

# Entwicklung eines terrestrischen Multispezies-Systems als Beitrag zur ökotoxikologischen Wirkungsanalyse

Susanne Smolka, Corinna Gefken und Gerd Weidemann

## Synopsis

Development of a terrestrial multispecies-system as contribution to ecotoxicological effect assessment.

In order to improve ecotoxicological effect assessment a terrestrial laboratory microcosm was developed. A predator-prey relationship is established with the Gamasina *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1883 and the free-living soil nematode *Rhabditis maupasi* Seurat, 1919. As habitat an artificial substrate is used. The system is described in detail and the population dynamics of the Gamasina is analyzed. The results show that the system is functioning as a whole and can be maintained for two generations of the Gamasina.

Ökotoxikologie; Ökotoxikologische Wirkungsabschätzung; terrestrisches Multispezies-System; Labor-Mikrokosmos; Räuber-Beute Beziehung; *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1883; *Rhabditis maupasi* Seurat, 1919.

ecotoxicology; ecotoxicological effect assessment; terrestrial testsystem; laboratory microcosm; predator-prey relationship; *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1883; *Rhabditis maupasi* Seurat, 1919.

## 1 Einleitung

Aufgabe der Ökotoxikologie ist es, das von Umweltchemikalien ausgehende Risiko für Populationen, Biozönosen und Ökosysteme abzuschätzen (SRU 1987, MATHES & WEIDEMANN 1991, RÖMBKE & MOLT-MANN 1996). Um sich diesem Ziel zu nähern, sollten im Rahmen der ökotoxikologischen Wirkungsabschätzung Multispezies-Testsysteme verstärkt einbezogen werden (SMOLKA & WEIDEMANN 1995). Der Vorteil, verschiedene Organismenarten innerhalb eines Modellsystems zu integrieren, liegt u. a. in der Beobachtung direkter und indirekter Chemikalieneffekte auf der Populationsebene über einen längeren Zeitraum.

Entwickelt wurde ein kleiner, künstlich zusammengesetzter Labor-Mikrokosmos mit einer dreigliedrigen Nahrungskette. Die Assoziation von Hefezellen und einer sich im System etablierenden Mikroflora dient als Nahrungs- und Stabilisierungskomponente, die freilebende bakterienfressende Bodennematode *Rhabditis maupasi* Seurat, 1919 als Primärkonsument und Beutetier und die Raubmilbe *Hypoaspis aculeifer*

Canestrini, 1883 als Sekundärkonsument. Als Bodenmatrix enthält das System eine feste Agarschicht. Die Entscheidung, kein natürliches Bodensubstrat zu verwenden, läßt sich einerseits aus den sehr unterschiedlichen Ansprüchen von Nematoden und Raubmilben an ihren Lebensraum begründen. Andererseits konnte hierdurch das Ziel erreicht werden, zumindest die Populationsentwicklung des Räubers ohne destruktiven Eingriff in das System verfolgen zu können. Das homogene und durchscheinende Substrat erlaubt die direkte Beobachtung der Milben unter dem Stereo-Mikroskop.

Die Auswahl der Tiergruppen der Nematoden und der Milben (Acari) gründet sich auf ihre große ökologische Relevanz für das Bodenleben. Insbesondere freilebende Nematoden der Ordnung *Rhabditida* und Raubmilben (*Gamasina*) gewinnen sowohl als Testorganismen als auch als Indikatoren, beispielsweise für den Zustand von Agrarbiozönosen, zunehmend an Bedeutung (SCHLOSSER & RIEPERT 1992, KARG 1995, TRAUNSPURGER & al. 1995). Für die Herstellung einer Räuber-Beute Beziehung ist die Raubmilbenart *Hypoaspis aculeifer* besonders geeignet, da sie sich gut als Labororganismus handhaben läßt.

Der methodische Ansatz sowie Ergebnisse der Eignungsprüfung werden im Fokus auf die Raubmilbe vorgestellt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Kultivierung

Alle Zucht- und Versuchsansätze werden in einer Klimakammer unter gleichen Bedingungen gehalten (s. Tab. 1).

