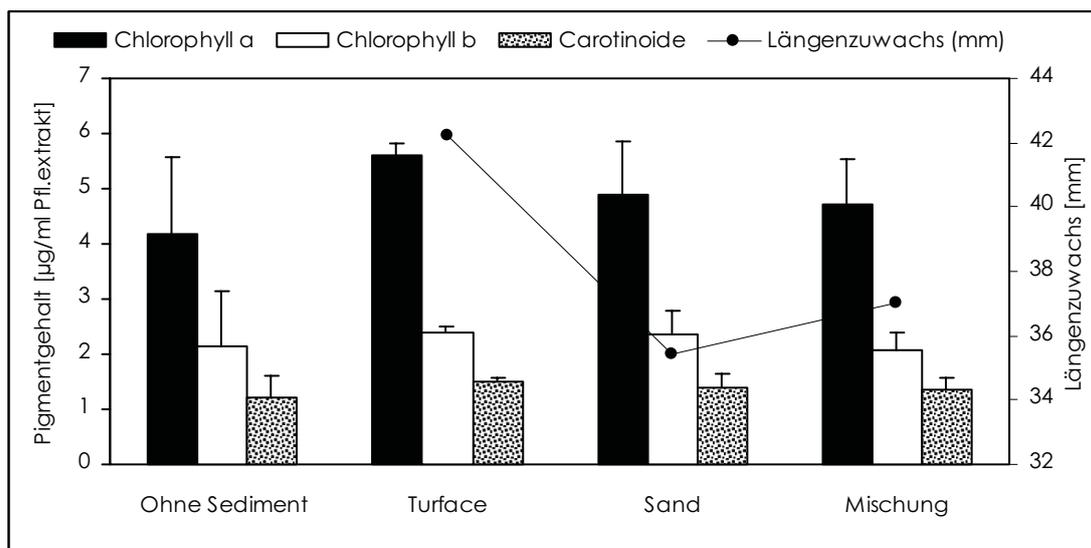


Abb. 8: Vergleich der Wirkung unterschiedlicher Sedimente als Bewurzelungssubstrat auf den Pigmentgehalt und das Längenwachstum von *M. aquaticum*.

Pflanzen, die ohne Sediment in der Nährlösung kultiviert wurden, zeigten eine verstärkte Ausbildung der Wurzelzahl und bezüglich dieses Wirkungskriteriums auch einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu den eingesetzten synthetischen Sedimenten. Auch Seitentriebzahl und Seitentrieblänge der Pflanzen zeigten keine signifikanten Unterschiede bei den verwendeten Sedimenten (Tab. 10).

Tab. 10: Vergleich der Wachstumsparameter von *M. aquaticum* in Abhängigkeit unterschiedlicher Sedimente als Bewurzelungssubstrat nach 14 Tagen.

Sedimentart/Wachstumsparameter	Wurzelzahl	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge
Ohne Sediment	8,7 <sup>a</sup> ±1,35	2,0 <sup>a</sup> ±1,09	1,1 <sup>a</sup> ±0,60
Turface	5,4 <sup>b</sup> ±0,80	0,8 <sup>a</sup> ±0,80	0,5 <sup>a</sup> ±0,50
Sand	4,4 <sup>b</sup> ±0,48	1,0 <sup>a</sup> ±0,97	0,8 <sup>a</sup> ±0,63
Mischung	4,2 <sup>b</sup> ±0,74	0,2 <sup>a</sup> ±0,00	0,2 <sup>a</sup> ±0,00

### 5.1.5 Wachstum und Empfindlichkeit von *M. aquaticum* im Verlaufe eines Jahres

Das Pflanzenwachstum kann sich im Verlauf eines Jahres verändern, so dass auch für *M. aquaticum* geprüft werden muss, ob und welche Unterschiede im Wachstum in Abhängigkeit von der Jahreszeit auftreten. In Tabelle 11 sind die Ergebnisse des Wachstums der Pflanzen im September, Dezember und Mai dargestellt. Die Gehalte an Chlorophyll a, b und Carotinoide zeigten keine signifikante Unterschiede zu den verschiedenen Zeiten. Beim Längenzuwachs konnte zwar ein etwas höherer Wert im September ermittelt werden, der allerdings nicht signifikant war. Im Allgemeinen lag der Unterschied des Längenzuwachses bei 30 % zwischen September und Dezember und bei 20 % zwischen September und Mai.

Tab. 11: Wachstum von *M. aquaticum* zu verschiedenen Jahreszeiten

Wirkungskriterien	September	Dezember	Mai
Chlorophyll a	4,6 <sup>a</sup> ±0,61	4,5 <sup>a</sup> ±0,33	5,1 <sup>a</sup> ±0,60
Chlorophyll b	2,2 <sup>a</sup> ±0,24	2,0 <sup>a</sup> ±0,18	2,4 <sup>a</sup> ±0,20
Carotinoide	1,1 <sup>a</sup> ±0,14	1,2 <sup>a</sup> ±0,09	1,4 <sup>a</sup> ±0,13
Längenzuwachs	30,0 <sup>a</sup> ±3,03	21,0 <sup>b</sup> ±1,41	24,0 <sup>b</sup> ±2,32
Wurzelzahl	3,8 <sup>a</sup> ±0,40	4,4 <sup>a</sup> ±1,20	3,0 <sup>a</sup> ±0,63
Wurzellänge	1,9 <sup>a</sup> ±0,12	2,4 <sup>a</sup> ±0,20	2,6 <sup>a</sup> ±0,50

Die Empfindlichkeit von *M. aquaticum* auf Schadstoffe wurde mit der Referenzsubstanz 3,5 Dichlorphenol (3,5 DCP) zu unterschiedlichen Jahreszeiten ermittelt. Die EC<sub>50</sub>-Werte von 3,5 Dichlorphenol sind in Tabelle 12 aufgeführt. Der maximale Unterschied in den EC<sub>50</sub> betrug 23 % bezogen auf die Pigmentgehalte. Bei Chlorophyll a konnte der größte Unterschied mit 17 % zwischen September und Mai ermittelt werden, wobei der Unterschied zwischen September und Dezember höher als 22 % lag.

Im Gegensatz zu den Pigmentgehalten konnten beim Längenzuwachs der Pflanzen 18 % zwischen September und Dezember und 6 % zwischen September und Mai errechnet werden. Insgesamt wurde festgestellt, dass die Pflanzen unabhängig von der Jahreszeit keine größeren Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber 3,5-DCP aufwiesen.

Tab. 12: Vergleich der  $EC_{50}$ -Werte von 3,5-DCP bei *M. aquaticum* in Abhängigkeit von der Jahreszeit

Wirkungskriterien	September	Dezember	Mai
Chlorophyll a	7,7	6,0	6,4
Chlorophyll b	7,7	5,9	6,2
Carotinoide	8,3	6,4	6,5
Längenzuwachs	8,1	6,5	7,5
Wurzellänge	9,9	9,9	8,6

## 5.2 Kultivierung von *M. aquaticum* unter insterilen Versuchsbedingungen

Unter insterilen Bedingungen kann Saccharose als Kohlenstoffquelle nicht verwendet werden, da die Pflanzen in kürzester Zeit von Pilzen oder Algen befallen waren. Daher ist es notwendig andere Kohlenstoffquellen für insterile Bedingungen zu suchen.

### 5.2.1 Wachstum in unterschiedlichen Nährlösungen unter Zugabe von $NaHCO_3$

Die Ergebnisse der Versuche mit  $NaHCO_3$  sind vergleichend in Abbildung 9 dargestellt. Die 50% Andrews-NL zeigte unter Zugabe von 100 mg/l  $NaHCO_3$  den höchsten Längenzuwachs der Pflanzensprosse im Vergleich zu allen getesteten Kohlenstoffquellen. Bei den anderen Nährlösungen konnte eine Erhöhung des Längenzuwachses mit der Zunahme der Konzentration an  $NaHCO_3$  ermittelt werden. Die Pigmentgehalte der Pflanzen unterschieden sich nicht bei Andrews-NL, Gaudet-NL und Jungnickel & Augsten-NL, wogegen die Pflanzen in Leitungswasser und Hoagland-NL die niedrigsten Pigmentgehalte aufwiesen (Abb. 10). Die Pflanzen in Nährlösungen von Andrews, Andrews 50%, Gaudet und Leitungswasser produzierten mehr Wurzeln im Vergleich zu Hoagland-NL und Jungnickel & Augsten-NL. Keine unterschiedliche Wirkung konnte bezüglich der Wurzelzahl und der Wurzellänge der Pflanzen von *M. aquaticum* ermittelt werden (Abb. 11).

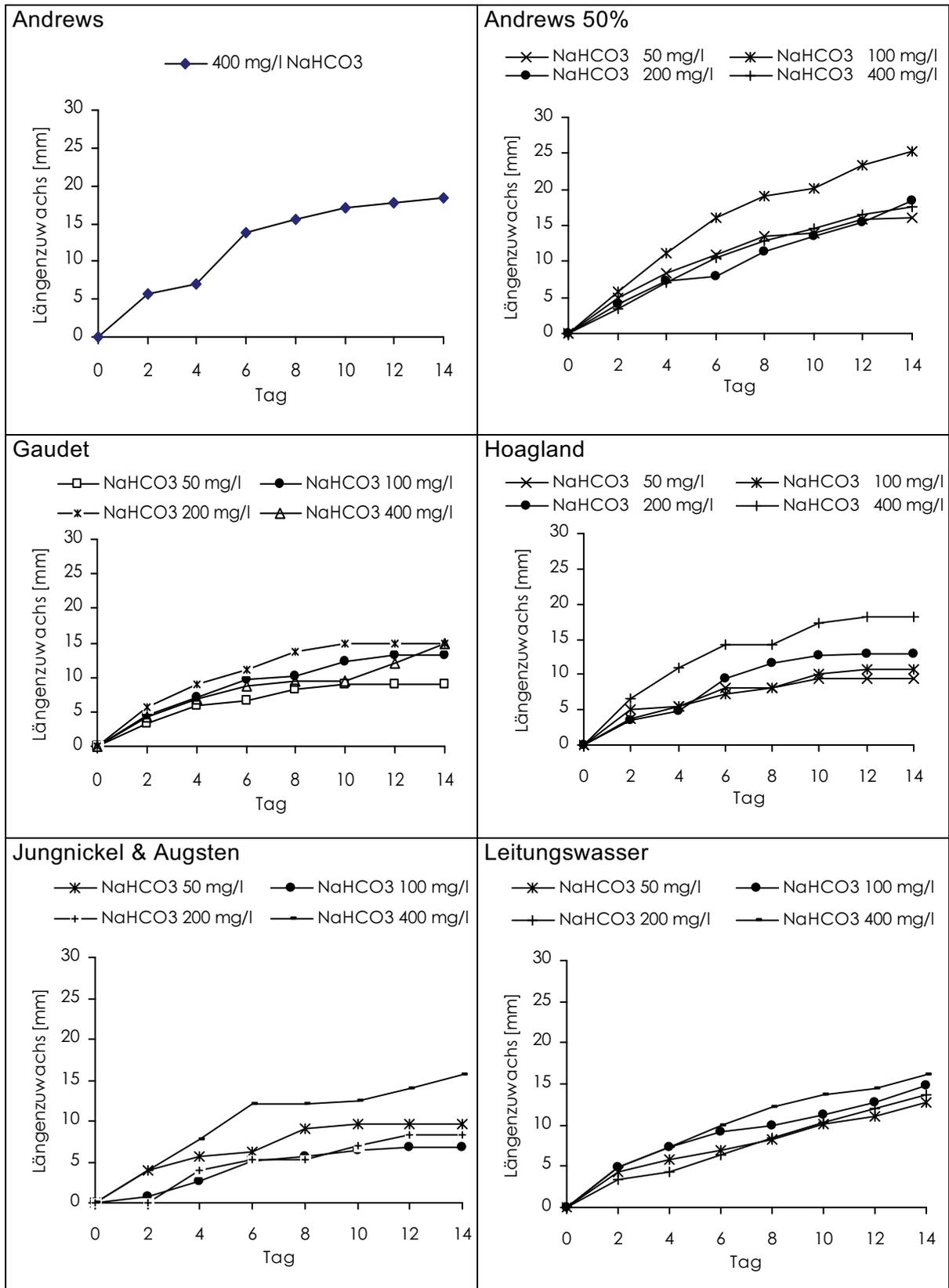


Abb. 9: Einfluss verschiedener Nährlösungen unter Zugabe unterschiedlicher Gehalte an NaHCO<sub>3</sub> als Kohlenstoff-Quelle auf den Sprosslängenzuwachs von *M. aquaticum*.

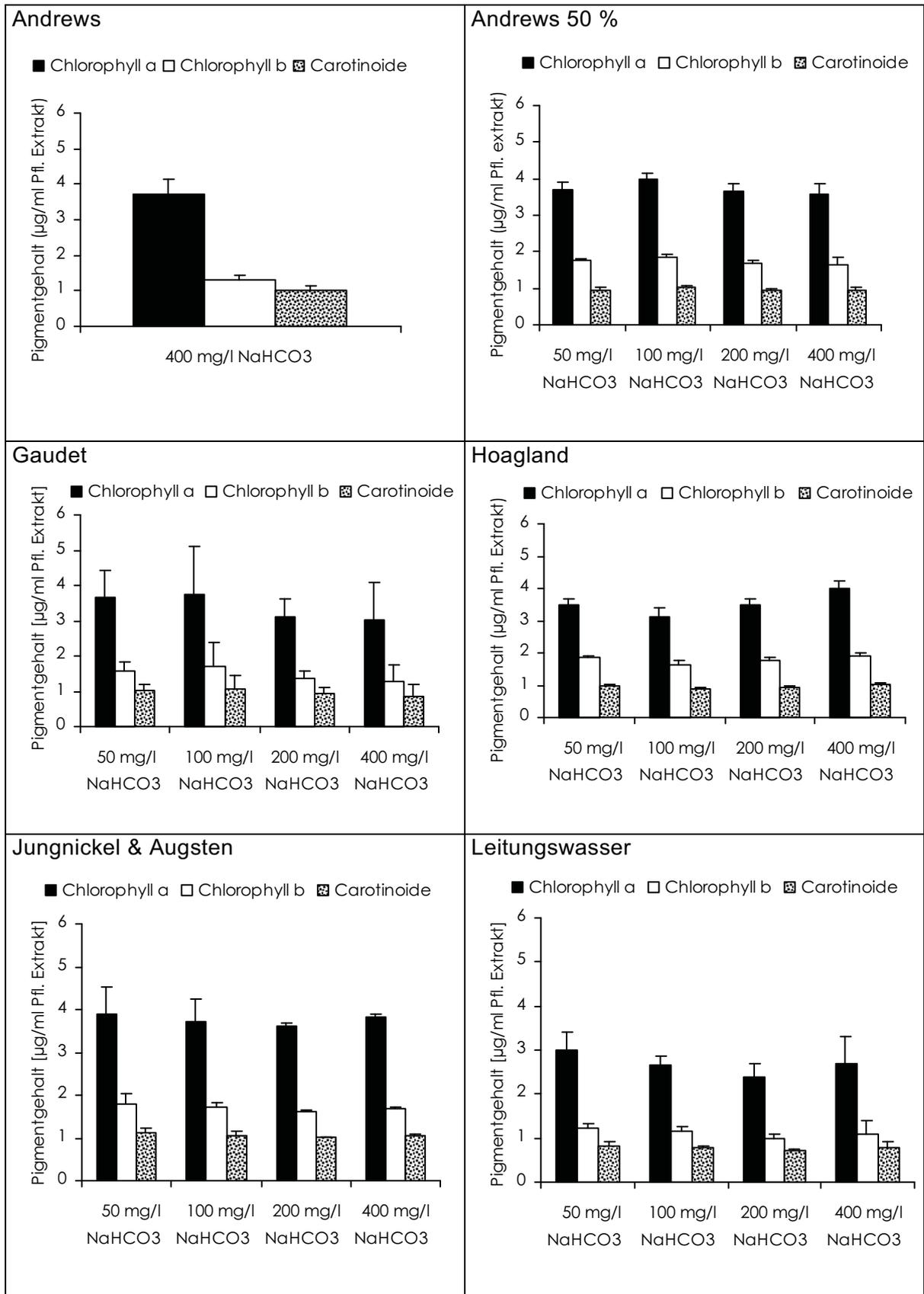


Abb. 10: Einfluss verschiedener Nährlösungen unter Zugabe unterschiedlicher Gehalte an NaHCO<sub>3</sub> als Kohlenstoff-Quelle auf die Pigmentgehalte von *M. aquaticum*.

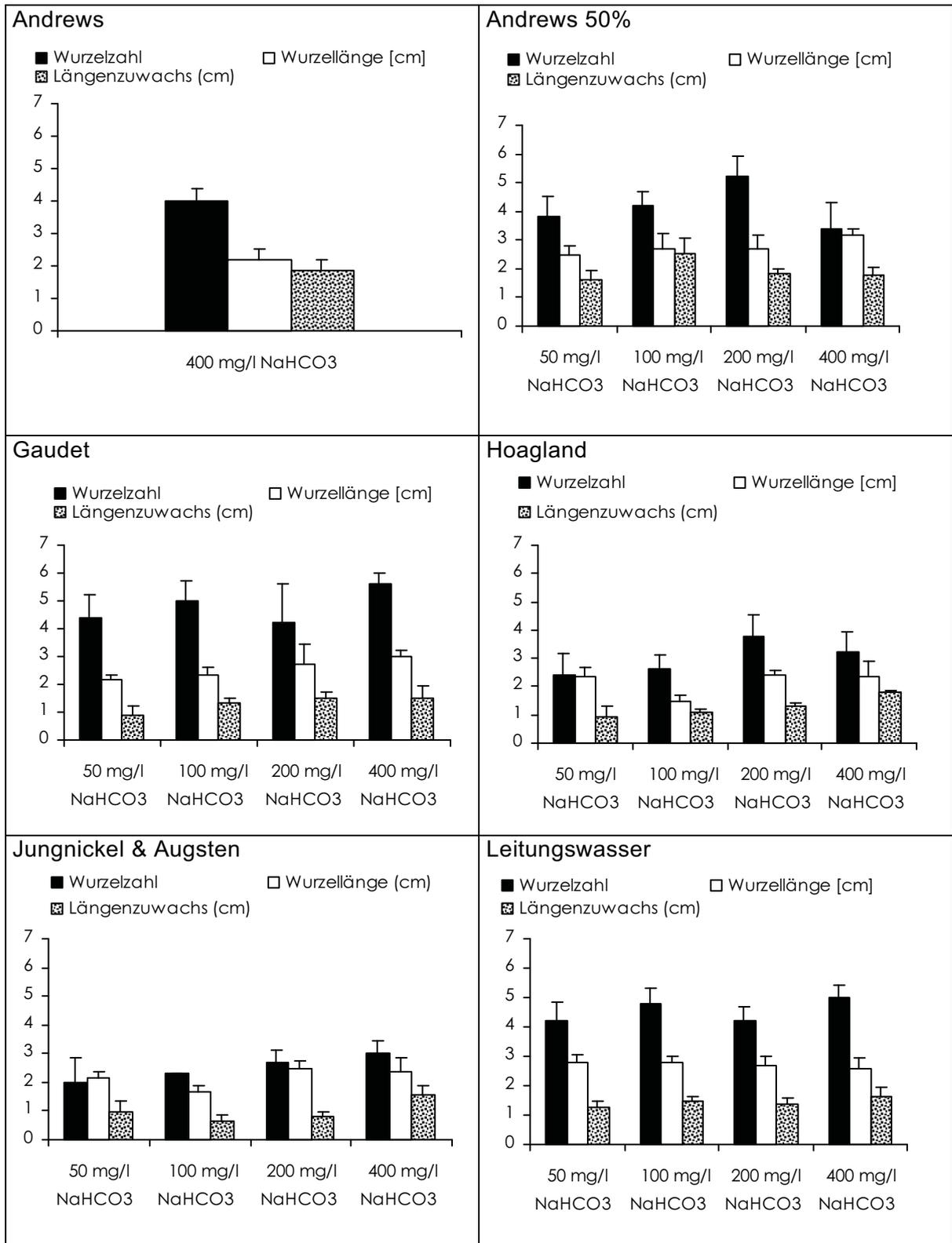


Abb. 11: Einfluss verschiedener Nährlösungen unter Zugabe unterschiedlicher Gehalte an NaHCO<sub>3</sub> als Kohlenstoff-Quelle auf die Wurzelzahl, die Wurzellänge und den Längenzuwachs von *M. aquaticum*.

### 5.2.2 Wachstum in unterschiedlichen Nährlösungen unter Zugabe von $\text{CaCO}_3$

Im Allgemeinen verursachte  $\text{CaCO}_3$  als Kohlenstoffquelle einen niedrigeren Längenzuwachs als  $\text{NaHCO}_3$ . Der höchste Längenzuwachs der Pflanzen wurde bei Verwendung von Leitungswasser versetzt mit 5 mg/l  $\text{CaCO}_3$  als C-Quelle beobachtet (Abb. 12). Insgesamt brachte die Zugabe von  $\text{CaCO}_3$  in die verschiedenen Nährlösungen keine Änderung der Pigmentgehalte von *M. aquaticum*. (Abb. 13). Auch bei der Wurzelzahl und der Wurzellänge konnten keine Unterschiede mit zunehmendem Gehalt an  $\text{CaCO}_3$  ermittelt werden, obwohl Leitungswasser ein etwas höheres Wurzelwachstum der Pflanzen verursachte (Abb. 14).

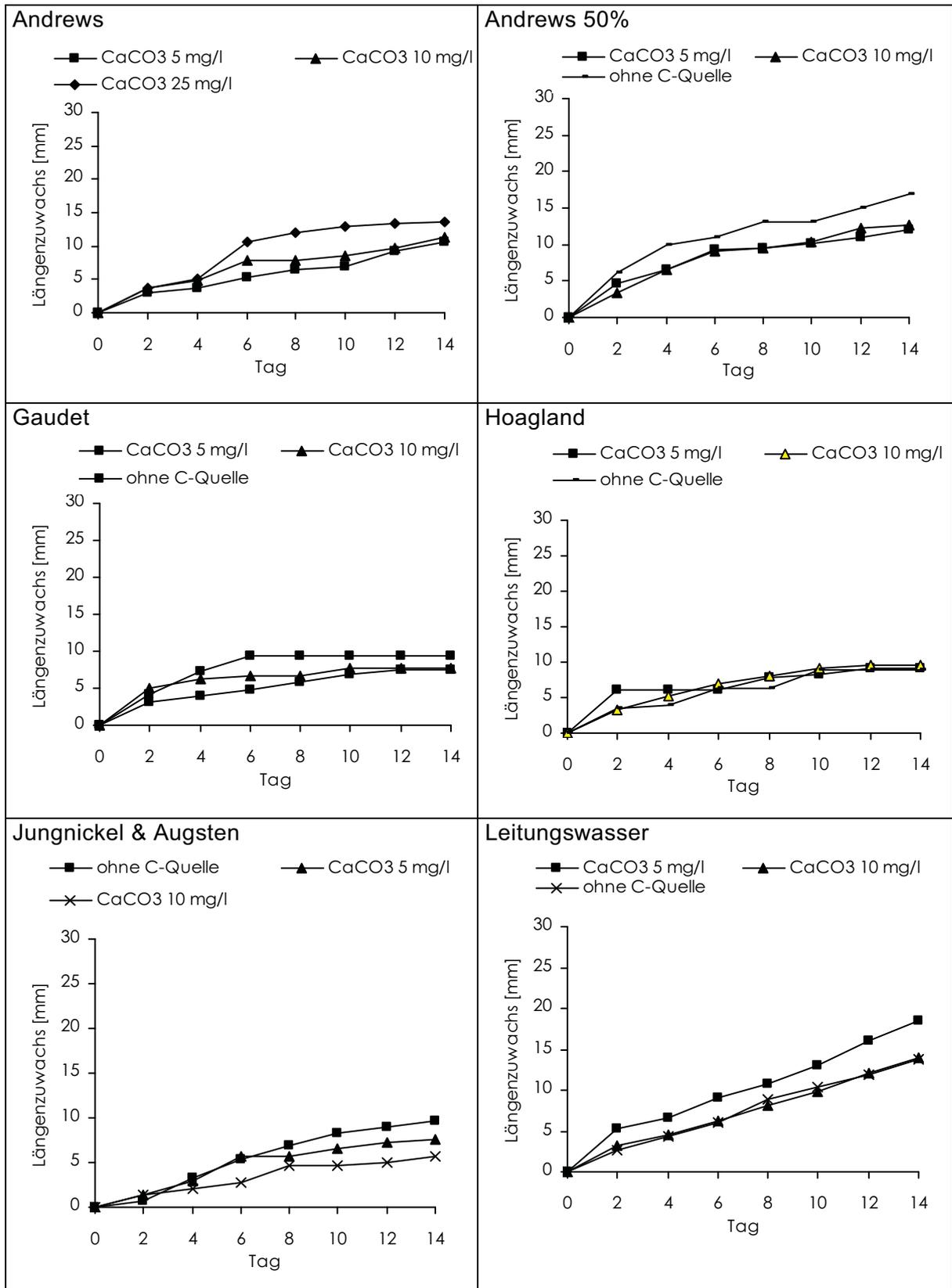


Abb. 12: Einfluss verschiedener Nährlösungen unter Zugabe unterschiedlicher Gehalte an  $\text{CaCO}_3$  als Kohlenstoff-Quelle auf den Sprosslängenzuwachs von *M. aquaticum*.

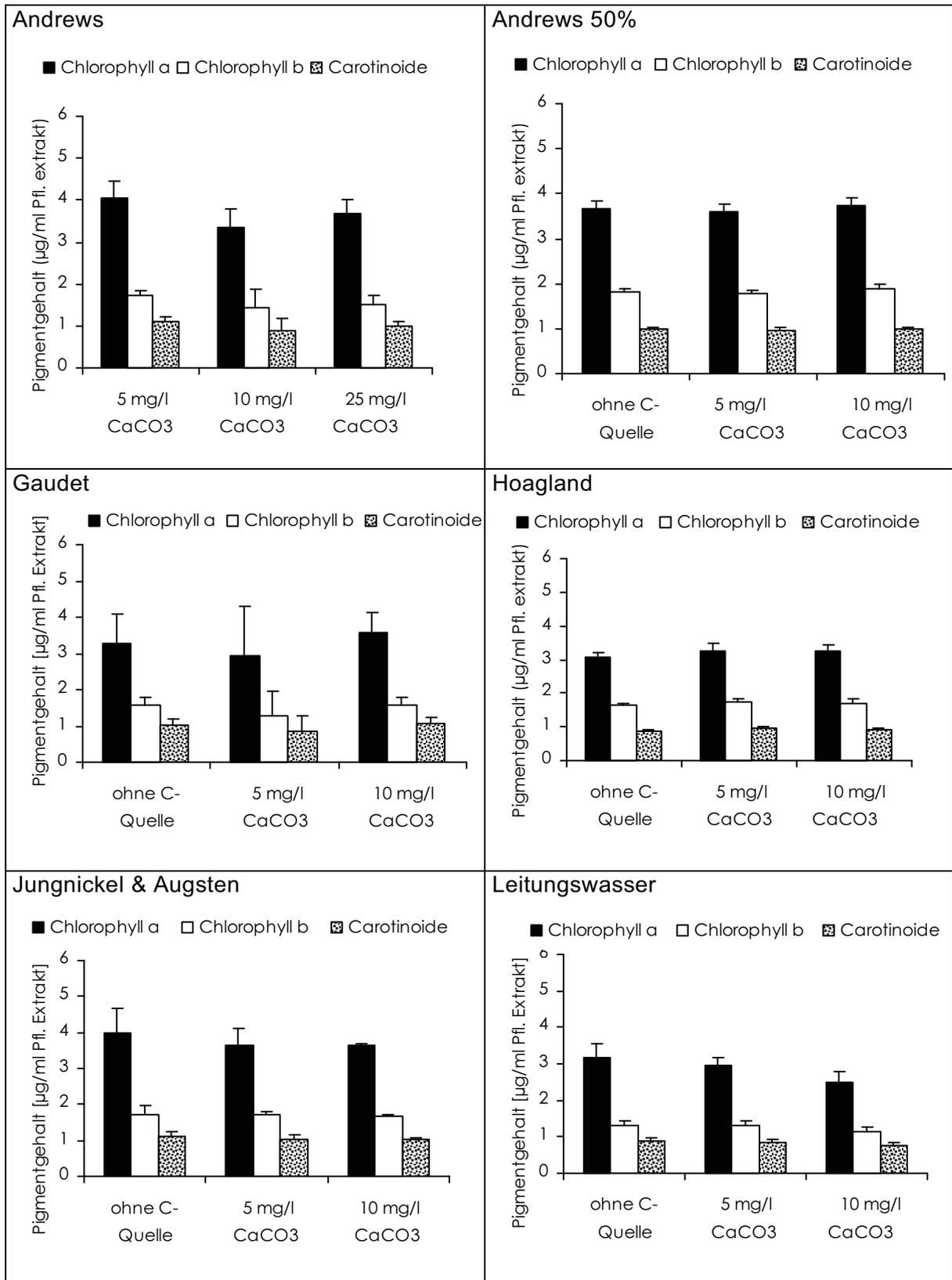


Abb. 13: Einfluss verschiedener Nährlösungen unter Zugabe unterschiedlicher Gehalte an CaCO<sub>3</sub> als Kohlenstoff-Quelle auf die Pigmentgehalte von *M. aquaticum*.

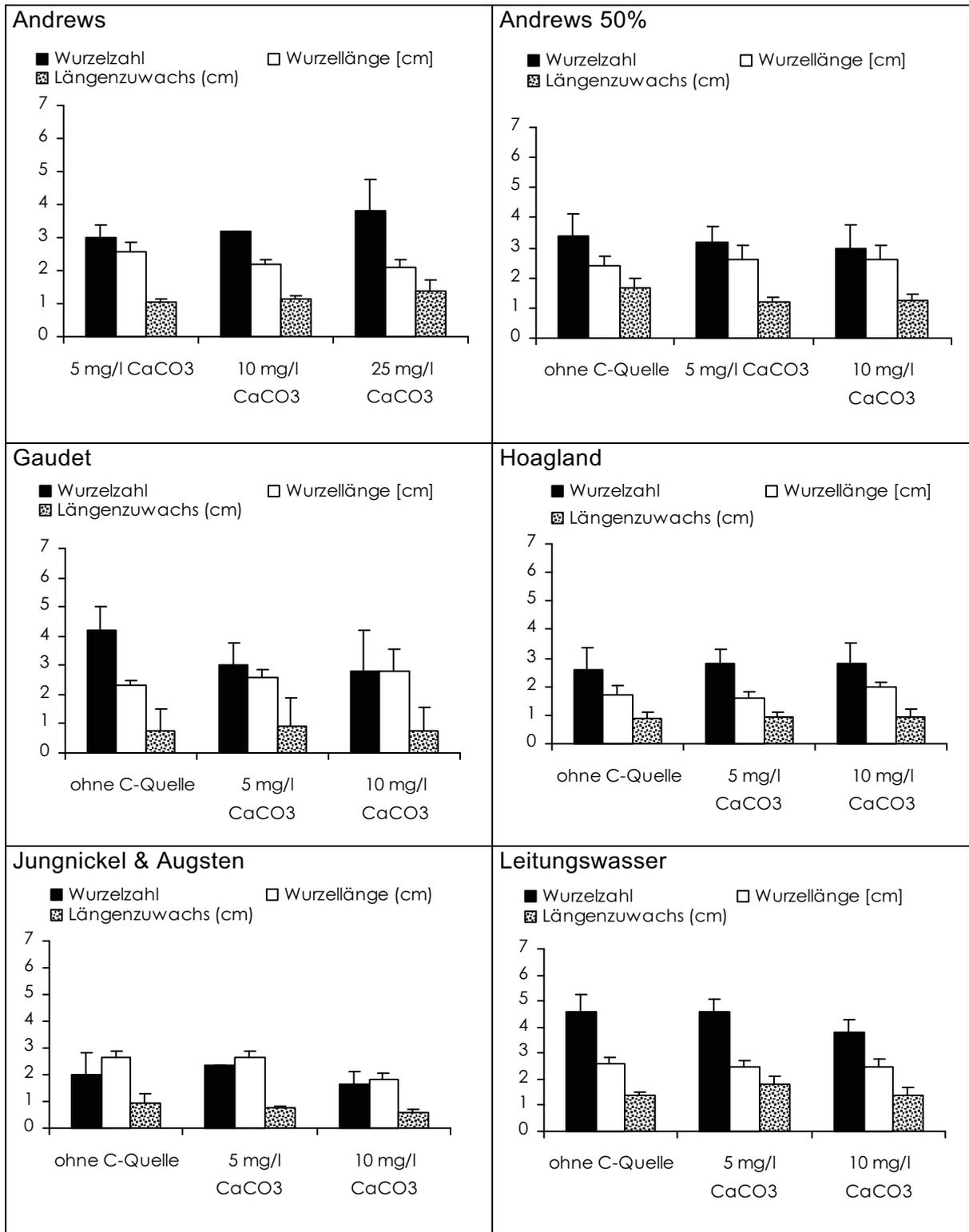


Abb. 14: Einfluss verschiedener Nährlösungen unter Zugabe unterschiedlicher Gehalte an CaCO<sub>3</sub> als Kohlenstoff-Quelle auf die Wurzelzahl, die Wurzellänge und den Längenzuwachs von *M. aquaticum*.

### **5.3 Vorschlag einer Verfahrensdurchführung für einen Biotest mit *M. aquaticum***

Das beste Wachstum der Pflanzen von *M. aquaticum* wurde unter sterilen Bedingungen mit folgender Kombination erhalten: Als Nährlösung wird Hoagland-Nährlösung mit 30 g/l Saccharose als C-Quelle und mit einem pH-Wert zwischen 3-6 empfohlen. Die Pflanzen sollten bei einem Lichtangebot zwischen 120-180  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  und einer Temperatur zwischen 20-25 °C wachsen. Der Tag/Nachtrhythmus wird auf 16 Stunden Licht und 8 Stunden Dunkel eingestellt.

Unter insterilen Bedingungen wird 50 % Andrews-NL mit 100 mg/l Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  für nährstoffarme Sedimentproben empfohlen. Für nährstoffreichere Sedimentproben kann alternativ Leitungswasser mit 50 mg/l  $\text{NaHCO}_3$  verwendet werden. Alle anderen Bedingungen bleiben die selben wie bei der sterilen Kultivierung.

In Abbildung 15 ist das Ablaufschema des Biotests von *M. aquaticum* dargestellt.

