

Calculation of toxicity levels

To compare the toxicity associated with the pesticide concentrations measured in the different sites, toxic units (TU) were computed from the peak water concentrations determined for each site (Liess et al., 2005a):

$$\text{TU}_{(D.magna)} = \max_{i=1}^n (\log(C_i/\text{LC50}_i)) \quad (1)$$

where $\text{TU}_{(D.magna)}$ is the maximum toxic unit of the n pesticides detected at the considered site, C_i is the concentration ($\mu\text{g/L}$) of pesticide i and LC50_i is the 48h-LC50 of pesticide i for *Daphnia magna* ($\mu\text{g/L}$) as given in Tomlin (2001). Although peak water concentrations may have been underrated due to a delayed response of the sampling system, we assume the computed $\text{TU}_{(D.magna)}$ to be a conservative measure of pesticide toxicity since (1) pesticide concentrations usually decrease strongly within 24h during runoff but the 48h-LC50 of *Daphnia magna* was used for toxicity assessment (Richards et al., 1993) and (2) only the maximum toxic unit was considered instead of the sum toxicity of the pesticides detected at the respective site. If no pesticide was found a TU-value of -5 was assigned to that site, corresponding to the value found for unpolluted streams in a previous study (Liess et al., 2005a).

Macroinvertebrate sampling

Four replicate samples (surface ca. 0.12 m² per sample) of different substrates were taken on each sampling date with a 500- μm mesh-size Surber Sampler (Hydro-Bios, Kiel, Germany) and preserved with formalin (ca. 4% vol.). The invertebrates were sorted out, counted and identified to the lowest possible taxonomic level, which was genus for most taxa. A list of the taxa found in France and Finland along with their frequency in the samples is given in the supplementary material.

SPEAR-index calculation and endpoints

The identified taxa were classified into SPEAR and SPENotAR according to ecological and physiological traits as described in Liess and von der Ohe (2005). Since life-cycle traits such as emergence time and voltinism are dependent on the biogeographical region (e.g. Central and Northern Europe), the classification for a particular taxon may differ between regions. The available data and region-dependent classification information are compiled in a database which is publicly available and comprises about 1000 macroinvertebrate taxa (Liess et al., 2006). After classification into SPEAR and

SPEnotAR the relative abundance of taxa which are potentially sensitive towards pesticides in a community, was computed for each site and date:

$$\%SPEAR_{(abundance)} = \frac{\sum_{i=1}^n \log(x_i + 1) * y}{\sum_{i=1}^n \log(x_i + 1)} * 100 \quad (2)$$

where n is the number of taxa, x_i is the abundance of taxon i and y is: 1 if taxon i is classified as SPEAR, otherwise 0. Similarly, we calculated the values for another community endpoint $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$, where classification of taxa relies only on physiological sensitivity (P) and migration ability (M) to exclude biogeographical bias of this index. $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ was used to examine the applicability of the SPEAR concept across different regions. The endpoint $\%SPEAR_{(number)}$, which indicates the relative number of sensitive taxa, was computed for each site and date by:

$$\%SPEAR_{(number)} = \frac{\sum_{i=1}^n y}{n} * 100 \quad (3)$$

Finally, the endpoint $SPEAR_{(abundance\ during/before)}$ was computed by dividing the $\%SPEAR_{(abundance)}$ during the period of maximum pesticide input in streams (France: May, Finland: August) by $\%SPEAR_{(abundance)}$ before this period (France: April, Finland: July). Time periods were estimated on the basis of information from local authorities and as reported elsewhere (Liess et al., 1999a; Liess et al., 2005a).

Leaf litter breakdown

Three gram of air-dried *Alnus glutinosa* leaves at abscission were anchored to the streams in coarse (mesh size: app. 6 mm; polyethylene bag size: 20 x 20 cm) and fine (mesh size: 50 μ m; nylon cylinder size: 15 cm length, 7.5 cm diameter) enclosures. Leaves in the coarse bags were accessible to invertebrates whereas leaves in the fine bags were not and served as control for microbial degradation and leaching (Gessner et al., 2002). Triplicate coarse and fine bags were deployed after the first sampling for approximately 21 days in 12 randomly selected sites in France and in 8 sites in Finland. To correct for handling losses three coarse and fine bags were treated the same way as the others but returned immediately to the laboratory after a brief deployment in the stream. After retrieval of the bags, the remaining litter was washed, oven-dried to a constant mass at 60° C (24 to

48 h), reweighed and averaged for each type of bags for every station. The remaining leaf mass $W_t(s)$ in grams for station s after time t was obtained by summing up the handling-loss corrected weight of the remaining litter at site s from the coarse enclosures and the loss due to microbial degradation and leaching at site s derived from the fine enclosures (for details see Benfield (1996)). The exponential leaf breakdown rate k_s was computed by:

$$k_s = \frac{-\ln\left(\frac{W_t(s)}{W_0(s)}\right)}{t_s} \quad (4)$$

where $W_0(s)$ is the initial leaf mass in grams at site s and t_s is the deployment time for the considered site (other variables as defined above) (Benfield, 1996).

Data analysis

The data analysis was performed separately for the Finnish and French sites if not otherwise indicated. Prior to analysis, the average values for the two sampling dates were calculated for all variables that were measured twice at each site, in order to avoid temporal pseudoreplication. However, we also conducted the analyses for each single measurement date. The results broadly confirmed the findings of the analyses performed for the combined data set and they are therefore not shown. Hierarchical cluster analysis of environmental variables using Spearman's rho as similarity measure was performed to check for collinearity and redundancy among environmental variables (McGarigal et al., 2000). Environmental variables that exhibited strong correlation with other variables (Spearman's rho > 0.8; see Table 1) but were implausible an explanation of differences in macroinvertebrate assemblages, on the basis of common ecological knowledge (Allan, 1995), were removed from the data set to avoid misspecification of the linear model (Flack et al., 1987; McGarigal et al., 2000).

Multiple linear regression was applied to identify the environmental variables that were best suited to explain the different SPEAR metrics and the leaf decomposition rate k . We weighted the sites in the regression according to the total log (x+1) abundance of species (only for SPEAR metrics). We employed manual model building, defining models on the basis of expert judgement and automatic model building starting with the null model (no explanatory variable included) or the full model (all explanatory variables included). The statistical procedure was backward and forward entering of variables with Akaike's

Information Criterion as stepwise model selection criterion (Akaike, 1974). Model simplification was performed using t-test for significance of single variables and analysis of variance (ANOVA) with F-test for significance of the complete model. Models with different numbers of parameters were compared with the F-test. Goodness of fit was assessed with the adjusted r^2 (r^2 for models with only one explanatory variable). Analysis of covariance (ANCOVA) with t-test was applied to check for significant differences in slope or intercept for factors in regression. Model checking included: heteroscedasticity, normal distribution of residuals and influence of single observations using residual-leverage plots and Cook's distance. We applied hierarchical-partitioning to determine the relative importance of independent explanatory variables in the linear models (Chevan et al., 1991).