### 2.2 Zucht und Hälterung

*Hypoaspis aculeifer*. Als Zuchtgefäße dienen Kunststoffbehälter mit abschließendem Deckel, deren Boden ca. 1 cm hoch mit einem Gips-Aktivkohle-Gemisch (9 : 1, angesetzt mit Bidest.) ausgegossen ist. Durch Zugabe einiger Tropfen Bidest. wird das Substrat ohne oberflächliche Nässe feucht gehalten. Als lebende Beute werden ca. 2 x wöchentlich astigmaten Milben der Art *Caloglyphus michaeli* verfüttert. Diese werden unter gleichen Bedingungen gehalten und mit Haferflocken aufgezogen.

*Rhabditis maupasi*: Die Art wurde aus der obersten Bodenschicht eines Trockenrasens nahe der Universität Bremen isoliert und seit 1992 als Laborzucht gehalten. Die Zucht erfolgt unter den gleichen Bedingungen wie im *Mikrokosmen*-Ansatz (s. Abschnitt 2.3.).

### 2.3 Aufbau des Standard-Mikrokosmos

Konstruktion und zeitlicher Ablauf lassen sich aus Tab. 1 und Abb. 1 entnehmen. Da das Substrat selbst für die Eiablage der Raubmilbe eher ungünstig ist, bietet die eingesetzte Kunststoffgaze eine zusätzliche räumliche Struktur.

Das einheitliche Alter der eingesetzten Raubmilben-Weibchen erfolgt durch Isolierung von Larven, dem Stadium mit der kürzesten Entwicklungsdauer. Die adulten Weibchen sind potentiell befruchtet, da in der Hälterung nicht nach Geschlechtern getrennt wird.

Die eingesetzten adulten Weibchen von *Rh. maupasi* werden nach ihrer Körperlänge und Eibildung identifiziert (BONGERS 1994). Wichtig ist der zeitliche Vorlauf von einer Woche bei der Nematodenentwicklung, um eine optimale Individuendichte zu erreichen.

### 2.4 Beobachtungsgrößen

Als Parameter dienen Letalität, Eiproduktion und Populationsentwicklung unter Differenzierung der unterschiedlichen Entwicklungsphasen von *H. aculeifer*. In der Regel werden die Stadien der Proto- und Deutonymphen zusammengefaßt. Zur Ermittlung der Individuenzahlen von *Rh. maupasi* ist die Zerstörung des Mikrokosmos notwendig. Über 24 h Lebendextraktion werden vitale Nematoden aus dem Agar in steriles Leitungswasser ausgetrieben (modifiziert nach O'CONNOR 1955, HAGUE & al. 1983) und nach definierter Verdünnung die Individuenzahlen im Aliquot (jeweils 3 x 1 ml) ausgezählt.

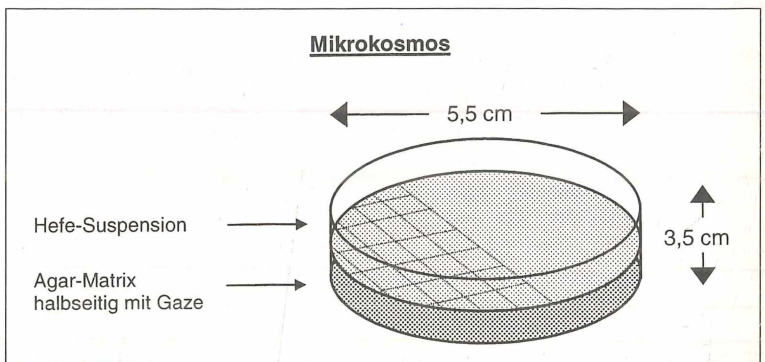
Tab. 1  
Konstruktion des Standard-Mikrokosmos (pro Versuchseinheit).

Table 1  
Construction of the standard-microcosm (per test unit).