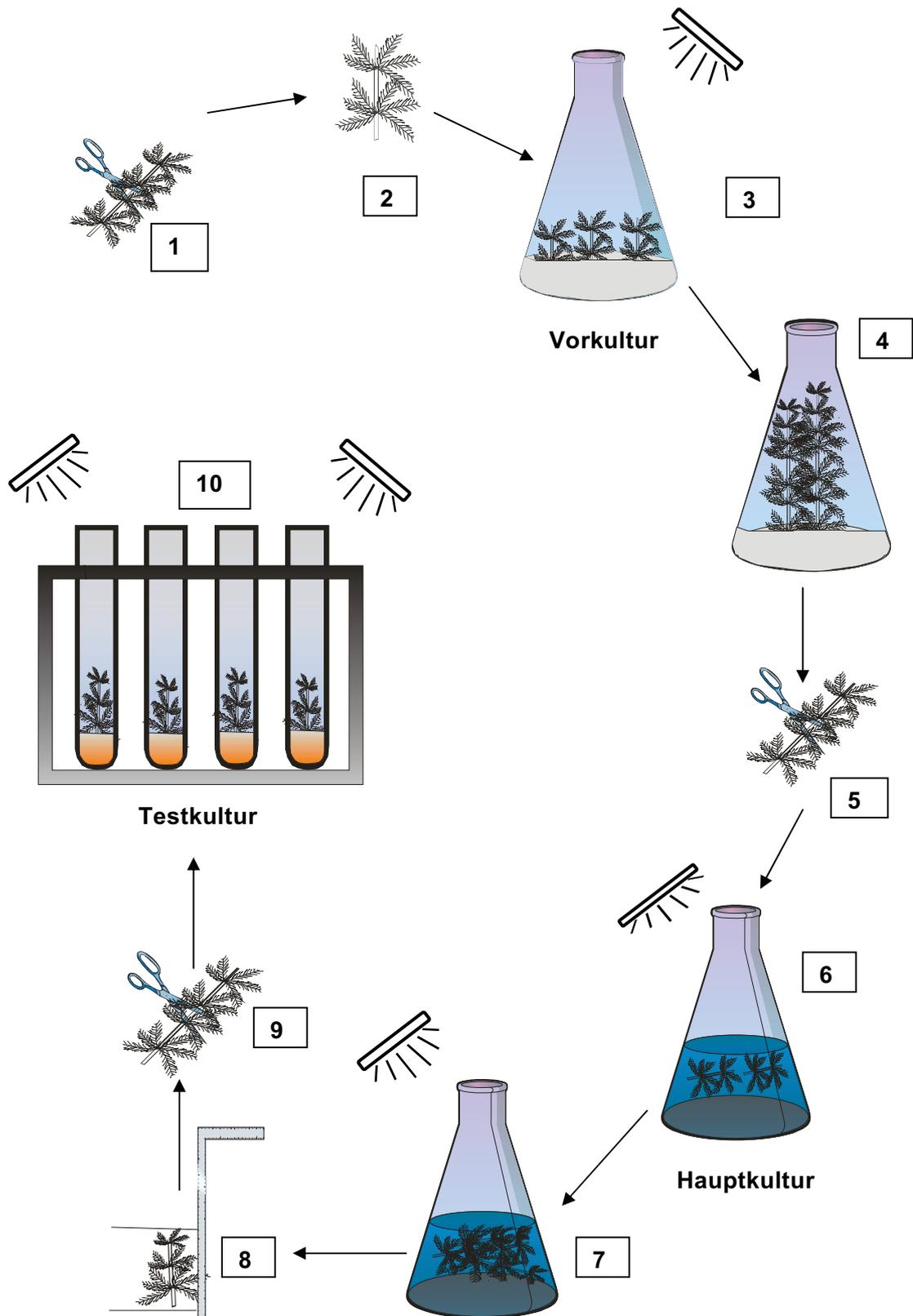


Abb. 15: Ablaufschema des Biotests mit *M. aquaticum* (siehe Kapitel 4.1)

## **5.4 Untersuchungen zur Toxizität von Pflanzenschutzmitteln auf *M. aquaticum***

### **5.4.1 Wirkung von Herbiziden auf das Wachstum von *M. aquaticum***

#### **5.4.1.1 Wirkung von 2,4 Dichlorophenoxyessigsäure (2,4-D) auf das Wachstum**

2,4-D ist ein Wuchsstoffherbizid und beeinflusst den Wuchsstoffhaushalt der Pflanzen. Aus der Abbildung 16 ist ersichtlich, dass die niedrigeren Konzentrationen 0,006 mg/l, 0,018 mg/l und 0,054 mg/l den Längenzuwachs des Haupttriebs förderten, wogegen die Konzentration von 0,002 mg/l keinen Wachstumsunterschied zur unbehandelten Kontrolle zeigte. Obwohl die Pflanzen deutlich größer waren, wiesen sie keine weiteren auffälligen Unterschiede im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle im Erscheinungsbild auf. Ab einer Konzentration von 0,163 mg/l war eine starke Hemmung des Längenzuwachs zu erkennen. Diese Wirkung wurde bereits nach vier Tagen Exposition sichtbar. Die Haupttriebe von *M. aquaticum* wiesen bei dieser Konzentration gleichzeitig ein verstärktes Dickenwachstum und eine flächig braune Färbung auf. Eine Konzentration von 1,467 mg/l unterdrückte das Pflanzenwachstum völlig.

Bei der Untersuchung des Pigmentgehalts zeigte sich, dass 2,4-D den Chlorophyll- und Carotinoidgehalt bei niedrigeren Konzentration (0,006 mg/l) förderte (Abb. 16). Höhere Konzentrationen hemmten die Pigmentproduktion deutlich. Bei den drei höchsten Konzentrationen (0,163 mg/l, 0,489 mg/l, 1,467 mg/l) zeigten die Versuchspflanzen die geringsten Chlorophyllgehalte. Die Pflanzen waren chlorotisch bis vollständig entfärbt.

2,4-D wirkte auch stark auf die Entwicklung der Wurzeln. Bei einer Belastung mit geringen Konzentrationen führte diese Substanz zu einer Erhöhung der Wurzelzahl, ab einer Konzentration von 0,018 mg/l ging die Anzahl gebildeter Wurzeln wieder zurück. Mit zunehmender Konzentration geht die Wurzelzahl der Pflanzen weiter zurück. Ab einer Konzentration von 0,489 mg/l waren die Pflanzen nicht mehr in der Lage Wurzeln zu bilden (Tab. 13).

In Bezug auf das Wirkungskriterium Wurzellänge zeigte die erste Konzentration (0,002 mg/l) eine Förderung, mit zunehmender Konzentration jedoch eine starke Abnahme der Wurzellänge.

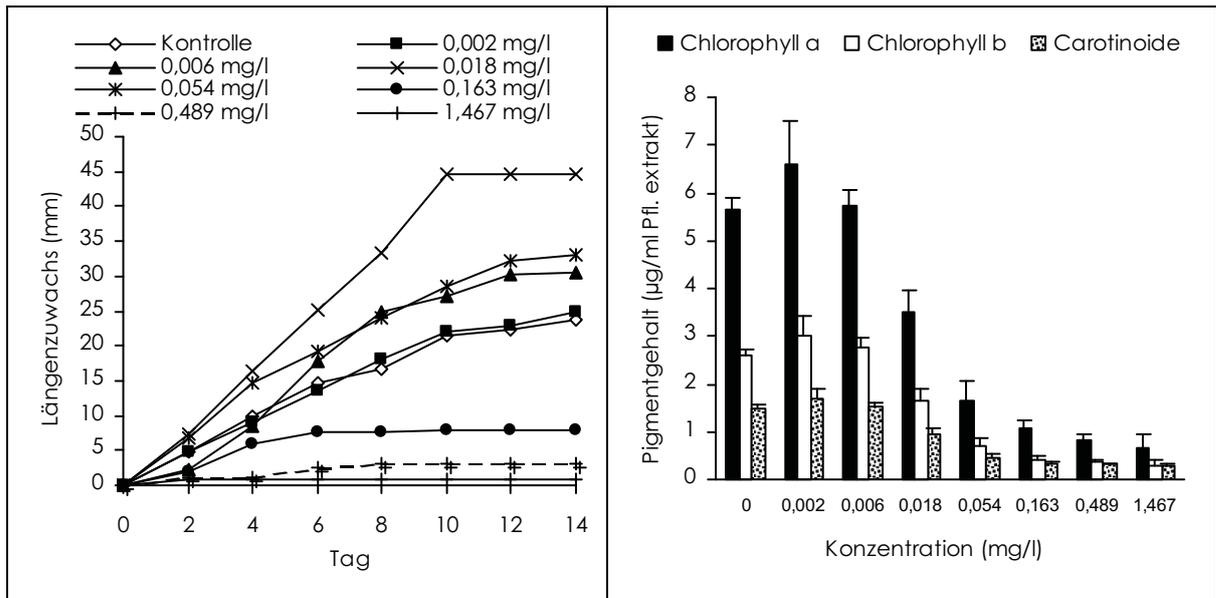


Abb. 16: Einfluß von 2,4-D auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*

Tab. 13: Einfluss von 2,4-D auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	0,2 ±0,55	1,0 ±1,34	3,0 ±2,49	2,5 ±0,56
0,002	0,5 ±0,58	1,0 ±1,15	3,5 ±1,29	3,6 ±0,51
0,006	1,3 ±0,58	2,3 ±0,59	3,3 ±1,53	2,9 ±1,14
0,018	2,8 ±1,26	2,4 ±0,66	2,0 ±0,82	2,2 ±0,65
0,054	1,0 ±2,38	1,3 ±1,50	2,3 ±1,89	1,2 ±0,34
0,163	0,2 ±0,45	0,2 ±0,45	1,4 ±0,89	5,2 ±0,08
0,489	keine	keine	keine	keine
1,467	keine	keine	keine	keine

Bezogen auf die Seitentriebzahl der Pflanzen führte 2,4-D zu einer stetigen Erhöhung der Seitentriebzahl bis zu einer Konzentration von 0,018 mg/l im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle, dagegen verursachten die höheren Konzentrationen eine starke Abnahme der Seitentriebzahl (Tab. 13). Die Länge der Seitentriebe zeigte unter einer Belastung einen ähnlichen Verlauf wie die Seitentriebzahl, allerdings zeigte die niedrigste Konzentration (0,002 mg/l) keine Änderung der Seitentrieblänge.

### 5.4.1.2 Wirkung von Dichlorprop-P auf das Wachstum

Die Wirkungsweise von Dichlorprop-P ist ähnlich wie 2,4-D, allerdings war Dichlorprop-P weniger toxisch als 2,4-D auf *M. aquaticum*. Abbildung 17 zeigt, dass bei Konzentrationen von 0,243 mg/l und 0,729 mg/l kein Wachstum von *Myriophyllum* mehr ermittelt werden konnte. Konzentrationen von 0,009 mg/l, 0,027 mg/l und 0,081 mg/l führten zu einer Wachstumssteigerung, die nach einer Expositionszeit von 8 Tagen besonders deutlich zu beobachten war. Bei den niedrigen Konzentrationen (0,001 bzw. 0,003 mg/l) konnte keine Wirkung auf den Längenzuwachs ermittelt werden.

Der Pigmentgehalt der Pflanzen zeigte in der niedrigsten Konzentration keinen Unterschied zur unbelasteten Kontrolle. Erst ab 0,009 mg/l war eine sichtbare Wirkung zu sehen. Bis zu 0,027 mg/l nahmen die Pigmentgehalte leicht ab.

Die Wurzelbildung zeigte eine schwache Verzögerung mit zunehmenden Konzentrationen von 0,001 bzw. 0,003 mg/l. Eine Förderung trat bei 0,009 mg/l auf, wobei weiter steigende Konzentrationen bis zu 0,081 mg/l keine Änderung der Wurzelzahl der Pflanzen zeigte (Tab. 14). Bei den höchsten Konzentrationen (0,243 bzw. 0,729 mg/l) konnte keine Wurzelbildung der Pflanzen beobachtet werden (Abb. 17). Im Bezug auf das Wirkungskriterium Seitentriebzahl und Seitentrieblänge zeigten die steigenden Konzentrationen keine stetige Wirkung. Bei den höchsten Konzentrationen (0,243 bzw. 0,729 mg/l) konnte keine Seitentriebbildung beobachtet werden.

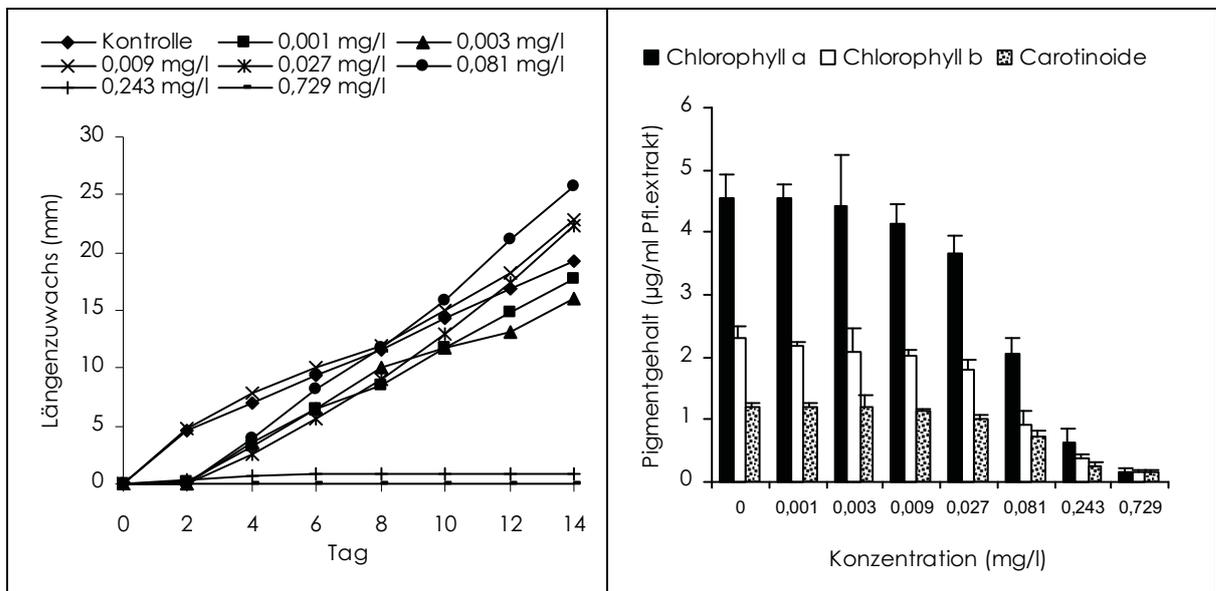


Abb. 17: Einfluss von Dichlorprop-P auf das Längenzwachstum im Verlauf von 14 Tagen und die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 14: Einfluss von Dichlorprop-P auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	4,0 ±1,10	2,55 ±0,51	keine	keine
0,001	3,6 ±1,08	2,5 ±0,53	0,6 ±0,46	0,5 ±0,40
0,003	3,0 ±0,89	1,9 ±0,20	keine	keine
0,009	3,6 ±1,02	2,0 ±0,32	0,4 ±0,49	0,4 ±0,37
0,027	3,6 ±1,62	2,1 ±0,37	0,8 ±0,40	0,6 ±0,37
0,081	3,6 ±1,36	2,0 ±0,63	0,6 ±0,80	0,6 ±0,83
0,243	keine	keine	keine	keine
0,729	keine	keine	keine	keine

#### 5.4.1.3 Wirkung von Dicamba auf das Wachstum

Dicamba beeinflusst den Wuchsstoffhaushalt der Pflanzen in ähnlicher Weise wie 2,4-D und Dichlorprop-P. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen 0,0063 mg/l, 0,025 mg/l und 0,1 mg/l keine Änderung des Längenzuwachses des Haupttriebs im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle hervorriefen, wogegen bei der Belastung von 0,4 mg/l Dicamba eine Förderung festgestellt werden konnte (Abb. 18). Obwohl unterschiedliche Längenzunahmen gemessen wurden, wiesen die Pflanzen von 0,1 bis 1 mg/l Konzentration ein gleiches Erscheinungsbild auf. Diese Versuchspflanzen zeigten ein verstärktes Dickenwachstum, längere Internodien sowie weniger und kleinere Blätter im Vergleich zur Kontrolle und den anderen Konzentrationen. Die Triebspitzen waren nekrotisch und buschig.

Tabelle 15 lässt erkennen, dass die beiden niedrigsten Konzentrationen (0,0063 bzw. 0,025 mg/l) den Pigmentgehalt im Vergleich zu Kontrolle förderten. Ab einer Konzentration von 0,1 mg/l hemmte Dicamba die Pigmentproduktion deutlich. Die höchste Konzentration führte zu einem Wachstumsstopp der Pflanzen.

Aus Abbildung 18 ist ersichtlich, dass mit zunehmender Konzentration an Dicamba eine Abnahme der Wurzelzahl auftrat. Die Pflanzen waren bei einer Belastung von 1 mg/l nicht mehr in der Lage Wurzeln zu produzieren. Konzentrationen zwischen 0,0063 mg/l und 0,1 mg/l beeinflussten die Wurzellänge der Pflanzen kaum. Höhere Konzentrationen dagegen förderten die Wurzellänge der Pflanzen (Tab. 15).

Dicamba wirkte auf die Seitentriebzahl der Pflanzen sehr unterschiedlich. Die Länge der Seitentriebe zeigt unter einer Belastung mit Dicamba einen ähnlichen Verlauf wie die Seitentriebzahl (Tab. 15).

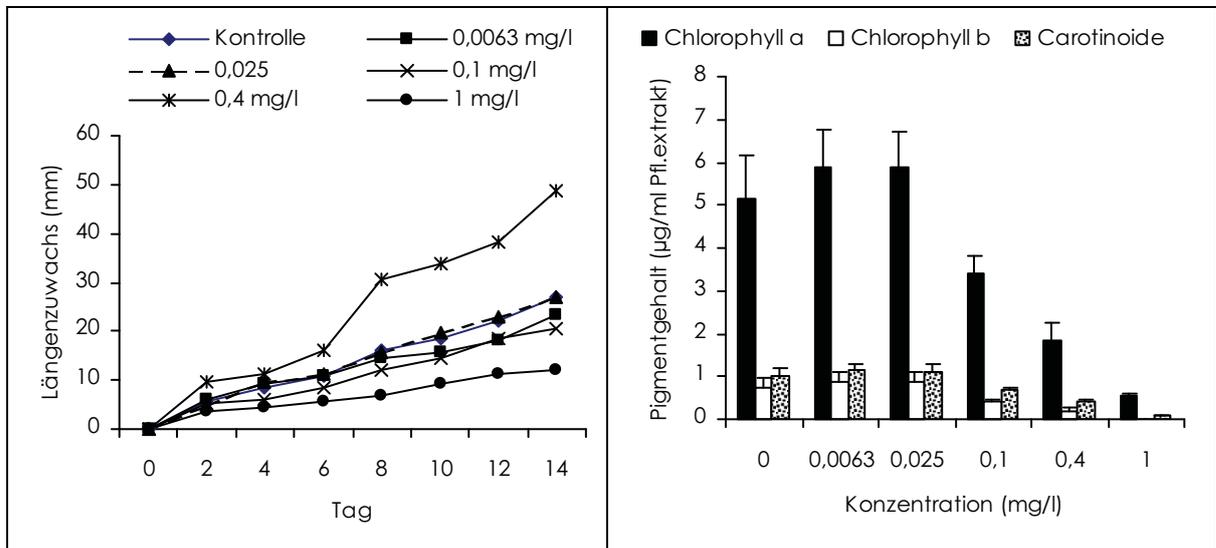


Abb. 18: Wirkung von Dicamba auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 15: Einfluss von Dicamba auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	4,20 ±1,17	1,82 ±0,39	0,80 ±0,40	1,20 ±0,75
0,0063	3,4 ±1,20	1,75 ±0,61	0,60 ±0,80	0,65 ±0,83
0,025	2,6 ±0,49	1,68 ±0,50	keine	keine
0,10	3,20 ±0,98	1,52 ±0,42	1,80 ±0,75	1,22 ±0,30
0,40	2,04 ±0,98	4,40 ±0,66	0,95 ±1,50	0,32 ±0,24
1,0	keine	keine	keine	keine

#### 5.4.1.4 Wirkung von Pyridat auf das Wachstum

Pyridat hemmt im Allgemeinen die Photosynthese der Pflanzen. *M. aquaticum* reagierte unempfindlicher auf Pyridat als auf die bisher beschriebenen Wirkstoffe. Nach 14-tägiger Versuchsdauer zeigten die Versuchspflanzen bei Konzentrationen von 0,01 mg/l, 0,1 mg/l, 0,3 mg/l und 0,9 mg/l keine Änderung bezüglich ihres Längenzuwachses, wogegen

die Konzentration von 0,03 mg/l das Längenwachstum förderte (Abb. 19). Erst ab einer Konzentration von 2,7 mg/l konnte eine starke Hemmung des Längenzuwachses beobachtet werden.

Bei dem Pigmentgehalt konnte bis 0,1 mg/l Pyridat keine Änderung beobachtet werden. Die Konzentrationen ab 0,3 mg/l hemmten die Pigmentproduktion deutlich. Bei der höchsten Konzentration (8,1 mg/l) produzierten die Versuchspflanzen die geringsten Chlorophyllgehalte (Abb. 19).

Bei der Auswertung der Wurzelzahl zeigte sich, dass Pyridat die Wurzelzahl der Pflanzen ab einer Konzentration von 0,01 mg/l hemmte, wogegen die höchsten Konzentrationen (0,9 mg/l, 2,7 mg/l, 8,1 mg/l) keine Hemmung verursachten (Tab. 16). Die Wurzellänge zeigte einen ähnlichen Verlauf wie die Wurzelzahl. Bei der Seitentriebbildung konnte keine stetige Veränderung erkannt werden.

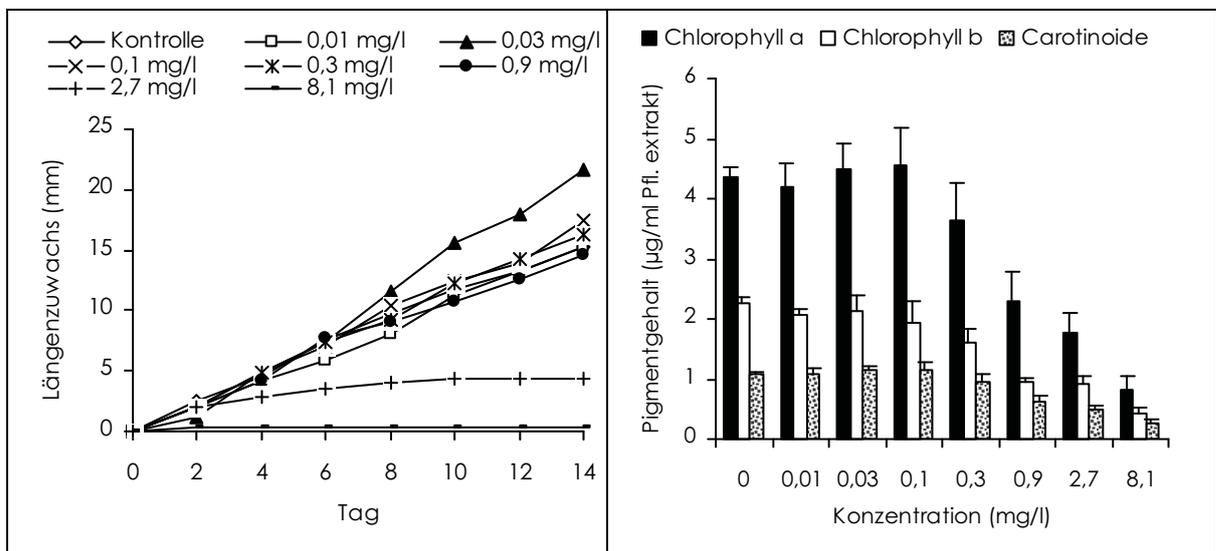


Abb. 19: Wirkung von Pyridat auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 16: Einfluss von Pyridat auf unterschiedliche Wirkungskriterien nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	2,8 ±1,17	1,9 ±1,11	keine	keine
0,01	2,6 ±1,02	1,2 ±0,40	0,2 ±0,4	0,3 ±0,6
0,03	2,0 ±1,10	1,2 ±0,20	keine	keine
0,1	2,0 ±0,00	1,0 ±0,00	keine	keine
0,3	1,4 ±0,49	1,0 ±0,55	0,8 ±0,98	0,2 ±0,24
0,9	keine	Keine	keine	keine
2,7	keine	Keine	keine	keine
8,1	keine	Keine	keine	keine

### 5.3.1.5 Wirkung von Propaquizafop auf das Wachstum

Die Resultate zeigen, dass Propaquizafop eine sehr geringe Wirkung auf die Pflanzen hatte. Aus Abbildung 20 ist ersichtlich, dass die niedrigen Konzentrationen bis 0,35 mg/l keine Wirkung im Vergleich zur Kontrolle verursachten, obwohl in den ersten 8 Tagen eine starke Hemmung der Pflanzenlänge zu erkennen war (Abb. 20). Bei einer Konzentration von 1,1 mg/l war eine Förderung des Längenzuwachs der Versuchspflanzen zu verzeichnen, wobei bei höheren Konzentrationen (3,3 mg/l, 10 mg/l und 30 mg/l) kein Wachstum der Haupttriebe festgestellt wurde.

Propaquizafop führte zu einer kontinuierlichen Abnahme der Pigmentgehalte ab einer Konzentration von 0,12 mg/l, wobei die Konzentrationen 3,33 mg/l, 10 mg/l und 30 mg/l eine starke Hemmung des Pigmentgehalts bewirkten (Abb. 20). Diese Pflanzen waren sehr chlorotisch.

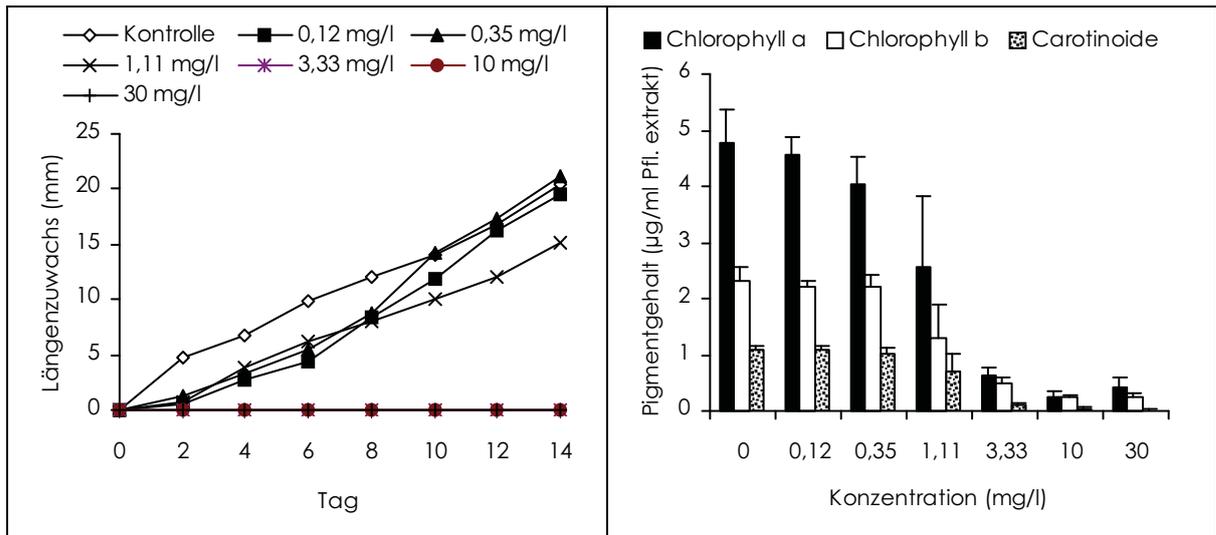


Abb. 20: Wirkung von Propaquizafop auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 17: Einfluss von Propaquizafop auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	2,6 ±0,80	1,4 ±0,20	keine	keine
0,12	1,2 ±0,40	1,2 ±0,24	keine	Keine
0,35	1,4 ±0,49	0,8 ±0,24	1,0 ±0,63	1,2 ±0,68
1,11	1,0 ±0,63	0,8 ±0,40	keine	Keine
3,33	0,8 ±0,75	0,2 ±0,18	1,4 ±0,49	0,9 ±0,37
10	keine	keine	keine	Keine
30	keine	keine	keine	Keine

Propaquizafop bewirkte eine Hemmung bei der Wurzelzahl im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Bei den höchsten zwei Konzentrationen (10 bzw. 30 mg/l) konnte keine Wurzelbildung der Pflanzen beobachtet werden. Bei der Bestimmung der Wurzellänge zeigte sich, dass die Konzentrationen bis 1,11 mg/l keine Wirkung haben. Ab einer Konzentration von 3,33 mg/l konnte keine Wurzelbildung mehr festgestellt werden.

Bei den Seitentrieben konnte keine unterschiedliche Wirkung von Propaquizafop mit zunehmender Konzentration beobachtet werden (Tab. 17).

#### 5.4.1.6 Wirkung von Terbutryn auf das Wachstum

Terbutryn ist ein Herbizid der s-Triazine und wirkt vor allem auf photosynthetische Prozesse. Von allen getesteten PSM zeigte Terbutryn die geringste Wirkung auf *M. aquaticum*. Es konnte nur eine schwache Wirkung auf den Längenzuwachs im Vergleich zur Kontrolle gemessen werden (Abb. 21).

Eine Konzentration von 1 mg/l Terbutryn verursachte eine Förderung des Pigmentgehalts, wogegen 4 mg/l und 16 mg/l keine Hemmung hervorriefen (Abb. 21). Erst bei höheren Konzentrationen nahm der Pigmentgehalt stark ab. Im Vergleich zu unbelasteten Pflanzen waren die Stängel leicht verdickt und wiesen eine schwache grün-braune Färbung auf (Abb. 21).

Terbutryn zeigte bei keiner der getesteten Konzentrationen eine Wirkung auf die Wurzelzahl, nur 256 mg/l führten zu einer verringerten Wurzelzahl (Tab. 18).

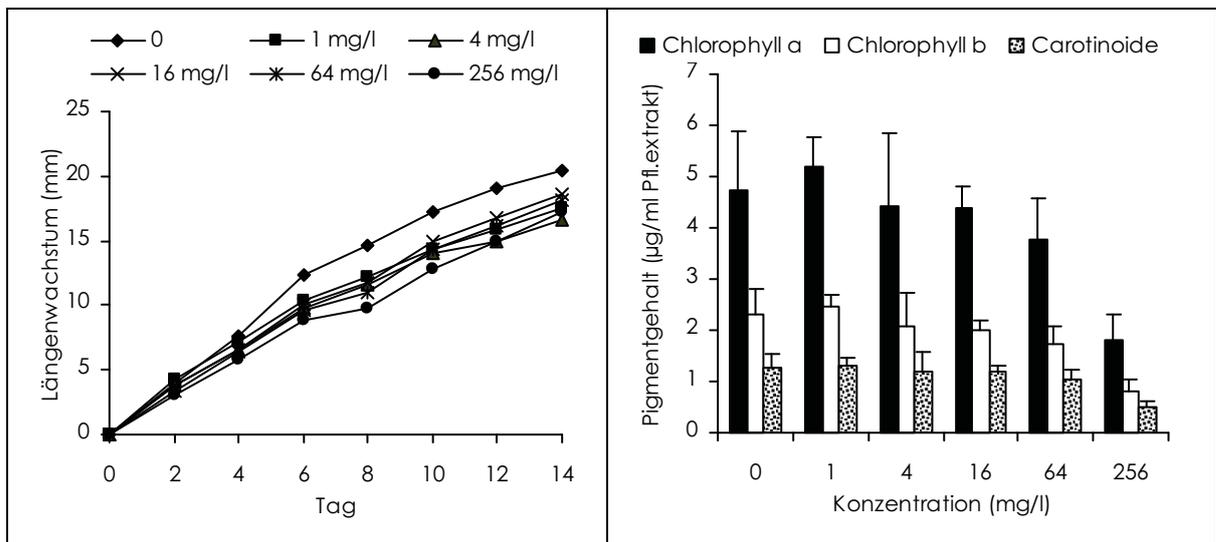


Abb. 21: Wirkung von Terbutryn auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Auch bei der Seitentriebzahl zeigte sich keine Beeinflussung bis zu Konzentrationen von 64 mg/l. Erst bei 256 mg/l bildeten die Pflanzen keine Seitentriebe mehr. Ähnliche Wirkung zeigte Terbutryn auch auf die Seitentrieblänge.

Tab. 18: Einfluss von Terbutryn auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	2,6 ±1,20	2,0 ±0,57	0,2 ±0,40	0,3 ±0,60
1	3,0 ±0,63	1,7 ±0,69	0,4 ±0,49	0,4 ±0,49
4	2,8 ±0,75	2,0 ±0,71	0,6 ±1,20	0,3 ±0,66
16	2,4 ±1,02	1,5 ±0,32	0,6 ±1,20	0,2 ±0,33
64	3,2 ±0,98	1,5 ±0,55	1,2 ±1,17	0,8 ±0,75
256	2,0 ±0,89	1,0 ±0,00	keine	keine

#### 5.4.1.7 Wirkung von Triflursulfuron-methyl auf das Wachstum

Triflursulfuron-methyl ist ein Sulfonylharnstoffherbizid, das die Acetolactat-Synthase der Pflanzen beeinflusst. Der Wirkstoff zeigte erst ab Konzentrationen von 0,0041 mg/l einen Effekt auf den Längenzuwachs (Abb. 22). Höhere Konzentrationen (0,111 mg/l, 1 mg/l und 3 mg/l) führten bis zum 10. Tag zum völligen Wachstumsstopp, wobei die Pflanzen bei 0,111 mg/l und 1 mg/l in den letzten 4 Tagen eine schwache Erholung zeigten. Die Beeinflussung des Pigmentgehalts korrespondiert mit den Ergebnissen des Längenzuwachses (Abb. 22). Die Pigmentgehalte zeigten eine stetige Abnahme mit zunehmender Konzentration. Ab 0,012 mg/l waren beim Haupttrieb ab dem 4. Tag abgestorbene Triebspitzen mit brauner Farbe zu beobachten, die sich von oben nach unten zog.

Bei zunehmender Konzentration von Triflursulfuron-methyl verringerte sich auch die Wurzelzahl. Bei Untersuchungen der Wurzellänge konnte eine Erhöhung bei 0,0013 mg/l festgestellt werden, dagegen nahm die Wurzellänge mit steigender Konzentration ab. Seitentriebe konnten nur bei der Kontrolle und den beiden niedrigsten Triflursulfuron-methyl Konzentrationen festgestellt werden (Tab. 19).