To detect effects of pesticide input on SPEAR metrics or k in a single country, the respective values were split according to the $TU_{(D. magna)}$ into sites potentially receiving ($TU_{(D. magna)} > -3.5$) and potentially not-receiving ($TU_{(D. magna)} < -3.5$) pesticide input. Welch's t-test for unequal variances was used to compare the means of the two groups.

For the comparison of SPEAR metrics across countries, the respective observations of France, Finland and Germany were grouped according to their $TU_{(D. magna)}$ as:

- reference ($TU_{(D. magna)} < -3.5$)
- lightly contaminated ($-3.5 < TU_{(D. magna)} < -2.25$)
- and heavily contaminated sites ($TU_{(D. magna)} > -2.25$)

The class boundaries (-3.5 and -2.25) were chosen to make the sample sizes as even as possible for all countries. However, the use of different class boundaries (-4 and -2) yielded the same results. To detect significant differences between means of groups, non-parametric ANOVA with Kruskal-Wallis test was conducted, followed by a non-parametric multiple-comparisons-test of the Behrens-Fischer type (Munzel et al., 2001).

All statistical computations and graphics were created with the open source software package R (R Development Core Team, 2006) using version 2.4.0 (for Mac OS X, 10.4.8) with appropriate additional packages (hier.part, Hmisc, npmc, maps and mapdata).

Results

Characterization of investigated streams and communities

Water temperature, pH, hardness and oxygen exhibited only slight variation (up to 34% standard deviation) among the sampling sites in each study area, while streambed substrate composition showed the largest variability (up to 400% standard deviation) (Table 1). The French and German streams were very similar concerning most stream characteristics but differed in the clay and silt content of the substrate. In contrast, the French and Finnish sites were very similar regarding substrate composition but mainly differed in water chemistry characteristics. A total of 94 different taxa with an average of 27 taxa per stream were identified in the 13 Finnish streams; the values for the 16 French streams were 110 and 33, respectively (see supplementary material). In the study of Liess and von der Ohe (2005) 129 different taxa and an average of 24 taxa per sampling site were found in the German streams, applying the same level of taxonomic identification as in the present study.

In Finland, *Asellus aquaticus*, Chironomidae spp., *Dryopoidea* spp., *Leuctra fusca*, Limoniidae spp., Oligochaeta spp. and Simuliidae spp. were found in more than 85% of the samples. The most common taxa (> 85% of samples) in France were *Baetis rhodani*, Elmidae spp., *Ephemerella ignita*, *Erpobdella* spp., *Gammarus pulex*, *Hydropsyche* spp. and Oligochaeta spp.. In the German study, Chironomidae spp., *Erpobdella octoculata*, *Glossiphonia complanata*, Tubificidae spp., *Gammarus pulex* and *Limnephilus lunatus* were present in more than 85% of the samples.

Pesticide monitoring

In Finland, only the fungicide trifluraline was detected; it had a maximum TWA water concentration of 1.11 ng/L (Table 2), but resulted in a neglectable $TU_{(D. magna)}$ for the Finnish streams (Figure 2). In contrast, all pesticides of the monitoring program were detected in samples from French streams (Table 2). They were identified and quantified after the only strong rain event (20 to 30 mm rainfall between May 12 and 13, 2005 (Meteo France, 2006)) that occurred in the study area during the sampling period. For the French sampling sites pesticide concentrations with $TU_{(D. magna)}$ values up to -0.42 were observed (Figure 2). For the German streams $TU_{(D. magna)}$ values up to -0.71 were reported (Liess et al., 2005a).

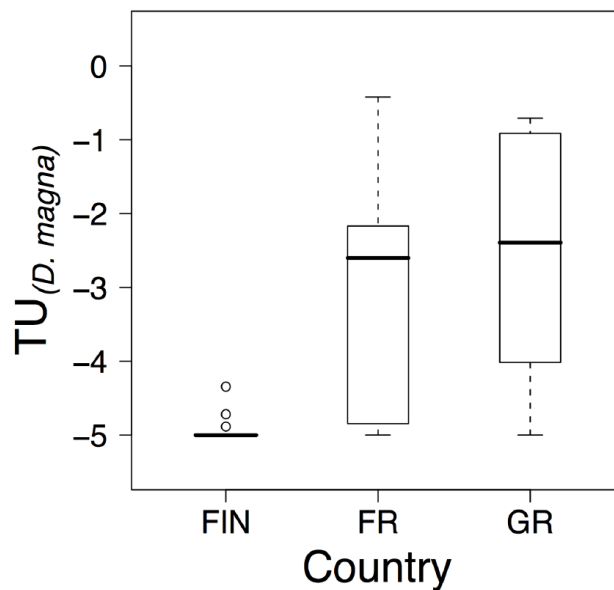


Figure 2: Box-Whisker plot of Toxic Unit_(*Daphnia magna*) for the sites in the study areas of France (FR), Germany (GR) and Finland (FI).

Relationship between environmental variables and SPEAR metrics

For the Finnish streams, no significant linear model could be established for %SPEAR_(abundance), and stream depth was the only variable to explain %SPEAR_(number) (Table 3). Neither %SPEAR_(abundance) nor %SPEAR_(number) was significantly different for streams with and without undisturbed upstream reaches (Welch's t-test, $P = 0.439$ and $P = 0.696$). For the French streams, variability in %SPEAR_(abundance) was best explained by $TU_{(D. magna)}$ and the factor undisturbed upstream reach (Table 3). The negative relationship between %SPEAR_(abundance) and $TU_{(D. magna)}$ is illustrated in Figure 3.

Values for %SPEAR_(abundance) and %SPEAR_(number) were significantly reduced for streams which received pesticide input (Welch's t-test, both $P < 0.001$). Pesticide-impacted streams with undisturbed upstream reaches had significantly higher %SPEAR_(abundance) and %SPEAR_(number) compared to impacted streams which lacked these reaches (Welch's t-test, $P = 0.017$ and $P < 0.001$).