Zeit (d)	Kultivierung	
	Klimakammer	20 ± 0,8° C, 75 % rF, Dunkel : Schwachlicht-Wechsel (12h :12 h, Weißlicht, ca. 5 Lux)
	Gefäß	geschlossene Polystyrol-Dose
1	Bodenmatrix	20 ml Agar (18 g / l Bidest., autoklaviert), Kunststoffgaze (halbseitig)
<b>Organismen</b>		
1	<i>S. cerevisiae</i>	1 ml Bäckerhefe / Malzextrakt-Suspension (20 g / 1 g / 100 ml H <sub>2</sub> O <sub>steril</sub> ), ≈ 1 x 10 <sup>6</sup> Zellen/ml Suspension
2	<i>Rh. maupasi</i>	10 adulte Weibchen (> 1,9 mm)
9	<i>H. aculeifer</i>	1 bis 10 adulte Weibchen je nach Versuchsansatz (Alter 30 ± 3 Tage, vor der ersten Eiablage)

Abb. 1  
Schematischer Aufbau des Standard-Microcosmos.

Fig. 1  
Construction of the standard-microcosm.



### 3 Ergebnisse der Eignungsprüfung des Mikrokosmos

Zur Beurteilung des Räuber-Beute-Systems wurde die Populationsdynamik der Raubmilbe vergleichend analysiert (Tab. 2). Eine zu klärende Frage ist die Eignung des gewählten Beutetieres und des Substrats (»Agar / *Rh. maupasik*«). Als Vergleichsansatz diente das standardisierte Zuchtverfahren von *H. aculeifer* (vgl. Abschnitt 2.2.) auf Gips-Aktivkohle-Substrat und Futtermilben (»Gips/*Caloglyphus*«). Als weitere Kombination wurden die Nematoden durch Futtermilben im System ersetzt (»Agar / *Caloglyphus*«). Zur Prüfung des Einflusses der Hefe-Malz-Komponente auf die Raubmilbe wurde diese ohne Beutetier auf dem Agar-Substrat gehalten (»Agar/ohne Beute«). Eiablage und Populationsentwicklung der Nachkommen eines adulten

Weibchens (jeweils 5 Parallelen) wurden über einen Zeitraum von 124 Tagen verfolgt. Die Weibchen wurden dabei jede Woche in frisch hergestellte Versuchsgläser umgesetzt. Während die Zugabe von Futtermilben je nach Bedarf erfolgte, wurde kein Eingriff bei den Nematodenansätzen vorgenommen.

Tabelle 2 faßt die Befunde zu Lebensdauer der eingesetzten adulten Weibchen sowie zur Eiproduktion und Entwicklungs- bzw. Überlebensraten der Nachkommen bis zum Adultenstadium zusammen. Abbildung 2 zeigt die mittlere wöchentliche Eiproduktion von *H. aculeifer* über die gesamte Reproduktionsphase.

Es zeigt sich eine gute Vergleichbarkeit zwischen der Standardhaltung (II) und der konstruierten Nahrungskette (I), obgleich, wie aus Abb. 2 ersichtlich, bei letzterer eine leicht verlängerte Ovipositions-

Tab. 2  
Reproduktion und Populationsentwicklung von *H. aculeifer* bei unterschiedlichen Substrat und Nahrungsangeboten.

Versuchsansatz (n=5)	Lebensspanne F <sub>0</sub> -W. in Tagen	Gesamt Eiablage/W. MW (Min./Max.)	mittlere Eizahl/W. /Tag *	F <sub>1</sub> -Generation ** Entwicklungsrate (Ei → Adult) in %
I (»Agar/ <i>Rh. maupasik</i> )	111–>154	96,7 (82–110)	1,6	78 (s = 9,0)
II (»Gips/ <i>Caloglyphus</i> )	95– 128	118,5 (112–125)	1,9	80 (s = 7,4)
III (»Agar/ <i>Caloglyphus</i> )	85– 116	85,7 (51–102)	1,4	48 (s = 16,3)
IV (»Agar/ohne Beute«)	86–>154	5,4 (2–8)	0,09	0

\* bezogen auf die Eiablage der ersten 56 Tage (8 Wochen); \*\* Entwicklung der innerhalb der ersten 4 Wochen abgelegten Eier W. = Weibchen; MW = arithmetischer Mittelwert; s = Standardabweichung.