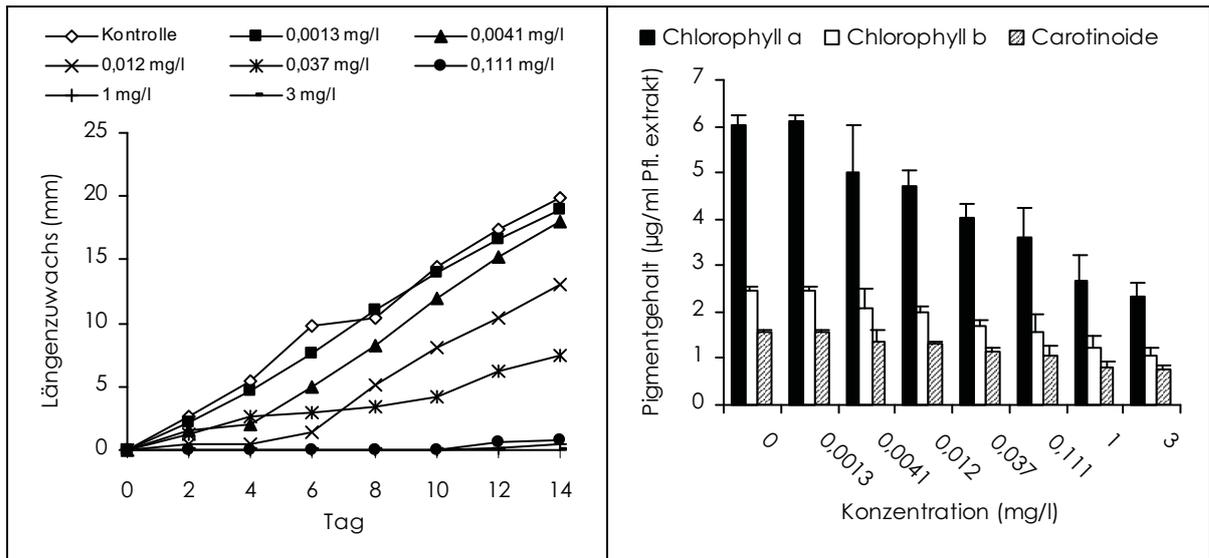


Abb. 22: Wirkung von Triflurosulfuron-methyl auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 19: Einfluss von Triflurosulfuron-methyl auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	3,8 ±0,75	2,2 ±0,31	0,2 ±0,40	0,3 ±0,60
0,0013	2,4 ±0,80	2,9 ±0,69	0,8 ±0,75	0,5 ±0,43
0,0041	3,2 ±0,40	2,1 ±0,34	0,4 ±0,80	0,2 ±0,30
0,012	1,8 ±0,40	2,2 ±0,51	keine	keine
0,037	2,8 ±0,75	1,8 ±0,34	keine	keine
0,111	1,4 ±0,49	1,0 ±0,56	keine	keine
1	0,8 ±0,75	1,3 ±1,17	keine	keine
3	0,4 ±1,02	0,1 ±0,96	keine	keine

**5.4.1.8 Wirkung von Metsulfuron-methyl auf das Wachstum**

Metsulfuron-methyl ist wie Triflurosulfuron-methyl ein Sulfonylharnstoffherbizid. Die Ergebnisse zeigen, dass diese Substanz die größte Wirkung bei den Pflanzen hervorrief. Bereits bei Konzentrationen ab 0,0006 mg/l war eine Verringerung des Längenzuwachses im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle zu beobachten (Abb. 23). Bei einer Belastung von 0,020 mg/l zeigten die Pflanzen bis zum 6. Tag ein sehr geringes Wachstum. Ab dem

8.Tag nahm das Längenwachstum etwas zu. Ab 0,180 mg/l trat ein totaler Wachstumsstopp bei den Pflanzen auf. (Abb. 23).

Abbildung 23 lässt erkennen, dass schon die erste Konzentration (0,0066 mg/l) den Pigmentgehalt so stark hemmte, dass die weiteren Konzentrationen keine weiteren Erniedrigungen der Pigmentgehalte mehr hervorrufen konnten, obwohl äußerlich die Blätter bei der ersten Konzentration noch grün waren und nur wenige Chlorosen zeigten. Die Pflanzen bei den höheren Konzentrationen hatten dagegen hellbraune, kleine Blätter und braune Triebspitzen.

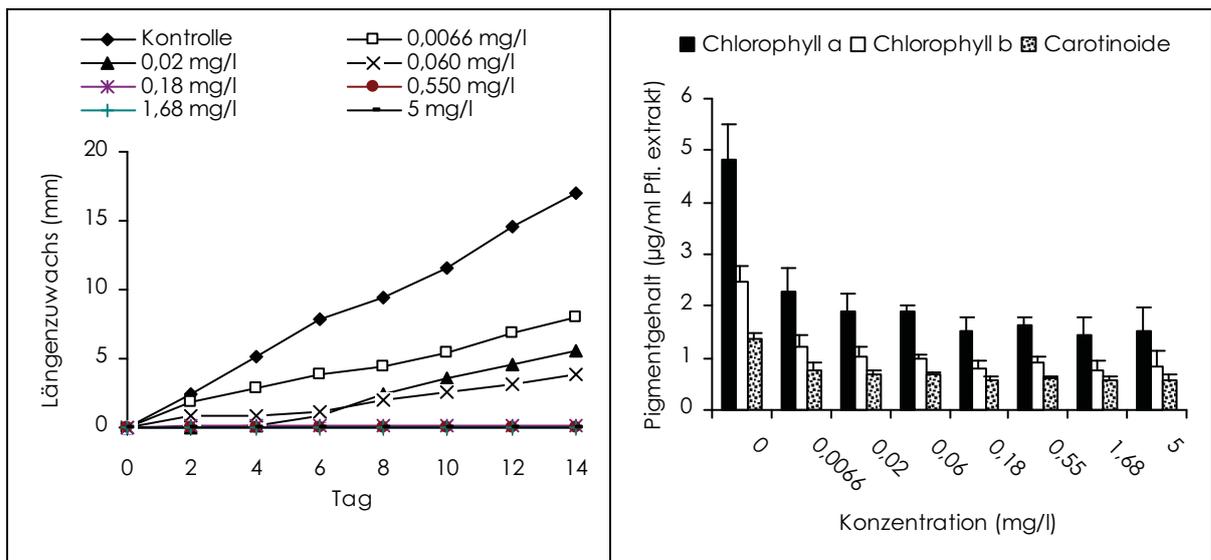


Abb. 23: Wirkung von Metsulfuron-methyl auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf den Pigmentgehalt nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 20: Einfluss von Metsulfuron-methyl auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	2,6 ±0,80	2,8 ±0,85	keine	keine
0,0066	0,8 ±0,75	1,1 ±0,97		
0,02	0,6 ±0,49	0,5 ±0,45		
0,06	0,4 ±0,49	0,1 ±0,17		
0,18	0,6 ±0,49	0,2 ±0,16		
0,55	keine	keine		
1,68	keine	keine		
5	keine	keine		

Die Pflanzen reagierten auf die niedrigste Konzentration mit einer Abnahme der Wurzelzahl, die sich bis 0,180 mg/l nicht stark veränderte. Ab 0,55 mg/l bildeten die Pflanzen keine Wurzeln mehr. Die Wurzellänge wies eine ähnliche Tendenz auf (Tab. 20)

#### 5.4.1.9 Wirkung von Thifensulfuron-methyl auf das Wachstum

Thifensulfuron-methyl ist ebenfalls ein Sulfonylharnstoffherbizid. *M. aquaticum* reagierte empfindlicher auf diesen Wirkstoff als auf Triflusulfuron-methyl, aber unempfindlicher als auf Metsulfuron-methyl. Verglichen mit der Kontrolle konnte bei einer Konzentration von 0,0012 mg/l noch keine Hemmung des Längenzuwachses erkannt werden. Die Konzentrationen von 0,0035 mg/l und 0,011 mg/l hingegen verursachten bis zum 4. Tag eine ziemlich starke Hemmung. Sowohl bei 0,0035 mg/l als auch bei 0,0011 mg/l Thifensulfuron-methyl konnte nach einer anfänglichen starken Wachstumshemmung eine Erholung der Pflanzen beobachtet werden. Die Konzentrationen von 0,15 mg/l, 0,45 mg/l und 1,5 mg/l führten zu einem völligen Wachstumsstopp.

Aus Abbildung 24 ist ersichtlich, dass sich der Pigmentgehalt der Pflanzen bei 0,0012 mg/l nicht verändert hat. Erst ab 0,0035 mg/l konnte eine mit steigender Konzentration verstärkte Abnahme des Pigmentgehalts ermittelt werden.

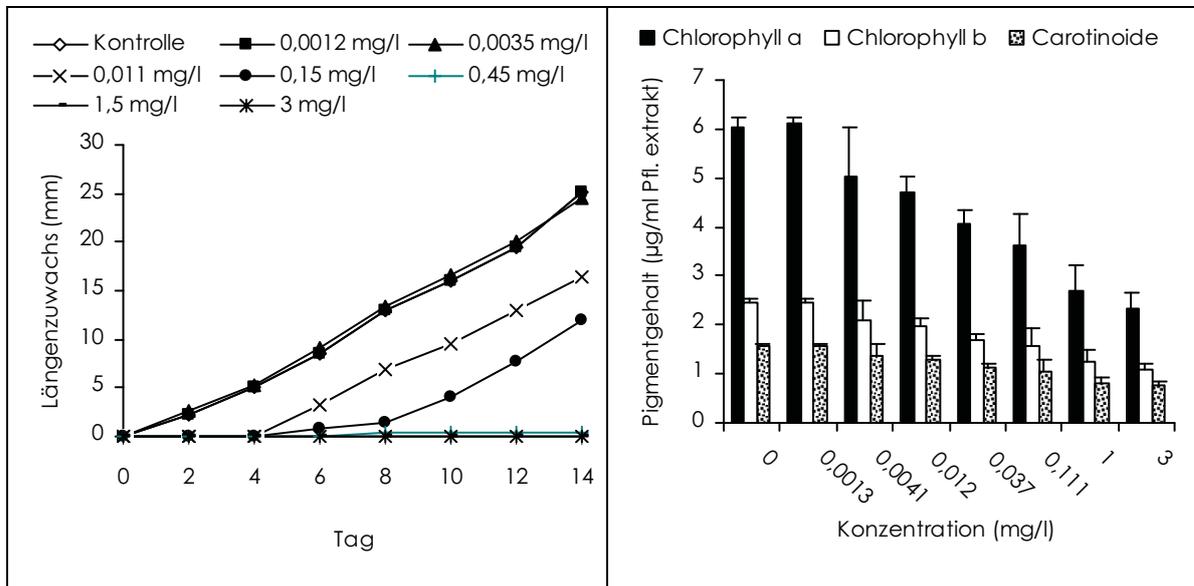


Abb. 24: Wirkung von Thifensulfuron-methyl auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Eine fördernde Wirkung bei höheren Konzentrationen konnte im Bezug auf die Entwicklung der Wurzelzahl festgestellt werden. Eine ähnliche Tendenz wurde bei der Ermittlung der Wurzellänge beobachtet. Dagegen zeigte die Seitentriebbildung unter dem Einfluss

verschiedener Thifensulfuron-methyl Konzentrationen einen ungleichmäßigen Entwicklungsverlauf (Tab. 21).

Tab. 21: Einfluss von Thifensulfuron-methyl auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	3,8 ±0,40	3 ±0,00	keine	keine
0,0012	4,6 ±1,50	2,1 ±0,58	0,8 ±0,75	1,2 ±0,68
0,0035	3,2 ±0,75	2,2 ±0,51	1,0 ±0,00	keine
0,011	1,2 ±0,40	1,6 ±0,49	0,2 ±0,40	0,9 ±0,37
0,045	0,6 ±0,80	0,4 ±0,58	keine	keine
0,15	keine	keine	keine	keine
0,45	keine	keine	keine	keine
1,5	keine	keine	keine	keine

#### 5.4.1.10 Wirkung von Amidosulfuron auf das Wachstum

Amidosulfuron ist innerhalb der getesteten Sulfonylharnstoffherbizide ein Wirkstoff, der relativ unwirksam auf *M. aquaticum* war. Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die niedrigen Konzentrationen von Amidosulfuron (bis 0,108 mg/l) den Längenzuwachs des Pflanzenhaupttriebs nicht beeinflussten (Abb. 25). Höhere Konzentrationen ab 0,975 mg/l hingegen führten zu einer Hemmung des Längenzuwachses, wobei 2,437 mg/l und 4,875 mg/l Amidosulfuron einen Wachstumsstopp der Pflanzen verursachten. Obwohl die Pflanzen bei 0,975 mg/l in den ersten 4 Tagen kein Wachstum zeigten, konnten sie sich anschließend erholen.

Der Pigmentgehalt der Pflanzen (Chlorophyll a, b und Carotinoide) stieg bei einer Konzentration von 0,012 mg/l leicht an. Die höheren Konzentrationen führten zu einer stetigen Abnahme des Pigmentgehalts, obwohl der Pflanzen-Phänotyp erst ab einer Konzentration von 0,325 mg/l eine leicht hellere Grünfärbung aufzeigte und die Pflanzen kleinere Blätter bildeten. Ab dem 4. Tag trat eine nekrotische Braunfärbung der Stängel, beginnend an den Triebspitzen auf. Gegen Ende der Versuchsdauer waren diese Triebspitzen fast abgestorben.

Amidosulfuron hatte keinen Einfluss auf die Wurzelzahl im Vergleich zur Kontrolle. Höhere Konzentrationen führten zwar zu einer Verringerung der Wurzelzahl, aber bei der Seitentriebzahl und Seitentrieglänge konnte über alle Konzentrationsstufen eine Förderung des Wachstums durch Amidosulfuron ermittelt werden.

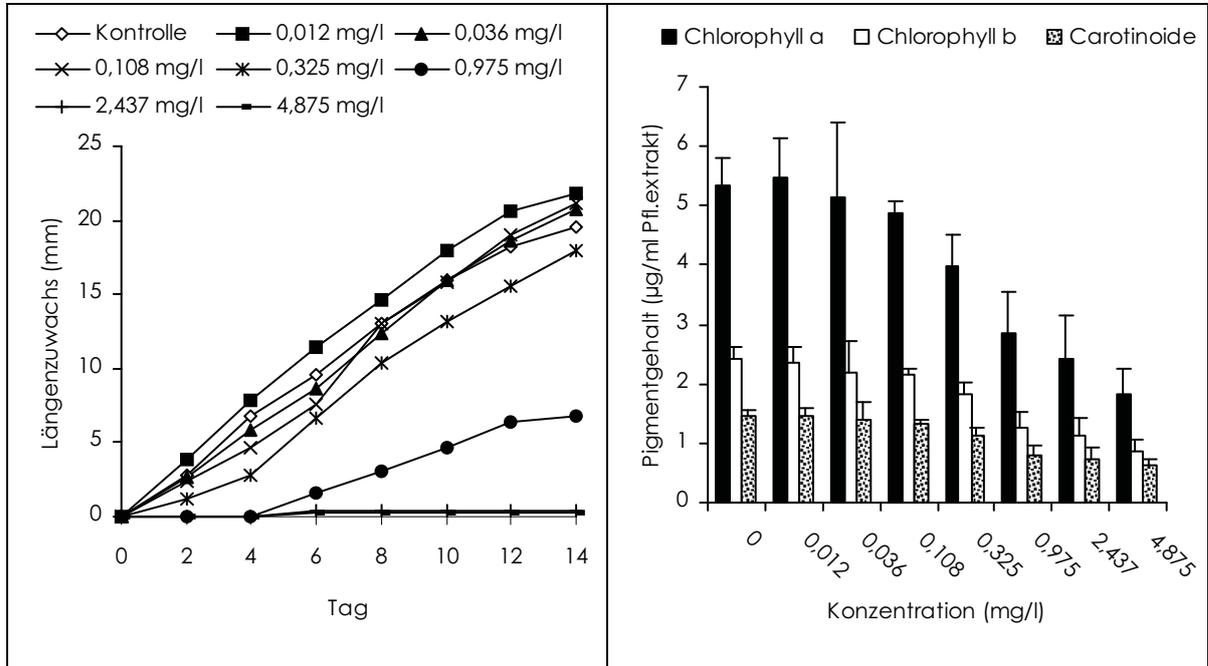


Abb. 25: Wirkung von Amidosulfuron auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 22: Einfluss von Amidosulfuron auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieglänge (cm)
0	3,2 ±0,75	2,3 ±0,22	0,2 ±0,40	0,3 ±0,60
0,012	3,4 ±0,49	2,3 ±0,40	0,2 ±0,40	0,2 ±0,40
0,036	3,6 ±1,36	2,7 ±0,71	0,2 ±0,40	0,1 ±0,24
0,108	2,4 ±0,49	2,3 ±0,34	0,2 ±0,40	0,1 ±0,16
0,325	3,0 ±0,00	2,3 ±0,22	0,4 ±0,49	0,4 ±0,49
0,975	2,0 ±0,63	2,2 ±0,87	0,6 ±0,49	0,2 ±0,18
2,437	2,6 ±0,80	1,9 ±0,20	2,0 ±0,63	1,0 ±0,33
4,875	1,8 ±0,75	1,3 ±0,24	1,8 ±0,40	0,7 ±0,23

#### 5.4.1.11 Wirkung von Rimsulfuron auf das Wachstum

Rimsulfuron gehört auch zur Gruppe der Sulfonylharnstoffherbizide. *M. aquaticum* reagierte auf Rimsulfuron empfindlicher als auf Amidosulfuron, aber unempfindlicher als auf die anderen getesteten Sulfonylharnstoffe. Nach 14-tägiger Versuchsdauer zeigten die Versuchspflanzen bis zu einer Konzentration von 0,05 mg/l keine Änderung bezüglich ihres Längenzuwachses (Abb. 26). Bei Konzentrationen von 0,015 mg/l und 0,050 mg/l konnte eine Hemmung nachgewiesen werden. Eine zunächst 4-tägige Hemmung des Längenzuwachses mit anschließender mäßiger Erholung der Pflanzen wurden durch Konzentrationen von 0,150 und 0,5 mg/l induziert. Die beiden höchsten Konzentrationen (1,5 mg/l und 3 mg/l) führten zu einem völligen Wachstumsstopp der Pflanzen.

Bei der Ermittlung des Pigmentgehalts zeigte 0,005 mg/l Rimsulfuron keine Wirkung. Mit zunehmender Konzentration konnte jedoch eine Abnahme von Chlorophyll a, b und den Carotinoiden gemessen werden.

Die Triebspitzen waren bei den beiden höchsten Konzentrationen von oben bis unten braun. Ab 0,050 mg/l bildeten die Pflanzen kleinere Blätter.

Mit zunehmenden Konzentrationen nahm die Anzahl an Wurzeln ab. Dagegen zeigte sich in Bezug auf die Wurzellänge eine fördernde Wirkung. Die Pflanzen konnten nur bei den höheren Konzentrationen Seitentriebe bilden (Tab. 23).

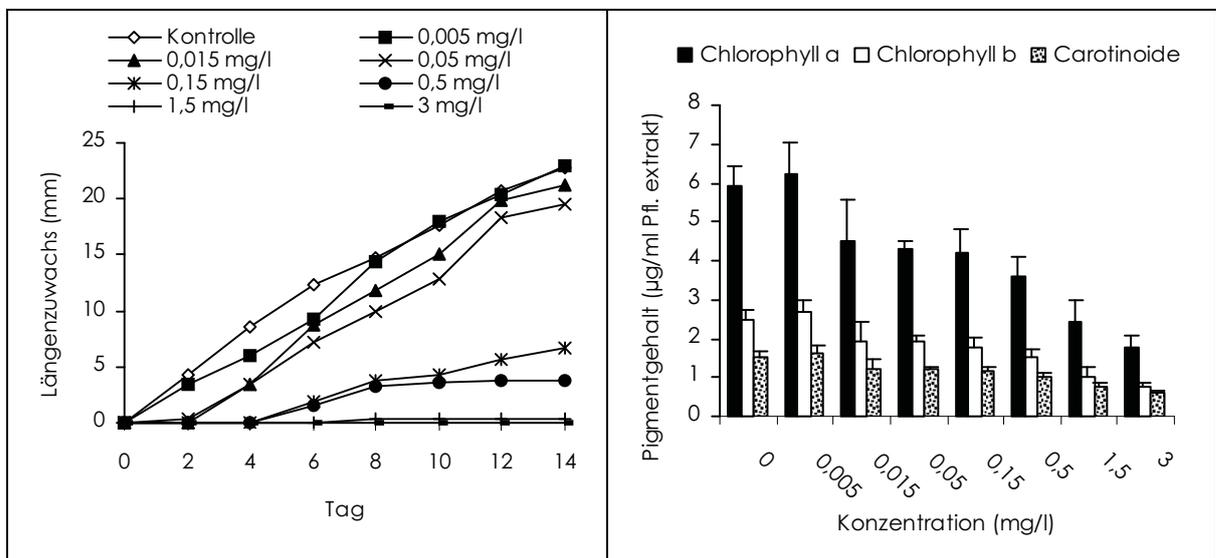


Abb. 26: Einfluss von Rimsulfuron auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 23: Einfluss von Rimsulfuron auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	3,8 ±0,40	2,6 ±0,14	keine	keine
0,005	2,8 ±0,98	3,0 ±0,81	keine	keine
0,015	2,4 ±0,49	3,5 ±0,32	keine	keine
0,05	2,6 ±0,49	2,7 ±0,20	keine	keine
0,15	1,8 ±0,40	2,4 ±0,59	1,8 ±0,40	0,7 ±0,13
0,5	2,4 ±0,80	2,5 ±0,07	2,2 ±0,40	0,5 ±0,12
1,5	2,2 ±0,40	1,4 ±0,35	1,4 ±0,49	0,6 ±0,20
3	1,2 ±0,75	0,6 ±0,43	1 ±0,00	0,5 ±0,05

#### 5.4.1.12 Wirkung von Glyphosat auf das Wachstum

Glyphosat ist ein Totalherbizid und beeinflusst die Biosynthese aromatischer Aminosäuren. Eine Hemmung des Längenwachstums der Pflanzen trat bei Konzentrationen von 0,0247 mg/l, 0,222 mg/l, 2 mg/l und 6 mg/l auf, wobei die stärkste Wachstumshemmung bei 6 mg/l ermittelt wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass Glyphosat in niedrigen Konzentrationen den Pigmentgehalt nicht veränderte. Erst ab einer Konzentration von 0,0247 mg/l nahm der Pigmentgehalt mit steigender Konzentration ab (Abb. 27).

Mit zunehmenden Konzentrationen bis 0,074 mg/l erhöhte sich die Wurzelzahl. Bei der höchsten Konzentration (6 mg/l) wurde die Wurzelbildung stark gehemmt (Tab. 24). Die Wurzellänge war durch Glyphosat relativ unbeeinflusst, nur die beiden höchsten Konzentrationen zeigten eine Hemmung der Wurzellänge. Die Seitentriebzahl und die Seitentrieblänge reagierten sehr unterschiedlich auf Glyphosat und zeigten keine deutliche Abhängigkeit zur Konzentration.

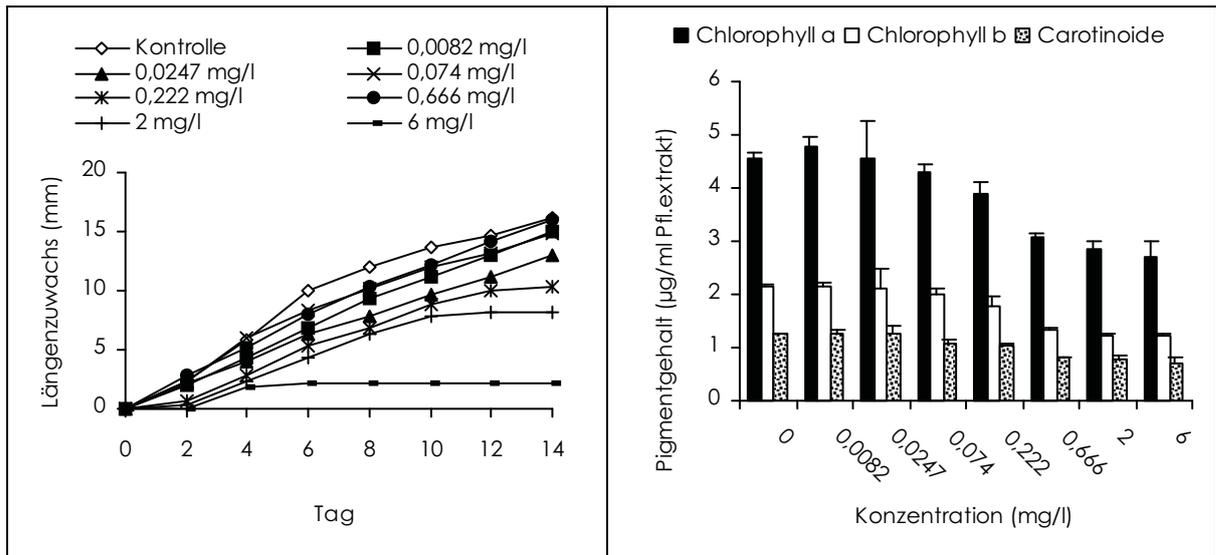


Abb. 27: Wirkung von Glyphosat auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 24: Einfluss von Glyphosat auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	2,4 ±0,49	2,4 ±0,37	keine	keine
0,0082	2,4 ±1,02	3,0 ±0,38	0,2 ±0,40	0,2 ±0,40
0,0247	2,6 ±0,80	1,9 ±0,41	0,6 ±0,49	0,2 ±0,19
0,074	3,8 ±0,98	2,0 ±0,36	0,4 ±0,49	0,2 ±0,21
0,222	3,4 ±0,49	2,0 ±0,32	1,0 ±0,63	0,4 ±0,21
0,666	3,0 ±0,63	2,1 ±0,37	0,4 ±0,49	0,2 ±0,23
2	3,2 ±0,75	1,0 ±0,28	1,6 ±0,80	0,3 ±0,19
6	0,2 ±0,40	0,1 ±0,12	0,6 ±0,20	0,04 ±0,08

**5.4.1.13 Wirkung von Trifluralin auf das Wachstum**

Trifluralin ist ein Herbizid und gehört zur Gruppe der Dinitroaniline. Der Wirkstoff beeinflusst die Photosynthese und die Atmung der Pflanzen. Trifluralin zeigte ähnliche Wirkungen wie Amidosulfuron. Wie in Abbildung 28 zu erkennen ist, verursachten die Konzentrationen von 0,125 mg/l und 0,25 mg/l keinen auffälligen Unterschied zur unbehandelten Kontrolle. Eine Wachstumshemmung hingegen konnte bei allen anderen eingesetzten

Konzentrationen beobachtet werden. Mit erhöhter Konzentration trat eine zunehmende Hemmung des Längenwachstums ein, wobei 3 mg/l und 10 mg/l Trifluralin einen ähnlichen Verlauf der Wachstumshemmung bei *M. aquaticum* bewirkten. Die höchste Konzentration (32 mg/l) zeigte eine sehr toxische Wirkung: die Pflanzen stoppten ihr Wachstum völlig. Mit steigenden Konzentrationen wurde außerdem eine starke Abnahme des Pigmentgehalts gemessen, wobei bei einer Konzentration von 10 mg/l und 32 mg/l Trifluralin nur noch sehr geringe Pigmentgehalte bestimmt werden konnten. Ein Wurzelwachstum war nur bei den niedrigsten Konzentrationen zu beobachten. Ab 0,5 mg/l Trifluralin stellten die Pflanzen ihre Wurzelbildung ein. Dagegen beeinflusste Trifluralin weder die Entwicklung der Seitentriebzahl noch die Seitentrieblänge (Tab. 25).

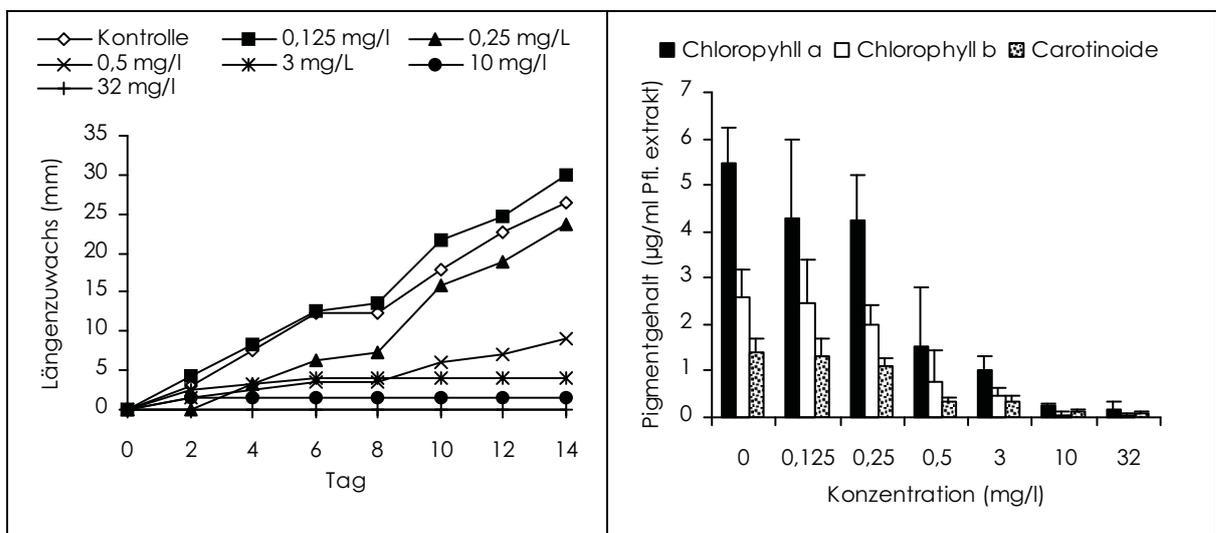


Abb. 28: Wirkung von Trifluralin auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 25: Einfluss von Trifluralin auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	3,4 ±1,62	0,9 ±0,33	1,0 ±1,26	0,6 ±0,72
0,125	2,4 ±1,62	1,1 ±0,37	0,2 ±0,40	0,3 ±0,60
0,25	3,2 ±1,17	1,1 ±0,36	keine	keine
0,5	keine	keine	keine	keine
3	keine	keine	keine	keine
10	keine	keine	keine	keine
32	keine	keine	keine	keine

#### 5.4.1.14 Wirkung von Pendimethalin auf das Wachstum

Pendimethalin gehört wie Trifluralin zu den Dinitroanilin-Herbiziden. Der Wirkstoff zeigte im Vergleich zu Trifluralin allerdings eine deutlich schwächere Wirkung auf *M. aquaticum*. Die Ergebnisse zeigten, dass die Pflanzen bei den beiden niedrigsten Konzentrationen (4 mg/l und 8 mg/l) bis zum 12. Tag der Versuchsdurchführung einen im Vergleich zur Kontrolle zwar etwas geringeren aber ähnlichen Wachstumsverlauf folgten. Eine sichtbare Wachstumshemmung zeigten die Pflanzen erst bei Konzentrationen von 12 mg/l und 16 mg/l. Noch deutlicher war diese Hemmung des Längenzuwachses bei 30 mg/l und 40 mg/l feststellbar (Abb. 29).

Ein anderes Bild zeigte sich beim Pigmentgehalt. Bereits 4 mg/l Pendimethalin verursachten eine starke Abnahme von Chlorophyll a, b und den Carotinoiden. Mit zunehmenden Konzentrationen stieg die Abnahme der Pigmentgehalte weiter an (Abb. 29).

Ähnlich wie beim Pigmentgehalt konnte auch bei der Entwicklung der Wurzeln ein kontinuierlicher Rückgang der Wurzelzahl verzeichnet werden. Lediglich die niedrigsten Konzentrationen von 4 mg/l und 8 mg/l zeigten im Vergleich zur Kontrolle keinen wesentlichen Einfluss. Die Wurzellänge zeigte größere Schwankungen und keine einheitliche Wirkung auf den Wirkstoff. Die Seitentriebzahl und die Seitentrieblänge konnten nur bei einigen Konzentrationen bestimmt werden, wobei Pendimethalin keine eindeutige Wirkung hinsichtlich dieser Wirkungskriterien zeigte (Tab. 26).

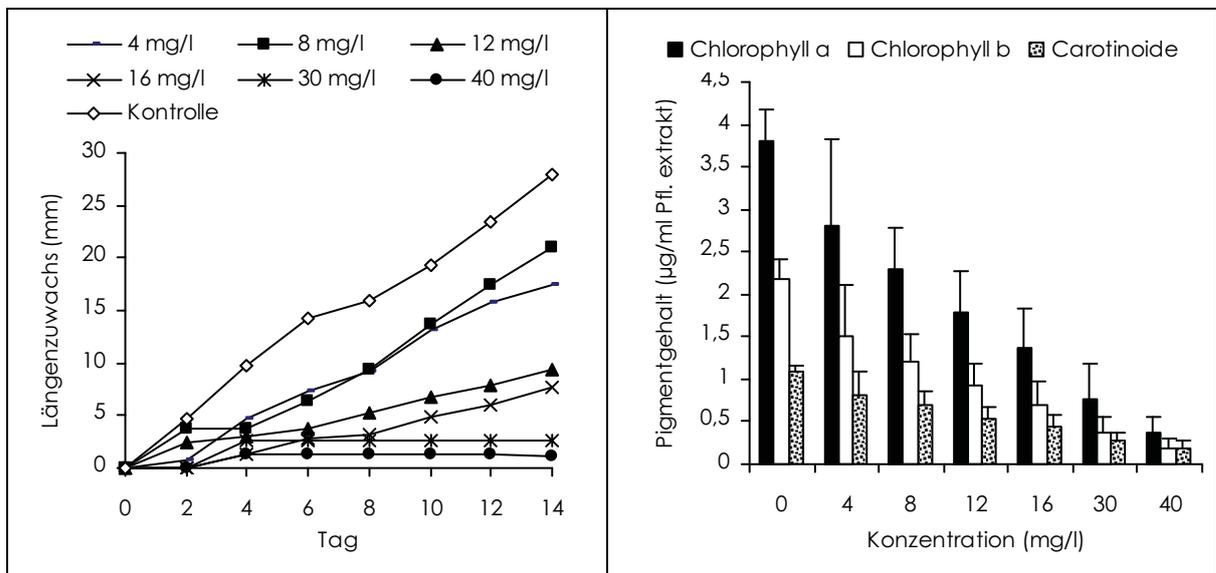


Abb. 29: Wirkung von Pendimethalin auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 26: Einfluss von Pendimethalin auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	3,4 ±0,49	2,3 ±0,20	keine	keine
4	3,0 ±0,00	2,2 ±0,41	keine	keine
8	3,4 ±0,80	2,3 ±0,36	0,2 ±0,40	0,4 ±0,80
12	2,6 ±0,80	1,9 ±0,30	0,8 ±0,40	1,4 ±0,73
16	2,0 ±0,63	2,0 ±0,29	0,6 ±0,49	1,0 ±0,89
30	1,4 ±1,02	1,4 ±0,98	0,2 ±0,40	0,4 ±0,80
40	0,4 ±0,80	0,4 ±0,80	keine	keine

#### 5.4.2 Wirkung von Fungiziden auf das Wachstum von *M. aquaticum*

##### 5.4.2.1 Wirkung von Chlorothalonil auf das Wachstum

Chlorothalonil ist ein Fungizid und wird gegen Pilze in verschiedenen Kulturen angewendet. Auffallend war, dass die niedrigeren Konzentrationen (0,3 mg/l und 1,1 mg/l) einen Längenzuwachs der Versuchspflanzen induzierten, wogegen die Pflanzen bei 2,2 mg/l keinen Wachstumsunterschied zur Kontrolle aufwiesen (Abb. 30). Erst höhere Konzentrationen zeigten hemmende Wirkungen auf den Längenzuwachs.