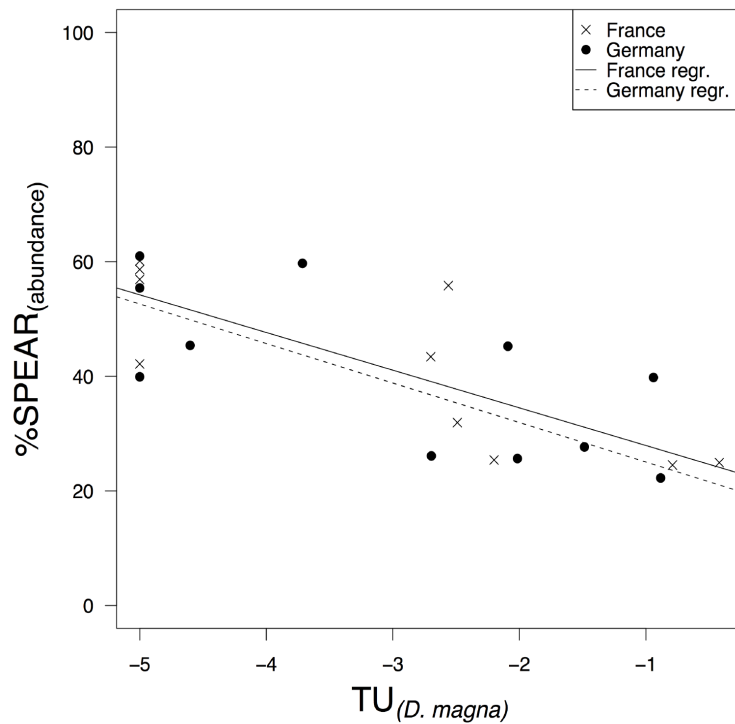


Figure 3: Relation between the benthic invertebrate community structure expressed as $\%SPEAR_{(abundance)}$ and the Toxic Unit_(Daphnia magna) of the sites with undisturbed upstream reaches in France and Germany. Linear regression lines are significant with $P < 0.001$, $r^2 = 0.61$ and 0.64 for French ($n=10$) and German streams ($n=11$), respectively. The slopes and intercept are not significantly different (analysis of covariance, $P = 0.581$).

Relationship between leaf-litter decomposition and environmental variables

The leaf-litter breakdown coefficient k for the Finnish streams ranged from 0.001 to 0.046 and k was highly correlated with water temperature (Table 3). For the French streams, k values between 0.008 and 0.067 were measured. The breakdown rate was significantly different between streams potentially receiving (0.0252 ± 0.0049 s.e.) and not receiving pesticide input (0.0588 ± 0.0008 s.e.) (Welch's t-test, $P < 0.001$). $TU_{(D. magna)}$ and the factor undisturbed upstream reach could explain a significant part of the variation in k (Table 3), where k responded positively to the presence of undisturbed upstream reaches and negatively to an increase of pesticide stress. However, the best-fit model for k only comprised the variables $\%SPEAR_{(abundance)}$ and % of sand on the stream bottom (Table 3). This indicated that pesticide stress had no direct effect on the leaf litter breakdown but mediated through its negative effect on sensitive species. The relationship between $\%SPEAR_{(abundance)}$ and k is displayed in Figure 4.

Table 3: Summary statistics of linear models to explain SPEAR-endpoints and leaf litter breakdown rate k in French and Finnish streams.

Response variable	Country	Model statistics			Relative importance of explanatory variable in best-fit linear model (%) ^a							
		adj. r ²	n	P	Toxic unit	Undisturbed upstream reach	Stream depth	% of filamentous algae	Water temperature	Current velocity	%SPEAR _(abundance)	% of sand
%SPEAR _(abundance)	Finland	—	13	> 0.05	—	—	—	—	—	—	not explanatory variable	—
%SPEAR _(number)	Finland	0.56 ^b	13	0.003	—	—	100	—	—	—	—	—
%SPEAR _(abundance)	France	0.64	16	< 0.001	61.80	31.20	—	—	—	—	—	—
%SPEAR _(number)	France	0.98	16	< 0.001	14.30	29.90	—	19.70	21.40	14.70	—	—
k	Finland	0.88 ^b	8	< 0.001	—	—	—	—	100	—	—	—
k	France	0.44 ^c	12	0.041	51.75	48.25	—	—	—	—	—	—
k	France	0.94	12	< 0.001	—	—	—	—	—	—	79.8	20.2

^a determined in hierarchical partitioning (Chevan and Sutherland, 1991)^b r² not adjusted for one explanatory variable^c not best-fit model

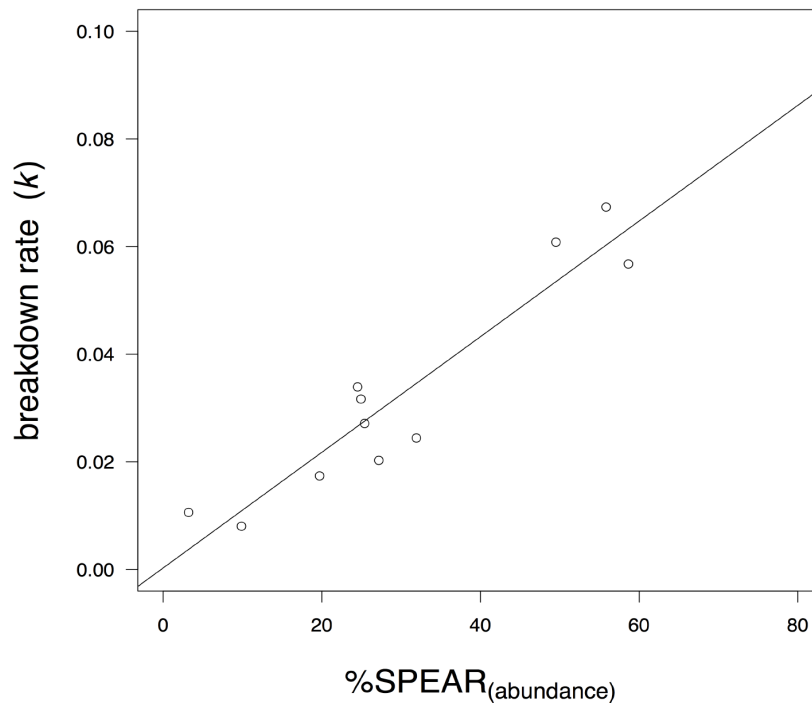


Figure 4: Relation between leaf litter decomposition and $\%SPEAR_{(abundance)}$ for 11 streams in Brittany, France. Linear regression was significant with $P < 0.001$ and $r^2 = 0.89$.

Comparison of $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ across geographical areas

For Germany, France and Finland, the means of $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$, a metric excluding traits with biogeographical variability, were significantly different when grouped by $TU_{(D, magna)}$ (Kruskal-Wallis-test, $\chi^2_{6,49} = 26.32$, $P < 0.001$). All the reference sites in the three countries ($TU < -3.5$) exhibited about the same mean level of $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ with 46, 52 and 54% for France, Finland and Germany, respectively. Pairwise comparisons showed that values from reference sites were significantly different ($P < 0.05$) from the values recorded in the highly contaminated sites in France and Germany ($TU > -2.25$) (Figure 5). For all countries, neither the reference sites nor the highly contaminated sites were significantly different ($P < 0.05$) from the mean $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ of lightly polluted streams ($-3.5 < TU < -2.25$). Nevertheless, a clear decline of the $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ was visible for the group of lightly polluted sites compared to reference sites. Furthermore, when the data from all countries were pooled, the difference between lightly polluted and reference sites showed to be significant in multiple comparisons ($P = 0.003$).