Table 2  
Reproduction and population growth of *H. aculeifer* using different conditions of substrate and food supply.

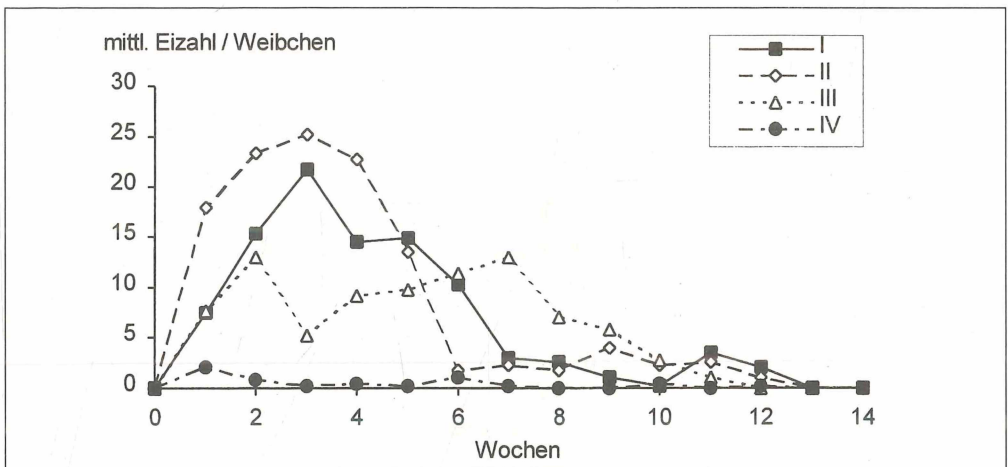


Abb. 2  
Wöchentliche Eiablage durch *H. aculeifer* bei unterschiedlichem Substrat und Beuteangebot: I = »Agar / *Rh. maupasik*«, II = »Gips / *Caloglyphus*«, III = »Agar / *Caloglyphus*«, IV = »Agar/ohne Beute« (Mittelwerte, n = 5 Versuchseinheiten).

Fig. 2  
Weekly egg production by *H. aculeifer* using different substrate and food supply: I = »agar / *Rh. maupasik*«, II = »plaster of Paris / *Caloglyphus*«, III = »agar/*Caloglyphus*«, IV = »agar / without prey« (mean values, n = 5 test units).

periode und eine leicht geringere Eiproduktion festzustellen ist. Als deutlich ungünstiger, insbesondere auf die Entwicklung der Nachkommen, erweist sich die Kombination von Futtermilbe auf Agar (III). Ohne Beute (IV) treten Nahrungsmangel-Bedingungen auf, wobei die Weibchen ein vergleichsweise hohes Alter erreichen, die Nachkommen sich jedoch nur bis zum Protonymphen-, vereinzelt bis zum Deutonymphenstadium entwickeln.

Die Entwicklungsdauer der Einzelstadien ist für die Ansätze I und II nahezu identisch: Ei: 6–8 Tage, Larve: 3 Tage und Proto-/Deutonymphen: 17–20 Tage. Deutliche Unterschiede des Geschlechterverhältnisses werden ebenfalls nicht festgestellt. Bezogen auf den Anteil Weibchen an den Nachkommen der ersten vier Wochen ( $n = 20$  Versuchseinheiten) liegen die Befunde beider Ansätze mit Mittelwerten von 0,77 bzw. 0,79 und Standard-