Die Ergebnisse zeigten weiterhin, dass Konzentrationen größer als 0,3 mg/l eine Abnahme des Pigmentgehalts verursachten.

Die niedrigeren Konzentrationen (0,3 mg/l, 1,1 mg/l) induzierten die Wurzelbildung der Pflanzen, wogegen auch bei 3,3 mg/l eine starke Abnahme beobachtet wurde (Tab. 27). Chlorothalonil wirkte sich kaum auf die Wurzellänge der Pflanzen aus. Eine Seitentriebbildung konnte bei vielen Konzentrationen nicht bestimmt werden.

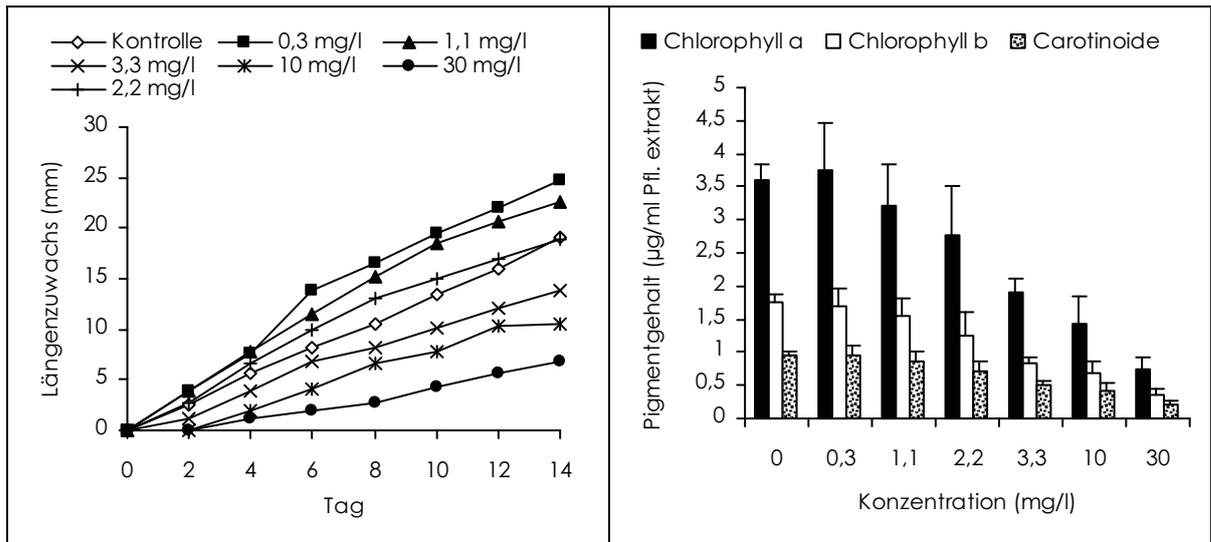


Abb. 30: Wirkung von Chlorothalonil auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 27: Einfluss von Chlorothalonil auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge(cm)
0	2,2 ±0,98	2,7 ±0,40	keine	keine
0,3	3,2 ±0,40	2,6 ±0,37	keine	keine
1,1	3,6 ±0,49	2,3 ±0,24	keine	keine
2,2	2,4 ±1,02	1,6 ±0,20	0,3 ±0,43	0,2 ±0,40
3,3	1,0 ±0,00	2,7 ±0,68	keine	keine
10	2,2 ±0,75	2,2 ±0,51	0,4 ±0,80	0,2 ±0,30
30	1,0 ±0,00	2,2 ±0,24	0,2 ±0,40	0,1 ±0,20

### 5.4.2.2 Wirkung von Propiconazol auf das Wachstum

Propiconazol ist ebenfalls ein Fungizid. In Abbildung 31 ist zu erkennen, dass alle untersuchten Konzentrationen von Propiconazol zu einem völligen Wachstumsstopp der Pflanzen in den ersten 4 Tagen führten. Nur die Pflanzen in 0,3 mg/l und 0,9 mg/l erholten sich nach 4 Tagen (Abb. 31).

Ab einer Konzentration von 0,3 mg/l konnte eine Änderung des Pigmentgehalts gemessen werden. Zunehmende Wirkstoff-Konzentrationen verursachten eine kontinuierliche Abnahme des Pigmentgehalts.

Bei den niedrigeren Konzentrationen bis 1,8 mg/l löste Propiconazol eine Erhöhung der Wurzelzahl aus. Die darauffolgenden Konzentrationen führten zur Abnahme der Wurzelzahl. Die Wurzellänge erhöhte sich bis zu einer Konzentration von 2,7 mg/l. Propiconazol führte mit Ausnahme von 0,3 mg/l zu keiner Bildung von Seitentrieben (Tab. 28).

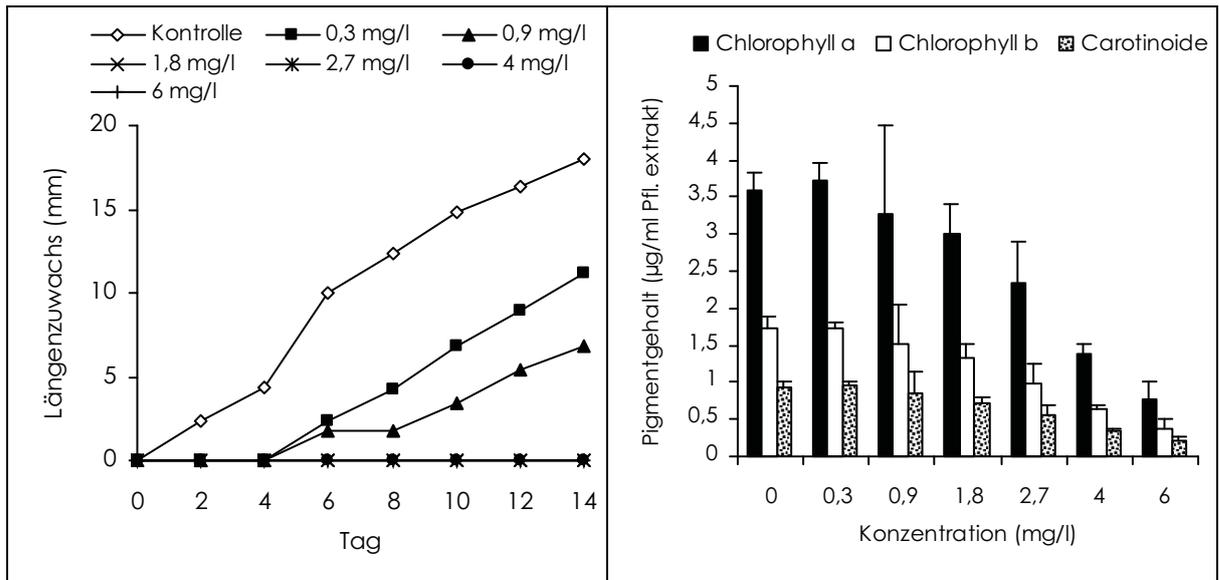


Abb. 31: Wirkung von Propiconazol auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 28: Einfluss von Propiconazol auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen.

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	2,4 ±0,49	3,1 ±0,58	keine	keine
0,3	3,4 ±1,20	3,1 ±0,80	0,4 ±0,80	0,1 ±0,20
0,9	3 ±0,63	3,3 ±0,40	keine	keine
1,8	2,6 ±0,80	3,5 ±0,77	keine	keine
2,7	1,8 ±0,40	4,1 ±0,20	keine	keine
4	2,0 ±0,63	2,7 ±0,00	keine	keine
6	1,4 ±0,49	2,1 ±0,00	keine	keine

### 5.4.3 Wirkung von Insektiziden auf das Wachstum

#### 5.4.3.1 Wirkung von Parathion

Parathion wird gegen Insekten angewendet. Die Ergebnisse zeigten, dass die Konzentration von 0,3 mg/l den Längenzuwachs der Versuchspflanzen induzierte (Abb. 32). Steigende Konzentrationen führten dagegen zu einer Hemmung des Längenzuwachses, wobei die Stärke der Pflanzenreaktionen bei Konzentrationen von 1,1 mg/l und 3,3 mg/l sehr ähnlich war (Abb. 32). Die höchsten Konzentrationen von 15 mg/l und 20 mg/l verursachten einen völligen Wachstumsstopp der Pflanzen bis zum 6. Tag. Danach trat eine leichte Erholung auf. Ab einer Konzentration von 3,3 mg/l Parathion war zu beobachten, dass die Pflanzen deutlich kleinere, weniger und hellgrüne Blätter bildeten.

Der Pigmentgehalt der Pflanzen stieg bei einer Konzentration von 0,3 mg/l an (Abb. 32). Höhere Konzentrationen führten zu einer kontinuierlichen Abnahme des Pigmentgehalts.

Parathion zeigte bei allen Konzentrationen kaum eine Wirkung auf die Wurzelzahl (Tab. 29). Auch die Wurzellänge änderte sich nur bei der höchsten Konzentration. Eine ähnliche Tendenz war auch bei der Seitentriebzahl und der Seitentrieblänge zu sehen.

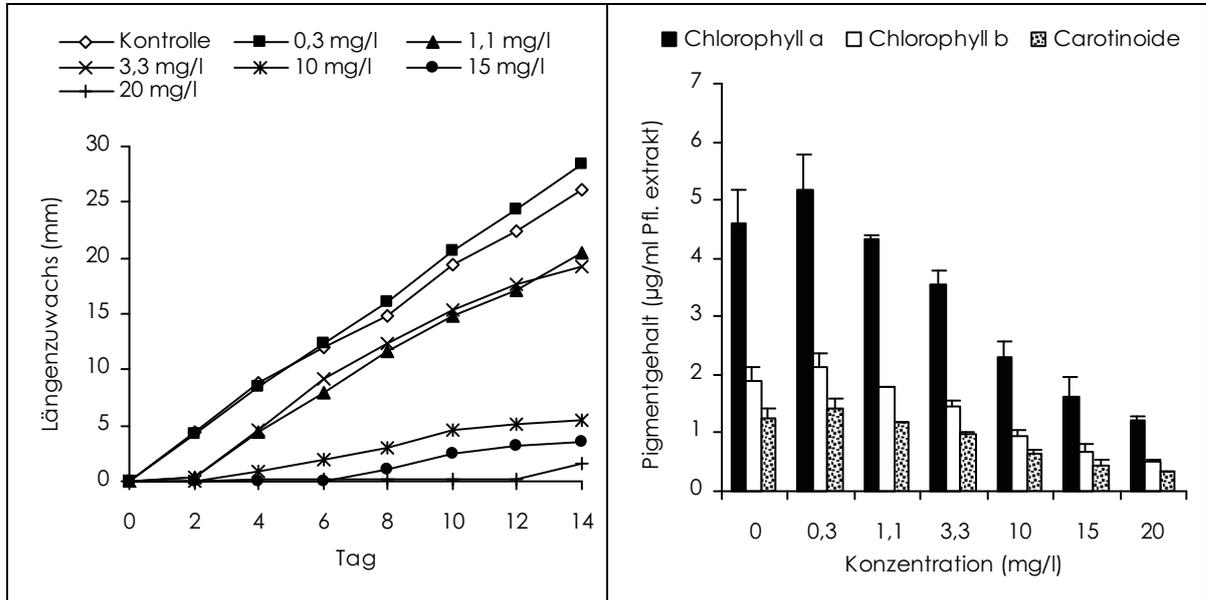


Abb. 32: Wirkung von Parathion auf den Längenzuwachs im Verlauf von 14 Tagen und auf die Pigmentgehalte nach 14 Tagen von *M. aquaticum*.

Tab. 29: Einfluss von Parathion auf unterschiedliche Wirkungskriterien von *M. aquaticum* nach 14 Tagen

Konzentration (mg/l)	Wurzelzahl	Wurzellänge (cm)	Seitentriebzahl	Seitentrieblänge (cm)
0	4,0 ±0,63	2,4 ±0,37	keine	keine
0,3	3,1 ±1,02	2,6 ±0,37	keine	keine
1,1	4,4 ±0,49	2,3 ±0,51	1,4 ±0,49	0,5 ±0,52
3,3	3,6 ±0,80	2,4 ±0,37	1,0 ±1,26	0,3 ±0,59
10	3,2 ±0,75	2,6 ±0,49	1,2 ±0,75	0,4 ±0,34
15	3,8 ±0,75	2,4 ±0,58	0,6 ±0,80	0,3 ±0,39
20	3,2 ±0,75	1,6 ±0,20	1,4 ±0,49	1,0 ±0,00

#### 5.4.4 Vergleich der EC<sub>50</sub>-Werte aller getesteten Pflanzenschutzmittel

Die berechneten EC<sub>50</sub>-Werte der untersuchten Pflanzenschutzmittel bezogen auf die verschiedenen Wirkungskriterien von *M. aquaticum* sind in Tabelle 30 aufgelistet.

Das empfindlichste Wirkungskriterium in der Untersuchung von 2,4-D war der Gehalt an Carotinoiden mit einem EC<sub>50</sub> von 0,019 mg/l. Die EC<sub>50</sub>-Werte von Chlorophyll a und b lagen mit 0,020 und 0,022 mg/l in einem entsprechenden Bereich. Der EC<sub>50</sub> bezogen auf die Wurzellänge betrug 0,050 mg/l und zeigte damit eine geringere Empfindlichkeit als die Pigmentgehalte. Die Seitentrieblänge und die Wurzelzahl waren die unempfindlichsten Wirkungskriterien. Sie lagen mit einem EC<sub>50</sub> von 0,079 mg/l bzw. 0,158 mg/l deutlich über denen der anderen. Für die Seitentriebzahl und den Längenzuwachs konnte kein EC<sub>50</sub> errechnet werden.

Nach einer Belastung der Pflanzen mit Dichlorprop-P wurden die Gehalte an Chlorophyll a, b und Carotinoide als empfindlichste Wirkungskriterien ermittelt. Die EC<sub>50</sub> lagen bei 0,070 mg/l bezogen auf Chlorophyll a, bei 0,063 mg/l bezogen auf Chlorophyll b sowie bei 0,087 mg/l bezogen auf die Carotinoide. Der EC<sub>50</sub>, bezogen auf die Wurzelzahl betrug 0,176 mg/l, so dass die Wurzelzahl deutlich unempfindlicher auf den Wirkstoff reagierte. Für die Wirkungskriterien Längenzuwachs, Seitentriebzahl, Seitentrieblänge und Frischgewicht konnte kein EC<sub>50</sub> errechnet werden.

Für Dicamba konnte anhand der berechneten EC<sub>50</sub> eine ähnliche Empfindlichkeit der Pflanzen wie für Dichlorprop-P ermittelt werden. Die EC<sub>50</sub> bezogen auf die Pigmentgehalte lagen bei 0,098 bzw. 0,099 mg/l. Auch für die Wurzellänge konnte ein EC<sub>50</sub> von 0,1 mg/l errechnet werden. Für die anderen Wirkungskriterien wie Seitentriebzahl, Seiten-

trieblänge, Längenzuwachs und Fläche unter der Kurve konnten für Dicamba keine  $EC_{50}$  berechnet werden.

Bei den Untersuchungen zur Toxizität von Pyridat konnte die Wurzellänge mit einem  $EC_{50}$  von 0,485 mg/l als empfindlichstes Wirkungskriterium ermittelt werden. Die  $EC_{50}$ -Werte bezogen auf die Pigmentgehalte lagen etwas höher. Dagegen war die Fläche unter der Kurve das unempfindlichste Wirkungskriterium, da der  $EC_{50}$  dabei mit 1,888 mg/l etwa 3 mal so hoch lag. Für Seitentriebzahl und Seitentrieblänge konnten keine  $EC_{50}$  errechnet werden. Die Wurzellänge sowie der Gehalt an Chlorophyll a und b zeigten eine ähnliche Empfindlichkeit auf eine Belastung mit Propaquizafop. Die Fläche unter der Kurve ( $EC_{50}$ : 1,831 mg/l) erwies sich als das unempfindlichste Wirkungskriterium.

Terbutryn war im Vergleich mit allen getesteten Wirkstoffen als unwirksamste Substanz eingestuft. Die Berechnung der  $EC_{50}$ -Werte ergab, dass diese für die Wirkungskriterien Pigmentgehalt und Längenzuwachs in einem Bereich zwischen 67,16 mg/l und 69,02 mg/l liegen. Für die übrigen Wirkungskriterien konnte kein  $EC_{50}$  berechnet werden.

Bei der Belastung mit Triflursulfuron-methyl war der Längenzuwachs das empfindlichste Wirkungskriterium. Das Wirkungskriterium Wurzellänge war nur halb so empfindlich wie Chlorophyll a. Die Wurzelzahl war mit einem  $EC_{50}$  von 0,110 mg/l das unempfindlichste Wirkungskriterium.

Aufgrund der  $EC_{50}$ -Berechnungen für Thifensulfuron-methyl ist die Fläche unter der Kurve mit einem  $EC_{50}$  von etwa 0,003mg/l das empfindlichste Wirkungskriterium. Die Wurzelzahl ( $EC_{50}$ : 0,0068 mg/l) und der Längenzuwachs ( $EC_{50}$ : 0,0066 mg/l) sind nur halb so empfindlich.

Metsulfuron-methyl hat einen sehr niedrigen  $EC_{50}$  (0,000624 mg/l) bezogen auf Chlorophyll a, wobei auch Chlorophyll b und die Carotinoide in einem ähnlichen Bereich lagen. Auch die Wurzelzahl reagierte empfindlich auf die Wirkstoffbelastung. Der Längenzuwachs dagegen zeigte einen etwa 10-fach höheren  $EC_{50}$ .

Auf die Amidosulfuron-Belastung reagierten die Pflanzen mit einer starken Abnahme der Gehalte an Chlorophyll a, b und den Carotinoiden. Der  $EC_{50}$  lag bei 0,325 mg/l. Die toxische Wirkung von Amidosulfuron zeigte sich weniger deutlich anhand des Längenwachstums und der Fläche unter Kurve, das Längenwachstum und die Fläche unter der Kurve geringer als anhand des Pigmentgehalts. Die  $EC_{50}$ -Werte lagen bei 0,970 mg/l.

Rimsulfuron weist mit einem  $EC_{50}$  von 0,054 mg/l bezogen auf die Fläche unter der Kurve den niedrigsten Wert auf. Einen doppelt so hohen Wert erreichte der Längenzuwachs der

Pflanzen. Eine noch höhere Unempfindlichkeit weist der Pigmentgehalt mit einem  $EC_{50}$  von 0,149 mg/l auf. Das unempfindlichste Wirkungskriterium war die Wurzellänge ( $EC_{50}$ : 1,498 mg/l).

Bei Glyphosat erwies sich neben dem Pigmentgehalt (Chlorophyll a, b und Carotinoide) auch die Fläche unter der Kurve als empfindliches Wirkungskriterium. Einen etwa 10-fach höheren  $EC_{50}$  wiesen die Wirkungskriterien Längenzuwachs und Wurzellänge auf.

Bei Trifluralin stellte sich die Fläche unter der Kurve als das empfindlichste Wirkungskriterium heraus. Der  $EC_{50}$  lag bei 0,274 mg/l. Ähnliche Ergebnisse wurden bei den Gehalten an Chlorophyll a, b und Carotinoiden sowie dem Längenzuwachs erzielt: Der  $EC_{50}$  lag für Chlorophyll a, bei 0,323, für Chlorophyll b bei 0,353, für die Carotinoide bei 0,333 und für das Längenwachstum bei 0,338 mg/l. Pendimethalin war unwirksamer als Trifluralin. Die Fläche unter der Kurve ist mit einem  $EC_{50}$  von 8,550 mg/l als empfindlichstes Wirkungskriterium anzusehen. Eine etwas schwächere Wirkung hatte Pendimethalin auf den Längenzuwachs mit einem  $EC_{50}$  von 10,744 mg/l. Dagegen lag der  $EC_{50}$  bezogen auf Chlorophyll a, b und Carotinoiden bei 13,970 mg/l, 16,450 mg/l und 16,360 mg/l. Der  $EC_{50}$  bezogen auf die Wurzelzahl deutet auf eine eher schwache Wirkung hin.

Chlorothalonil ist zwar ein Fungizid, zeigte aber trotzdem eine starke Wirkung auf *M. aquaticum*. Die Wurzellänge ( $EC_{50}$ : 2,210 mg/l), Chlorophyll b ( $EC_{50}$ : 2,54 mg/l), Carotinoide ( $EC_{50}$ : 2,550 mg/l), Chlorophyll a ( $EC_{50}$ : 2,680 mg/l) und der Längenzuwachs ( $EC_{50}$ : 2,94 mg/l) wiesen alle eine ähnliche Empfindlichkeit auf. Das unempfindlichste Wirkungskriterium war die Fläche unter der Kurve mit einem  $EC_{50}$  von 4,49 mg/l. Propiconazol wies bezogen auf die Fläche unter der Kurve einen niedrigen  $EC_{50}$  von 0,218 mg/l auf. Der Längenzuwachs dagegen war mit einem  $EC_{50}$  von 1,310 mg/l weniger empfindlich. Die unempfindlichsten Wirkungskriterien waren die Pigmentgehalte, die einen mehr als 10-fach höheren  $EC_{50}$  aufwiesen.

Bei Parathion waren der Längenzuwachs der Pflanzen und die Fläche unter der Kurve die empfindlichsten Wirkungskriterien mit  $EC_{50}$ -Werten von 6,93 mg/l bzw. 6,71 mg/l.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Chlorophyll a in den meisten Fällen das empfindlichste Wirkungskriterium war. Vergleicht man die Toxizität der getesteten Pflanzenschutzmittel auf *M. aquaticum*, so nimmt sie in folgender Reihenfolge, bezogen auf Chlorophyll a, ab: Metsulfuron-methyl > Thifensulfuron-methyl > 2,4-D > Triflursulfuron methyl > Dichlorprop - P > Dicamba > Rimsulfuron > Glyphosat > Trifluralin > Amidosulfuron > Pyridat > Propaquizafop > Chlorthalonil > Propiconazol > Pendimethalin > Parathion > Terbutryn.

Tab. 30: EC50 (mg/l) der untersuchten Pflanzenschutzmittel für die unterschiedlichen Wirkungskriterien

Pflanzenschutzmittel/ Wirkungskriterien	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotinoide	Fläche unter Kurve	Längen- zuwachs	Wurzel- länge	Wurzel- zahl	Seiten- triebzahl	Seiten- trieblänge
2,4-D (Säure)	0,020	0,022	0,019	nb	nb	0,050	0,158	nb	0,079
Dichlorprop-P	0,070	0,063	0,087	nb	nb	0,106	0,176	nb	nb
Dicamba	0,098	0,099	0,099	nb	nb	0,100	nb	nb	nb
Pyridat	0,636	0,555	0,653	1,888	nb	0,485	nb	nb	nb
Propaquizafop	1,098	1,172	1,430	1,831	nb	1,063	nb	nb	nb
Terbutryn	67,160	68,660	67,970	nb	nb	nb	nb	nb	nb
Triflufururon-methyl	0,037	0,036	0,045	0,036	0,018	0,065	0,110	nb	nb
Thifensulfuron-methyl	0,0088	0,011	0,012	0,0034	0,0066	0,011	0,068	nb	nb
Metsulfuron-methyl	0,000624	0,000882	0,000882	0,001	0,007	0,004	0,003	nb	nb
Amidosulfuron	0,325	0,325	0,325	0,974	0,974	nb	nb	nb	nb
Rimsulfuron	0,149	0,149	0,149	0,054	0,097	1,498	nb	nb	nb
Glyphosat	0,222	0,222	0,222	0,221	2,040	1,998	nb	nb	nb
Trifluralin	0,323	0,353	0,333	0,274	0,338	0,418	nb	nb	nb
Pendimethalin	13,970	16,450	16,360	8,550	10,774	nb	24,13	nb	nb
Chlorthalonil	2,680	2,540	2,550	4,490	2,940	0,480	2,210	nb	nb
Propiconazol	3,886	3,887	3,771	0,218	0,548	nb	2,069	nb	nb
Parathion	15,660	15,730	15,060	6,710	6,930	16,300	nb	nb	nb

nb: nicht bestimmbar

## 5.5 Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup>C-markierten Pflanzenschutzmitteln

Es wurden zwei unterschiedliche Versuchsansätze durchgeführt. Beim ersten Experiment wurden die Pflanzen ohne Trennung von Wurzel- und Sprossbereich kultiviert und <sup>14</sup>C-markierte Pflanzenschutzmittel in die Nährlösung appliziert. Eine Aufnahme der Substanzen konnte somit sowohl vom Spross als auch über die Wurzeln erfolgen (siehe Kapitel 4.3.2).

Im zweiten Experiment wurden die Pflanzen mit einer Trennschicht zwischen Wurzeln und oberen Pflanzenteilen kultiviert. Die Applikation der <sup>14</sup>C-markierten Pflanzenschutzmittel erfolgte nur in den Wurzelbereich, um somit die direkte Aufnahme über die Wurzeln und die Translokation in die oberen Teile der Pflanzen zu untersuchen.

### 5.5.1 Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup>C-markiertem Trifluralin

Bei der Kultivierung von *M. aquaticum* ohne Trennung wurde <sup>14</sup>C-Trifluralin in den ersten 24 Stunden geringfügig sowohl durch die Wurzeln als auch durch die oberen Teile aufgenommen (Abb. 33). Eine erhöhte, aber unterschiedliche Aufnahme durch die Wurzeln und den Spross ist deutlich nach 72 Stunden messbar. Die höchsten Aufnahmeraten mit 190 µg/g Trockengewicht (TG) wurden bei den oberen Pflanzenteilen nach 72 Stunden bestimmt. Bei der Aufnahme des Wirkstoffs durch die Wurzeln lag der höchste Wert bei 34,6 µg/g TG nach 120 Stunden.

Die Ergebnisse der Aufnahme von <sup>14</sup>C-Trifluralin über die Wurzeln und die Translokation in den Spross bei der Applikation direkt in den Wurzelbereich ist in Abbildung 34 dargestellt. Die höchste Aufnahmerate (65 µg/g TG) konnte bereits 24 Stunden nach Versuchsbeginn gemessen werden (Abb. 34). Zu diesem Zeitpunkt enthielt der Spross die geringste Konzentration (0,81 µg/g TG). Das Verhältnis der Aufnahme über die Wurzeln und der Translokation in den Spross lag bei 80. Die Translokation hatte nach 72 Stunden einen Wert erreicht, der sich im weiteren Verlauf nur noch unwesentlich veränderte. Die Aufnahme des Wirkstoffs durch die Wurzeln erreichte zum Ende des Versuches mit 25,9 µg/g TG den niedrigsten Wert. Das Verhältnis der Konzentration in Wurzeln und Spross lag bei etwa 12.

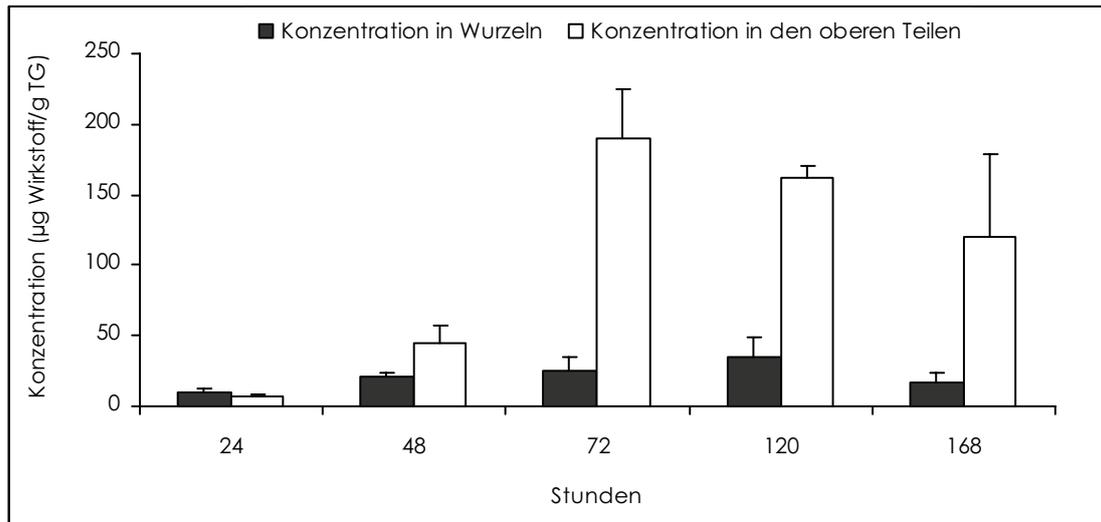


Abb. 33: Konzentration von  $^{14}\text{C}$ -Trifluralin in Wurzeln und in Spross von *M. aquaticum*.

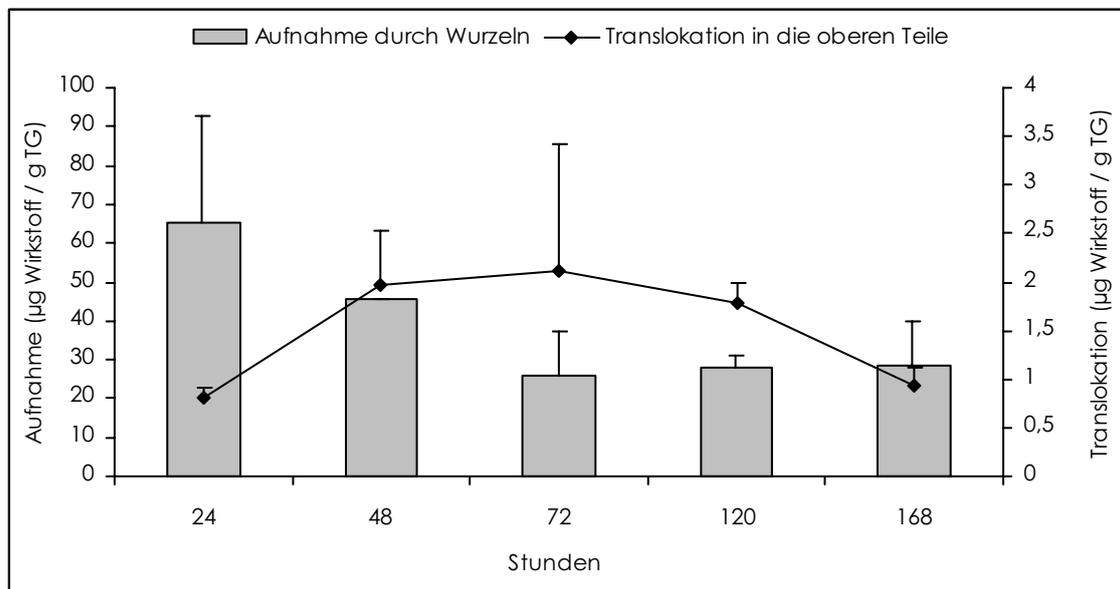


Abbildung 34: Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -Trifluralin in die Wurzeln und Translokation in den Spross von *M. aquaticum*.

### 5.5.2 Aufnahme und Translokation von $^{14}\text{C}$ -markiertem Triasulfuron

Die Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -Triasulfuron bei den Pflanzen, die ohne Trennung kultiviert wurden, erfolgte durch die Wurzeln schneller als durch die oberen Pflanzenteile (Abb. 35). Im Gegenteil dazu zeigte die Aufnahme durch die Wurzeln einen höheren Wert nach 24 Stunden.

Der niedrigste Wert wurde nach 72 Stunden gemessen, wonach sich die Aufnahme über die Wurzeln erst minimal erhöhte, um dann wieder abzufallen (Abb. 35). Ab 72 Stunden konnten die Pflanzen sowohl von der Wurzel als auch von den oberen Teilen wieder mehr Wirkstoff aufnehmen. Die Aufnahme in die oberen Teile erhöhte sich in dieser Zeit bis zum Ende des Versuchs, wo die höchste Aufnahme (4,15 µg/g TG) gemessen wurde.

Erfolgt die Applikation von Triasulfuron direkt in den Wurzelbereich, so nimmt die Aufnahme durch die Wurzeln mit der Zeit kontinuierlich zu. Die höchste Aufnahme mit 86,8 µg/g TG konnte am Ende des Versuchs bestimmt werden. Auch die Translokation in den Spross erreichte den höchsten Wert mit 3,9 µg/g TG am Ende des Versuchs, wobei das Verhältnis Aufnahme zu Translokation etwa 20 war (Abb. 36).

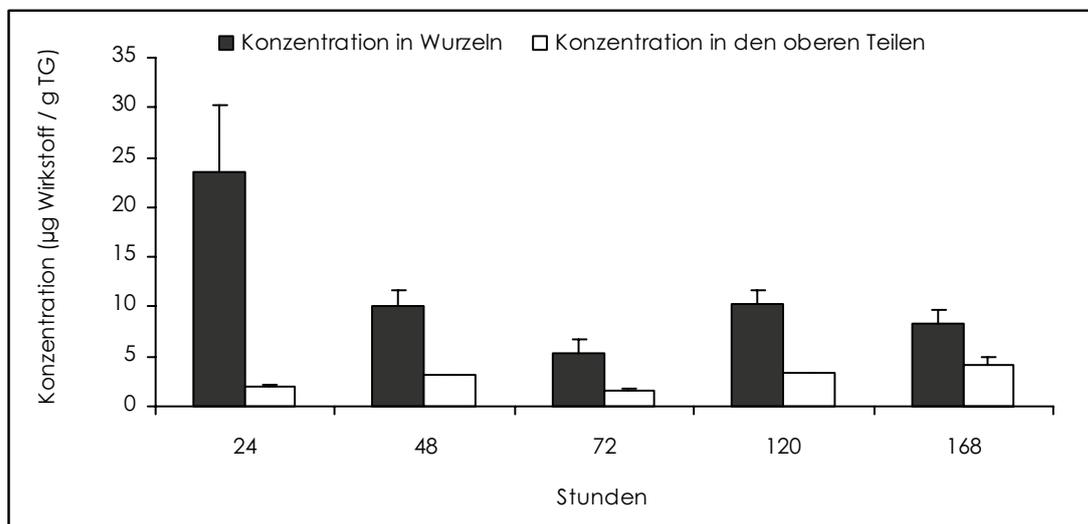


Abb. 35: Konzentration von <sup>14</sup>C-Triasulfuron in Wurzeln und in Spross von *M. aquaticum*.