$\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ was lower for France than for Germany concerning the groups of lightly and highly contaminated streams (Figure 5), because of the higher $TU_{(D. magna)}$ values of the French sites in each group. No difference was observed in regression analysis (not shown, but compare Figure 3).

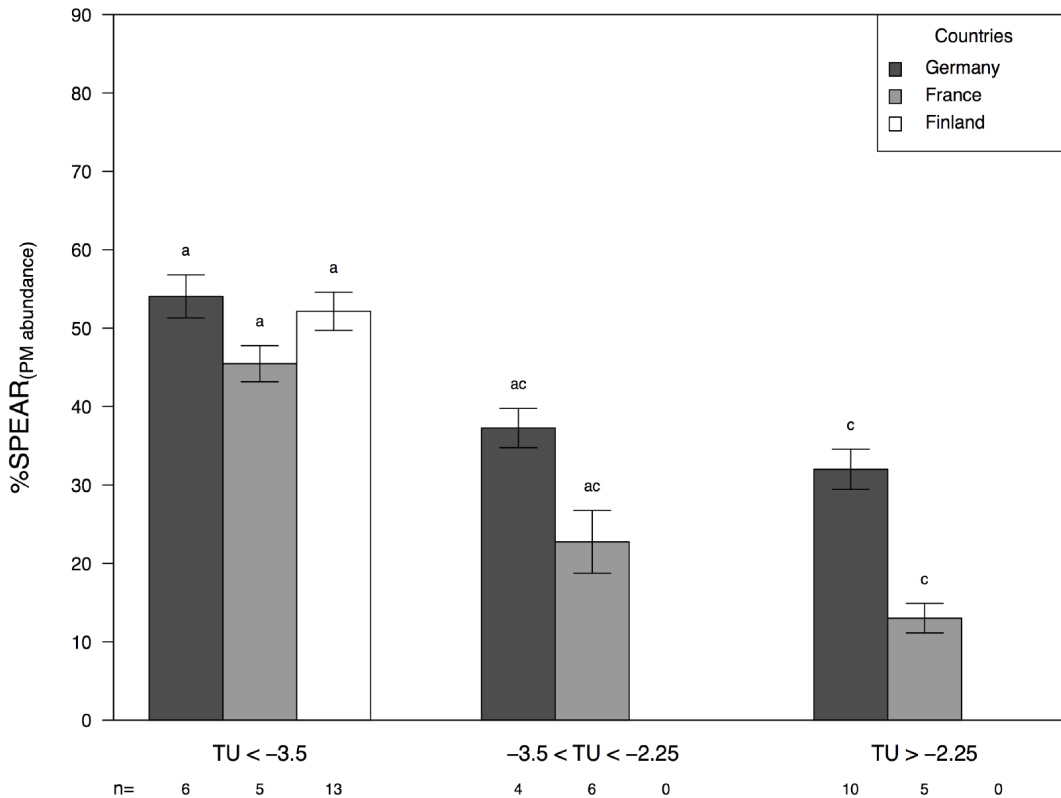


Figure 5: Relation between $\%SPEAR_{(PM\ abundance)}$ and toxic unit_(Daphnia magna) (TU) for the study sites in France, Finland and Germany with the sample sizes n. Different letters over the bars indicate significant differences in multiple comparison post-hoc test (non-parametric Behrens-Fischer test, $P < 0.05$). Error bars show standard error.

Temporal change of $\%SPEAR_{(abundance)}$

For Finland, the average change of the communities from July to August, $SPEAR_{(abundance\ during/before)}$ for all streams was 1 ± 0.06 standard error (s.e.). Hence, no change in the community structure occurred in the period of pesticide application. Similarly, French streams that were not subject to pesticide input ($TU_{(D. magna)} < -3.5$) had an average $SPEAR_{(abundance\ during/before)}$ of 1.01 ± 0.08 s.e., while stations which received pesticide inputs ($TU_{(D. magna)} > -3.5$) had a mean $SPEAR_{(abundance\ during/before)}$ of 0.92 ± 0.06 s.e.. However,

SPEAR_(abundance during/before) values for the two groups were not significantly different (Welch's t-test, $P = 0.215$). The average values of SPEAR_(abundance during/before) for the German streams were 0.92 ± 0.06 s.e. and 0.74 ± 0.08 s.e. for streams potentially not receiving and receiving pesticide input, respectively. These values were significantly different at $P = 0.048$ (Welch's t-test).

The pooled data for community change in the period of pesticide application (SPEAR_(abundance during/before)) of all regions were significantly different concerning the grouping by TU_(D. magna) (Kruskal-Wallis-test, $\chi^2_{2,49} = 6.94$, $P < 0.031$). In multiple comparison tests, the medium ($P = 0.032$) and highly contaminated sites ($P = 0.025$) differed significantly from the reference sites, indicating an acute response of %SPEAR_(abundance) from pre- to pesticide-application period.

Discussion

Linking pesticide input to community composition

In the present study we conducted field investigations in a region of each France and Finland to examine whether current-use pesticides would affect freshwater macroinvertebrate communities. Pesticide stress in terms of TU_(D. magna) was almost absent in the Finnish streams, and the variation in the lotic macroinvertebrate community could not be attributed to the presence of these contaminants. The results of our pesticide measurements are in agreement with those of a Finnish governmental screening programme from 2004 to 2005 (Finnish Environment Institute (SYKE), personal communication), and we do not know of any field study on Finnish streams reporting pesticide concentrations at a level potentially toxic to invertebrates. The low pesticide input in Finnish streams compared to the French may be attributed to the reduced pesticide application rate, different compound classes and geological factors, e.g. higher organic carbon content of the Finnish soils (European Commission Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability, personal communication). We suppose that the results presented here are representative for the general situation in the agricultural region of Finland, since we sampled streams in different areas of this region. Nevertheless, a more thorough investigation including more compounds, sampling sites and a longer sampling period could alter this appraisal.

For the French streams, we found a clear relationship between pesticide stress and community composition as indicated by %SPEAR_(abundance). Among the environmental variables, pesticide stress, indicated by TU_(D. magna), best explained the results for %SPEAR_(abundance). Furthermore, we observed a decline in the relative abundance of sensitive taxa after pesticide runoff, although it was not significant. This may be due to effects on the communities before the beginning of our study.