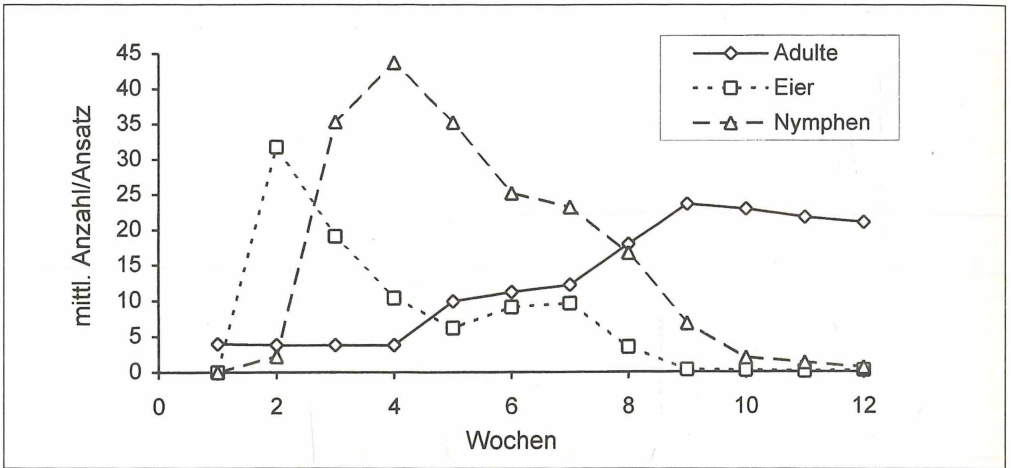


Abb. 3a  
Populationsentwicklung von *H. aculeifer* (4 Weibchen bei  $t_1$ ) im ungestörten Mikrokosmos (Mittelwerte,  $n = 10$  Versuchseinheiten).

Fig. 3a  
Population growth of *H. aculeifer* (4 females at  $t_1$ ) in the microcosm without interference (mean values,  $n = 10$  test units).

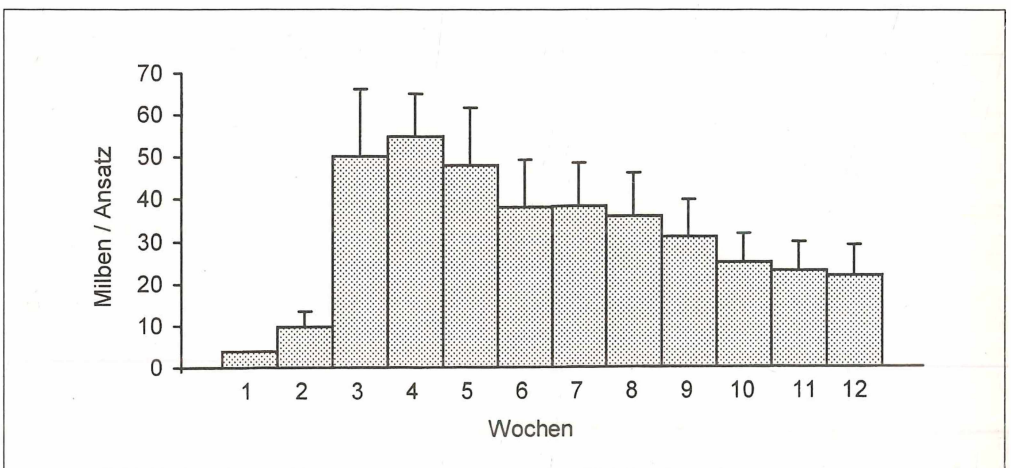


Abb. 3b  
Populationsentwicklung von *H. aculeifer* (4 Weibchen bei  $t_1$ ) im ungestörten Mikrokosmos; Gesamtzahl der Milben: Larven, Proto-/Deutonymphen, Adulte (Mittelwerte und Standardabweichungen,  $n = 10$  Versuchseinheiten).

Fig. 3b  
Population growth of *H. aculeifer* (4 females at  $t_1$ ) in the microcosm without interference; total number of mites: larvae, proto-/deutonymphs, adults (mean values and standard derivations,  $n = 10$  test units).



abweichungen von 0,27 bzw. 0,18 ebenfalls nahe beieinander.