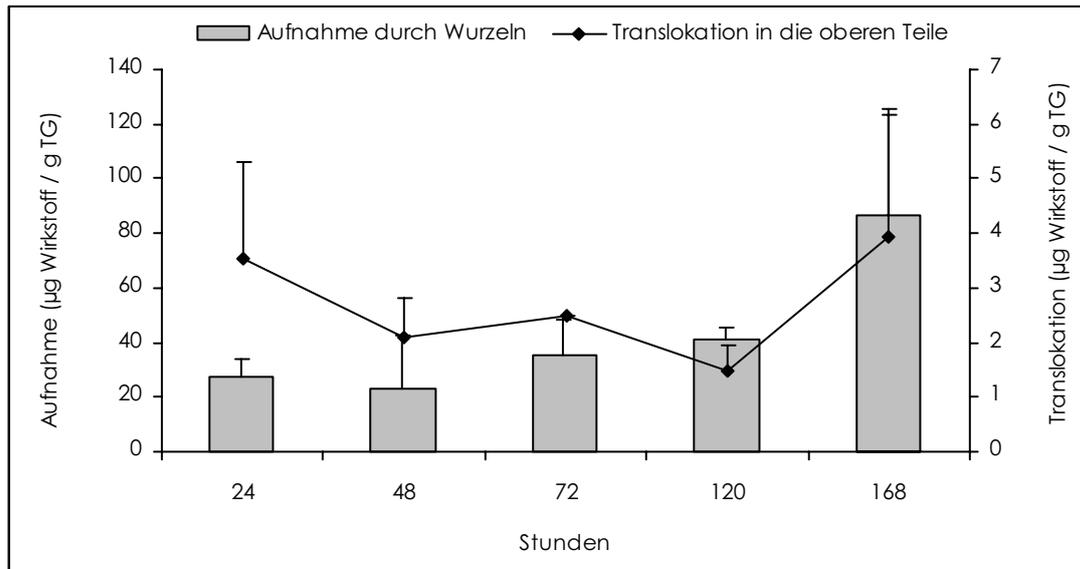


Abb. 36: Aufnahme von <sup>14</sup>C-Triasulfuron in die Wurzeln und Translokation in Spross von *M. aquaticum*.

### 5.5.3 Aufnahme und Translokation von <sup>14</sup>C-markiertem Terbutryn

In Abbildung 37 ist die Aufnahme von <sup>14</sup>C-Terbutryn nach Applikation zur gesamten Pflanze dargestellt. Es ist zu sehen, dass sich die Aufnahme sowohl durch die oberen Teile als auch über die Wurzeln kontinuierlich im Verlauf von 72 Stunden erhöhte. Die Aufnahme durch die oberen Teile der Pflanzen erreichte den höchsten Wert mit 60,8 µg/g TG am Ende des Versuchs. Bei der Aufnahme durch die Wurzeln konnte der höchste Wert mit 36,6 µg/g TG nach 120 Stunden gemessen werden.

Bei direkter Applikation von Terbutryn in den Wurzelbereich der Pflanzen erhöhte sich die Aufnahme durch die Wurzeln im Verlauf der Zeit (Abb. 38). Der höchste Wert wurde mit 199,2 µg/g TG am Ende des Versuchs ermittelt. Die Translokation in den Spross erreichte nach 120 Stunden einen Höchstwert. Danach fallen die Werte wieder leicht.

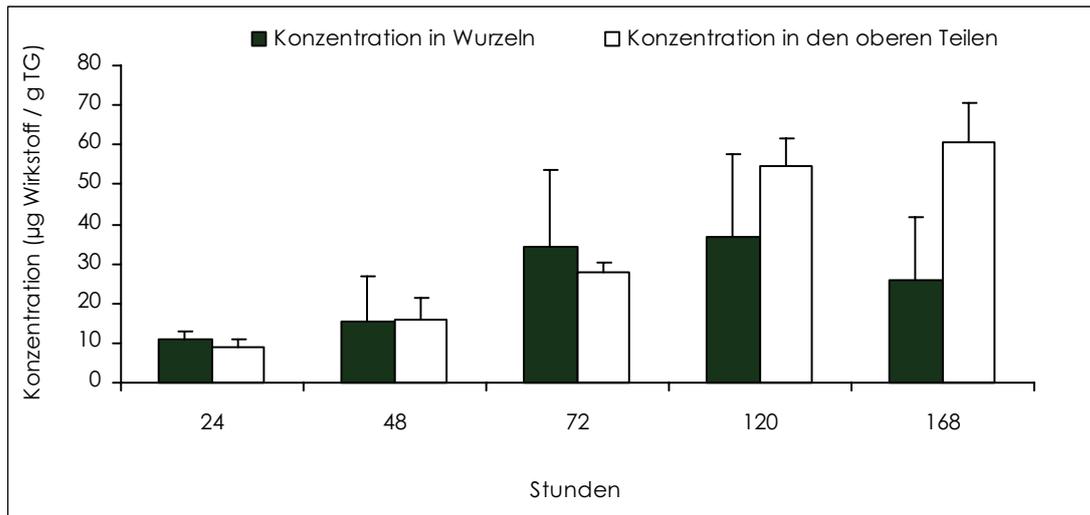


Abb. 37: Konzentration von  $^{14}\text{C}$ -Terbutryn in Wurzeln und in Spross von *M. aquaticum*.

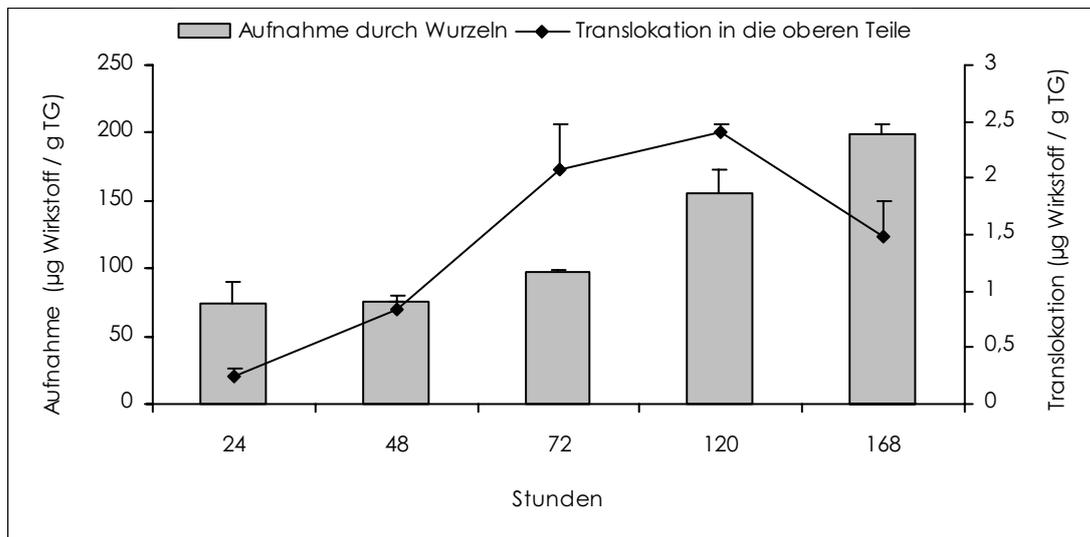


Abb. 38: Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -Terbutryn in die Wurzeln und Translokation in den Spross von *M. aquaticum*.

#### 5.5.4 Aufnahme und Translokation von $^{14}\text{C}$ -markiertem Atrazin

Nach Applikation von Atrazin zur gesamten Pflanze wurde durch die Wurzeln deutlich mehr als durch die oberen Teile aufgenommen. Insgesamt wurden die niedrigsten Aufnahmen sowohl durch die Wurzeln als auch durch die oberen Teile der Pflanzen innerhalb von 24 Stunden gemessen (Abb. 39). Am Ende des Versuchs wurden deutlich höhere Aufnahmewerte erreicht, die bei  $4,4 \mu\text{g/g}$  TG für die Aufnahme durch die Wurzeln und bei  $2,9 \mu\text{g/g}$  TG für die Aufnahme durch die oberen Teile lagen.

Nach der Applikation von Atrazin in den Wurzelbereich wurde im Vergleich zu den anderen untersuchten Wirkstoffen deutlich weniger Wirkstoff durch die Wurzeln aufgenommen, dagegen relativ viel in die oberen Pflanzenteile translokiert. Aus der Abbildung 40 ist ersichtlich, dass die Aufnahme und die Translokation bis zur 72 Stunden wieder leicht zurück ging. Anschließend nahm die Aufnahme durch die Wurzeln wieder zu, wogegen die Translokation weiter zurückging. Die Translokation erhöhte sich wieder ab 120 Stunden und erreichte einen Höchstwert am Ende des Versuchs.

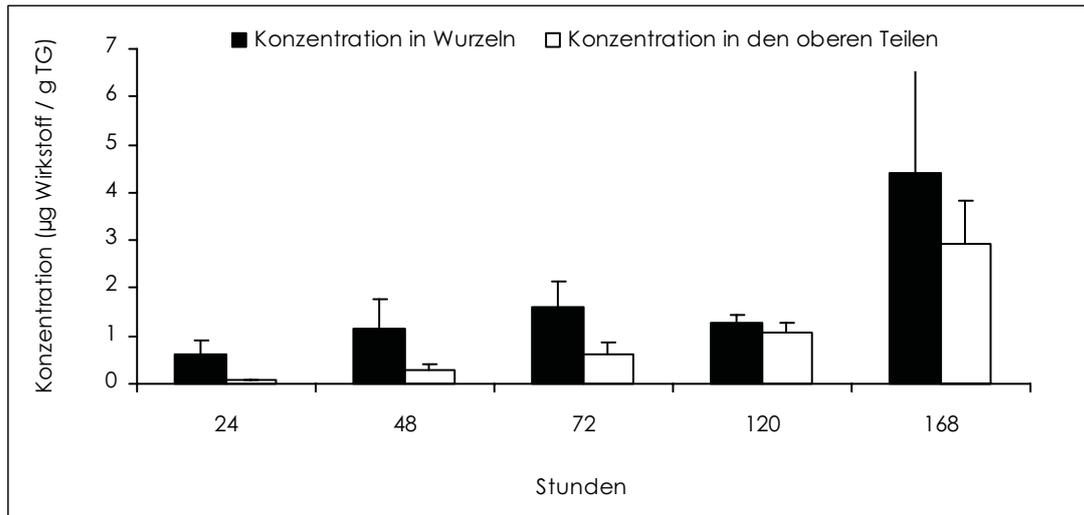


Abb. 39: Konzentration von  $^{14}\text{C}$ -Atrazin in Wurzeln und Spross von *M. aquaticum*.

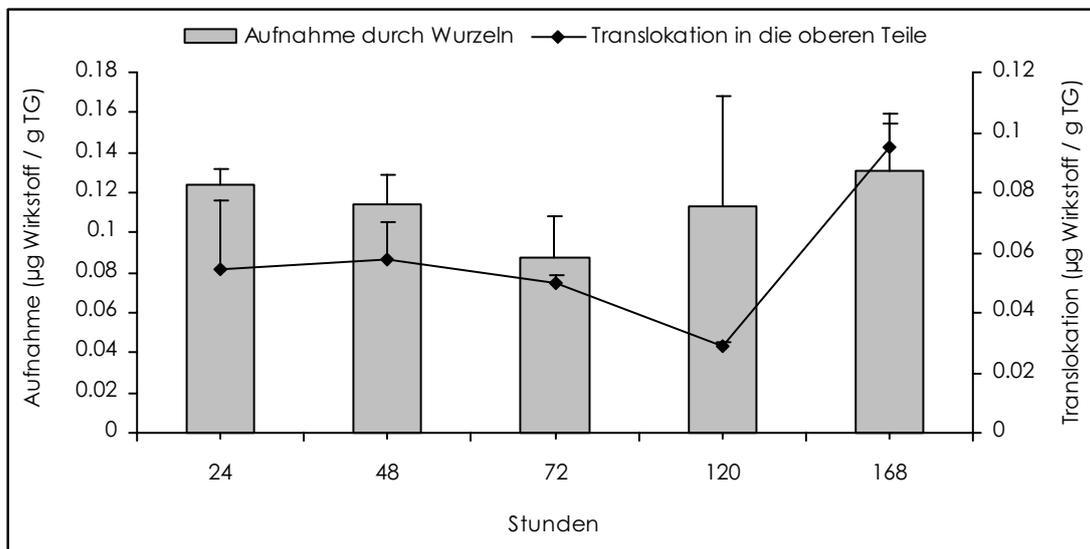


Abbildung 40: Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -Atrazin in die Wurzeln und Translokation in den Spross von *M. aquaticum*.

### 5.5.5 Aufnahme und Translokation von $^{14}\text{C}$ -markiertem Cycloxidim

Nach Applikation von  $^{14}\text{C}$ -Cycloxidim zur gesamten Pflanze lag die Aufnahme durch die Wurzeln höher als durch die oberen Teile (Abb. 41). Die höchste Aufnahme durch die Wurzeln wurde nach 24 Stunden mit 4,6  $\mu\text{g/g}$  TG, die niedrigste Aufnahme mit 1,16  $\mu\text{g/g}$  TG am Ende des Versuchs bestimmt.

Wird Cycloxidim direkt in den Wurzelbereich appliziert, wird von den Wurzeln innerhalb von 24 Stunden zunächst wenig aufgenommen. Die Aufnahme steigerte sich in den nächsten 48 Stunden, die Translokation ging dagegen zurück (Abb. 42). Die Aufnahme der Substanz nahm danach leicht ab, die Translokation steigerte sich wieder. Die Translokation erreichte einen maximalen Wert von 0,14  $\mu\text{g/g}$  TG am Ende des Versuchs. Die höchste Aufnahmemenge durch die Wurzeln wurde nach 48 Stunden mit einem Wert von 16,65  $\mu\text{g/g}$  TG gemessen, gleichzeitig wurde der niedrigste Wert der Translokation ermittelt.

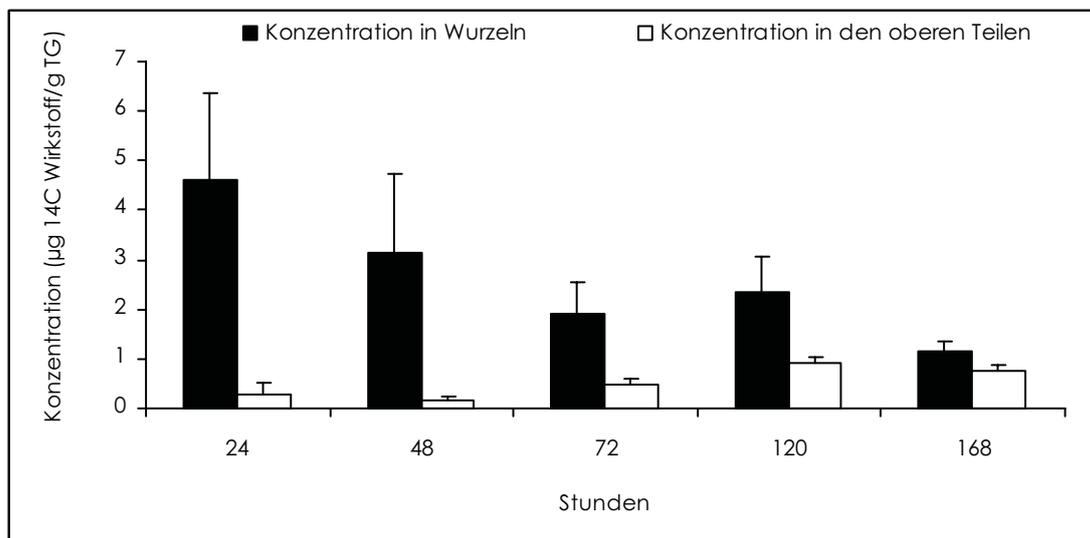


Abb. 41: Konzentration von  $^{14}\text{C}$ -Cycloxidim in Wurzeln und Spross von *M. aquaticum*.

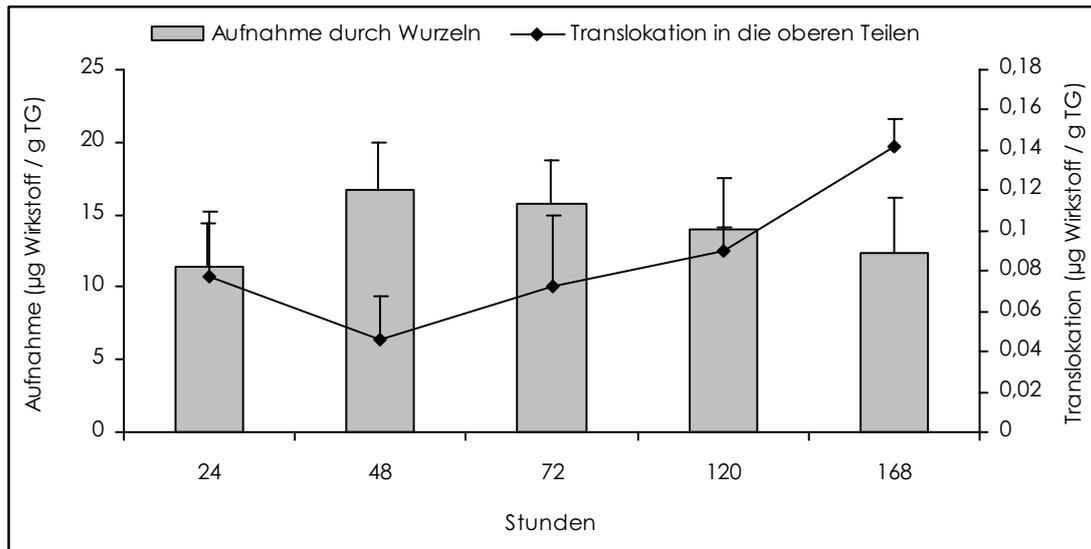


Abbildung 42: Aufnahme von <sup>14</sup>C-Cycloxydim in die Wurzeln und Translokation in den Spross von *M. aquaticum*.

## 5.6 Untersuchungen zur Wirkung von Flusssedimenten auf *M. aquaticum*

### Vergleich des Wachstums der Pflanzen in unterschiedlichen Kontrollsedimenten

Aus Tabelle 31 ist zu erkennen, dass die Pflanzen im Vergleich zur Gartenerde und dem OECD-Sediment in Turface® insgesamt die besten Wachstumsleistungen aufwiesen. Die deutlichsten Unterschiede traten beim Längenzuwachs und den Pigmentgehalten auf. Dagegen variierten die anderen Wirkungskriterien zwischen den drei Varianten kaum. Vergleicht man die Pflanzen in Gartenerde und OECD-Sediment, dann konnte ein geringfügig besseres Wachstum in OECD-Sediment ermittelt werden.

Tab. 31: Wirkung von Kontrollsedimenten auf das Wachstum von *M. aquaticum*.

Variante / Wirkungskriterien	Kontrolle Turface	Kontrolle Gartenerde	Kontrolle OECD
Längenzuwachs (mm)	28 ±4,8	19 ±4,70	20 ±1,00
Chlorophyll a (µg / ml Pfl. Extrakt)	3,0 ±0,02	2,3 ±0,01	2,5 ±0,01
Chlorophyll b (µg / ml Pfl. Extrakt)	1,3 ±0,01	1,1 ±0,00	1,1 ±0,01
Carotinoide (µg / ml Pfl. Extrakt)	0,9 ±0,03	0,8 ±0,01	0,8 ±0,01
Wurzelzahl	4,2 ±2,06	3,5 ±0,57	4,5 ±1,00
Wurzellänge (cm)	2,9 ±0,27	3,3 ±0,43	3,2 ±0,50
Wurzelgewicht (g)	0,02 ±0,01	0,06 ±0,00	0,01 ±0,00

### Vergleich des Wachstums der Pflanzen in unterschiedlichen Sedimenten der Donau

In den Experimenten zur toxischen Wirkung von Flusssedimenten der Donau auf das Wachstum von *M. aquaticum* wurde Turface® als Kontrollsediment ausgewählt. Insgesamt wurden 26 Sedimente der Donau untersucht. Es ist zu erkennen, dass die Pflanzen in den Sedimenten ein sehr differenziertes Wirkungsspektrum aufwiesen. Im folgenden werden exemplarisch die Ergebnisse von vier Sedimenten dargestellt, in denen *M. aquaticum* eine gleichgerichtete, eine fördernde und eine hemmende Wirkung im Vergleich mit der Kontrolle aufwies.

In Tabelle 32 ist zu sehen, dass das Wachstum der Pflanzen in Sediment 1 sowohl in den quantitativen Daten als auch im Erscheinungsbild keinen Unterschied zu Pflanzen im Kontrollsediment zeigten. Die Pflanzen im Sediment 2 zeigten im Sprossbereich ein ähnliches Wachstum wie in der Kontrolle, allerdings war eine deutliche Reduktion der Wurzelzahl mit gleichzeitiger Erhöhung der Wurzellänge zu beobachten. Das Sediment 3 dagegen rief bei den Pflanzen eine Förderung des Pigmentgehalts hervor. Auch die Wurzelzahl war ähnlich wie im Sediment 2 erhöht, allerdings waren die Wurzeln im Vergleich zum Kontrollsediment deutlich kürzer. Die stärkste Wirkung auf die Pflanzen zeigte das Sediment 4. Die Pflanzen wiesen im Vergleich zum Kontrollsediment einen gehemmten Längenzuwachs auf. Auch die Wurzelzahl war deutlich niedriger als bei Pflanzen in Turface®. Alle anderen Wirkungskriterien lagen im Bereich des Kontrollsediments.

Tab. 32: Wirkung von Freilandsedimenten auf das Wachstum von *M. aquaticum*.

Variante / Wirkungskriterien	Kontrolle Turface	Sediment 1	Sediment 2	Sediment 3	Sediment 4
Längenzuwachs (mm)	28 ±4,80	29 ±4,70	26 ±11,8	27 ±5,60	9 ±4,60
Chlorophyll a (µg / ml Pfl. Extrakt)	3,0 ±0,02	3,4 ±0,03	3,6 ±0,02	4,1 ±0,03	2,8 ±0,08
Chlorophyll b (µg / ml Pfl. Extrakt)	1,3 ±0,01	1,1 ±0,01	1,2 ±0,01	1,2 ±0,01	1,1 ±0,01
Carotinoide (µg / ml Pfl. Extrakt)	0,9 ±0,03	1,0 ±0,03	1,1 ±0,03	1,2 ±0,02	0,8 ±0,01
Wurzelzahl	4,2 ±2,06	4,2 ±0,50	3 ±0,00	5,3 ±2,20	2,5 ±0,57
Wurzellänge (cm)	2,9 ±0,27	2,6 ±0,29	3,5 ±0,40	2,3 ±0,71	3,7 ±0,49
Wurzelgewicht (g)	0,02 ±0,01	0,01 ±0,00	0,02 ±0,00	0,01 ±0,00	0,03 ±0,03

## 6 Diskussion

### 6.1 Kultivierung von *M. aquaticum* unter sterilen Bedingungen

Wasserpflanzen brauchen Nährstoffe, die in gelöster bzw. pflanzenverfügbarer Form in dem sie umgebenden Medium vorliegen müssen. Man unterscheidet dabei Makronährstoffe wie beispielsweise Stickstoff, Phosphat, Calcium oder Kalium und Mikronährstoffe wie Mangan, Bor oder Eisen, die für ein ausreichendes Wachstum und eine gesunde Entwicklung der Pflanzen von entscheidender Bedeutung sind.

Höhere Wasserpflanzen (Makrophyten) können mineralische Nährstoffe vom Sediment oder über das sie umströmende Wasser aufnehmen, wobei eine Aufnahme über die Wurzeln, Blätter und Stängel möglich ist (Haslam 1978).

Bei der Kultivierung von Makrophyten unter Laborbedingungen ist es für ein optimales Wachstum wichtig, eine ausreichende Menge an Nährstoffen und, insbesondere bei submerser Lebensweise, eine geeignete Kohlenstoffquelle anzubieten (Prins et al. 1982; Lucas 1983). Submerse Pflanzen sind fähig, Bikarbonat-Ionen für photosynthetische Prozesse zu assimilieren. Ein wichtiger Einflussfaktor für die Entwicklung von Wasserpflanzen ist der pH-Wert der Nährlösung. Dieser beeinflusst die Verfügbarkeit von Nährstoffen, deren Mobilität und Aufnahme in die Pflanze. Darüber hinaus beeinflusst der pH-Wert auch das Verhältnis von  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3$  im Wasser (Miller 1985).

Ein Sediment enthält im Allgemeinen mehr Nährstoffe als das umgebende Wasser. Auch das im Sediment vorhandene Wasser enthält etwa 6 bis 20 mal mehr Nährstoffe als das Wasser unmittelbar über dem Sediment (Haslam 1978). Dem Sediment kommt daher eine große Bedeutung als Nährstoffreservoir für wurzelnde Makrophyten zu. Es wurde beobachtet, dass bei Nährstoffmangel im Sediment häufig ein deutlich stärkeres Wurzelwachstum auftritt. Die Entwicklung der Wurzeln steht daher in engem Zusammenhang mit dem Sedimenttyp. So sind die Wurzeln im Schlamm oftmals länger und breiter als in feingemischten Körnersubstraten.

Unter Laborbedingungen sind die dort herrschenden Lichtverhältnisse häufig für ein optimales Wachstum der Pflanzen nicht ausreichend. Deshalb wird eine künstliche Lichtquelle verwendet, wobei der Sättigungswert von submersen Blätter bei  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  liegt (Sutton 1985). Die Strahlung bei den eigenen Untersuchungen lag zwischen  $120$  und  $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Roshon et al. (1996) stellten  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  bei Untersuchungen mit

*Myriophyllum sibiricum* ein. Für emerse Makrophyten wurden Lichtintensitäten zwischen 115 und 160  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  über den Pflanzenoberflächen gemessen (Powell et al. 1996). Fairchild et al. (1998) haben für Experimente mit *Elodea canadensis*, *Ceratophyllum demersum*, *M. heterophyllum* und *Najas* sp. eine Lichtintensität von 60  $\mu\text{E m}^2/\text{s}$  eingestellt. Andere Makrophyten wie *M. spicatum*, *Potamogeton amplifolis*, *P. gramineus*, *P. praelongus*, *P. robbinsii* und *Vallisneria americana* wurden bei einer Lichtintensität von 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  kultiviert (Madsen et al. 1991). In fast allen Experimenten mit emersen (Powell et al. 1996) und submersen Makrophyten (Guilizzoni et al. 1984) wurde für die Kultivierung ein Rhythmus von 16 Stunden Tag und 8 Stunden Nacht gewählt.

Auch die Temperatur ist ein wichtiger Faktor für das Pflanzenwachstum, da an den Wachstums- und Entwicklungsprozessen der Pflanzen z. B. zahlreiche biochemische Umsetzungen beteiligt sind, die temperaturabhängig verlaufen (Nultsch 2001). Für die in der Literatur beschriebenen Experimente mit Makrophyten werden in der Regel Temperaturen von 20 °C angegeben (z. B. Roshon et al. 1996). In einigen Arbeiten wurden submerse Makrophyten im Labor bei 25 °C gehalten (z. B. Fairchild et al. 1998).

Alle oben genannten Faktoren beeinflussen das Wachstum und die Sensitivität von Pflanzen gegenüber Schadstoffen. Für die Entwicklung eines geeigneten Testsystems war es notwendig, diesen Einfluss zu quantifizieren und alle Bedingungen sowohl für die Kultivierung als auch für die Testexposition zu optimieren. Hierbei wurden im Besonderen die Gehalte an Nährstoffen, die C-Quelle, der pH-Wert, sowie der Einfluss eines synthetischen Sediments sowohl unter sterilen als auch insterilen Bedingungen untersucht und bewertet.

### **Vergleich verschiedener Nährlösungen**

Die Bedeutung des Sediments und des Wasserkörpers als Nährstoffquellen für das Wachstum von Makrophyten konnte am Beispiel von *M. aquaticum* demonstriert werden. Die Aufnahme der Nährstoffe durch die Pflanzen kann in Abhängigkeit der äußeren Bedingungen recht unterschiedlich sein (Smart und Barko 1985). Um die Wachstumsleistung von *M. aquaticum* in unterschiedlichen Nährlösungen unter kontrollierten Laborbedingungen zu bestimmen, wurden die Nährlösungen nach Hoagland (Hoagland und Arnon 1938) und Andrews (Hinman und Klaine 1992) eingesetzt. Die Nährlösung nach Hoagland wird sehr häufig als geeignetes Medium für die Kultivierung von sowohl aquatischen wie auch terrestrischen Pflanzen verwendet (Hinman und Klaine 1992; Wilson et al. 2000). Hinman und Klaine (1992) haben *Hydrilla verticillata* in 10 % Hoagland mit 200 mg/l  $\text{NaHCO}_3$  Zugabe kultiviert. Gleichzeitig wurde sie auch in einer modifizierten Version für die Durchführung

wirkungsbezogener Untersuchungen mit Wasserlinsen (Lemnaceen) empfohlen (ASTM 1991).

Für die Vermehrung von *M. spicatum* wurde eine Nährlösung basierend auf Arbeiten von Gerloff und Andrew von Selim et al. (1989) modifiziert. Die Ergebnisse in eigenen Untersuchungen belegen, dass die Nährlösung von Hoagland ein besseres Pflanzenwachstum ermöglichte. Trotz niedrigerer Wurzelzahl wiesen die Pflanzen längere Wurzeln auf, was zu einer verbesserten Aufnahmefähigkeit von Substanzen aus dem Sediment führen könnte (Burton 1992; Coquery und Wellbourn 1994).

### **Einfluss verschiedener Kohlenstoffquellen auf das Pflanzenwachstum**

Eine C-Quelle in Form gelöster anorganischer oder organischer Kohlenstoffverbindungen ist ein notwendiger Bestandteil von Nährlösungen für submerse Pflanzen, da Kohlenstoff als Hauptnährstoff ein potenzieller Begrenzungsfaktor im Wasser ist (Madsen und Sand-Jensen 1991). Das beste Wachstum von *M. aquaticum* wurde mit Zugabe von 30 g/l Saccharose erzielt, wie es auch in Untersuchungen von Kane und Gilman (1991) beschrieben wird. Damit werden im Allgemeinen die bisherigen Literaturangaben bestätigt. Christopher und Bird (1992) verwendeten eine Murashige und Skoog Nährlösung mit 30 g/l Saccharose. Auch in der Richtlinie nach ASTM (1991) wird Saccharose für die Kultivierung von *Lemna* vorgeschlagen. Allerdings schließt die Verwendung von Saccharose oder anderen mikrobiell verwertbaren C-Quellen eine Untersuchung von Umweltproben aus, da hierbei unter inerten Bedingungen gearbeitet werden muss.

### **Wirkung unterschiedlicher pH Werte auf das Wachstum von *M. aquaticum***

Die Untersuchung des Wachstums von *M. aquaticum* in Nährlösungen mit verschiedenen pH-Werten zeigte, dass *M. aquaticum* über ein breites pH-Optimum bezogen auf die wichtigsten Wirkungskriterien (Längenzuwachs, Pigmentgehalte und Wurzelzahl) verfügt. Allerdings sind auch hier Grenzen gesetzt. So untersuchten Penuelas und Menendez (1990) sowie Allen und Spence (1981) den Zusammenhang zwischen pH und  $\text{HCO}_3^-$  Aufnahme. Sie folgerten, dass die meisten Makrophyten  $\text{HCO}_3^-$  bei pH-Werten größer als 9 als C-Quelle nicht mehr nutzen können. Unter diesen Bedingungen geht die Aktivität der Photosynthese auf etwa 10 % ihres Potentials, wie es bei  $\text{CO}_2$ -Sättigungskonzentrationen erreicht werden kann, zurück.

Diese Eigenschaft ist für eine Eignung der Pflanzen in einem Biotest von besonderer Bedeutung, da sie somit ohne Einschränkung der Testaussage in einem breiten pH-Bereich eingesetzt werden kann (Fomin et al. 2000). Diese Anpassungsfähigkeit von *M. aquaticum* erlaubt auch eine Untersuchung von Umweltproben mit extremen pH-Werten, bei denen eine

pH-Änderung häufig zu einer Veränderung der Probenzusammensetzung führt (Sallenave und Fomin 1997). Der pH-Wert der Expositionen kann sich somit an der zu untersuchenden Fragenstellung orientieren und nicht an der bei anderen Testorganismen notwendigen Neutralisierung der Probe.

In der Vergangenheit wurden viele der Testverfahren mit Pflanzen bei einem über die Versuchsdauer stabil gehaltenen pH-Wert durchgeführt, um eine gewisse Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten (Kane und Albert 1989; Fleming et al. 1991; Kane und Gilman 1991). Es zeigte sich allerdings immer öfter, dass eine natürliche Veränderung des pH-Wertes während einer Exposition wesentlich realistischer ist und sich auch auf die Toxizität des Schadstoffes auswirkt (Bruner und Fisher 1993; Dirilgen 1998).

### **Untersuchungen zur Ermittlung eines geeigneten Sediments als Bewurzelungs-substrat**

Für die Entwicklung eines biologischen Testsystems, das den Bereich Sediment einschließt, musste ein Substrat gefunden werden, das die Eigenschaften und Funktionen des Sediments im Test übernehmen kann. Hierfür wurden die Substrate Turface<sup>®</sup>, Sand und Turface<sup>®</sup>-Sand Gemisch untersucht. Ein Sediment kann in Form von feinerem, mittel- und grobkörnigem Mineral und organischen Partikeln in Seen, Flüssen oder Ozeanen gefunden werden (Adams und Sand-Jensen 1991). Das Sediment dient als Lebensort für viele Organismen und bildet in unterschiedlicher Ausprägung den Durchwurzelungshorizont für höher wurzelnde Pflanzen. Diese nehmen Nährstoffe aus dem Sediment durch die Wurzeln auf und verlagern sie in den oberen Teil der Pflanzen (Guilizzoni 1991; Walsh et al. 1991). Es ist zu vermuten, dass dies auch für viele Schadstoffe gilt, die im Sediment akkumuliert werden. Allerdings liegen hierüber bislang kaum Ergebnisse in der Literatur vor.

