

## PRÜFUNG DER AUSWIRKUNGEN VON PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF REGENWÜRMER IM LABOR UND IM FREILAND AM BEISPIEL ZWEIER INSEKTIZIDE

Hartmut Kula und Christine Kokta

### ABSTRACT

Pesticides used in agroecosystems may have side effects on the soil fauna. The toxicity of two insecticides for earthworms were tested under laboratory and field conditions. In laboratory tests *Eisenia foetida*, *Allolobophora caliginosa* and *Allolobophora longa* showed different sensitivity towards the pesticides tested. In a long-term laboratory study with *E. foetida* earthworms in treated soil had less reproductive success.

In field tests, effects on abundance and biomass were observed throughout the observation period of one year. Juvenile earthworms seemed to be more susceptible to pesticides than adults.

keywords: *insecticides*, *side effects*, *earthworm*, *Eisenia foetida*, *Allolobophora caliginosa*, *Allolobophora longa*

### 1. EINFÜHRUNG

Das Pflanzenschutzgesetz der Bundesrepublik Deutschland vom 15.09.1986 sieht die Prüfung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf den Naturhaushalt vor, um nach dem Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis nicht vertretbare Auswirkungen zu vermeiden. Der Boden mit seiner Vielzahl an Organismen stellt einen Teilbereich des Naturhaushaltes dar. Regenwürmer als wichtige Primärzersetzer wurden daher als Prüforganismen im Rahmen der Zulassungsprüfungen ausgewählt (BODE et al. 1988).

Vorgesehen ist ein dreistufiger Prüfablauf:

- 1. Stufe: Laborprüfung zur Ermittlung der akuten Toxizität (nach OECD-Richtlinie Nr. 207)
- 2. Stufe: erweiterte Laborprüfung (eventuell Halbfreilandprüfung)
- 3. Stufe: Freilandprüfung

Die Regenwurmpfung wurde 1989 in das Zulassungsverfahren aufgenommen. Danach müssen alle Mittel in der ersten Stufe zunächst eine Laborprüfung durchlaufen. Die zweite und dritte Prüfstufe dienen der weiteren Untersuchung solcher Mittel, die in der Laborprüfung Auswirkungen zeigen. Die vorliegenden Arbeiten sollen zur Weiterentwicklung und Standardisierung der erweiterten Laborprüfung und der Freilandprüfung beitragen. Neben methodischen Aspekten sind wichtige zu klärende Fragen die Bewertung der auftretenden Effekte, die Zusammenhänge zwischen Labor- und Freilandbefunden und die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Praxisbedingungen.

### 2. ARBEITSMETHODEN

#### 2.1 Methodik der Laborprüfung

Die Prüfungen der akuten Toxizität wurden vergleichend mit dem Kompostwurm *Eisenia foetida* aus einer Laborzucht und im Freiland gefangenen Tiere von *Allolobophora caliginosa* und *Allolobophora longa* durchgeführt. Die Tiere wurden für 14 Tage in einem künstlichen

Substrat aus Torf, Quarzsand, Kaolin und Kalk (artificial soil) gehalten, in das das zu prüfende Pflanzenschutzmittel in verschiedenen Konzentrationen eingearbeitet war (OECD-Richtlinie Nr. 207). Abweichend von dieser Richtlinie wurde mit gemahlenem Rinderdung zugefüttert. Prüfkriterien waren die Mortalität nach 14 Tagen (Ermittlung der  $LC_{50}$ ) und die Gewichtsentwicklung im Testverlauf.

## 2.2. Methodik der erweiterten Laborprüfung (Langzeitversuch)

In einem praxisnäheren Versuchsansatz wurde das Pflanzenschutzmittel nicht in das Substrat (artificial soil) eingearbeitet, sondern mit einer Handspritze gleichmäßig auf die Bodenoberfläche ausgebracht. Hiermit sollte eine praxisnahe Freilandsituation mit ihren Kontaminationsmöglichkeiten simuliert werden. Durch die längere Versuchsdauer (70 Tage) sollten außerdem Informationen über den Einfluß von Pflanzenschutzmitteln auf die Reproduktionsleistung gewonnen werden.