The concentrations presumed to cause an effect in the French streams, resulted in TU_(D. magna)-values up to -0.42 (Table 2) and are in accordance with those reported elsewhere. Liess and Schulz (1999) showed that pesticide-contaminated runoff water with TU_(D. magna) up to 0.38 was the main cause for the decline in abundances of several macroinvertebrate species in a small headwater stream. The study of Liess and von der Ohe (2005) demonstrated strong causality between a TU_(D. magna) larger than -3 and a decline of SPEAR. Castillo et al. (2006) stated change in the invertebrate community structure associated with an exposure to pesticide concentrations in the surface water up to a TU_(D. magna) of -0.73. Finally, a review of mesocosm studies reported effects on the macroinvertebrate community above a TU_(D. magna) of -2 (Van Wijngaarden et al., 2005).

The relationship between the relative abundance of sensitive taxa and pesticide stress was similar for the French and German streams (Figure 3). Concurrently, geographical and physico-chemical variables varied and approximately 35% of the taxa found in France were not recorded in the German streams. Hence, the response of traits to pesticide stress was not affected by geographical and taxonomical differences. The insensitivity of traits to a range of environmental gradients was also reported by Charvet et al. (2000). This issue warrants further investigation, especially in South and non-European regions, because if the dose-response relationship between traits and pesticide stress could be extrapolated to a wider geographical scale, it would constitute a powerful tool for an effect assessment on the continental scale.

Effects of pesticides on leaf litter decomposition

In our study on the French streams, we found a significant decrease in leaf litter decomposition rates for leaves of *A. glutinosa* due to pesticide stress. The decomposition rates for streams potentially not receiving pesticide input (0.0588 ± 0.0008 s.e.) are in the range of values reported for relatively pristine streams in Portugal during summer (0.051

to 0.064) (Graca et al., 2001). Comparison of the ratio of breakdown coefficients at sites potentially receiving and sites potentially not receiving pesticide input (0.42) with the threshold values proposed by Gessner and Chauvet (2002) confirms the functional impairment caused by pesticides (ratio < 0.5 indicates severe impairment). Chung et al. (1993) also reported a ratio of 0.35 of breakdown rates of rhododendron leaves for a pesticide-treated stream and a reference stream.

A reduction in %SPEAR_(abundance) and %SPEAR_(number) (not shown) was closely related to a decrease in leaf litter processing rates (Figure 4). This may be explained by the fact that 2/3 of the shredder taxa classified according to (Merritt et al., 1996) belong to SPEAR. Maltby et al. (2002) also reported high positive correlation (Pearson's $r = 0.83$) between physiological effects of pesticides on a shredder species and impairment of leaf litter processing. To sum up, pesticide input in the streams of Brittany, France also affected an important ecosystem process, leaf breakdown, probably mediated through the adverse effects on number and abundance of SPEAR taxa.

Undisturbed upstream reaches enhance quality of impacted streams

The presence or absence of riparian forest parts in the 3-km upstream reach explained a significant part of the variation in the SPEAR endpoints for the French sampling sites. The presence of undisturbed upstream reaches lead to significantly higher values of %SPEAR_(abundance) and %SPEAR_(number) at contaminated sites. Other authors also reported the relevance of undisturbed upstream reaches for recovery from disturbance. A study on the Suna river (Japan) attributed the recovery of several invertebrate species after pesticide spraying to recolonisation from unsprayed upstream reaches within a 5-km distance (Hatakeyama et al., 1997). Liess and von der Ohe (2005) demonstrated the recovery of pesticide-impacted communities when riparian forest reaches was available in the 4 km upstream reach. A recent study, linking exposure modelling with macroinvertebrate composition of 360 streams investigated over a 17-year period in North Germany, showed that the presence of forest parts in the 1.5 km upstream reach facilitated recovery of the relative abundance of SPEAR taxa after modelled pesticide contamination (Schriever et al., 2007).

Two mechanisms could explain this positive impact of undisturbed upstream reaches. First, undisturbed upstream reaches may provide recolonization pools from which species could drift downstream to the impacted reach (Waters, 1972). Second, input of woody

debris and leaf litter from the riparian forest might supply more energy for the downstream reaches and thus increase number and abundance of taxa (Wallace et al., 1995; Bond et al., 2006). The latter mechanism should also increase the number and abundance of sensitive species at slightly or non-contaminated sites. However, Schriever et al. (2007) reported no significant difference in %SPEAR_(abundance) for low-contamination streams with and without undisturbed upstream reaches in the period before pesticide application. In the present study also, we did not find significant differences in abundance or number of SPEAR taxa for uncontaminated sites having and not having undisturbed upstream reaches in Finland. Therefore, current evidence indicates that recovery should mainly be attributed to instream recolonization by macroinvertebrates from undisturbed upstream reaches, although a more thorough study is still necessary to clarify this issue. However, regardless the underlying mechanism, undisturbed upstream reaches clearly enhance recovery of impacted reaches and this poses a valuable management tool for freshwater conservation in agricultural areas.

Derivation of an effect threshold for pesticides

For the pooled data of the German, French and Finnish streams, a significant reduction of sensitive taxa was observed for $TU_{(D. magna)}$ values higher than -3.5. However, this value is only a rough estimate for a threshold value because there were hardly any observations for $TU_{(D. magna)}$ in the interval [-3,-5). Furthermore, regarding the dose-response relationship between $TU_{(D. magna)}$ and %SPEAR_(abundance) in France and Germany (Figure 3) it remains open, if an effect threshold exists or if the relationship is continuously linear up to a $TU_{(D. magna)}$ of -5. Thus, more field data are needed especially for low values of $TU_{(D. magna)}$ to clarify this issue. Nevertheless, our data indicate effects of pesticides in the $TU_{(D. magna)}$ range of -2 and -3. Two other field studies also reported shifts in the invertebrate assemblages for $TU_{(D. magna)}$ between -2 and -3 (Berenzen et al., 2005; Liess et al., 2005a). In contrast, we do not know of any mesocosm study where effects below a $TU_{(D. magna)}$ of -2 were found (Van Wijngaarden et al., 2005). However, most studies on stream mesocosms just deal with a single pulse exposure while in the field repeated input of many different pesticides frequently occurs (Van Wijngaarden et al., 2005). Recently, a laboratory study with *D. magna* showed that a repeated exposure to dimethoate and pirimicarb significantly increased mortality (Andersen et al., 2006). In addition, multiple stressors may occur in areas with intense agriculture (e.g. pesticides with a different mode

of action, chronic ammonium exposure, eutrophication) and act additively or synergistically, which is commonly not incorporated in mesocosm studies (Heugens et al., 2001). For example, organophosphorous pesticides that were also detected in the French streams (Table 2) have been demonstrated to elicit greater-than-additive responses in combination with various herbicides (Lydy et al., 2005).