Kommerzielle Topferde ist meist ungeeignet für die Vermehrung aquatischer Pflanzen. Sie verursacht ein reduziertes Wachstum, Chlorosen der Blätter und führt zum Absterben der Pflanzen. Grund dafür kann u. U. die anaerobe Bildung von hemmenden, organischen Substanzen sein (Smart und Barko 1985). Einige von ihnen führen zu einer unerwünschten Trübung der Nährlösung nach dem Autoklavieren, wie das bereits Smart und Barko (1985) beobachtet haben. Obwohl bei den eigenen Untersuchungen kein signifikanter Unterschied zwischen den synthetischen Sedimenten nachweisbar war, wurde Turface<sup>®</sup> aufgrund der niedrigen Standardabweichungen bei den Wirkungskriterien als am geeignetsten befunden. Westerdahl und Hall (1987) berichteten, dass ein synthetisches Sediment bestehend aus einem 3:1-Gemisch von Sand und Torf und ein natürliches Sediment keinen signifikant unterscheidbaren Effekt auf den Gehalt an Chlorophyll a bzw. b und das Trockengewicht von

*M. spicatum* und *Hydrilla verticillata* zeigten. Dem widersprechen die Ergebnisse von Bruner und Batterson (1984), die die höchste Knollenzahl von *Hydrilla verticillata* in Mergeln gefunden haben, dagegen einen Rückgang beim Einsatz von Sand und einer Mischung aus 30% Sand und 70% Mergel. Ein ähnliches Ergebnis wird von Denny (1970) für *Potamogeton schweinfurthii* beschrieben. Diese Pflanze zeigte in natürlichem Schlamm eine höhere Wachstumsrate als in Sand. Das Verhältnis Wurzelwachstum zu Sprosslängenzuwachs von *P. schweinfurthii* und *P. thunbergii* war in Sand höher als in Schlamm (Denny 1970). Turface wird als synthetisches Sediment von Roshon und Stephenson (1995) empfohlen.

## 6.2 Kultivierung von *M. aquaticum* unter insterilen Versuchsbedingungen

Für eine Untersuchung von Umweltproben ist eine Testdurchführung unter insterilen Bedingungen notwendig. Aus Gründen der Probenstabilität können Umweltproben nicht autoklaviert werden, weil die höheren Temperaturen während des Autoklaviervorgangs zu einer möglicherweise irreversiblen Veränderung der Proben, z. B. durch ein Ausdampfen von Chemikalien führen können. Dies gilt gleichermaßen für Wasser- und Sediment- bzw. Bodenproben. Daher ist es notwendig, die Pflanzen unter insterilen Bedingungen in der Expositionen durchzuführen. Eine Vermehrung der Pflanzen sollte in jedem Fall unter sterilen Bedingungen erfolgen, um in kurzer Zeit eine ausreichende Anzahl gesunder und axenischer Exemplare zu erhalten (Hanson et al. 2002). Für die Testdurchführung müssen die Pflanzen nach Entnahme aus der Sterilkultur mit destilliertem Wasser mehrmals gespült werden, um die an der Pflanzenoberfläche verbliebene Saccharose zu entfernen.

In den vorliegenden Untersuchungen führte die halbkonzentrierte Andrews-Nährlösung in den meisten der Testansätzen zum größten Längenzuwachs der Pflanzen. Die Wurzelzahl und der Zustand der Wurzeln ist sehr wichtig für das Wachstum aquatischer Pflanzen, weil sie Nährstoffe aus dem Sediment aufnehmen (Bristow und Whitcombe 1971). In den Testansätzen mit Andrews Nährlösung mit 400 mg/l  $\text{NaHCO}_3$  konnte in der Tendenz das größte Wurzellängenwachstum beobachtet werden. Jedoch zeigte sich keine positive Beeinflussung der Wurzelzahl. Ein ähnliches Ergebnis fanden auch Fleming et al. (1991), die für Untersuchungen von *Potamogeton pectinatus* mit Murashige Medium B Pflanzen mit nur wenigen oder gar keinen Wurzeln erhielten. Darüber hinaus waren die gebildeten Wurzeln meistens sehr kurz.

Die Ergebnisse belegen, dass die halbkonzentrierte Andrews-Nährlösung mit 100 mg/l  $\text{NaHCO}_3$  eine geeignete Nährlösung für eine insterile Vermehrung von *M. aquaticum* darstellt. Dies konnte auch in Untersuchungen mit anderen aquatischen Pflanzen, in denen  $\text{HCO}_3^-$  als C-Quelle angeboten wurde, bewiesen werden. So fanden Penuelas und

Menendez (1990) heraus, dass sich die Photosyntheserate von *Ruppia cirrhosa* mit erhöhten Gehalten an  $\text{HCO}_3^-$  bis zu  $3 \text{ mol m}^{-3}$  erhöht. Prins et al. (1982) erklärten diese Erhöhung mit einer Umwandlung von  $\text{HCO}_3^-$  zu  $\text{CO}_2$  zwischen den Zellwänden der Pflanzen mit Hilfe von lichtabhängigen Protonenpumpen. In Untersuchungen von Nelson und Fairchild (1994) wurde Hoagland-Nährlösung ohne Kohlenstoffquelle eingesetzt. Byl und Klaine (1991) setzten  $200 \text{ mg/l NaHCO}_3$  in einer gepufferten Nährlösung für die Kultivierung von *Hydrilla verticillata* ein. In Konzentrationen von 0 bis  $420 \text{ mg/l NaHCO}_3$  wurde das Wachstum eines Pflanzenstücks von *Elodea canadensis* in einer Flüssigkultur getestet. Für ein optimales Wachstum der Pflanzen waren demnach  $84 \text{ mg NaHCO}_3$  notwendig (Brown und Rattigan 1979). Einige Einflussfaktoren wie z.B. Temperatur und Licht können die Aufnahmekinetik von  $\text{CO}_2$  und  $\text{HCO}_3^-$  verändern (Allen und Spence 1981; Bowes 1985). Weiterhin beobachteten Godmaire und Nalewajko (1989), dass die Maximalrate der Aufnahme von Bikarbonat unter insterilen Bedingungen bei *M. spicatum* größer war als unter sterilen Bedingungen. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass sterile Pflanzen von *M. spicatum* Bikarbonate effizienter nutzen als nicht sterile Pflanzen.

### **6.3 Vergleich der Toxizität von Pflanzenschutzmitteln auf *M. aquaticum* mit anderen aquatischen Organismen**

#### **6.3.1 2,4-Dichlorophenoxyessigsäure, Dichlorprop-P, Dicamba, Propiquizafop**

Der Hauptangriffspunkt von Säureherbiziden im Stoffwechsel der Pflanzen ist der Wuchstoffs Haushalt, denn die Verbindungen zeigen ähnliche Effekte wie die natürlichen Wuchsstoffe. Sie verursachen ein abweichendes, verstärktes und undifferenziertes Wachstum der Pflanzen (Börner 1995). *M. aquaticum* reagierte sehr empfindlich auf eine Belastung von 2,4-D und Dichlorprop-P.

2,4-D hatte einen starken toxischen Einfluss auf *M. aquaticum*. Für die untersuchten Pigmente konnte nach einer Expositionszeit von 14 Tagen ein  $\text{EC}_{50}$  von  $0,02 \text{ mg/l}$  ermittelt werden. Sowohl die Wurzelzahl und die Wurzellänge als auch Anzahl der Seitentriebe sind Wirkungskriterien mit geringerer Empfindlichkeit. Die Pflanzen wiesen mit zunehmenden Konzentrationen eine Zunahme des Dickenwachstums auf, wobei das Frischgewicht der belasteten Pflanzen keine Veränderungen zeigte. Roshon und Stephenson (1995) fanden, dass die  $\text{EC}_{50}$ -Werte von 2,4-D bezogen auf Chlorophyll a, b und Carotinoide bei *M. sibiricum* bei  $0,24 \text{ mg/l}$ ,  $0,13 \text{ mg/l}$  und  $0,28 \text{ mg/l}$  lagen und damit 5-10 mal höher als die eigenen bei *M. aquaticum*. 2,4-D hemmte ab einer Konzentration von  $0,2 \text{ mg/l}$  signifikant die Knospenzahl bei *M. spicatum*, allerdings traten keine Effekte in Bezug auf morphologische Parameter wie

beispielsweise Wurzelzahl, Blätterzahl und Seitentriebe auf (Christopher und Bird 1992). Bei *M. aquaticum* allerdings waren bereits Wirkungen ab Konzentrationen von 0,006 mg/l zu beobachten. Bei *Lemna minor* wurde eine verminderte Aufnahme der markierten Substanz bei einer Konzentration von 2,9 mg/l 2,4-D gemessen (Peterson et al. 1994). Feiler und Krebs (1999) berechneten bei *L. minor* einen EC<sub>50</sub> von 5 mg/l bezogen auf Chlorophyll a und 4 mg/l bezogen auf das Wachstum. Forsyth et al. (1997) stellten in Übereinstimmung mit den eigenen Untersuchungen fest, dass niedrige Konzentrationen von 2,4-D zu einer Förderung der Pflanzenentwicklung führen kann, da diese Konzentrationen wie Wuchsstoffe wirken. Aber im Gegensatz zu *M. aquaticum* wurde bei *Lemna minor* eine schwache Hemmung der Chlorophyllsynthese beobachtet. Der EC<sub>50</sub> bezogen auf die Frondzahl lag bei *L. minor* nach einer Exposition von sieben Tagen bei 16 mg/l. Dagegen reagiert die Alge *Selenastrum capricornatum* nur wenig auf eine Belastung mit 2,4-D, so dass nach einer Exposition von 96 Stunden der EC<sub>50</sub> bei 41,772 µg/l lag (Fairchild et al. 1997).

Dichlorprop-P wirkt weniger toxisch auf *M. aquaticum* als 2,4-D. Der Wirkstoff wird meistens langsam im Wasser abgebaut (Hertl 1995). Cavalier et al. (1991) fanden Halbwertszeiten zwischen 200 und 1200 Tagen im Grundwasser. Dichlorprop-P ist ebenso ein Wuchsstoff-Herbizid und wirkt auf die Bildung des Phytohormons Abscisinsäure (Tomlin 1994). Dadurch werden bei einer Belastung mit Dichlorprop-P Pflanzen mit erhöhtem Dickenwachstum gebildet, so dass eine Berechnung des EC<sub>50</sub>-Wertes bezogen auf das Frischgewicht prinzipiell nicht möglich ist. Mit zunehmenden Konzentrationen wurde eine Steigerung des Pflanzenwachstums beobachtet, jedoch führten die höchsten Konzentrationen wieder zu einem starken Rückgang der Pflanzenentwicklung. Dichlorprop-P wirkt weniger toxisch auf die Wurzellänge und die Wurzelzahl als 2,4-D. Das ist insofern interessant, da Neary et al. (1988) nach 12 Monaten noch etwa 5 % der eingesetzten Menge im Boden nachweisen konnten. Nach Smith (1978) lag die Halbwertszeit von Dichlorprop-P in feuchten Böden bei 10 Tagen. In luftgetrockneten Böden fand dagegen fast kein Abbau statt. Die Mineralisierungsgeschwindigkeit von Dichlorprop-P stieg mit dem organischen C-Gehalt des Bodens (Nowak und Jorzig 1989) und war abhängig von der mikrobiellen Aktivität (Stenström 1992). Als Verwerter wurden vor allem gramnegative Bakterien identifiziert (Kilpi 1980). Der Abbaupfad ist bisher noch nicht bekannt. Untersuchungen von Pfarl et al. (1990) ergaben einen mikrobiellen Abbau in belüfteten Tanks innerhalb von drei Tagen. Hertl (1995) fand, dass Dichlorprop-P über ein Jahr in den Kompartimenten Wasser, Sediment und Makrophyten unter Freilandbedingungen beständig war.

Die selektive Wirkung von Dicamba beruht auf Unterschieden in der Adsorption und Translokation des Herbizids in die Pflanze. Die genannten Faktoren beeinflussen die Konzentration des Pflanzenschutzmittels am Wirkort in der Pflanze und somit die an den Pflanzen auftretenden Schäden (Tomlin 1994). Dies führt bei gleicher Applikationsmenge zu

höheren Konzentrationen in der Pflanze und somit zur Ausbildung stärkerer Schädwirkungen. Dies zeigt sich auch in der empfindlicheren Reaktion von *M. aquaticum* auf Dicamba verglichen mit der Wirksamkeit von 2,4 D und Dichlorprop-P. Die errechneten  $EC_{50}$ -Werte bezogen auf die Pigmentgehalte liegen bei 0,01 mg/l. Dicamba wird sowohl von Wurzeln als auch über die Blätter aufgenommen. Für *M. aquaticum* ist ein typischer Optimumsverlauf der Wirkung bezüglich des Längenwachstum zu beobachten. Zieht man umweltanalytische Daten heran, so ist Dicamba im Boden sehr mobil und kontaminiert Flüsse, Teiche und Grundwasser (Cox 1994). Mayer und Elkins (1990) haben Dicamba in Konzentrationen zwischen 5,8-17,8 µg/g im Sediment nachgewiesen. Für Crustaceen kann Dicamba in Konzentrationen zwischen 4 und 11 µg/g tödlich sein (Cox 1994). Fletscher (1990) hat mehrere Pflanzenschutzmittel verschiedener Stoff- und Wirkungsgruppen untersucht und festgestellt, dass Dicamba stärker toxisch auf dikotyle als auf monocotyle Pflanzenarten und Algen wirkt. Fairchild et al. (1997) ermittelten einen  $EC_{50}$  für *Selenastrum capricornutum* zwischen 31 und 41 µg/l und für *L. minor* größer als 100 µg/l. In diesem Fall reagiert *Selenastrum capricornutum* unempfindlicher als *M. aquaticum*. Einschränkend muss jedoch gesagt werden, dass die unterschiedliche Expositionsdauer dieser beiden Biotests einen Vergleich erschwert. Es ist wichtig, dass man unterschiedliche Pflanzen untersucht, um sichergehen zu können, wie toxisch eine Substanz ist und dass mit Vorsicht Ergebnisse von Algen auf Makrophyten und umgekehrt übertragen werden.

Propiquizafox ist weniger toxisch als die oben beschriebenen Substanzen. Propiquizafox gelangt über die Blätter in die Pflanzen (Börner 1995). Die Blattabsorption ist allgemein gut, der Weitertransport der aufgenommenen Wirkstoffe jedoch gering. In den Blättern selbst erfolgt eine akropetale Wanderung (Börner 1995). Die empfindlichsten Wirkungskriterien sind Wurzellänge und Chlorophyll a. Die Wirkungsweise des Wirkstoffs kommt durch eine Beeinflussung des Lipidstoffwechsels zustande (Börner 1995). In empfindlichen Pflanzen werden die Esterverbindungen zu den jeweiligen Säuren hydrolysiert, die im Gegensatz zu den angewendeten lipophilen Herbiziden sowohl im Phloem als auch im Xylem transportiert und vor allem in meristematischen Gewebe angereichert werden (Börner 1995; Hock et al. 1995). Bei Propiquizafox war keine Optimumskurve der Wirkung auf *M. aquaticum* nachweisbar. Bei den niedrigeren Konzentrationen waren im Vergleich zur unbelasteten Kontrolle kaum eine Veränderung an den Pflanzen zu beobachten.

### **6.3.2 Triflursulfuron-methyl, Thifensulfuron-methyl, Metsulfuron-methyl, Amidosulfuron, Rimsulfuron**

Die Sulfonylharnstoffherbizide wirken primär auf die Hemmung der Acetolactat-Synthase. Damit wird ein Schlüsselenzym zur Biosynthese der Aminosäuren Valin, Leucin, und

Isoleucin angegriffen (Börner 1995). Von den getesteten Wirkstoffen erwies sich Metsulfuron-methyl am meisten toxisch.

Triflursulfuron-methyl wirkt sehr toxisch auf *M. aquaticum*. Die Substanz hat einen starken Effekt auf den Längenzuwachs der Pflanzen, wobei der  $EC_{50}$  bei 0,018 mg/l liegt. Ein Grund dafür ist, dass Triflursulfuron-methyl vorwiegend auf das Längenwachstum und das Wurzelwachstum von Pflanzen wirkt (Hock et al. 1995), obwohl die Wurzelzahl ( $EC_{50}$ : 0,11 mg/l) und die Wurzellänge ( $EC_{50}$ : 0,065 mg/l) bei *M. aquaticum* normalerweise nicht als sehr empfindlich einzustufen sind. Die übrigen Wirkungskriterien wie Chlorophyll a, b und die Fläche unter der Kurve sowie das Frischgewicht liegen im gleichen Toxizitätsbereich mit einem  $EC_{50}$ -Wert von ungefähr 0,03 mg/l, wobei die Carotinoide einen  $EC_{50}$  von 0,045 mg/l aufwiesen. Hier ergibt die Wirkungsweise der Substanz auf *M. aquaticum* visuelle Symptome wie sie terrestrische Pflanzen ab 4 Tagen zeigen. Deutliche Symptome sind ein Absterben der Vegetationskegel und eine Verfärbung durch Anthocyane. Triflursulfuron-methyl wurde bislang eher als nicht toxisch auf Wasserorganismen eingestuft. Bei Fischen wurde ein  $EC_{50}$  von 730 mg/l binnen 96 Stunden, bei Daphnien ein  $EC_{50}$  von >960 mg/l innerhalb von 48 Stunden bestimmt (Tomlin 1994).

Thifensulfuron-methyl ist ein systemisches Herbizid, das über die Wurzeln und Blätter adsorbiert und sowohl akropetal als auch basipetal in der Pflanze transportiert wird (Perkow und Ploss 1999). Im Allgemeinen reagiert *M. aquaticum* relativ empfindlich auf den Wirkstoff, insbesondere auf das Frischgewicht und die Fläche unter der Kurve. Für die Seitentriebzahl und die Seitentrieglänge konnten aufgrund fehlender Seitentriebe keine  $EC_{50}$  berechnet werden. Bei *M. aquaticum* sterben bereits nach 4 Tagen die Trieb- und Wurzelspitzen ab (Perkow und Ploss 1999). Dadurch wiesen die Wurzellänge sowie die Pigmentgehalte einen ähnlichen  $EC_{50}$  um 0,01 mg/l auf. Peterson et al. (1994) beschreiben, dass die Konzentration von 0,02 mg/l Chlorsulfuron etwa 86% der Aufnahme verhindern. Die Toxizität für die Regenbogenforelle und den Blauen Sonnenbarsch wurde mit einem  $EC_{50}$  größer als 100 mg/l ermittelt, bei *Daphnia magna* wurde ein  $EC_{50}$  von 1000 mg/l gemessen. Damit reagiert *M. aquaticum* viel empfindlicher auf Thifensulfuron-methyl als die in bisherigen Biotests eingesetzten Organismen.

*M. aquaticum* reagierte sehr empfindlich auf Metsulfuron-methyl. Es ist ein sehr toxischer Wirkstoff innerhalb der getesteten Substanzen. Insbesondere Chlorophyll a, b und die Carotinoide sind ein sehr empfindliches Wirkungskriterium. Eine sehr schnelle Absorption der Substanz durch die Wurzeln und Blätter und die Hemmung des Zellwachstums, verbunden mit einer Störung der Aminosäuresynthese von Valin und Isoleucin, könnten die starke toxische Wirkung auf *M. aquaticum* erklären (Tomlin 1994; Roberts 1998). Die übrigen

Wirkungskriterien nehmen in der Reihenfolge Fläche unter der Kurve, Wurzelzahl, Wurzellänge und Längenzuwachs an Empfindlichkeit ab und sind deutlich unempfindlicher als der Pigmentgehalt. Roshon et al. (1999) berechneten für *M. sibiricum* einen  $EC_{50}$ -Wert von 0,00029 mg/l bezogen auf die Wurzelzahl und 0,00022 mg/l bezogen auf das Trockengewicht. Die Werte liegen damit im selben Bereich wie die von *M. aquaticum*. Fairchild et al. (1997) ermittelten einen  $EC_{50}$ -Wert von Metsulfuron-methyl für Algen zwischen 0,137-0,243 mg/l und bei *L. minor* zwischen 0,0003 und 0,0005 mg/l. Ma et al. (2001) dagegen errechneten einen deutlich höheren  $EC_{50}$  für die Grünalge *Chlorella pyrenoidosa* mit ca. 14 mg/l. *L. minor* zeigte bei einer Konzentration von 0,003 mg/l eine 63 %-ige Verringerung der Aufnahme von  $^{14}C$ -Metsulfuron-methyl, wogegen die Alge *Selenastrum capricornutum* eine 27 %-ige, *Cyclotella meneghiana* eine 16 %-ige, *Nitzschia* sp. eine 9 %-ige und *Scenedesmus quadricauda* eine 6 %-ige Verringerung der Aufnahme zeigten (Peterson et al. 1994).

Amidosulfuron ist im Vergleich zu den getesteten Sulfonylharnstoffherbiziden die unwirksamste Substanz. *M. aquaticum* reagierte empfindlich im Pigmentstoffwechsel. Der Grund könnte möglicherweise darin liegen, dass Amidosulfuron wie andere Sulfonylharnstoffe von Wurzeln und Blättern aufgenommen wird und die Acetolactatsynthese hemmt. Im Wurzelwachstum ist mit steigenden Konzentrationen keine einheitliche Reaktionen zu beobachten. Es ist bekannt, dass der Wirkstoff relativ schnell im Boden unter anaeroben Bedingungen abgebaut wird (Roberts 1998), was durchaus auch für Wasser zutreffen kann.

Rimsulfuron ist toxischer als Amidosulfuron aber untoxischer als alle anderen getesteten Sulfonylharnstoffe. *M. aquaticum* reagierte sehr empfindlich beim Wirkungskriterium Fläche unter der Kurve ( $EC_{50}$  : 0,054 mg/l). Der Wirkstoff wird schnell von Blättern und Wurzeln absorbiert und im meristematischen Gewebe rasch transportiert. Es wird ebenfalls die Acetolactatsynthese gehemmt und damit die Synthese der Aminosäuren blockiert, was zur Inhibierung der Zellteilung und zum Wachstumsstillstand führt (Perkow und Ploss 1999). Rimsulfuron wird in aquatischen Systemen schnell abgebaut. Die Halbwertszeit beträgt 0,4 Tage bei einem pH von 5,7 und bei 25 °C (Schneiders et al. 1993). Unter simulierten Lichtbedingungen im Wasser variiert die Halbwertszeit für die Photolyse zwischen 1 und 9 Tagen bei einem pH-Wert von 5 bis 9 (Scrano et al. 1999). In sterilen Böden liegt die Halbwertszeit bei 15 Tagen (Dinelli et al. 1998). Die Wurzeln zeigten keine einheitliche Reaktion auf eine Belastung. Auch die Seitentriebbildung verlief unterschiedlich; so bildeten sich bis 0,05 mg/l keine Seitentriebe.

### 6.3.3 Trifluralin, Pendimethalin, Glyphosat, Pyridat, Terbutryn

Das Dinitroanilinherbizid Trifluralin wird vor allem von den Wurzeln aufgenommen. Es zeigt im Vergleich zu den getesteten PSM eine mittlere Toxizität auf *M. aquaticum*. Die phytotoxische Wirkung wird im Allgemeinen durch eine Hemmung der Zellteilung in den Wurzeln und Keimlingen hervorgerufen. Es kommt zu einer Beeinträchtigung der Mitose. Eine Beeinflussung der Photosynthese und der Atmung konnte ebenfalls nachgewiesen werden (Börner 1995; Tomlin 1994). Fletscher (1990) betont, dass Algen, monocotyledone und dikotyledone Pflanzen als unempfindlich auf Trifluralin eingestuft werden können. Die Wirkungskriterien Fläche unter der Kurve und Frischgewicht sind die empfindlichsten Wirkungskriterien. Die Wurzellänge erwies sich als unempfindlichstes Wirkungskriterium mit einem  $EC_{50}$ -Wert von 0,418 mg/l. Nach Huckins et al. (1986) reichert sich Trifluralin in einem aquatischen Mikrokosmos im Sediment stark an. Im Wasser kam es zu einer schnellen Konzentrationsabnahme. Nach sieben Wochen wurden noch 25 % des eingesetzten Trifluralins im Wasser und 44 % im Sediment nachgewiesen. *M. aquaticum* konnte ab einer Konzentration von 0,5 mg/l keine Wurzeln mehr ausbilden. Hiermit kann die Aussage von Tomlin (1994) bestätigt werden, dass Trifluralin sehr stark das Wurzelwachstum hemmt. Fairchild et al. (1997) berechneten bei *Selenastrum capricornutum* ein  $EC_{50}$ -Wert zwischen 594-751  $\mu$ g/l. *M. aquaticum* reagierte empfindlicher als *Selenastrum capricornutum* und zeigt toxische Wirkungen im gleichen Bereich wie *L. minor*, bei der ein  $EC_{50}$ -Wert zwischen 10-330  $\mu$ g/l berechnet wurde (Fairchild et al. 1997). Der photochemische Abbau von Trifluralin ist relativ hoch, die Halbwertszeit beträgt durch Licht und Verflüchtigung etwa 2 Tage auf der Bodenoberfläche (Roberts 1998). Trifluralin wird im Boden insbesondere an organische Bestandteile adsorbiert (Tomlin 1994). Dadurch ist die Mobilität von Trifluralin eingeschränkt und dessen Persistenz hoch. Fox et al. (1991) fanden, dass Trifluralin nur eine geringe Verweildauer im Sediment hat. Unter anaeroben Bedingungen war nach acht Tagen nur noch 1 % der eingesetzten Substanz nachweisbar. Gaynor (1985) gibt Halbwertszeiten von 63 bis 116 Tagen in sandiger Erde an. Grover et al. (1988) fanden nach 160 Tagen noch 26 % des eingesetzten Trifluralins im Boden, wobei innerhalb der ersten Tage ein hoher Verlust der Substanz zu verzeichnen war. In der Umwelt konnte Trifluralin in Konzentrationen zwischen 0,1-1,3  $\mu$ g/l im Gewässer nachgewiesen werden (Spalding und Snow 1989; Senseman et al. 1997). Es ist bekannt, dass Trifluralin sehr toxisch auf Fische wirkt. Der 96 stündige  $EC_{50}$  liegt zwischen 0,02-0,07 mg/l und für *Daphnia* bei 0,5-0,6 mg/l (Johnson und Finley 1980).

Pendimethalin gehört wie Trifluralin zu der Gruppe der Dinitroaniline. Im Allgemeinen beruht die Wirkungsweise auf einer Schädigung der Pflanzen durch Hemmung der Zellteilung und Zellvermehrung. Pendimethalin ist bei allen getesteten Wirkungskriterien von *M. aquaticum*

unwirksamer als Trifluralin. Die typischen Symptome sind ein stagnierendes Wurzel- und Sprosswachstum (Börner 1995; Tomlin 1994). Obwohl Pendimethalin auf das Wurzelwachstum stark wirkt, ist in dieser Arbeit das Wirkungskriterium der Wurzelzahl als das Unempfindlichste ( $EC_{50}$  Wert: 24,13 mg/l) eingestuft. Es könnte daran liegen, dass Pendimethalin in aquatischen Systemen sehr schnell abgebaut wird (Ahrens 1994). *M. aquaticum* reagierte auf Pendimethalin anhand der Wurzelzahl unempfindlicher anhand des Pigmentgehaltes. Auch eine Beeinflussung der Photosynthese und der Atmung wurde nachgewiesen (Börner 1995).

Glyphosat weist bei *M. aquaticum* eine mittlere Toxizität auf. Die empfindlichsten Wirkungskriterien sind die Pigmentgehalte mit einem  $EC_{50}$  von 0,222 mg/l und die Fläche unter der Kurve mit 0,221 mg/l. Christopher und Bird (1992) stellten fest, dass erst Konzentrationen von 10 mg/l bei *M. spicatum* chlorotische Blätter verursachen und ab 2,5 mg/l abnormale neue Blätter und Sprosssteile gebildet werden. Feiler und Krebs (1999) stellten fest, dass der  $EC_{50}$  von Glyphosat bezogen auf die Frondzahl bei *L. minor* 30 mg/l beträgt. Die anderen Wirkungskriterien wie Frischgewicht, Längenzuwachs und Wurzellänge sind etwa 10-mal unempfindlicher. Christopher und Bird (1992) haben bei *M. spicatum* keinen signifikanten Unterschied auf die Wurzelbildung mit erhöhten Konzentrationen festgestellt. Glyphosat-Konzentrationen bis 1 mg/l induzierten das Gewicht von *Potamogeton pectinatus*, wogegen die Konzentration von 10 mg/l das Gewicht um 55% im Vergleich zur Kontrolle reduzierte (Fleming et al. 1991). Die Hemmung der Aufnahme von  $^{14}C$ -Glyphosat war bei verschiedenen Algenarten und *Lemna* unterschiedlich (Peterson et al. 1994). Die Algen *Cyclotella meneghiana*, *Nitzschia* sp., *Scenedesmus quadricauda* und *Selenastrum capricornutum* zeigten eine 13 %-ige, 39 %-ige, 8 %-ige und 3 %-ige Abnahme der Aufnahme von Glyphosat, wogegen *L. minor* sogar eine Hemmung von 91 % aufwies. Grossmann et al. (1992) ermittelten  $EC_{50}$ -Werte für Algen von  $6,2 \times 10^{-5}$  M und für *Lemna* von  $2,3 \times 10^{-5}$  M. Roshon und Stephenson (1995) beschrieben, dass für den Längenzuwachs, für das Frischgewicht sowie für die Pigmentgehalte keine  $EC_{50}$ -Werte bei *M. sibiricum* errechnet werden können. Hartman und Martin (1985) stellten fest, dass Glyphosat keine hemmenden Effekte auf *Potamogeton pectinatus* bis 10 mg/l verursachten, jedoch der Wirkstoff das Wachstum bei 1 mg/l stimulierte. Hartman und Martin (1984) stellten fest, dass Glyphosat im suspendierten Sediment weniger toxisch auf *L. minor* wirkt als Glyphosat in der Nährlösung. Der  $EC_{50}$  von Glyphosat wurde für *L. minor* mit 2 mg/l berechnet. Lockhart et al. (1989) beobachteten, dass Glyphosat auf die Pflanzen keinen signifikanten Effekt bis zu einer  $10^{-4}$  molaren Belastung zeigte. Unter Einfluss von Glyphosat wurden keine Seitentriebe gebildet.

Pyridat ist ein Kontaktherbizid und gehört zur Gruppe der 1,2 Diazine. Die Wirkungsweise beruht im Allgemeinen auf einer Hemmung der Photosynthese. Dementsprechend reagierte

*M. aquaticum* auf eine Pyridatbelastung mit der Abnahme des Pigmentgehalts, allerdings erst bei relativ hohen Konzentrationen. Die Ursache könnte darin liegen, dass Pyridat vom Substrat adsorbiert und somit vermutlich auch in synthetischem Sediment schnell metabolisiert wird. Es werden Halbwertszeiten zwischen 8-20 Tage angegeben (Tomlin 1994; Börner 1995). Das empfindlichste Wirkungskriterium ist die Wurzellänge. Hierin liegen in der Literatur keine vergleichbaren Daten von anderen aquatischen Organismen vor.

Terbutryn gehört zur Gruppe der s-Triazine. Terbutryn wird sowohl durch die Wurzeln als auch durch die Blätter aufgenommen (Tomlin 1994). Der Transport erfolgt über das Xylem in alle oberirdischen Organe (Börner 1995). Terbutryn hemmt wie die substituierten Harnstoffe die Photosynthese durch Beeinflussung des Elektronentransports im Photosystem II. Der Längenzuwachs von *M. aquaticum* reagierte schwach auf Terbutryn. Börner (1995) und Anonym (1988) stellen fest, dass bei unempfindlichen Pflanzen die Hauptmenge des Wirkstoffs in den Wurzeln und Stängeln verbleibt, so dass der Wirkstoff nicht in ausreichender Konzentration an ihren Wirkungsort, die Chloroplasten, gelangen kann. Fletscher (1990) hat dikotyle Arten als empfindlicher eingestuft als monocotyle Arten und Algen. Terbutryn ist weniger persistent im Boden und im Wasser als sein Abbauprodukt Hydroxy-Terbutryn. Terbutryn wird als relativ toxisch für andere Wasserorganismen wie z. B. Fische und Daphnien befunden. Der EC<sub>50</sub>-Wert beispielsweise für *Daphnia magna* wurde mit 2,66 mg/l berechnet (Anonym 1988).

#### 6.3.4 Chlorothalonil, Propiconazol, Parathion

Chlorothalonil gehört zur Gruppe der Tetrachlorisophthalonitrile. Der Wirkstoff wirkt hauptsächlich auf Pilze und wird in verschiedenen Kulturen verwendet. *M. aquaticum* reagierte sehr stark auf Chlorothalonil mit einer Abnahme der Wurzellänge. Die auch im Vergleich mit anderen Herbiziden relativ hohe Toxizität des Wirkstoffs bei *M. aquaticum* war nicht zu erwarten. Die Halbwertszeit von Chlorothalonil variiert zwischen 5 und 36 Tage in aeroben und anaeroben Bedingungen und von ein paar Stunden bis zu einigen Tagen unter aquatischen Bedingungen (Roberts 1998). Bei niedrigen Konzentrationen konnte eine Förderung des Pigmentgehalts festgestellt werden, wogegen die höchste Konzentration zum Absterben der Pflanzen führte.

Propiconazol ist ein systemisches Fungizid, das akropetal im Xylem translokiert wird. Die Fläche unter der Kurve ist das empfindlichste Wirkungskriterium bei *M. aquaticum* mit einem EC<sub>50</sub> von 0,218 mg/l. Die Pigmentbiosynthese reagierte bei den Pflanzen unempfindlich auf eine Propiconazol-Belastung. Peterson et al. (1994) beobachteten, dass die Aufnahme von <sup>14</sup>C-Propiconazol als Präparat in der Konzentration von 0,083 mg/l in Abhängigkeit von der

Pflanzenart sehr unterschiedlich ist. Diese Konzentration zeigte eine Abnahme der Aufnahme des Wirkstoffs in Algen in folgender Höhe: *Cyclotella meneghiana* –28 %, *Nitzschia* sp. –36 %, *Scenedesmus quadricauda* –13 %, *Selenastrum capricornutum* –10 % und *L. minor* –10 %. Die Halbwertszeit beträgt 25-85 Tage bei 25 °C in aquatischen Systemen (Tomlin 1994). Bei *Daphnia magna* beträgt der EC<sub>50</sub> 4,8-11,5 mg/l.

Parathion ist ein Insektizid und gehört zur Gruppe organischer Phosphorsäureester. Parathion wirkt leicht toxisch auf *M. aquaticum*. Die Pflanzen reagierten sehr empfindlich auf die Fläche unter der Kurve und den Längenzuwachs. Die berechneten EC<sub>50</sub>-Werte liegen bei 6,710 mg/l bzw. 6,93 mg/l. Eine besonders starke Wirkung von Parathion war ab 10 mg/l zu sehen. Alle anderen Wirkungskriterien sind relativ unempfindlich. Andere organische Phosphorsäureester, wie Carbaryl und Carbofuran, beeinflussten die Aufnahme von <sup>14</sup>C markierten Substanzen in Algen und *Lemna*. Eine Carbaryl-Konzentration von 3,667 mg/l hemmte die Aufnahme bei *Cyclotella meneghiana* um 35 %, bei *Nitzschia* sp. um 58 %, bei *Scenedesmus quadricauda* um 67 %, bei *Selenastrum capricornutum* um 60 % und bei *L. minor* um 33 %. Carbofuran verursachte eine Hemmung von 4 % bei *Cyclotella meneghiana*, von 6 % bei *Nitzschia* sp., von 31 % bei *Scenedesmus quadricauda* von 1 % bei *Selenastrum capricornutum* und von 21 % bei *L. minor* (Peterson et al. 1994). Die Toxizität von Parathion wurde für aquatische Organismen in einem Bereich zwischen 0,04 und 17,8 ppb eingestuft (Anonym 1988).