Im Langzeitversuch wurde das in der Praxis häufig angewendete Insektizid "E 605 forte" (Wirkstoff: Parathion) getestet. Neben der üblichen Aufwandmenge von 210 ml/ha wurde eine 10-fache und eine 20-fache Überdosierung geprüft. Jede Variante wurde in 3-facher Wiederholung angelegt. Als Versuchstier diente *Eisenia foetida*. Nach der Applikation wurde gemahlener Rinderdung als Futter auf die Oberfläche gestreut und leicht angefeuchtet. Im Abstand von 7 Tagen wurde die Freßaktivität abgeschätzt und Futter nachgestreut.

## 2.3. Methodik der Freilandprüfung

Die Versuche wurden in zwei begrünten, aufgelassenen Obstanlagen durchgeführt. Die Versuchspartellen hatten ein Ausmaß von 14 x 14 m. Je Pflanzenschutzmittelanwendung wurden 4 echte Wiederholungen angelegt, die gegen unbehandelte Kontrollpartellen geprüft wurden. Es wurden zwei breit wirksame Insektizide ausgewählt und in folgender, bei der Zulassung vorgesehenen Aufwandmenge appliziert:

- "E 605 forte" (Wirkstoff: Parathion, Aufwandmenge 210 ml/ha)
- "Unden flüssig" (Wirkstoff: Propoxur, Aufwandmenge 900 ml/ha)

Die Pflanzenschutzmittel wurden mit einer Druckluft-Handspritze (Wasseraufwandmenge: 300 l/ha) direkt auf den Boden aufgebracht (Applikationsdatum: 10.06.1988). Die Versuchsfelder wurden einige Tage vor der Applikation maschinell gemulcht.

Die erste Probennahme erfolgte 4 Wochen nach der Applikation, die zweite 4 Monate (nach der Sommerdiapause) und die dritte 11 Monate später (im darauffolgenden Frühjahr). Aufgrund der trockenen Witterung konnten im Frühjahr 1989 die mit "Unden flüssig" behandelten Partellen nicht beprobt werden.

Zur Erfassung der Regenwürmer wurden vergleichend zwei Methoden benutzt:

- Formolmethode (10 Liter 0,2 % Formol, 2 x 15 min Extraktion) - abgekürzt: F
- Elektromethode (Oktettmethode nach THIELEMANN (1986), 60 V Wechselstrom, max. 2,5 Ampere, 30 min. Extraktion) - abgekürzt: E

Je Versuchspartelle und Probetermin wurden 8 - 10 Einzelproben von 0,25 m<sup>2</sup> im Mindestabstand von 1 m genommen. Das Tiermaterial wurde in 5 % Formol fixiert. Zur Biomassebestimmung wurden die Tiere gesäubert, auf Zellstoff abgetrocknet und dann gewogen.

## 3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### 3.1. Laborprüfung

Die von HAQUE und EBING (1983) und HEIMBACH (1985) zwischen *Eisenia foetida* und *Lumbricus terrestris* nachgewiesenen Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber Pflanzenschutzmitteln ließen sich auch zwischen *Eisenia foetida* und *Allolobophora caliginosa* sowie *Allolobophora longa* zeigen (s. Tab. 1). Für die Bewertung der Versuchsergebnisse der Laborprüfung mit *Eisenia foetida* ist dieser Unterschied gegenüber einheimischen Arten von großer Bedeutung. Hier müssen weitere Versuche zeigen, ob diese Unterschiede durch einen Sicherheitsfaktor berücksichtigt werden können.

Tab. 1: Vergleich der LC<sub>50</sub>-Werte (mg/kg Trockensubstanz) von *Eisenia foetida* und einheimischen *Allolobophora*-Arten

|                                 | E 605 forte | Uden flüssig |
|---------------------------------|-------------|--------------|
| <i>Eisenia foetida</i>          | 430-530     | 251          |
| <i>Allolobophora caliginosa</i> | 126         | 4,5          |
| <i>Allolobophora longa</i>      | 119         | 3,8          |

Als ein geeigneter Indikator für subletale Schädigungen kann die Gewichtsveränderung betrachtet werden, da schon bei niedrigen Testkonzentrationen deutliche Effekte auftraten. Diese ließen sich jedoch aufgrund der relativ geringen Anzahl von Wiederholungen nicht statistisch absichern.