In einem weiteren Experiment wurde die Populationsentwicklung der Raubmilbe im ungestörten Mikrokosmos über 12 Wochen beobachtet (Abb. 3a, 3b). Es zeigt sich eine den obigen Befunden vergleichbare Dauer der einzelnen Entwicklungsphasen. Da jeweils 4 adulte Weibchen pro Versuchseinheit eingesetzt wurden, erreichen aufgrund der höheren Organismendichte weniger Nachkommen das Adultenstadium. Neben dem eingeschränkten Nahrungsangebot im späteren Verlauf ist selektiver Kannibalismus (der Weibchen) als ein Effekt anzunehmen (RUF 1989). Die Populationsentwicklung läßt sich jedoch bis zur zweiten Generation ohne Manipulation des Systems verfolgen.

In Abbildung 4 wird der Einfluß der Raubmilbe auf die Nematodenart *Rh. maupasi* exemplarisch anhand des relativen Populationswachstums verdeutlicht (verschiedenen Versuchen entnommen). Aus Vorversuchen an Einzelindividuen konnte eine sehr kurze präreproduktive Phase von ca. 5 Tagen und eine maximale Reproduktionsleistung direkt nach Erlangen der Fortpflanzungsfähigkeit für *Rh. maupasi* festgestellt werden. So können innerhalb von 2 bis 3 Wochen Individuenzahlen von > 100 000 erreicht werden (SMOLKA, in Vorbereitung).

#### 4 Diskussion

Ein direkter Vergleich der Kenngrößen zur Populationsdynamik mit den Ergebnissen anderer Autoren ist kaum möglich, da die jeweiligen Versuchsbedingungen, wie insbesondere Nahrungsangebot und Zuchttemperatur stark variieren. Insgesamt passen sich die dargestellten Befunde zur Populationsentwicklung von *H. aculeifer* in der entwickelten Räuber-Beute Beziehung gut in das bekannte Spektrum ein. Bei vergleichbarer Temperatur berichtet RUF (1993) von einer mittleren Lebenserwartung von 97 Tagen bei Gabe von *Caloglyphus spec.* Nach Angaben von CHI (1981) wird bei Verfütterung der Collembolenspezies *Onychiurus fimatus* eine Lebendauer von 45 Tagen bei 22 °C und 194 Tagen bei 15 °C erreicht. Die Entwicklungsdauer der Stadien von insgesamt  $\approx 30$  Tagen liegt in der Spannbreite von ca. 16–35 Tagen nach den Befunden von SCHLOSSER & RIEPERT (1992) bei 21 °C und der Vorratsmilbe bzw. der Collembole *Folsomia candida* als Beute. Die Autoren berichten desweiteren von einer Eiproduktion in den ersten drei Wochen bei 21 °C und unterschiedlicher Beute zwischen 2,3 und 3,7 Eier / Tag. Für den hier dargestellten Ansatz ergibt sich eine Eilegerate im gleichen Zeitraum von 2,1 Eier/Tag. Die Fruchtbarkeit liegt bei optimalen Zuchtbedingungen zwischen 70 und 100 abgelegten Eiern pro Weibchen (LOBBES & SCHOTTEN 1980, CHI 1981, RUF 1993). Das Geschlechterverhältnis (Anteil Weibchen) wird von CHI (1981) bei 22 °C mit 0,8 angegeben.