We suggest that the community change at $TU_{(D. magna)}$ values < -2 may have resulted from the long-term propagation of sublethal effects. This hypothesis is supported by the fact that the relative abundance of sensitive taxa exhibited only a small acute response to pesticide stress in lightly contaminated streams (17 ± 10.1 % reduction in $\%SPEAR_{(abundance)}$). Sublethal effects like reduced fecundity or delayed emergence are known to appear up to a $TU_{(D. magna)}$ of -4 (Liess, 2002) and if they cause a competitive disadvantage for sensitive species this may result in community change (Fleeger et al., 2003). However, this remains open to discussion, as another explanation would be that the communities of the lightly contaminated streams may have not recovered from past impacts (Harding et al., 1998).

Overall, our investigation gives rise to the concern that the effect threshold for pesticides in the field is below a $TU_{(D. magna)}$ of -2 , which is currently regarded as protective, for example in the legislation on pesticides in the European Union (EEC, 1991).

Conclusions

This study showed that the structure and function of aquatic ecosystems may be impaired by pesticides. We suggest that effects may also occur below levels that are commonly thought to be protective. This highlights the importance of field studies since effects at these levels have not been observed in artificial systems. It is noteworthy that no effects were detectable in the Finnish study area under low pesticide usage.

A very important result for risk managers is that undisturbed upstream reaches improve the quality of impaired downstream reaches. This could constitute a valuable measure for future risk mitigation in addition to other innovations in agricultural practice.

Furthermore, current risk assessment would take a great step forward when implementing ecological knowledge. The use of biological traits in biomonitoring could be a starting

point and may prove superior to taxonomically based approaches. The trait-based SPEAR concept was capable of discriminating between the effects of pesticides and those of confounding factors and natural variation over large spatial scales. Thus, the results from the regional investigations may be extrapolated to other biogeographical regions in Central and North Europe. However, more studies are needed in non-European regions to assess the potential for extrapolation beyond Europe. For example, the concept could easily be applied to field observations from North America, as a database on invertebrate traits is available (Vieira et al., 2006).

Acknowledgments

The authors would like to thank Marc Roucaute, Martin Lodenius, Hans-Rudolf Voigt, Esa Tulosa, Peter von der Ohe, Björn Müller and all other people that contributed with work and facilities to the field study. We are indebted to Kari-Matti Vuori and Mikhail Beketov for their support in species determination. We are very grateful to Branislav Vrana and Albrecht Paschke who provided us with the passive samplers. Special thanks to Jochen Mueller and Klaus-Dieter Wenzel, who gave invaluable suggestions for the field study. We are indebted to Sophie Merle for data on pesticide measurements in Brittany. Finally, we would like to thank Bettina Egert for the chemical analyses. Carola Schriever, Peter von der Ohe, Mikhail Beketov and two anonymous reviewers provided valuable suggestions that improved the manuscript. Financial support was provided by the European Community (project SSPE-CT-2003-501997 “HARmonised environmental Indicators for pesticide Risk, HAIR”). The first author received funding through a scholarship of the “Studienstiftung des deutschen Volkes e.V.” (Bonn, Germany).

References

- Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 1974; 19: 716-723.
- Allan JD. *Stream Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, 400 p.
- Andersen TH, Tjornhoj R, Wollenberger L, Slothuus T, Baun A. Acute and chronic effects of pulse exposure of *Daphnia magna* to dimethoate and pirimicarb. *Environmental toxicology and chemistry* 2006; 25: 1187-1195.

- Beasley G, Kneale PE. Investigating the influence of heavy metals on macroinvertebrate assemblages using Partial Canonical Correspondence Analysis (pCCA). *Hydrology and Earth System Sciences* 2003; 7: 221-233.
- Benfield EF. Leaf Breakdown in Stream Ecosystems. In: Hauer FR, Lamberti GA, editors. *Methods in Stream Ecology*. Academic Press, San Diego, 1996, pp. 579-589.
- Berenzen N, Kumke T, Schulz HK, Schulz R. Macroinvertebrate community structure in agricultural streams: impact of runoff-related pesticide contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2005; 60: 37-46.
- Bond NR, Sabater S, Glaister A, Roberts S, Vanderkruk K. Colonisation of introduced timber by algae and invertebrates, and its potential role in aquatic ecosystem restoration. *Hydrobiologia* 2006; 556: 303-316.
- Booij K, Hofmans HE, Fischer CV, Van Weerlee EM. Temperature-dependent uptake rates of nonpolar organic compounds by semipermeable membrane devices and low-density polyethylene membranes. *Environmental Science and Technology* 2003; 37: 361-366.
- Castillo LE, Martinez E, Ruepert C, Savage C, Gilek M, Pinnock M, Solis E. Water quality and macroinvertebrate community response following pesticide applications in a banana plantation, Limon, Costa Rica. *Science of the Total Environment* 2006; 367: 418-432.
- Charvet S, Statzner B, Usseglio-Polatera P, Dumont B. Traits of benthic macroinvertebrates in semi-natural french streams: An initial application to biomonitoring in Europe. *Freshwater Biology* 2000; 43: 277-296.
- Chevan A, Sutherland M. Hierarchical Partitioning. *American Statistician* 1991; 45: 90-96.
- Clements WH, Carlisle DM, Lazorchak JM, Johnson PC. Heavy metals structure benthic communities in Colorado mountain streams. *Ecological Applications* 2000; 10: 626-638.
- DeLorenzo ME, Scott GI, Ross PE. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2001; 20: 84-98.
- DIREN REA. Les produits phytosanitaires dans les eaux superficielles http://www.bretagne.ecologie.gouv.fr/Eau/Tableaux_Bord/Tab-Bord_2003/Eaux_douces/phyto.htm, 2005.
- EEC. Council Directive of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. . In: Office for Official Publications of the European Communities, 1991, 137.
- EUROSTAT SOotEC. Use of plant protection products in the European Union Office for Official Publication of the European Union, Luxembourg. 2002, 122.
- Flack VF, Chang PC. Frequency of Selecting Noise Variables in Subset Regression-Analysis - a Simulation Study. *American Statistician* 1987; 41: 84-86.