#### **6.4 Vergleich der Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln bei *M. aquaticum* mit anderen Pflanzen**

Die Substanzmenge, die bei terrestrischen Pflanzen in den Spross transportiert wird, hängt vom Stoff selbst, der spezifischen Pflanzenart sowie von der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit und Stärke der Transpiration ab. Die Translokationsgeschwindigkeiten sind daher sehr unterschiedlich. Sie reichen bei den Pflanzen von wenigen Zentimetern bis zu einigen Metern pro Stunde. Die einzelnen Wirkstoffe können unterschiedlich schnell gut ins Xylem gelangen. Die Geschwindigkeit des Xylemtransports hängt von der Intensität des Transpirationsstroms ab, der durch den Wasser- oder Nährstoffbedarf im Spross und vom Wasserangebot in den Wurzeln geregelt wird.

Die Aufnahme der Wirkstoffe durch die Blätter und die oberirdischen Organe ist je nach Substanz unterschiedlich (Müller 1986).

Die Ergebnisse mit *M. aquaticum* zeigten, dass das Dinitroanilinherbizid Trifluralin im Vergleich zu den anderen untersuchten Substanzen in deutlich höheren Mengen von den

oberen Pflanzenteilen aufgenommen wird. Bei den Nitrilherbiziden ist ein gemischter symplasmatisch-apoplasmatischer Transport möglich (Müller 1986; Tomlin 1994). Damit sind die Pflanzen in der Lage, mehr von dieser Substanz aufzunehmen. Innerhalb von 72 Stunden wurde Trifluralin gleichmäßig in die Pflanze aufgenommen. Ab dieser Zeit bis zum Ende des Versuchs war eine leichte Abnahme der Konzentration zu beobachten. Denkbar ist, dass die Substanz nach 72 Stunden durch Abbauprozesse in einer niedrigeren Konzentration vorliegt (Tomlin 1994) oder wie Müller (1986) und Dogan (1999) berichten, dass die älteren Pflanzen weniger aufzunehmen in der Lage sind als jüngere Pflanzen. Hertl (1995) stellte einen ähnlichen Verlauf von unmarkiertem Trifluralin bei *M. spicatum* und *Chara intermedia* in Freilandmikrokosmen über einen Zeitraum von 27 Tagen fest. In ähnlichen Versuchen mit markiertem Trifluralin und *M. spicatum* in Aquarien zeigte sich, dass im Gegensatz zu den eigenen Untersuchungen mit *M. aquaticum* *M. spicatum* die ersten Tage viel Wirkstoff aufnimmt und die Aufnahme ab dem 7. Tag zurück geht. Ab dem 21. Tag wurde ein Gleichgewicht erreicht (Hertl 1995). Die Aufnahme von Trifluralin über die Wurzeln ist bei *M. aquaticum* überraschenderweise geringer und wie bei der Aufnahme durch die oberen Teile am Anfang gering.

Wird Trifluralin direkt in den Wurzelbereich appliziert, wird der Wirkstoff zwar von den Wurzeln aufgenommen, aber nur in geringen Teilen in die oberen Teile translokiert. Eine ähnliche Tendenz der Aufnahme haben Camper et al. (1989) bei einer Kalluszellenkultur von Karotten festgestellt. Trifluralin ist eigentlich gemischt symplasmatisch-apoplasmatisch verteilbar in Pflanzen (Müller 1986; Tomlin, 1994). Mit einer höheren Aufnahme durch die Wurzeln und einer geringeren Translokation zu Beginn der Exposition kann ein Wirkstoffstress verursacht werden, da der Bedarf der Nährstoffe bei den oberen Teilen verringert wird. Die rückläufige Translokation in den Spross am Ende des Versuchs könnte auf die Zunahme des Gewichts der Pflanzen und damit auf einen Verdünnungseffekt zurückzuführen sein (Dogan 1999).

Die Sulfonylharnstoffherbizide sind im Allgemeinen im Xylem mobil, d. h. die Aufnahme über die Wurzeln ist vorherrschend (Müller 1986; Tomlin 1994). Diese vorliegenden Ergebnisse bestätigen, dass die Wurzeln der Pflanzen während des Versuchs mehr aufnehmen, wobei am Anfang die höchste Aufnahme und bis zur 72. Stunde eine Abnahme der Aufnahme stattfand. Bis zum Ende des Versuchs blieb die Aufnahme fast unverändert. Von 2,4-D ist bekannt, dass sich in *Potamogeton corneus* bereits nach 10 Stunden während einer Gesamtdauer von 120 Stunden im Labormikrokosmos ein Gleichgewicht der Aufnahme einstellte. Im Gegensatz dazu wurde bei *Elodea canadensis* erst am Ende des Versuchs nach 288 Stunden ein Gleichgewicht erreicht (Beckhausen 1997), was in guter Übereinstimmung mit den eigenen Experimenten steht. Marquis et al. (1981) haben auch bei

<sup>14</sup>C-markiertem Fluridon in *Potamogeton richardsonii* festgestellt, dass die Aufnahme am 2. Tag hoch war und am 7. Tag um fast die Hälfte zurückging und sich danach wieder erhöhte. Die Aufnahme von Cruformate in *M. aquaticum* zeigte auch einen ähnlichen Verlauf (Gao et al. 2000). Die Aufnahme der oberen Pflanzenteile erreichte innerhalb von 24 Stunden ein Gleichgewicht und bis zum Ende des Versuchs keine weitere Veränderung. Terrestrische Pflanzen (*Triticum aestivum*, *Veronica persica*, *Viola arvensis*, *Lolium perenne*) zeigten innerhalb der ersten 72 Stunden eine geringe bis zum Ende des Versuchs am Tag 12 eine leichte Zunahme der Aufnahme (Meyer 1991).

Die Aufnahme von <sup>14</sup>C-markierten Dichlobenil über die Wurzeln zeigte bei *Alternanthera philoxeroides* von der 24. bis zur 72. Stunde eine leicht rückläufige Tendenz (Sikka et al. 1974). Beckhausen (1997) betont, dass die Octanoatform von Bromoxynil 8 Stunden nach Versuchsbeginn in einem 48-stündigen Versuch ein Gleichgewicht bei *Potamogeton corneus* erreichte. Das Gleichgewicht wurde in *Ceratophyllum demersum* und *Elodea canadensis* erst 72 Stunden nach Versuchsbeginn erreicht (Beckhausen 1997), was mit *M. aquaticum* vergleichbar ist.

Triasulfuron ist ein Sulfonylharnstoffherbizid. Der Transport kann zumeist über das Xylem erfolgen. Die Aufnahme bei *M. aquaticum* über die Wurzel ist bis zur 120. Stunde leicht erhöht. Meyer (1991) stellte fest, dass auch eine steigende Aufnahme von Triasulfuron über die Wurzeln bei terrestrischen Pflanzen wie *Veronica persica*, *Chenopodium album* und *Viola arvensis* mit jeder Probenahme am 1, 3, 6, 12. Tag stattfindet.

*Hydrilla verticillata* zeigte eine ähnliche Tendenz bei der Aufnahme von markiertem Chlordan bei submerser Kultivierung der Pflanzen mit einer Trennschicht zwischen Wurzel und den oberen Pflanzenorganen (Hinman und Klaine 1992). Die Translokation verlief in ähnlicher Weise wie bei den eigenen Untersuchungen mit *M. aquaticum*, die binnen 24 Stunden eine höhere Translokationsrate aufwies. Die Translokation war auch in *Triticum aestivum* und *Chenopodium album* von ähnlicher Tendenz, obwohl *Veronica persica* und *Viola arvensis* von Anfang bis Ende des Versuchs unverändert translokieren konnten (Meyer 1991). Im Gegensatz dazu stieg die Translokation von *Lolium perenna* beständig während des Versuchs an.

Das Triazinherbizid Terbutryn kann sowohl im Xylem als auch im Phloem transportiert werden. *M. aquaticum* nahm bei einer Belastung sowohl über die Wurzeln als auch über den Spross über die gesamte Expositionszeit hinweg den Wirkstoff beständig auf. Auch die Alge *Scenedesmus sp.* war in der Lage, Terbutryn in erhöhten Mengen aufzunehmen (El-Bid et al. 1989). Ein ähnlicher Verlauf wurde auch für Dichlorprop-P in *M. spicatum* von Hertl (1995) festgestellt. *Typha latifolia* konnte Simazin über die Blätter bis zum 7. Tag kontinuierlich

aufnehmen (Wilson et al. 2000). Auch die Aufnahme über die Wurzeln konnte nachgewiesen werden, wobei am Ende des Versuchs ein leichter Rückgang zu verzeichnen war. Wilson et al. (2000) stellten zudem fest, dass *Typha latifolia* durch die Wurzeln immer mehr aufnahm.

Die eigenen Ergebnisse zeigen, dass  $^{14}\text{C}$ -Atrazin innerhalb von 120 Stunden eine leichte Erhöhung der Aufnahme sowohl durch Wurzeln als auch durch die oberen Pflanzenteile von *M. aquaticum* hervorriefen. Atrazin ist sowohl im Xylem als auch im Phloem mobil. Im Gegenteil dazu beobachteten Hinman und Klaine (1992), dass die Aufnahme durch die Wurzeln in *H. verticillata* erst binnen 48 Stunden zurückging und sich bis zur 72. Stunde erhöhte. *Ceratophyllum demersum* erreichte wie auch *M. aquaticum* kein Gleichgewicht in der Aufnahme von 2,4-D innerhalb von 192 Stunden (Hertl 1995).

Atrazin ist ein s-Triazin und wird im Xylem transportiert. Der Wirkstoff zeigte eine gänzlich unterschiedliche Aufnahme und einen Translokationsverlauf im Vergleich zu den anderen getesteten Substanzen. Die Aufnahme und die Translokation waren ziemlich gering. Es konnten keine großen Unterschiede zwischen Aufnahme und Translokation nachgewiesen werden. Die geringere Aufnahme- und Translokations-Rate der Substanz könnte auch in einer höheren radioaktiven Aktivität der Substanz pro mg begründet sein. Die Aufnahme der Wurzel war zwischen verschiedenen Probennahmen nicht sehr groß. Die Translokation wurde in einem Verhältnis von 1:1 mit der Aufnahme beobachtet. Neumann et al. (1985) berichteten, dass die Substanzen einen pKa (negativer dekadischer Logarithmus der Säuredissoziationskonstante Ka) niedriger als 7 haben und die Tendenz zeigt sich, in den oberen Teilen der Pflanzen zu akkumulieren. Atrazin hat einen sehr niedrigen pKa von 1,7. Hinman and Klaine (1992) demonstrierten, dass die Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -Atrazin bei *Hydrilla verticillata*, die mit einer Trennschicht zwischen Wurzeln und Spross kultiviert wurde, bereits nach einer Stunde ein Gleichgewicht in der Aufnahme über die Wurzeln erreichten, wogegen ein Gleichgewicht der Translokation über den Spross nach 6 Stunden erreicht wurde .

Cycloxydim kann sowohl im Xylem als auch im Phloem transportiert werden. Die Aufnahme über die Wurzeln war deutlich höher als die Aufnahme über die oberen Teile. Die Aufnahme über die Wurzeln war innerhalb der ersten 24 Stunden sehr hoch und ging danach kontinuierlich zurück, obwohl im gleichen Zeitraum eine Erhöhung der Aufnahme in den Spross erfolgte. Hinman und Klaine (1992) stellten fest, dass das Insektizid  $^{14}\text{C}$ -Lindan bei *H. verticillata* eine ähnliche Tendenz wie bei *M. aquaticum* zeigte. Dies könnte möglicherweise durch eine starke Adsorption der Substanz am Sediment und eine verstärkte Aufnahme durch die oberen Teile der Pflanzen mit der Erhöhung der Aufnahmefläche durch Blattbildung erklärt werden. Hudetz (1989) fand, dass  $^{14}\text{C}$ -Cycloxydim in den terrestrischen Pflanzen *Poa pratensis*, *Avena fatua* und *Triticum aestivum* eine ähnliche Tendenz wie bei

aquatischen Pflanzen zeigte, die am 3. Tag weniger, am 6. Tag mehr und am 9. Tag wieder weniger aufnahmen. Die Aufnahme war allgemein höher als bei Atrazin, aber geringer als bei anderen Substanzen. Kein großer Unterschied bei der Aufnahme über die Wurzeln wurde bei direkter Applikation in den Wurzelbereich errechnet, wobei diese innerhalb der ersten 24 Stunden leicht zurückging, dann leicht zunahm und gegen Ende wieder etwas zurückging. Die Aufnahme verlief somit ähnlich wie bei Atrazin. Die Translokation von Cycloxydim ist erst mit einer Verstärkung der Aufnahme aufgrund von Stressreaktionen rückläufig. Ähnliche Ergebnisse wurden von Wilson et al. (2000) bei *Typha latifolia* mit den Substanzen Metalaxyl und Simazin festgestellt.

### **6.5 Vergleich der Wirkung von Sedimenten aus der Donau auf *M. aquaticum* und andere Testorganismen**

Es ist nachgewiesen, dass z. B. Nematoden eine Abhängigkeit des Wachstums vom Sedimenttyp zeigten (Höss et al. 1999). Um eine Wirkung auf diese Organismen eindeutig mit Schadstoffen in Beziehung zu bringen, muss in jedem Fall der Einfluss auf unterschiedliche Sedimenttypen abgeklärt werden. Im Unterschied dazu hat bei *M. aquaticum* möglicherweise der Sedimenttyp keinen bedeutsamen Einfluss auf das Wachstum der Pflanzen. Die vorgestellten Untersuchungen zeigten, dass die Wachstumsleistung bei ausreichender Nährstoffversorgung in den verschiedenen Kontrollsedimenten im Bezug auf die meisten Wirkungskriterien keine signifikanten Unterschiede aufwies. Dennoch konnte das Wachstum der Pflanzen in Turface® am besten beurteilt werden. Wie bei allen Untersuchungen mit Umweltproben muss auch bei Sedimenten der darin enthaltene Nährstoffgehalt berücksichtigt werden. Vor allem bei biologischen Testverfahren mit Pflanzen könnte das zur Überdeckung der eigentlichen Schadstoffwirkung führen. Dies müsste auch für *M. aquaticum* detailliert untersucht werden.

Duft et al. (2002) testeten die in dieser Arbeit verwendeten Sedimentproben aus der Donau mit unterschiedlichen Organismen wie z. B. *Caenorhabditis elegans*, *Chironomus tentans* und *Potamopyrgus antipodarum*. Auch in diesen Biotests konnte ähnlich wie mit *M. aquaticum* ein breites Wirkungsspektrum nachgewiesen werden. So wurde die Länge und die Eibildung von *C. elegans* beeinflusst. Vor allem durch das Sediment 4 wurde die Eizahl um über 80 % vermindert. Die toxische Wirkung dieses Sediments wurde auch durch *M. aquaticum* bestätigt. Die analytischen Daten zeigen zudem, dass das Sediment 4 einen hohen Anteil an Schwermetallen enthält (siehe Anhang Tab. A3), so dass die bei den Organismen festgestellten Wirkungen darauf zurückzuführen sein könnten. Beim *Chironomus*-Test wurde festgestellt, dass insbesondere das Sediment 3 einen starken

Einfluss auf die Mortalität und die Entwicklungsrate der Tiere ausübte. Demgegenüber zeigte *M. aquaticum* bei diesem Sediment eine fördernde Wirkung auf das Wachstum. Die Sedimente 1 und 2 hatten auf *Chironomus* nur geringe Effekte, was auch durch *M. aquaticum* bestätigt wurde. Auch die Zwergdeckelschnecke reagierte auf die vier Sedimente unterschiedlich. Sedimente 1 und 2 führten zu einer erhöhten, Sediment 4 zu einer leichten und Sediment 3 zu keiner Hemmung der Embryonenzahl. Fasst man alle bisherigen Ergebnisse über die getesteten Sedimente zusammen, dann wird deutlich, dass aufgrund der Reaktionen der Testorganismen das Sediment 4 ein hohes Schadstoffpotential enthält.

Lewis et al. (2001) verwendeten die emersen Arten *Spartina alterniflora* und *Scirpus robustus* zur Testung von verschiedenen Sedimenten. Die Autoren haben das Wurzelgewicht und das Spross-Frischgewicht der Pflanzen als Wirkungskriterien verwendet und stellten fest, dass vor allem die Wurzeln eine Wirkung auf die Sedimente zeigten. So konnten einige der Sedimentproben eine Förderung des Wurzelgewichtes hervorrufen.

Die eigenen Ergebnisse belegen, dass bei wirkungsbezogenen Untersuchungen von Sedimenten im Gegensatz zur Prüfung von Pflanzenschutzmitteln die Wurzeln deutlichere Reaktionen zeigten. Allerdings ist die Erfassung dieses Wirkungskriteriums noch nicht optimiert, so dass diese Aufgabe für zukünftige Arbeiten ansteht.

## **6.6 Zusammenfassende Beurteilung der Eignung von *M. aquaticum* als Testorganismus für PSM und Sedimente**

Ein Biotest mit *M. aquaticum* zur Pflanzenschutzmittelprüfung und zur Sedimenttestung wurde in Anlehnung an die Untersuchungen von Roshon et al. (1999), die mit *M. sibiricum* gearbeitet haben, weiterentwickelt und optimiert. Im Gegenteil zu *M. sibiricum* zeigte *M. aquaticum* in Hoagland-Nährlösung ein besseres Wachstum. Die Hoagland-NL bietet für ein längeres Wachstum der Pflanzen ausreichend Nährstoffe. Folgende Bedingungen werden für die Kultivierung der Pflanzen als notwendig angesehen: Die Pflanzen sollten unter sterilen Bedingungen angezogen werden um kontinuierlich ausreichend Pflanzenmaterial zur Verfügung zu haben. Auf die Notwendigkeit der Kohlenstoffquelle für submerse Wasserpflanzen wurde bereits hingewiesen (Prins et al. 1982; Lucas 1983). Die Ergebnisse belegen, dass eine Zugabe von 30 g/l Saccharose in die Nährlösungen den Kohlenstoffbedarf von *M. aquaticum* abdeckt. Von Vorteil ist, dass *M. aquaticum* im Vergleich zu anderen bekannten Pflanzentests wie Wasserlinsen oder Algen ähnliche Ansprüche an Kultivierungsbedingungen wie Temperatur, Strahlung und Tag/Nachtrhythmus stellen, so dass eine Nutzung vorhandener Laboratorien möglich ist. Die Pflanzen zeigten

ein gutes Wachstum bei 120-180  $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  Strahlung und einen 16/8 Stunden Tag/Nachtrhythmus sowie einer Temperatur von 20-25 °C.

Der entwickelte Biotest zeigt, dass *M. aquaticum* für die Wirkungserfassung von PSM geeignet ist. Die Ergebnisse demonstrieren, dass die Pflanzen besonders empfindlich auf Sulfonylharnstoffherbizide und Säureherbizide reagierten. Im Gegensatz zu den getesteten Wirkstoffpräparaten muss bei Reinsubstanzen beachtet werden, dass eine Lösungsmittel-Kontrolle untersucht werden muss. Außerdem kann bei der Testung von PSM auf das Sediment als Bewurzelungssubstrat verzichtet werden.

Im Gegensatz zu Testverfahren mit emers wachsenden Wasserpflanzen (Lewis et al. 2001) gibt es bislang kein Testsystem, bei dem submerse Wasserpflanzen zur wirkungsbezogenen Beurteilung von Sedimenten eingesetzt werden. *M. aquaticum* hat sich in ersten Untersuchungen zur Testung von Sedimenten bewährt. Die vorliegende Arbeit zeigte, dass ein Sedimenttest mit dieser Pflanze unter insterilen Bedingungen prinzipiell möglich ist. Vor allem das gute Wachstum in Turface® ist eine optimale Voraussetzung. Die Frage, ob diese Pflanzen das Sediment nur als Verankerungssubstrat verwenden oder daraus auch Umweltchemikalien aufnehmen, kann mit ja beantwortet werden. Allerdings müsste in Zukunft untersucht werden, ob wurzelnde Makrophyten auch im Sediment festgelegte, schwerlösliche Schadstoffe aufnehmen oder prinzipiell nur auf die Schadstoffe im Porenwasser reagieren, die auch im Wasserkörper nach einer Gleichgewichtseinstellung vorhanden sind. Daher müsste bei der Prüfung einzelner Schadstoffe auf ihre Wirksamkeit die Anwendung des in der Handhabung relativ anspruchsvollen Biotest mit *M. aquaticum* je nach Einzelfall entschieden werden.

## 7 Zusammenfassung

Pflanzenschutzmittel (PSM) können über verschiedene Eintragspfade in Gewässerökosysteme gelangen und die dort lebenden Organismen in ihren Lebensprozessen negativ beeinflussen. Zahlreiche Messungen zeigen, dass hohe PSM-Konzentrationen sowohl im Freiwasser als auch im Sediment nachweisbar sind. Insbesondere sind Organismen gefährdet, die in, auf oder nahe dem Sediment leben. Sedimente sind Lebensraum für bakterielle, aber auch für tierische und pflanzliche Organismen. Vor allem höhere Makrophyten nutzen das Sediment als Bewurzelungssubstrat und als Nährstoffquelle, wobei davon auszugehen ist, dass sie auch organische Substanzen, zu denen viele PSM gehören, aufnehmen können.

Da Makrophyten häufig Nicht-Zielorganismen des Einsatzes von PSM sind, ist eine Abschätzung ihrer Gefährdung unbedingt notwendig. Sie sind ein wichtiger Bestandteil aquatischer Ökosysteme, da sie Primärproduzenten, Habitatsresource und Lebensraum für andere Organismen sind sowie ein Rückzugsgebiet und Schutzhabitat vieler Fische darstellen.

Bislang gab es zur Prüfung der Wirkung sowohl von PSM als auch von belasteten Sedimenten auf wurzelnde Makrophyten keine entsprechenden ökotoxikologischen Testverfahren. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Entwicklung und Anwendung eines Biotests mit *Myriophyllum aquaticum*, einer wurzelnden, dikotylen Makrophyte zur ökotoxikologischen Prüfung von PSM und Sedimenten.

Es wurden optimale Kultivierungsbedingungen für das Wachstum der Pflanzen ermittelt. *M. aquaticum* zeigte ein gutes Wachstum im künstlichen Sediment Turface® mit Hoagland-Nährlösung in einem pH-Bereich zwischen 3 und 6. Unter sterilen Bedingungen wurde mit 30 g/l Saccharose als Kohlenstoffquelle das beste Wachstum der Pflanzen erreicht. Die Pflanzen wuchsen bei 120-180  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  Einstrahlung und einem 16/8 Stunden Tag/Nachtrhythmus sowie einer Temperatur von 20 bis 25 °C. Die Ergebnisse sind in einer standardisierten Testvorschrift zusammengefasst worden.

Der entwickelte Biotest wurde für die Prüfung der Toxizität von verschiedenen PSM auf *M. aquaticum* angewendet. Ziel war die Prüfung der Toxizität von 17 PSM aus verschiedenen Substanzgruppen, um umfassende Daten zur Wirkung vieler Verbindungen mit unterschiedlichen Stoffeigenschaften mit dem neuen Biotest zu erhalten. Als Wirkungskriterien von *M. aquaticum* wurden der Sprosslängenzuwachs, der Pigmentgehalt, die Wurzelzahl, die Wurzellänge, die Seitentriebzahl und die Seitentrieglänge ermittelt sowie

EC<sub>50</sub>-Werte für jedes PSM errechnet und miteinander verglichen. Die Pflanzen reagierten sehr empfindlich auf Sulfonylharnstoffherbizide und Säureherbizide. Die Pigmentgehalte waren in den meisten Fällen das empfindlichste Wirkungskriterium. Die Toxizität der getesteten Pflanzenschutzmittel auf *M. aquaticum* nimmt in folgender Reihenfolge bezogen auf Chlorophyll a ab: Metsulfuron methyl > Thifensulfuron-methyl > 2,4-D > Triflursulfuron-methyl > Dichlorprop - P > Dicamba > Rimsulfuron > Glyphosat > Trifluralin > Amidosulfuron > Pyridat > Propiquizafoxop > Chlorthalonil > Propiconazol > Pendimethalin > Parathion > Terbutryn.

Ein wesentlicher Aspekt der Arbeit waren Untersuchungen zur Fähigkeit der Aufnahme von PSM durch Wurzeln und die Translokation in die oberen Pflanzenteile von *M. aquaticum*. Damit sollte die Frage geklärt werden, ob diese Pflanzenart das Sediment nur als Verankerungssubstrat verwenden oder auch PSM daraus aufnehmen. Hierfür wurde ein Testsystem mit einer Sperrschicht zwischen Wurzeln und oberen Pflanzenteilen bei submerser Wachstumsweise entwickelt. Mit diesem Versuchsdesign war eine Applikation <sup>14</sup>C-markierter Pflanzenschutzmittel in den Wurzelraum möglich, ohne dass die Substanzen in den Sprossbereich diffundierten. Darüber hinaus wurde auch die Aufnahme über die oberen Pflanzenteile untersucht. Die Experimente wurden mit fünf <sup>14</sup>C-markierten PSM durchgeführt. Die Ergebnisse belegen, dass alle Substanzen über die Wurzeln aufgenommen und in die oberen Pflanzenteile translokiert werden. Auch eine direkte Aufnahme über den Spross konnte bei allen Substanzen eindeutig nachgewiesen werden. Die höchste Aufnahmerate in die Wurzeln wurde bei Terbutryn und in den Spross bei Trifluralin gemessen. Die niedrigste Aufnahmerate sowohl über die Wurzeln als auch über den Spross sind bei Atrazin ermittelt worden.

In weiteren Untersuchungen wurde mit *M. aquaticum* die Toxizität schadstoffbelasteter Sedimentproben der Donau ermittelt. Eine Testdurchführung erfolgte unter sterilen Bedingungen, da eine Sterilisation der Umweltproben nicht sinnvoll war. Ein optimales Wachstum der Pflanzen wurde in Andrews-Nährlösung mit 100 mg/l NaHCO<sub>3</sub> erreicht. Die Sedimentproben der Donau riefen bei *M. aquaticum* ein differenziertes Wirkungsspektrum hervor, das sich von stark hemmenden, gleichbleibenden bis zu fördernden Wirkungen erstreckte. Im Gegensatz zur Wirkung von PSM riefen die Sedimente deutliche Effekte auf das Wurzelwachstum hervor, was in weiteren Arbeiten detaillierter untersucht werden muss. Bei einigen Sedimenten konnten gute Übereinstimmungen zwischen den Reaktionen von *M. aquaticum* und tierischen Testverfahren mit Invertebraten erzielt werden, wobei auch der analytische Nachweis des Schadstoffpotentials dieser Sedimente anhand verschiedener Biotests bestätigt wurde.

## 8 Summary

Pesticides can enter water ecosystems by different entry paths and affect negatively living organisms in their life functions. Numerous measurements show that high pesticide concentrations are detected both in the water as well as in the sediment. In particular those organisms which live in, on or near the sediment are endangered. Sediments are a habitat for bacteria as well as for animals and plants. Above all higher macrophytes use sediment as rooting substrate and than as a source of nutrient, whereby it can be assumed that they can take also up organic substances, to which many pesticides belong.

Since macrophytes are frequently non-target organisms of pesticides, an assessment of its endangerment is absolutely necessary. They are an important component of aquatic ecosystems, as they are primary producers, habitat resource and habitats for other organisms as well as a refugium and a protecting habitat of many fish.

So far there has been no ecotoxicological test procedures appropriate for the examination of the effect both from pesticides and from contaminated sediments on rooting macrophytes. This work is concerned with the development and application of a bioassay with *Myriophyllum aquaticum*, a rooting, dicotyledonous macrophyte for ecotoxicological studies of pesticides and sediments.

Optimal growth conditions for the plants were determined. *M. aquaticum* showed a good growth in Hoagland nutrition solution in a pH range between 3 and 6 and the artificial sediment Surface. It has been established that as a source of carbon under axenic conditions 30 g/l sucrose ensured the best plant growth. The plants grew with 120-180  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  luminous intensity and a 16/8 hours of day/night rhythm as well as a temperature from 20 to 25 °C. The results were summarized in a standardized test procedure.

The developed bioassay was used to test the toxicity of different pesticides on *M. aquaticum*. A goal was the examination of the toxicity of 17 pesticides from different chemical groups of substances, in order to assess the effect of many substances with different chemical properties with the new bioassay. The endpoints were plant height, pigment contents, root number, root length, side shoot number as well as side shoot length.  $\text{EC}_{50}$  for each pesticide was calculated and compared with one another pesticide. The plants were very sensitive to sulfonyurea herbicides and acid herbicides. The pigment contents were in most cases the most sensitive endpoint. The toxicity of the tested pesticides on *M. aquaticum* decreases in the following order related to chlorophyll A: Metsulfuron-methyl > thifensulfuron-methyl > 2,4-D > triflurosulfuron-methyl > dichlorprop - P > dicamba > rimsulfuron > glyphosate >

trifluralin > amidosulfuron > pyridate > propiquizafoxop > chlorothalonil > propiconazole > pendimethalin > parathion > terbutryn.

A substantial aspect of this study was investigations into the ability of pesticide uptake by roots and the translocation into the upper plant parts of *M. aquaticum*. Thus the question should be clarified whether these plants use the sediment only as anchorage substrate or also to take up pesticide from. For this a special system with a layer between roots and upper plant parts was developed with submerge growth. With this experimental design an application of <sup>14</sup>C-radiolabeled pesticides was possible into the root area, without the pesticides being diffused into the shoot area of plants. Beyond that also the uptake was examined by the shoots. The experiments were conducted with five <sup>14</sup>C-radiolabeled pesticides. The results prove that all substances are taken up by the roots and translocate to the shoots. Also a direct uptake through the shoots could be clearly proven with all substances. The highest uptake rate into the roots was measured with terbutryn and into the shoots with trifluralin. The lowest uptake rate both by the roots and by the shoots was determined by using atrazine.

In the first experiments with *M. aquaticum* the aim was to measure the toxicity of contaminated sediment samples in the Danube. A test procedure took place under unaxenic conditions since a sterilization of the environmental samples was not possible. An optimal growth of the plants was reached in Andrew nutrition solution with 100 mg/l NaHCO<sub>3</sub>. The sediment samples of the Danube river caused a differentiated effect spectrum, which ranged from being extremely inhibited, to being stable, to being a stimulant of *M. aquaticum*. In contrast to experiments of pesticides the roots showed noticeable effects on the sediments, which must be examined in further studies in more detail. With some sediments it was found that there was a parity between reactions involving *M. aquaticum* and animal test procedures with Invertebrates, so that the analytical results of the pollutant potential of these sediments was confirmed on the basis of different bioassays.

## 9 Literatur

- Adams, C. D. (1985): Inorganic carbon reserves of natural waters and the ecophysiological consequences of their photosynthetic depletion: (II) Macrophytes. Inorganic Carbon Uptake by Aquatic Photosynthetic Organisms. Lucas, J. W., Berry J. A. (eds.). Proceedings of an international Workshop on Bicarbonate use in photosynthesis. The American Society of Plant Physiologists. Waverly Press. Baltimore, MD: 421-435.
- Adams, W. J. (1995): Aquatic toxicology testing methods. In: Handbook of Ecotoxicology. Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Burton, G. A., Cairns, J. (eds. ): 25-46.
- Adams, M. S., Sand-Jensen, K. (1991): Introduction: Ecology of submersed aquatic macrophytes. Aquatic Botany 41: 1-4.
- Ahlf, W. (1995): Biotests an Sedimenten. Handbuch der angewandte Limnologie, 3-43. Ecomed Verlag.
- Ahrens, W. H. (1994): Herbicide Handbook (Seventh Edition). Weed Science Society of America.
- Ailstock, M. S., Fleming, W. J., Cooke, T. J. (1991): The characterization of axenic culture systems suitable for plant propagation, experimental studies of the submersed aquatic angiosperm *Potamogeton pectinatus* (Sago Pondweed): Estuaries, 14: 57-64.
- Allen, E. D, Spence, D. H. N. (1981): The differential ability of aquatic plants to utilize the inorganic carbon supply in fresh water. New Phytologist 87: 269-283.
- Andrews J. H, Hecht E. P., Bashirian, S. (1982): Association between the fungus *Acremonium curvulum* and Eurasian water milfoil, *Myriophyllum spicatum*. Canadian Journal of Botany 60: 1216-1221.
- Anonym (1988): Pesticide fact handbook. U.S. Environmental Protection Agency. Noyes Data Corporation.
- Anonym (1990): Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln. Physikalisch-chemische und toxikologische Daten. Industrieverband Agrar e.V.
- ASTM (1991): Standard guide for conducting static toxicology tests with *Lemna gibba* G3. Annual Book of ASTM Standards. American Society of testing and materials. 11.04. E 1415-91.

- Barko, J. W., Hardin, D. G., Matthews, M. S. (1982): Growth and morphology of submersed freshwater macrophytes in relation to light and temperature. *Canadian Journal of Botany* 60: 877-887.
- BBA (2001): Pflanzenschutz Naturhaushalt (CD). Staatliche Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau, Neustadt.
- Beckhausen, E. S. (1997): Bioakkumulation, Verteilung und Metabolismus von vier Herbiziden: Ein Vergleich von Einzelspeziestest, und Labormikrokosmos. Dissertation. Johannes Gutenberg-Universität in Mainz.
- Black, M. A., Maberly, S. C., Spence, D. H. N. (1981): Resistances to carbon dioxide fixation in four submerged freshwater macrophytes. *New Phytologist* 89: 557-568.
- Börner, H. (1995): Unkrautbekämpfung. Gustav Fischer Verlag. Jena Stuttgart, New York.
- Bowes, G. (1985): Pathways of CO<sub>2</sub> fixation by aquatic organisms. In: Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms. Lucas, W. J., Berry, J. A. (eds.). American Society of Plant Physiologists.
- Bowes, G., Salvucci, M. E. (1989): Plasticity in the photosynthetic carbon metabolism of submersed aquatic macrophytes. *Aquatic Botany* 34: 233-266.
- Bristow, J. M. (1975): The structure and function of roots in aquatic vascular plants. The Development and Function of Roots. Third Cabot Symposium, London.
- Bristow, J. W., Whitcombe, M. (1971): The role of roots in the nutrition of aquatic vascular plants. *American Journal of Botany* 58: 8-13.
- Brown B. T., Rattigan B. M. (1979): Toxicity of soluble copper and other metal ions to *Elodea canadensis*. *Environ. Pollut.* 303-314.
- Bruner, M. C., Batterson, T. R. (1984): The effect of three sediment types on tuber production in *Hydrilla* (*Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle): *J. Aquat. Plant. Manage.* 22: 95-97.
- Bruner, K. A., Fisher, S.W. (1993): The effects of temperature, pH and sediment on the fate and toxicity of 1-Naphthol to midge larvae. *J. Environ. Sci. Health.* 28(6): 1341-1360.
- Burton, A. (1992): Assessing contaminated aquatic sediments. *Environ. Sci. Technol.* 26, 1862-1875.
- Byl, T. D., Klaine, S. J. (1991): Peroxidase activity as an indicator of sublethal stress in the aquatic plant *Hydrilla verticillata* (Royle): Plant for toxicity assessment: second volume ASTM STP 1115. Gorsuch, J. W., Lower, W. R., Wang, W., Lewis, M. A. (eds). , 101-106.