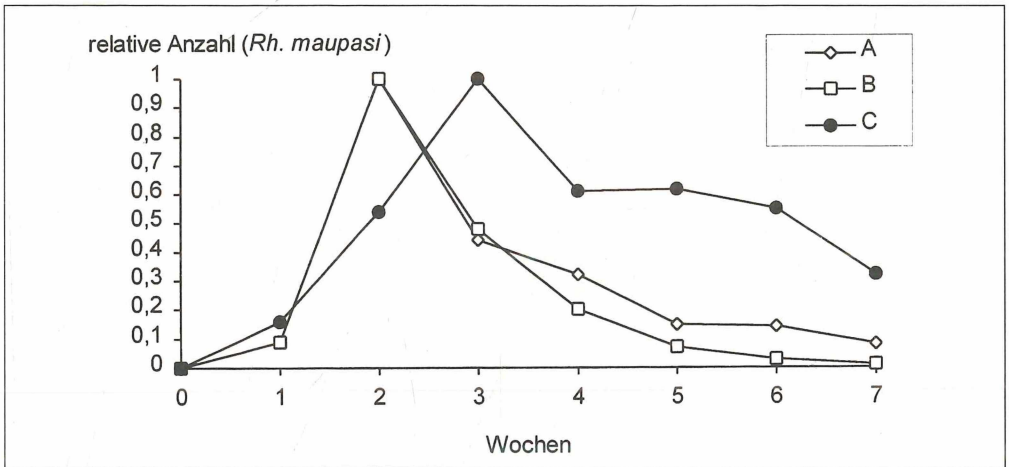


Abb. 4  
Relative Populationsentwicklung der Nematode *Rh. maupasi* mit und ohne die Raubmilbe *H. aculeifer* im Mikrokosmos; A: mit *H. aculeifer* (4 Weibchen bei  $t_1$ ,  $n = 10$  VE), B: mit *H. aculeifer* (10 Weibchen bei  $t_1$ ,  $n = 2$  VE), C: ohne *H. aculeifer* ( $n = 3$  VE); VE = Versuchseinheiten.

Fig. 4  
Relative population growth of the nematode *Rh. maupasi* with and without the predatory mite *H. aculeifer* in the microcosm; A: with *H. aculeifer* (4 females at  $t_1$ ,  $n = 10$  test units), B: with *H. aculeifer* (10 females at  $t_1$ ,  $n = 2$  test units), C: without *H. aculeifer* ( $n = 3$  test units).

Es ist daraus zu schließen, daß die polyphage Raubmilbe sowohl den Lebensraum als auch die Nematodenspezies als Beute sehr gut annimmt. Damit wird eine als Laborsystem in dieser Form noch nicht vorhandene Organismenkombination an der Schnittstelle von aquatischer und terrestrischer Lebensform gestaltet. Der einfache Labor-Mikrokosmos ermöglicht eine Populationsentwicklung von *Hypoaspis aculeifer* über ein bis zwei Generationen, je nach initialer Anzahl der eingesetzten Weibchen. Verlauf und Beobachtung erfolgen dabei ohne Eingriff in das System.

Primäres Ziel für die Entwicklung des Mikrokosmos war, einen Beitrag zur ökotoxikologischen Wirkungsabschätzung zu leisten. Nachdem nun der erste Schritt, dessen Konstruktion und Standardisierung erfolgreich abgeschlossen wurde, ist es möglich direkte und indirekte Chemikalieneffekte auf der Populationssebene innerhalb der Nahrungskette oder an den Einzelgliedern zu erfassen.

Erste Ergebnisse mit dem Insektizid Aldicarb belegen eine höhere Sensitivität der Raubmilbe im Vergleich zur Nematodenart, die deutlich durch die Nahrungsbeziehung verstärkt wird (SMOLKA, in Vorbereitung). Zur Zeit erfolgen Untersuchungen mit weiteren Chemikalien und Pflanzenschutzmittelwirkstoffen. Neben den dargestellten strukturellen Kenngrößen wird der Einsatz der funktionellen Größe Respiration als integrativer Leistungsparameter geprüft.

Der Ansatz erlaubt Analysen zum toxischen Wirkpotential von Chemikalien innerhalb einer naturnahen Nahrungsbeziehung im Labor, die indirekte Auswirkungen mit einschließt. Neben ökotoxikologischen Fragestellungen bietet das System die Möglichkeit, auch andere ökologische bzw. populationsdynamische Themen zu bearbeiten. Zudem kann es als eine arbeits- und zeitsparende Alternative zur üblichen Haltung der Raubmilbe *H. aculeifer* genutzt werden.