- Fleeger JW, Carman KR, Nisbet RM. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* 2003; 317: 207-233.
- Frankart C, Eullaffroy P, Vernet G. Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*. *Environmental and Experimental Botany* 2003; 49: 159-168.
- Gessner MO, Chauvet E. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications* 2002; 12: 498-510.
- Graca MAS, Ferreira RCF, Coimbra CN. Litter processing along a stream gradient: The role of invertebrates and decomposers. *Journal of the North American Benthological Society* 2001; 20: 408-420.
- Grande M, Andersen S, Berge D. Effects of pesticides on fish. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences* 1994; 195-209.
- Harding JS, Benfield EF, Bolstad PV, Helfman GS, Jones III EBD. Stream biodiversity: The ghost of land use past. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998; 95 14843-14847.
- Hatakeyama S, Yokoyama N. Correlation between overall pesticide effects monitored by shrimp mortality test and change in macrobenthic fauna in a river. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1997; 36: 148-161.
- Heugens E, Hendriks A, Dekker T, Van Straalen NM, Amiraal W. A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology* 2001; 31: 247-284.
- Illies J. *Limnofauna Europaea, A Compilation of the European Freshwater Species with Emphasis on their Distribution and Ecology*. G. Fischer, Jena, 1978.
- Liess M. Population response to toxicants is altered by intraspecific interaction. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2002; 21: 138-142.
- Liess M, Schulz R. Linking insecticide contamination and population response in an agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1999a; 18: 1948-1955.
- Liess M, von der Ohe PC. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2005a; 24: 954-965.
- Liess M, Schulz R, Neumann M. A method for monitoring pesticides bound to suspended particles in small streams. *Chemosphere* 1996; 32: 1963-1969.
- Liess M, Schulz R, Liess MH-D, Rother B, Kreuzig R. Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. *Water Research* 1999b; 33: 239-247.
- Liess M, von der Ohe PC, Schriever CA, Schäfer RB, Beketov MA. Online database of species at risk (SPEAR database). In: 2006.

- Liess M, Brown C, Dohmen P, Duquesne S, Heimbach F, Kreuger J, Lagadic L, Reinert W, Maund S, Streloke M, Tarazona J. Effects of Pesticides in the Field – EPIF. SETAC Press, Brussels, Belgium 2005b, 136 p.
- Lydy MJ, Austin KR. Toxicity assessment of pesticide mixtures typical of the Sacramento-San Joaquin Delta using *Chironomus tentans*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 2005; 48: 49-55.
- Maltby L, Clayton SA, Wood RM, McLoughlin N. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. Environmental Toxicology and Chemistry 2002; 21: 361-368.
- Maret TR, Cain DJ, MacCoy DE, Short TM. Response of benthic invertebrate assemblages to metal exposure and bioaccumulation associated with hard-rock mining in northwestern streams, USA. Journal of the North American Benthological Society 2003; 22: 598-620.
- McGarigal K, Cushman S, Stafford S. Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research. Springer, New York, 2000, 284 p.
- Merritt RW, Cummins KW. Trophic Relations of Macroinvertebrates. In: Hauer FR, Lamberti GA, editors. Methods in Stream Ecology. Academic Press, San Diego, 1996, pp. 453-474.
- Meteo France. Temps du mois http://www.meteofrance.com/FR/climat/dpt_tempsdumois.jsp?LIEUID=DEPT35, 2006.
- Munzel U, Hothorn LA. A unified approach to simultaneous rank test procedures in the unbalanced one-way layout. Biometrical Journal 2001; 43: 553-569.
- Neumann M, Schulz R, Schäfer K, Müller W, Mannheller W, Liess M. The significance of entry routes as point and non-point sources of pesticides in small streams. Water Research 2002; 36: 835-842.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.4.1 www.r-project.org, 2006.
- Richards RP, Baker DB. Pesticide concentration patterns in agricultural drainage networks in the Lake Erie basin. Environmental Toxicology and Chemistry 1993; 12: 13-26.
- Schriever CA, Hansler-Ball M, Holmes C, Maund S, Liess M. Agricultural intensity and landscape structure: influences on the macroinvertebrate assemblages of small streams in northern Germany. Environmental Toxicology and Chemistry 2007; 26: 346-357.
- Statzner B, Bady P, Doledec S, Scholl F. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: an initial assessment of trait patterns in least impacted river reaches. Freshwater Biology 2005; 50: 2136-2161.
- Strahler AN. Quantitative analysis of watershed geomorphology. Transactions, American Geophysical Union 1957; 38: 913-920.

-
- Tomlin CDS. The e-Pesticide Manual (Twelfth Edition) on CD - Version 2.1. In: The British Crop Protection Council, 2001.
- Van Wijngaarden RPA, Brock TCM, Van Den Brink PJ. Threshold levels for effects of insecticides in freshwater ecosystems: A review. *Ecotoxicology* 2005; 14: 355-380.
- Vieira NKM, Poff NL, Carlisle DM, Moulton SR, Koski ML, Kondratieff BC. A database of lotic invertebrate traits for North America: U.S. Geological Survey Data Series 187. In: 2006.
- Wallace JB, Eggert SL, Meyer JL, Webster JR. Multiple trophic levels of a forest stream linked to terrestrial litter inputs. *Science* 1997; 277: 102-104.
- Wallace JB, Whiles MR, Eggert S, Cuffney TF, Lugthart GJ, Chung K. Long term dynamics of coarse particulate organic matter in three Appalachian Mountain streams. *Journal of the North American Benthological Society* 1995; 14: 217-232.
- Waters TF. The drift of stream insects. *Annual Review of Entomology* 1972; 17: 253-272.

Supplementary data

Taxa list for France (a) and Finland (b) with SPEAR classification and abundance metrics.

a) French taxa

Order	Taxon	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Anisoptera	Aeshnidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	2
Trichoptera	Agapetus sp.	1	1	13.50	15.16	1	42.5	8
Trichoptera	Allogamus sp.	1	1	10.40	3.60	4.5	13.5	5
Ephemeroptera	Ameletus inopinatus	1	1	4.00	0.00	4	4	1
Plecoptera	Amphinemura sp.	1	1	2.00	0.00	2	2	1
Trichoptera	Anabolia nervosa	0	0	2.17	1.61	1	4	3
Basommatophora	Ancylus fluviatilis	0	0	12.19	10.44	4	34	8
Isopoda	Asellus aquaticus	0	1	19.50	30.60	1	65	4
Diptera	Athericidae spp.	1	1	3.81	1.77	1	6.5	8
Trichoptera	Athripsodes spp.	1	1	13.67	13.57	1	42	12
Ephemeroptera	Baetis rhodani	0	1	29.97	18.96	5.5	77.5	15
Basommatophora	Bathyomphalus contortus	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Hirudinae	Batracobdella paludosa	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Mesogastropoda	Bythinella spp.	0	0	8.67	7.37	2	20	6
Mesogastropoda	Bythinia sp.	0	0	6.33	6.66	2	14	3
Ephemeroptera	Caenis sp.	1	1	12.25	10.92	4	31	6