- Camper, N. D., Ahmed, F. A., Figliola, S. (1989): Growth effects, uptake and metabolism of trifluralin in tissue cultures. *J. Environ. Sci. Health B24*: 291-306.
- Casper, S. J., Krausch, H. D. (1981): *Peridophyta und Anthophyta*. In: Süßwasserflora von Mitteleuropa. Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. (Hrsg.). Gustav Fisher Verlag. Stuttgart, New York.
- Cassidy, K., Rodgers, J. H. (1989): Response of *Hydrilla* (*Hydrilla verticillata*) (L. f.) Royle) to diquat, a model of uptake under nonequilibrium conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8: 133-140.
- Cavalier, T. C., Lavy, T. L., Mattice, J. D. (1991): Persistence of selected pesticides in ground-water samples. *Ground Water* 29: 225-231.
- ChemG (1990): Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen. In Bundesgesetzblatt I.
- Christopher, S. V., Bird, K. T. (1992): The effects of herbicides on development of *Myriophyllum spicatum* L. cultured in vitro. *J. Environ. Qual.* 21: 203-207.
- Coble, T. A., Vance, B. D. (1987): Seed germination in *Myriophyllum spicatum* L. *J. Aquat. Plant. Management*, 25: 8-10.
- Cockburn, W. (1985): Variation of photosynthetic acid metabolism in vascular plants: CAM and related phenomena. *New Phytol.* 101: 3-24.
- Cook, C. D. K., Gut, B. J., Rix, E. M., Schneller, J., Seitz, M. (1974): *Water plants of the world*. Dr. W. Junk b.v., Publisher, The Hague.
- Coquery, M., Welbourn, P.M. (1994): Mercury uptake from contaminated water and sediment by the rooted and submerged aquatic macrophyte *Eriocaulon septangulare*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26: 335-341.
- Cotham, W. E., Bidleman, T. F. (1989): Degradation of malathion, endosulfan and fenvalerate in seawater and seawater/sediment microcosms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 824-828.
- Cowgill, U. M., Milazzo, D. P., Landenberger, B. D. (1991): The sensitivity of *Lemna gibba* G-3 and four clones of *Lemna minor* to eight common chemicals using a 7 day test. *Research Journal of Water Pollution Control Federation* 63(7): 991-998.
- Cox, C. (1994): Dicamba. *Journal of Pesticide Reform*, 14(1).
- Denny, P. (1972): Sites of nutrient absorption in aquatic macrophytes. *Journal of Ecology* 60: 819-829.
- De Witt, H. C. D. (1990): *Aquarien Pflanzen*. Ulmer Verlag Stuttgart.

- Dogan, M. N. (1999): Untersuchungen zur Wirkung reduzierter Herbizidaufwandmengen in Abhängigkeit von Unkrautart, Entwicklungsstadium und Umweltbedingungen. Dissertation. Universität Hohenheim.
- Diel, S. (1988): Foraging efficiency of three freshwater fish: effects of structural complexity and light. *Oikos* 53. 207-214.
- Dinelli, G., Vicari, A., Accinelli, C. (1998): Biodegradation and Bioremediation. Degradation and side effect of three sulfonylurea herbicides in soil. *J. Environ. Qual.* 27: 1459-1464.
- Dirilgen, E. (1998): Effects of pH and chelator EDTA on Cr toxicity and accumulation in *Lemna minor*. *Chemosphere* 4: 771-783.
- Dixon, R. A. (1985) : Isolation and maintenance of callus and cell suspension cultures. *Plant Cell Culture : A Practical Approach*. IRL Press Limited, Oxford: 1-20.
- Duft, M., Tillmann, M., Markert, B., Oehlmann, J., (2002): Ökotoxikologische Sedimentkartierung der grösseren Flüsse Deutschlands. Abschlussbericht. UBA-Projekt (Umweltbundesamt, Berlin) FKZ 299.24.275.
- EI-Bid, M. A., Shehata, S. A., Waly, H. F. A. (1989): Response of freshwater algae *Scenedesmus* to triazine herbicides. *Water, Air and Soil Pollution* 48: 307-316.
- Fairchild, J. F., La Point, T. W., Schwartz, T. R. (1994): Effects of an herbicide and insecticide mixture in aquatic mesocosms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 527-533.
- Fairchild, J. F., Ruessler, D. S., Carlson, A. R. (1998): Comparative sensitivity of five species of macrophytes, six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, metolachlor. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 1830-1834.
- Fairchild, J. F., Ruessler, D. S., Haverland, P. S., Carlson, A. R. (1997): Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32: 353-357.
- Feiler, U., Krebs, F. (1999): Entwicklung und Anwendung pflanzlicher Biotestverfahren für ökotoxikologische Sedimentuntersuchungen. In Oehlmann, J., Markert, B.: *Ökotoxikologie Ökosysteme Ansätze und Methoden*: Ecomed Verlag.
- Fleming, W. J., Ailstock, M. S., Momot, J. J., Norman, C. M. (1991): Response of sago pondweed, a submerged aquatic macrophyte, to herbicides in three laboratory culture systems. In: *Plant for toxicity assessment: Second volume*, ASTM STP 1115, Gorsuch, J. W., Lower, W. R., Wang, W., Lewis, M. A. (eds.). American Society for Testing and Materials, Philadelphia: 267-275.

- Fletscher, J. S. (1990): Use of algae versus vascular plant to test for chemical toxicity. In: Plants for toxicity assessment. ASTM STP 1091. Wang, W., Gorsuch, J. W., Lower, W. R. (eds). American Society for Testing and Materials, Philadelphia: 33-39.
- Fletscher, J. S. (1991): Keynote speech a brief overview of plant toxicity. In: Gorsuch, J. W., Lower, W. R., Wang, W., Lewis, M. A. (eds.). Plants for toxicity assessment, Vol. 2, ASTM STP 1115. American Society for Testing Materials, Philadelphia.
- Fomin, A., Moser, H., Pickl, C. (2000): Ecotoxicological investigations of extremely acidic mining lakes using bioassays suitable for testing at low pH. Toxicological and Environmental Chemistry, Vol. 76, 237-254.
- Forney, D. R., Davis, D. E. (1981): Effects of low concentrations of herbicides on submersed aquatic plants. Weed Science 29: 677-685.
- Forsyth, D. J., Martin, P. A., Shaw, G. G. (1997): Effects of herbicides on two submersed aquatic macrophytes, *Potamogeton pectinatus* L. and *Myriophyllum sibiricum* Komarov, in a prairie Wetland. Environmental Pollution 95: 259-268.
- Fox, M. E., Van Tol, C., Prepas, E. E., Nagy, E., Murphy, T. P. (1991): Fate of trifluralin in anaerobic sediment from an Alberta Farm Dugout. Water Poll. Res. J. Canada, 26: 17-26.
- Freemark, K., MacQuarrie, P., Swanson, S., Peterson, H. (1990): Development of guidelines for testing pesticide toxicity to nontarget plants for Canada. Plants for toxicity assessment. ASTM STP 1091. Wang, W., Gorsuch, J. W., Lower, W.R. (eds.): American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 14-29.
- Ganzelmeier, H. (1995): Studies of the spray drift of plant protection products : Results of a test program carried out throughout the Federal Republic of Germany. (Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft. Berlin : Blackwell-Wiss. Verlag.
- Gao, J., Garrison, A. W., Hoehamer, C., Mazur, C. S., Wolfe, N. L. (2000): Uptake and phyto-transformation of organophosphorus pesticides by axenically cultivated aquatic plants. J. Agr. Food Chem. 48: 6114-6120.
- Gaudet, T. (1963): *Marsilea vestita*: Conversion of the water form to the land form by darkness and by far-red light. Science 140: 975-976.
- Gaynor, J. D. (1985): Dinitroaniline herbicide persistence in soil in Southwestern Ontario. Canadian Journal of Soil Science 65: 587-592.
- Giessl, H. (1988): Über das Vorkommen ausgewählter Pflanzenschutzmittel im Wasser

- unter besonderer Berücksichtigung des Grundwassers. Dissertation. Univ. Hohenheim.
- Godmaire, H., Nalewajko, C. (1989) : Growth, photosynthesis, and extracellular organic release in colonized and axenic *Myriophyllum spicatum*. Canadian Journal of Botany 67: 3429-3438.
- Greenberg, B. M., Huang, X. D., Doygun, H. (1992): Application of the aquatic higher plant *Lemna gibba* for ecotoxicological assessment. Journal of Aquatic Ecosystem Health 1: 147-155.
- Grossmann, K., Berghaus, R., Retzlaff, G. (1992): Heterotrophic plant cell suspension cultures for monitoring biological activity in agrochemical research. Comparison with screens using algae, germinating seeds and whole plants. Pestic. Sci. 35: 283-289.
- Grover, R., Smith, A. E., Shewchuk, S. R., Cessna, A. J., Hunter, J. H. (1988): Fate of trifluralin and triallata applied as a mixture to a wheat field. J. Environ. Qual. 17: 543-550.
- Guilizzoni, P. (1991): The role of heavy metals and toxic materials in the physiological ecology of submersed macrophytes. Aquatic Botany 41: 87-109.
- Guilizzoni, P., Adams, M. S., MacGaffey, N. (1984): The effect of chromium on growth and photosynthesis of a submersed macrophyte, *Myriophyllum spicatum*. Ecological Bulletins: Ecotoxicology. L. Rasmussen (ed.). Publishing House of the Swedish Research Councils (Stockholm, Sweden). 36: 90-96.
- Hanson, M. L., Sibley, P. K., Mabury, S. A., Solomon, K. R., and Muir, D. C. G. (2002): Trichloroacetic acid (TCA) and trifluoroacetic acid (TFA) mixture toxicity to the macrophytes *Myriophyllum spicatum* and *Myriophyllum sibiricum* in aquatic microcosms. The Science of Total Environment 285: 247-259.
- Hartman, W. A., Martin, D. B. (1984): Effect of suspended bentonite clay on the acute toxicity of glyphosate to *Daphnia pulex* and *Lemna minor*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 33: 355-361.
- Hartman, W. A., Martin, D. B. (1985): Effects of four agricultural pesticides on *Daphnia pulex*, *Lemna minor*, and *Potamogeton pectinatus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 35: 646-651.
- Haslam, S. M. (1978): River plants. The macrophytic vegetation of watercourses. Cambridge University Press.
- Hertl, J. (1995): Verteilung, Anreicherung und Metabolismus von zwei Herbiziden in verschiedenen aquatischen Systemen. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität in Mainz.

- Hinman, M. L., Klaine, S. J. (1992): Uptake and translocation of selected organic pesticides by the rooted aquatic plant *Hydrilla verticillata* Royle. *Environ. Sci. Technol.* 26: 609-613.
- Hoagland, D. R., Arnon, D. I. (1938): The water culture method for growing plants without soil. *Agricultural Experiment Station Circular 347* (Berkeley, CA). S. 1-35.
- Hock, B., Fedtke, C., Schmidt, R. R. (1995): *Herbizide. Entwicklung, Anwendung, Wirkungen, Nebenwirkungen.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York.
- Hoffmann, J. P., Colman, J. A., Kutchera, K. M., Nordheim, E. V., Andrews, J. H. (1984): A laboratory culture system for pathological and physiological studies of rooted aquatic plants. *Canadian Journal of Botany* 62: 2290-2296.
- Höss, S., Haitzer, M., Traunspurger, W., Steinberg, C. E. W. (1999): Growth and fertility of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in unpolluted freshwater sediments: Response to particle size distribution and organic content. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 2921-2925.
- Huebert, D. B., McIlraith, A. L., Shay, J. M., Robinson, G. G. C. (1990): Axenic culture of *Lemna trisulcata* L. *Aquatic Botany* 38: 295-301.
- Huckins, J. N., Petty, J. D., England, D. C. (1986): Distribution and impact of trifluralin, atrazine, and fonofos residues in microcosms simulating a northern prairie wetland. *Chemosphere* 15: 563-588.
- Hudetz, M. (1989): Verhalten von Cycloxydim (BAS 517 H) in mono- und dikotylen Arten. Dissertation. Universität Hohenheim.
- Iwakuma, T., Shiraishi, H., Nohara, S., Takamura, K. (1993): Runoff properties and change in concentrations of agricultural pesticides in a river system during a rice cultivation period. *Chemosphere* 27: 677-691.
- Janauer, G. (2001): Makrophyten. In: *Ökologie und Schutz von Seen.* Dokulil, M., Hamm, A., Kohl, J. G. (Hrsg.). UTB Verlag. 121-132.
- Jeppesen, E., Lauridsen, T., Kairesalo, T., Perrow, M. R. (1998): Impact of submerged macrophytes on fish-zooplankton interaction in lakes. In: Jeppesen, E., Sondergaard, Ma., Sondergaard, Mo., Christoffersen, K. (eds.): *The structuring role of submerged macrophytes in lakes.* *Ecological Studies* 131: 91-114.
- Johnson, W. W., Finley, M. T. (1980): Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates, resource publications 137. U. S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, DC: 10-38.

- Jungnickel, F., Augsten, H. (1986): *Spirodella polyrhiza* – ein Biotest System zur Erfassung phytoaktiver Substanzen. *Wiss. Ztschr. Friedrich-Schiller-Univ. Jena, Naturwiss. R.* 35: 613-629.
- Kane, M. E., Albert, L. S. (1989): Abscisic acid induction of aerial leaf development in *Myriophyllum*, *Proserpinaca* species cultured in vitro. *J. Aquat. Plant. Manage.* 27: 102-111.
- Kane, M. E., Gilman, E. F. (1991): In vitro propagation and bioassay systems for evaluating growth regulator effects on *Myriophyllum* species. *Journal of Aquatic plant management* 29, 29-32.
- Kane, M. E., Gilman, E. F., Jenks, M. A. (1991): Regenerative Capacity of *Myriophyllum aquaticum* tissues cultured in vitro. *J. Aquat. Plant. Manage.* 29: 102-109.
- Keddy, C. J., Greene, J. C., and Bonnell, M. A. (1995): Review of Whole-Organism Bioassays: Soil, Freshwater Sediment, and Freshwater Assessment in Canada. *Toxicology and Environmental Safety* 30: 221-251.
- Keeley J. E., Sandquist D. R. (1992): Carbon: Freshwater plants. *Plant, Cell and Environment* 15: 1021-1035.
- Kilpi, S. (1980): Degradation of some phenoxy acid herbicides by mixed cultures of bacteria isolated from soil treated with 2-(2-methyl-4-chloro)phenoxypropionic acid. *Microbial Ecology* 6: 261-270.
- Kunert, K. J. (1996): Xenobiotika. In: *Stress bei Pflanzen*. Brunold, Ch., Rügsegger, A., Brändle, R. (Hrsg.). UTB Verlag.
- Larson, L. J. (1989): Method for preliminary assessment of aquatic contamination sites using sediment extract toxicity tests. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 218-225.
- Landolt, E., Kandeler, R. (1987): The family of Lemnaceae – a monographic study 2 (Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae) Vol. 4). *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Tech. Hochschule, Stiftung Rübél, Zürich*, 638 S.
- Lee, H. (1992): Models, muddles, mud: Predicting bioaccumulation of sediment-associated pollutants. In: Allen Burton (ed.) *Sediment toxicity assessment*, 267-293.
- Levitt, G. (1982): Sulfonyureas: new high potency herbicides. *Pesticide Chemistry: human welfare and the environment: Proceedings of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry, Kyoto, Japan, 29 August-4 September 1982*.

- Lewis, M. A., Weber, D. E., Stanley, R. S., Moore, J. C. (2001): The relevance of rooted vascular plants as indicators of estuarine sediment quality. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40: 25-34
- Lichtenthaler, H. K., and Wellburn, A. R. (1983): Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvent. *Biochemical Society Transactions* 11: 1982-1983.
- Lockhart, W. L., Billeck, B. N., Baron, C. L. (1989): Bioassays with a floating aquatic plant (*Lemna minor*) for effects of sprayed and dissolved glyphosate. *Hydrobiologia* 188/189: 353-359.
- Lockhart, W. L., Billeck, B. N., de March, B. G. E., Muir, D. C. G. (1983): Uptake and toxicity of organic compounds: Studies with an aquatic macrophyte (*Lemna minor*). *Aquatic toxicity and Hazard assessment: Sixth symposium, ASTM STP 802*: W. E. Bishop, R. D. Cardwell., B. B. Heidolph (eds.), American Society for Testing and Materials: 460-468.
- Lovett-Doust, L., Lovett-Doust, J., Biernacki, M. (1994): American Wildcelery, *Vallisneria americana*, as a biomonitor of organic contaminants in aquatic ecosystems. *Journal of Great Lakes Research*, 20: 333-354.
- Lucas, W. J. (1983): Photosynthetic assimilation of exogenous  $\text{HCO}_3^-$  by aquatic plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 34: 71-104.
- Ma, J., Liang, W., Xu, L., Wang, S., Wei, Y., Lu, J. (2001): Acute toxicity of 33 herbicides to the green alga *Chlorella pyrenoidosa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 66: 536-541.
- Maberly S. C, Raven J. A, Johnston A. M. (1992): Discrimination between  $^{12}\text{C}$  and  $^{13}\text{C}$  by marine plants. *Oecologia* 91: 481-492.
- Madsen, J. D., Hartleb, C. F., Boylen, C. W. (1991): Photosynthetic characteristics of *Myriophyllum spicatum*, six submersed aquatic macrophyte species native to Lake George, New York. *Freshwater Biology*, 26: 233-240.
- Madsen, T. V. Sand-Jensen, K. (1991): Photosynthetic carbon assimilation in aquatic macrophytes. *Aquatic Botany* 41, 5-40.
- Madsen, T. V., Sand-Jensen, K. (1994): The interactive affects of light, inorganic carbon on aquatic plant growth. *Plant, Cell, Environment* 17: 955-962.
- Marquis, L. Y., Comes, R. D., Yang, C. P. (1981): Adsorption and Translocation of fluridone and glyphosate in submersed plants. *Weed Science* 29: 229-236.
- Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of Higher Plants. Academic Press.

- Mayer, J. R., Elkins, N. R. (1990): Potential for agricultural pesticide runoff to a Puget sound estuary: Padilla Bay, Washington. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 45: 215-222.
- Meyer, A. (1991): Untersuchungen zu Verhalten und zur Selektiven Wirkung von Triasulfuron in verschiedenen Pflanzenarten unter Berücksichtigung ihrer Entwicklungsstadien. Dissertation. Universität Hohenheim.
- Michel, A., Petersen, J., Dogan, M. N., Ernst, V. (1999): Anleitung zur Anlage und Auswertung quantitativer Dosis-Wirkungsbeziehungen am Beispiel der Wirksamkeit von Herbiziden. *Gesunde Pflanzen* 51: 10-19.
- Miller, A. G. (1985): Study of inorganic carbon transport: the kinetic reaction approach. In: W. J. Lucas and J. A. Berry (eds.), *Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms*. Soc. Plant. Physiol. Rockville, MD.: 17-31.
- Mitchell, D. S., Orr, P. T. (1985): *Myriophyllum* in Australia. First International Symposium on Watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*) and related Haloragaceae Species. Vancouver, BC: 27-34.
- Mitchell, St. F., Perrow, M. R. (1998): Interaction between grazing birds and macrophytes. In: Jeppesen, E., Sondergaard, M., Sondergaard, Mo., und Christoffersen, K. (eds): *The structuring role of submerged macrophytes in lakes Ecological studies* 131: 175-196. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- Moeller, R. E. (1978): Carbon-Uptake by the submerged hydrophyte *Urticularia purpurea*. *Aquatic Botany* 5: 209-216
- Morris, P., Schragg, A. H., Smart, N. J., Stafford, A. (1985): Secondary product formation by cell suspension cultures. *Plant Cell Culture: A Practical Approach*. IRL Press Limited, Oxford.
- Moser, H. (1999): Ökotoxikologische Untersuchungen von Tagebaurestseen in der Niederlausitz. Biologische Testverfahren zum Nachweis physiologischer Wirkungen. Dissertation. Universität Hohenheim.
- Mühlberg, H. (1980): *Das große Buch der Wasserpflanzen*. Verlag Werner Dausien, Hanau-Main.
- Muir, D. C. G., Griff, N. P., Lochart, W. L., Wilkinson, P., Billeck, B. N., Brunskill, G. J. (1995): Spatial trends and historical profiles of organochlorine pesticides in arctic lake sediment. *The Science of Environment* 160/161: 447-457.
- Müller, F. (1986): *Phytopharmakologie. Verhalten und Wirkungsweise von Pflanzenschutzmitteln*. Ulmer Verlag.

- Nalewajko, C., Godmaire, H. (1993): Extracellular products of *Myriophyllum spicatum* L. as a function of growth phase and diel cycle. Arch. Hydrobiol. 127: 345-356.
- Neary, D. G. Bush, P. B., McMahon, C. K. Cantrell, R. L., Taylor, J. W. J. (1988): Persistence of nine forest pesticides in the surface horizon of a typical quartz soil of the Ocala National Forest. Soil and Crop Science Society of Florida, Proceedings 47: 127-134.
- Nelson, M. K., Fairschild J. F. (1994): Development of phytotoxicity tests using wetland species. Fourth Symposium on Environmental Toxicology and Risk Assessment. Montreal, PQ. April 1994.
- Netherland, M. D., Lembi, C. A. (1992): Gibberellin synthesis inhibitor effects on submersed aquatic weed species. Weed Science 40: 29-36.
- Neumann, S., Grimm, E., Jacob, F. (1985): Transport of xenobiotics in higher plants: I. Structural prerequisites for translocation in the phloem. Biochem. Physiol. Pflanz. 180: 257-268.
- Nielsen, S. L., Sand-Jensen, K. (1991): Variation in growth rates of submerged rooted macrophytes. Aquatic Botany 39: 109-120.
- Nowak, A., Jorzig, E. B. (1989): Mineralisierung und Nebeneffekte des Herbizids in Abhängigkeit vom organischen C-Gehalt im Boden. Chemosphere 18 (7-8): 1447-1455.
- Nultsch, W. (2001): Allgemeine Botanik. Georg Thieme Verlag.
- Oberwalder, C. (1992): Über das Vorkommen von Pflanzenschutzmitteln im Niederschlagswasser und deren ökotoxikologische Bedeutung. Dissertation. Universität Hohenheim.
- Olberg, G. (1963): Sumpf- und Wasserpflanzen. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg.
- Owtrim, G. W., Colman, B. (1989): Measurement of the photo respiratory activity of the submerged aquatic plant *Myriophyllum spicatum*. Plant, Cell, Environment 12: 805-811.
- Pedersen, O., Sand-Jensen, K. (1993): Water transport in submerged macrophytes. Aquatic Botany 44: 385-306.
- Penuelas, J., Menendez, M. (1990):  $\text{HCO}_3^-$  as an exogenous carbon source for *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande. Arch. Hydrobiol. 120(1): 89-96
- Perkow, W., Ploss, H. (1999): Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Herbizide Wuchs- und Hemmstoffe. Parey Buchverlag Berlin.
- Peterson, H. G., Boutin, C., Martin, P. A., Freemark, K. E., Ruecker, N. J., Moody, M. J. (1994): Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations. Aquatic Toxicology 28: 275-292.

- Pfarl, C., Ditzelmüller, G., Loidl, M., Streichsbier, F. (1990): Microbial degradation of xenobiotic compounds in soil columns. Federation of European Microbiological Societies, FEMS Microbiology Ecology 73: 255-262.
- PflSchG (1986): Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen In: Bundesgesetzblatt I.
- Powell, R. L., Kimerle, R. A., Moser, E. M. (1996): Development of a plant bioassay to assess toxicity of chemical stressors to emergent macrophytes. Environmental Toxicology , Chemistry, 15(9): 1570-1576.
- Prins, H. B. A., Snel, J. F. H., Zanstra, P. E. (1982): The mechanism of photosynthetic bicarbonate utilization. Studies on Aquatic Vascular Plants: 120-126.
- Raven J. A. (1970): Exogenous inorganic carbon sources in plant photosynthesis. Biol. Rev. 45: 167-221.
- Roberts, T. (1998): Metabolic pathways of agrochemicals. Herbicides and plant growth regulators. The Royal Society of Chemistry.
- Roshon, R. D., Stephenson, G. R. (1995): Phytotoxic effects of eight herbicides upon a non-target rooted aquatic macrophyte as determined in a static laboratory bioassay. Poster presented at the thirteenth annual meeting of the society of environmental toxicology and chemistry world congress. Nov. 1995. Cincinnati, Ohio.
- Roshon, R. D., McCann, J. H., Thompson, D. G., Stephenson, G. R. (1999): Effects of seven forestry management herbicides on *Myriophyllum sibiricum*, as compared with other nontarget aquatic organisms. Can. J. For. Res. 29: 1158-1169.
- Roshon, R. D., Stephenson, G.R., Horton, R.F. (1996): Comparison of five media for the axenic culture of *Myriophyllum sibiricum* Komarov. Hydrobiologia 340, 17-22.
- Sallenave, R., Fomin, A. (1997): Some advantages of the duckweed test to assess the toxicity of environmental samples. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 25: 135-140.
- Salvucci M. E, Bödeker W. (1982): Photosynthetic and photorespiration responses of the aerial and submerged leaves of *Myriophyllum brasiliense*. Aquatic Botany 13: 147-164.
- Salvucci, M. E., Bowes, G. (1982): Photosynthetic and photorespiratory responses of the aerial and submerged leaves of *Myriophyllum brasiliense*. Aquatic Botany: 147-164.
- Sand-Jensen, K. (1983): Photosynthetic carbon sources of stream macrophytes. J. Exp. Bot. 34: 198-210.
- Schneiders, G. E., Koeppe, M. K., Naidu, M. V., Horne, P., Brown, A. M., Mucha, C. F. (1993): Fate of rimsulfuron in the environment. J. Agric. Food Chem. 41: 2404-2410.

- Schneider, M., Hertl, P., Düfer, B. (1997): Pflanzenschutzmittelabschwemmung von landwirtschaftlichen Flächen. Eine Literaturlauswertung und Betrachtung. Mitt. Biol. Bundesanst. Land. Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem, 330: 63-86.
- Schwackhamer, D. L., Pearson, R. F., Schottler, S. P. (1998): Toxaphene in the Great Lakes. Chemosphere 37: 2545-2561.
- Scrano, L., Bufo, S. A., Peducci, P., Meallier, P., Mansour, M. (1999): Photolysis and hydrolysis of rimsulfuron. Pestic. Sci. 55: 955-961.
- Selim, S. A., O'Neal, S. W., Ross, M. A., Lembi, C. A. (1989): Bioassay of photosynthetic inhibitors in water and aqueous soil extracts with Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*). Weed Sci. 37: 810-814.
- Senseman, S. A., Lavy, T. I., Mattice, J. D., Gbur, E. E., Skulman, B. W. (1997) : Trace level pesticide detections in Arkansas surface waters. Environ. Sci. Technol. 31: 395-401.
- Sikka, H. C., Lynch, R. S., Lindenberger, M. (1974): Uptake and metabolism of dichlobenil by emersed aquatic plants. J. Agr. Food Chem. 22: 230-235.
- Smart, R. M., Barko, J. W. (1985): Laboratory culture of submersed freshwater macrophytes on natural sediments. Aquatic Botany 21: 251-263.
- Smith, A. E. (1978): Relative persistence of di- and tri- chlorophenoxyalkanoic acid herbicides in Saskatchewan soils. Weed Res. 18: 275-279.
- Spalding, R. F., Snow, D. D. (1989): Stream levels of agrochemicals during a spring discharge event. Chemosphere 19: 1129-1140.
- Spence, D. H. N., Maberly, S. C. (1985): Occurrence and ecological importance of HCO<sub>3</sub> use among aquatic higher plants. In: Lucas, W. J., Berry, J. A. (eds.), Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms. Soc. Plant. Physiol. (Rockville, MD) : 125-145.
- Stephenson, R. R., Kane, D. F. (1984): Persistence and effects of chemicals in small enclosures in ponds. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13: 313-326.
- Stenström, J. (1992): Rate determining factors for the decomposition of pesticides in soil. Proceedings of the International Symposium on Environmental Aspects of Pesticide Microbiology 1992. Anderson, J. P. E., Arnold, D. J., Lewis, F., Torstensson, L. (eds.): 141-146.
- Streibig, J.C. (1988): Herbicide bioassay. Weed Research 28:479-484.

- Streibig, J. C., Tudemo, M., and Jensen, J. E. (1993): Dose response curves and statistical models. In: Streibig, J. C., and Kudsk, P. (eds.), *Herbicide bioassay*. CRC Press, Boca Raton, Fla. 29-55.
- Sutton, D. L. (1985): Biology , Ecology of *Myriophyllum aquaticum*. Proceeding, 1st International Symposium on watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*), related Haloragaceae species. 23-24 July. Vancouver, B. C: 59-71.
- Sutton, D. L., Durham, D. A., Bingham, S. W., Foy, C. L. (1969): Influence of simazine on apparent photosynthesis of aquatic plants and herbicide residue removal from water. *Weed Science* 17: 56-59.
- Taraldsen, J. E., Norberg-King, T. J. (1990): New method for determining effluent toxicity using duckweed (*Lemna minor*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 9: 761-767.
- Tomlin, C. (1994): *The pesticide manual*. Tenth Edition
- Turgut, C., Fomin, A. (2002): Residues of selected pesticides in the Küçük Menderes river in Turkey. *Zeitschrift für Pflanzenschutz und Pflanzenkrankheiten, Sonderheft XVIII*: 1053-1057.
- Walsh, E. W, Weber, D. E, Simon, T. L, Brashers, L. K., Moore, J. C. (1991): Use of marsh plants for toxicity testing of water and sediment. *Plants for toxicity Assessment: Second Volume*, ASTM STP 1115, Gorsuch, J.W., Lower, W.R., Wang, W. and Lewis, M.A. (eds.), American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 341-354.
- Wang, W. (1990): Literature review on duckweed toxicity testing. *Environmental Research* 52: 7-22.
- Westerdahl, H. E., Hall, J. F. (1987): Fluridone effects on stressed submersed macrophytes. *J. Aquat. Plant. Manage.* 25: 26-28.
- Westlake, D. F. (1974): *Macrophytes. A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments*. IBP Handbook No. 12. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Wilson, P. C., Whitwell, T., Klaine, S. J. (2000): Metalaxyl and simazine toxicity to and uptake by *Typha latifolia*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 282-288.
- Zaranyika, M. F., Mambo, E., Makhubalo, J. M. (1994): Organochlorine pesticide residues in the sediments of selected river bays in Lake Kariba, Zimbabwe. *The Science of the Total Environment* 142, 221-226.

## 10 Anhang

Tab. A1: Aufnahme von Trifluralin durch die Pflanze und die Konzentration in der Nährlösung

Zeit (Tag)	Aufnahme ( $\mu\text{g}$ Wirkstoff/kg Frischgewicht)	In Nährlösung (ng/l)
1	2809	1,845
4	119	2,342
7	861	5,953
10	189	6,998
14	26	1,065

Tab. A2: Aufnahme von 2,4-D durch die Pflanze und die Konzentration in der Nährlösung

Zeit (Tag)	Aufnahme ( $\mu\text{g}$ Wirkstoff/kg Frischgewicht)	In Nährlösung (ng/l)
1	37	4,3
4	33	6,4
7	17	7,6
10	17	8,5
14	15	7,0

Tab A3 a: Schwermetalle (ppm) in Sedimentproben aus der Donau (Duft et al. 2002)

Proben	Ag	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe
<b>Sediment 1</b>	0,202	3310	4,57	0,188	30,74	36,38	19,95	9136
<b>Sediment 2</b>	0,286	5954	2,78	0,170	23,73	20,82	38,85	9833
<b>Sediment 3</b>	0,374	28300	7,57	0,267	27,12	42,81	15,14	15300
<b>Sediment 4</b>	0,157	17520	2,65	0,121	36,03	26,67	7,68	9604

Tab A3 b: Schwermetalle (ppm) in Sedimentproben aus der Donau (Duft et al. 2002)  
(Fortsetzung)

Proben	Mn	Ni	Pb	Tl	Zn
<b>Sediment 1</b>	455,40	33,40	16,10	0,297	72,44
<b>Sediment 2</b>	350,20	18,91	13,50	0,232	58,47
<b>Sediment 3</b>	584,00	25,13	18,24	0,411	77,87
<b>Sediment 4</b>	361,80	11,68	15,04	0,181	43,49

## **Danksagung**

Frau PD Dr. Anette Fomin danke ich für die Überlassung des Themas, für die hervorragende Betreuung, die Förderung und stetige Unterstützung.

Mein Dank gilt auch Prof. Dr. V. Römheld für ihre Bereitstellung zur Mitberichterstattung.

Besonders danke ich Herrn Prof. Dr. A. Fangmeier für die Abnahme der Doktorprüfung, die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die Unterstützung in den letzten 2 Jahren.

Herrn Prof. Dr. Buchenauer und Herrn Jürgen Kreer danke ich für die Bereitstellung des Isotopenlabors bei den Untersuchungen im Institut für Phytomedizin.

Dem Türkischen Erziehungsministerium danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Desweiteren bedanke ich mich bei Frau Dr. Heidrun Moser, Dr. Christina Pickl und Herrn Dr. Uwe Veit von Firma Ökotox für die menschliche und fachliche Unterstützung.

Danken möchte ich auch Herrn PD Dr. Andreas Klumpp für seine stetige Hilfe und für sein jederzeit offenes Ohr.

Bedanken möchte ich mich auch bei Dipl. Ing. agr. Iris Waikinat, Dipl. agr. Biol. Monika Gilliard, Monika Dirk, Gina Gansheimer für das kritische Korrekturlesen und Frau Patricia Schick, Ulrike Schneider und Herrn Adam Grezichen für ihre Hilfe. Auch Herrn Dipl. Ing. hort. Georg-Heinrich Zeltner danke ich sehr herzlich für seine moralische Unterstützung.

Frau Dipl. Biol. Simone Weber, Herrn Dipl. Biol. Martin Erbs, Dr. Jürgen Franzaring und Frau Dr. Petra Högy danke ich herzlich für freundliche Unterstützung und angenehme Gespräche.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Fachgebiets Pflanzenökologie und Ökotoxikologie und des gesamten Instituts für Landschafts- und Pflanzenökologie danke ich für die angenehme Atmosphäre und die freundliche Aufnahme.

All jenen, die nicht namentlich genannt sind und die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, gilt mein herzlicher Dank.