### 3.2. Erweitere Laborprüfung (Langzeitversuch)

Im Langzeitversuch mit *Eisenia foetida* trat bei einer Kontamination der Bodenoberfläche selbst bei 20-facher Überdosierung keine Mortalität auf (s. Tab. 2). Die Tiere der behandelten Varianten mieden jedoch in den ersten Wochen die oberste Bodenschicht, was sich in einer z.T. erheblich reduzierten Fraßaktivität widerspiegelte. Deutliche Auswirkungen zeigten sich auch in der Reproduktionsleistung, wobei in den Kontrollen 2,5 mal mehr Jungtiere als in den behandelten Varianten auftraten. Die bei der Kokonproduktion auftretenden Unterschiede lagen innerhalb der Schwankungsbreite. Dies deutet darauf hin, daß die Jungtiere in den behandelten Varianten nach dem Schlupf einer erhöhten Mortalität unterliegen. Auch die Schlupfrate oder die Anzahl der Jungtiere pro Kokon könnten vermindert sein. Zur Klärung der Pflanzenschutzmittelauswirkungen insbesondere auf Jungtiere bedarf es noch intensiverer Forschung.

Von Bedeutung erscheint außerdem, daß schon bei 1-facher Konzentration (also praxisnaher Konzentration) ein Schwellenwert überschritten scheint, nach dessen Erreichen sich die Mittelwirkung selbst bei 20-facher Überdosierung nicht mehr wesentlich ändert. Auch in diesem orientierenden Versuch war eine statistische Absicherung mangels ausreichender Anzahl an Wiederholungen nicht möglich.

Tab. 2: E 605 forte - Langzeitversuch mit *Eisenia foetida*

|           | überlebende Tiere | Anzahl Jungtiere | Anzahl Kokons | Veränderung Gesamtbiomasse | Fraßaktivität (0, 1, 2, 3) |
|-----------|-------------------|------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| Kontrolle | 100 %             | 406 ± 108        | 104 ± 15      | 186 ± 21 %                 | 2,9                        |
| 1 x       | 100 %             | 164 ± 85         | 69 ± 9        | 151 ± 23 %                 | 1,8                        |
| 10 x      | 100 %             | 174 ± 144        | 77 ± 22       | 152 ± 28 %                 | 1,7                        |
| 20 x      | 100 %             | 157 ± 22         | 97 ± 36       | 153 ± 11 %                 | 1,4                        |

Konzentration 1 x entspricht einer Aufwandmenge von 210 ml/ha; Fraßaktivität: 0 = keine Fraßaktivität, 1 = geringe Fraßaktivität, große Futterreste, 2 = mittlere Fraßaktivität, lokale Futterreste, 3 = hohe Fraßaktivität, keine Futterreste

### 3.3. Freiland

Der durchschnittliche Regenwurmbesatz der Kontrollparzellen lag bei 420 Ind./m<sup>2</sup>, die Biomasse bei 143 g/m<sup>2</sup> (Formolmethode, Herbstwerte). Alle Angaben über prozentuale Veränderungen beziehen sich auf die Werte der Kontrollparzellen zum jeweiligen Probetermin. Die beiden untersuchten Pflanzenschutzmittel zeigten unterschiedliche Auswirkungen: Bei "E 605 forte" wurde 4 Wochen nach der Applikation in der Summe aller Arten ein starker

Populationsrückgang von bis zu 42 % (F) beobachtet (s. Tab. 3). Im Herbst betrug die Reduktion ca. 15 %, während ein Jahr nach Applikation mit 30 % (F) bzw. 23 % (E) wieder ein deutlicher Unterschied zur Kontrolle vorlag.

**Tab. 3:** Prozentuale Veränderung des Regenwurmbesatzes der behandelten Flächen gegenüber Kontrollflächen (Mittelwerte von 3-4 Wiederholungen mit je 8-10 Einzelproben)