## Literatur

- BONGERS, T., 1994: De Nematoden van Nederland. – Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging III, Utrecht, Nr. 46, 408 S.
- CHI, H., 1981: Die Vermehrungsrate von *Hypoaspis aculeifer* Canestrini (Acarina, Laelapidae) bei Ernährung mit *Onychiurus fimatus* Gisin (Collembola). – Mitt. dtsh. Ges. allg. angew. Ent. 3: 122–125.
- HAGUE, N.G.M., M. DAMADZADEH, S.K. GARABEDIAN & K. H. RADWAN, 1983: Methods of assessing the efficacy of non-volatile nematicides. – Pestic. Sci. 14: 587–595.
- KARG, W., 1995: Raubmilben als Indikatoren bei der Entwicklung eines ökologisch orientierten Pflanzenschutz. – Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz d. 47: 149–156.
- LOBBES, P. & C. SCHOTTEN, 1980: Capacities of increase of the soil mite *Hypoaspis aculeifer* Canestrini (Mesostigmata: Laelapidae). – Z. ang. Ent. 90: 9–22.
- MATHES, K. & G. WEIDEMANN, 1991: Indikatoren für Ökosystembelastung: Zur Wirkung von Chemikalien auf Ökosysteme. – Berichte aus der ökologischen Forschung, Bd. 2, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich.
- O'CONNOR, F.B., 1955: Extraction of enchytraeid worms from a coniferous forest soil. – Nature 175: 815–816.
- RÖMBKE, J. & J.F. MOLTMANN (eds.), 1996: Applied Ecotoxicology. – Lewis Publ., Boca Raton Synopsis, 282 S.
- RUF, A., 1989: Die Bedeutung von Arrhenotokie und Kannibalismus für die Populationsentwicklung von *Hypoaspis aculeifer* (Canestrini, 1883). – Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Ent. 7:103–107.
- RUF, A., 1993: Die morphologische Variabilität und Fortpflanzungsbiologie der Raubmilbe *Hypoaspis aculeifer* (Canestrini 1883) (Mesostigmata: Laelapidae). – Dissertation, Universität Bremen.
- SCHLOSSER, H.J. & F. RIEPERT, 1992: Entwicklung eines Prüfverfahrens für Chemikalien an Bodenraubmilben (Gamasina). Teil 1: Biologie der Bodenraubmilbe *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1883 (Gamasina) unter Laborbedingungen. – Zool. Beitr. N. F., 34: 395–412.
- SMOLKA, S. & G. WEIDEMANN, 1995: Eigenschaften ökologischer Systeme und Prognostizierbarkeit von Belastungsfolgen. – In: G. WINTER (Hrsg.) Risikoanalyse und Risikoabwehr im Chemikalienrecht. Umweltrechtliche Studien, Bd. 17, Werner-Verlag, Düsseldorf: 203–240.
- SRU (Der Sachverständigenrat für Umweltfragen), 1987: Umweltgutachten 1987. – Verlag Kohlhammer, Stuttgart.
- TRAUNSPURGER, W., C. STEINBERG & T. BONGERS, 1995: Nematoden in der ökotoxikologischen Forschung – Plädoyer für eine vernachlässigte, jedoch sehr aussagekräftige Tiergruppe. – UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox. 7: 74–83.

## Adresse

Susanne Smolka  
Corinna Gefken  
Prof. Dr. Gerd Weidemann  
Universität Bremen  
Zentrum für Umweltforschung und Umwelt-  
technologie (UFT)  
– Abt. 10 (Ökologie) –  
Leobener Str.  
D-28359 Bremen

# 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: 1996

Band/Volume: [27\\_1996](#)

Autor(en)/Author(s): Weidemann Gerd [Gerhard], Smolka Susanne,  
Gefken Corinna

Artikel/Article: [Entwicklung eines terrestrischen Multispezies-System s  
als Beitrag zur ökotoxikologischen Wirkungsanalyse 317-322](#)