|                      | Formolmethode                      |                                 | Elektromethode                     |                                 |
|----------------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|                      | Abundanz<br>(Ind./m <sup>2</sup> ) | Biomasse<br>(g/m <sup>2</sup> ) | Abundanz<br>(Ind./m <sup>2</sup> ) | Biomasse<br>(g/m <sup>2</sup> ) |
| <b>E 605 forte</b>   |                                    |                                 |                                    |                                 |
| Frühjahr 1988        | - 42 %                             | - 38 %                          | - 35 %                             | - 24 %                          |
| Herbst 1988          | - 13 %                             | - 8 %                           | - 16 %                             | - 6 %                           |
| Frühjahr 1989        | - 30 %                             | - 23 %                          | --                                 | --                              |
| <b>Unden flüssig</b> |                                    |                                 |                                    |                                 |
| Frühjahr 1988        | - 26 %                             | - 25 %                          | - 17 %                             | - 4 %                           |
| Herbst 1988          | + 14 %                             | + 17 %                          | + 6 %                              | + 18 %                          |
| Frühjahr 1989        | --                                 | --                              | --                                 | --                              |

Tab. 4 zeigt am Beispiel von *Lumbricus terrestris*, daß Jungtiere von den Mittelauswirkungen stärker betroffen werden als Adulte. Dies läßt sich wahrscheinlich auf den bevorzugten Aufenthalt der Jungtiere in den oberen Bodenschichten zurückführen. Bei "E 605 forte" zeigte sich die überproportionale Abnahme der Jungtiere bei allen vorkommenden Arten, somit also bei allen drei Lebensformtypen (s. Tab. 4-6). Dies verdeutlicht auch das Gesamtverhältnis Juvenile/Adulte, wie in Tab. 7 aufgeführt. 4 Monate nach Applikation betrug dieses Verhältnis in den Kontrollparzellen 2,10, während es in den behandelten Parzellen bei 1,56 lag, was einer Reduktion in der Abundanz der Jungtiere von 26 % (F) entspricht. 1 Jahr danach betrug die Reduktion insgesamt noch 8 % (F), was innerhalb der Schwankungsbreite liegt. Dieser summarische Wert spiegelt jedoch die unterschiedlichen Reaktionen der einzelnen Arten nicht wider (s. Tab. 4-6).

**Tab. 4:** Prozentuale Veränderung der Abundanz und Biomasse von *Lumbricus terrestris* (Mittelwerte von 3-4 Wiederholungen mit je 8 Stichproben. (Formolmethode))

|                        | E 605 forte |               | Unden flüssig |               |
|------------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|
|                        | Herbst 1988 | Frühjahr 1989 | Herbst 1988   | Frühjahr 1989 |
| <b>Adulte</b>          |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | + 8 %       | - 34 %        | + 34 %        | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | + 4 %       | - 31 %        | + 26 %        | --            |
| <b>Subadulte</b>       |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 16 %      | + 13 %        | - 4 %         | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 31 %      | - 8 %         | - 8 %         | --            |
| <b>Juvenile</b>        |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 11 %      | - 43 %        | - 35 %        | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 11 %      | - 46 %        | - 10 %        | --            |
| <b>Summe</b>           |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 6 %       | - 28 %        | + 2 %         | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 7 %       | - 25 %        | + 14 %        | --            |

Tab. 5: Prozentuale Veränderung der Abundanz und Biomasse von *Lumbricus castaneus* (Mittelwerte von 3-4 Wiederholungen mit je 8 Stichproben, Elektromethode)

|                        | E 605 forte |               | Unden flüssig |               |
|------------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|
|                        | Herbst 1988 | Frühjahr 1989 | Herbst 1988   | Frühjahr 1989 |
| Adulte                 |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 4 %       | - 23 %        | + 8 %         | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 1 %       | - 24 %        | + 3 %         | --            |
| Juvenile               |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 33 %      | + 26 %        | - 11 %        | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 29 %      | ± 0 %         | - 14 %        | --            |
| Summe                  |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 20 %      | - 20 %        | - 3 %         | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 11 %      | - 23 %        | - 4 %         | --            |

Tab. 6: Prozentuale Veränderung der Abundanz und Biomasse der *Allolobophora*-Arten *A. caliginosa*, *A. rosea* und *A. chlorotica* (Mittelwerte von 3-4 Wiederholungen mit je 8 Stichproben, Formolmethode)

|                        | E 605 forte |               | Unden flüssig |               |
|------------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|
|                        | Herbst 1988 | Frühjahr 1989 | Herbst 1988   | Frühjahr 1989 |
| Adulte                 |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 10 %      | - 14 %        | + 4 %         | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 13 %      | - 7 %         | + 4 %         | --            |
| Juvenile               |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 21 %      | - 44 %        | + 15 %        | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 24 %      | - 26 %        | + 21 %        | --            |
| Summe                  |             |               |               |               |
| (Ind./m <sup>2</sup> ) | - 18 %      | - 35 %        | + 12 %        | --            |
| (g/m <sup>2</sup> )    | - 20 %      | - 14 %        | + 14 %        | --            |

Tab. 7: Verhältnis Juvenile/Adulte (Abundanz, Summe aller Arten)

|                      | Herbst 1988 | Frühjahr 1989 |
|----------------------|-------------|---------------|
| <b>Kontrolle</b>     |             |               |
| Formolmethode        | 2,10 ± 0,99 | 1,77 ± 0,09   |
| Elektromethode       | 1,85 ± 0,70 | --            |
| <b>E 605 forte</b>   |             |               |
| Formolmethode        | 1,56 ± 0,65 | 1,65 ± 0,70   |
| Elektromethode       | 1,71 ± 1,05 | --            |
| <b>Unden flüssig</b> |             |               |
| Formolmethode        | 2,08 ± 1,22 | --            |
| Elektromethode       | 2,10 ± 0,55 | --            |

Bei "Unden flüssig" zeigte sich ein anderes Bild. Nach anfänglichen Rückgang um 26 % (F) bzw. 17 % (E) kam es im Herbst zu einer Zunahme um 14 % (F) bzw. 6 % (E) (s. Tab. 3). Bei *Lumbricus terrestris* und *Lumbricus castaneus* ließe sich die Zunahme durch eine Zuwanderung adulter Tiere erklären. Ein Populationszuwachs durch Reproduktion scheint nicht vorzuliegen, da Jungtiere dieser Arten überproportional dezimiert wurden (s. Tab. 4 und 5). Bei "Unden flüssig" wird aber im Gegensatz zu "E 605 forte" diese Abnahme durch die stärkere Vermehrung der Mineralbodenformen (*Allolobophora ssp.*), die den größten Anteil am Regenwurmbesatz ausmachen, kompensiert (s. Tab. 6).

#### 4. AUSBLICK

Gerade bei der Betrachtung der Ergebnisse der Freilandversuche zeigt sich, welche Wissensdefizite noch bei der Bewertung von Pflanzenschutzmittel-Auswirkungen auf Regenwürmer bestehen. Es bleibt zu klären, ob die beobachteten Veränderungen im Rahmen der natürlichen Schwankungsbreite liegen oder ob sie auf Dauer zu einer nachhaltigen Schädigung der Regenwurmpopulationen führen können.

#### LITERATUR

- ANONYMOUS 1984: OECD Guideline for testing of chemicals No. 207. - Earthworm, acute toxicity test. 4. April 1984.
- BODE E., BRASSE D., KOKTA C., 1988: Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Nutzorganismen und Bodenfauna - Überlegungen zur Prüfung im Zulassungsverfahren. - Gesunde Pflanzen 40: 239-244.
- HAQUE A., EBING W., 1983: Toxicity determination of pesticides to earthworms in the soil substrate. - Z. Pfl.Krankh. Pfl.schutz 90: 395-408.
- HEIMBACH F., 1985: Comparison of laboratory methods, using *Eisenia foetida* and *Lumbricus terrestris*, for the assessment of the hazard of chemicals to earthworms. - Z. Pfl.Krankh. Pfl.schutz 92: 186-193.
- THIELEMANN U., 1986: Elektrischer Regenwurmfang mit der Oktett-Methode. - Pedobiologia 29: 297-303.

#### ADRESSE

Dipl.-Biol. Hartmut Kula  
Zoologisches Institut  
TU Braunschweig  
Pockelsstr. 10a  
D-W-3300 Braunschweig

Dipl.-Biol. Christine Kokta  
Biologische Bundesanstalt für  
Land- und Forstwirtschaft  
Fachgruppe für zoologische  
Mittelprüfung  
Messeweg 11/12  
D-W-3300 Braunschweig

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1991

Band/Volume: [19\\_3\\_1991](#)

Autor(en)/Author(s): Kula Hartmut, Kokta Christine

Artikel/Article: [Prüfung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Regenwürmer im Labor und im Freiland am Beispiel zweier Insektizide 171-176](#)