Order	Taxon	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Zygotera	Calopteryx spp.	1	1	6.44	6.62	1	22.5	9
Plecoptera	Capnia sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Ephemeroptera	Centropilum luteolum	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Diptera	Ceratopogonidae sp.	1	1	6.75	6.55	1	15	4
Trichoptera	Chaetopteryx spp.	1	1	16.39	18.07	1	52	9
Diptera	Chironomidae spp.	0	0	476.47	1240.27	13.5	5087.5	16
Plecoptera	Chloroperla sp.	1	1	26.00	0.00	26	26	1
Coleoptera	Chrysomelidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Zygotera	Coenagrionidae sp.	1	1	7.00	0.00	7	7	1
Anisoptera	Cordulegaster spp.	0	0	5.80	6.03	2	16.5	5
Coleoptera	Curculionidae spp.	0	0	2.40	2.61	1	7	5
Coleoptera	Dryopidae spp.	0	0	27.07	19.89	3	56	7
Turbellaria	Dugesia sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Coleoptera	Dytiscidae spp.	0	0	12.28	14.20	2	49	9
Ephemeroptera	Ecdyonurus sp.	1	1	3.50	2.12	2	5	2
Amphipoda	Echinogammarus berilloni	0	0	136.67	208.91	8	527.5	6
Amphipoda	Echinogammarus sp.	0	0	257.50	208.60	110	405	2
Coleoptera	Elmidae spp.	0	0	48.47	44.36	4	139.5	15
Diptera	Empididae sp.	1	1	4.00	3.61	1	8	3
Ephemeroptera	Ephemera danica	1	1	8.17	6.21	1	17	6
Ephemeroptera	Ephemera lineata	1	1	12.00	0.00	12	12	1
Ephemeroptera	Ephemerella ignita	1	1	88.37	68.63	2	232.5	15

Order	Taxon	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Hirudinae	Erpobdella spp.	0	0	13.36	10.88	2	43.5	14
Amphipoda	Gammarus pulex	0	0	116.86	111.03	3.5	375	14
Amphipoda	Gammarus sp.	0	0	28.00	0.00	28	28	1
Heteroptera	Gerridae sp.	0	0	2.71	2.36	1	7	7
Hirudinae	Glossiphoniidae spp.	0	0	4.20	2.35	1	8	10
Trichoptera	Goera pilosa	1	1	4.00	4.24	1	7	2
Coleoptera	Gyrinidae spp.	0	0	2.17	1.00	1	3.5	9
Ephemeroptera	Habrophlebia spp.	1	1	17.31	10.84	1	35.5	8
Hirudinae	Haementeria costata	0	0	10.00	0.00	10	10	1
Trichoptera	Halesus spp.	1	1	11.50	9.78	2.5	37.5	10
Coleoptera	Haliplidae sp.	0	0	4.75	3.20	2	8	4
Hirudinae	Helobdella sp.	0	0	4.00	0.00	4	4	1
Hirudinae	Helobdella stagnalis	0	0	7.00	0.00	7	7	1
Trichoptera	Holocentropus sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Hydracarina	Hydracarina spp.	1	1	19.67	28.04	2	52	3
Coleoptera	Hydraenidae sp.	0	0	25.00	0.00	25	25	1
Coleoptera	Hydrophilidae sp.	0	0	6.00	7.07	1	11	2
Trichoptera	Hydropsyche spp.	0	0	24.07	21.68	4	74.5	14
Trichoptera	Hyporhyacophila sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	2
Plecoptera	Isoperla sp.	1	1	21.60	23.37	1	60	5
Trichoptera	Ithytrichia lamellaris	1	1	18.00	0.00	18	18	1
Trichoptera	Lepidostoma hirtum	1	1	16.40	30.00	1	70	5
Plecoptera	Euleuctra geniculata	1	1	4.00	0.00	4	4	1

Order	Taxon	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Plecoptera	Leuctra sp.	1	1	18.43	22.90	5	70	7
Trichoptera	Limnephilus spp.	1	1	3.06	4.69	1	15.5	9
Diptera	Limoniidae spp.	1	1	19.32	38.75	2	135	11
Trichoptera	Lype sp.	1	1	1.33	0.58	1	2	3
Heteroptera	Mesovelia furcata	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Mystacides sp.	1	1	2.33	0.58	2	3	3
Trichoptera	Nemotaulius punctatolineatus	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Plecoptera	Nemoura sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Neureclipsis bimaculata	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Notidobia sp.	1	1	4.50	4.95	1	8	2
Heteroptera	Notonectidae sp.	0	0	6.00	4.24	3	9	2
Trichoptera	Odontocerum albicorne	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Oecetis sp.	1	1	1.75	0.96	1	3	4
Oligochaeta	Oligochaeta spp.	0	0	48.63	32.16	16.5	129	16
Trichoptera	Oxyethira sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Ephemeroptera	Paraleptophlebia sp.	1	1	3.60	1.95	1	6	5
Trichoptera	Pararhyacophila sp.	1	1	2.00	1.41	1	4	4
Plecoptera	Perlodes sp.	1	1	60.00	0.00	60	60	1
Trichoptera	Philopotamus sp.	1	1	1.50	0.00	1.5	1.5	1
Basommatophora	Physa sp.	0	0	10.50	0.00	10.5	10.5	1
Basommatophora	Physidae sp.	0	0	2.00	0.00	2	2	1
Basommatophora	Planorbidae spp.	0	0	10.71	10.71	1	38.5	12

Order	Taxon	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Anisoptera	Platycnemis sp.	1	1	6.00	3.04	2.5	8	3
Trichoptera	Plectrocnemia sp.	1	1	1.50	0.00	1.5	1.5	1
Trichoptera	Polycentropus sp.	1	1	7.00	5.58	1	14	4
Mesogastropoda	Potamopyrgus antipodarum	0	0	7.83	8.37	3	17.5	3
Isopoda	Proasellus meridianus	0	0	16.05	14.65	1	51.5	11
Ephemeroptera	Procloeon bifidum	1	1	10.00	0.00	10	10	1
Plecoptera	Protonemura sp.	1	1	4.43	4.04	1	10	7
Diptera	Psychodidae sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Lepidoptera	Pyralidae sp.	1	1	4.25	5.85	1	13	4
Basommatophora	Radix spp.	0	0	6.64	7.56	1	23	7
Diptera	Rhagionidae sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Ephemeroptera	Rhithrogena sp.	1	1	14.17	13.51	1	28	3
Trichoptera	Rhyacophila sp.	1	1	5.50	5.26	1	13	4
Coleoptera	Scirtidae sp.	0	0	1.50	0.71	1	2	2
Trichoptera	Sericostoma spp.	1	1	22.78	16.34	4	48.5	9
Megaloptera	Sialis spp.	1	1	11.50	11.60	4.5	32	5
Trichoptera	Silo sp.	1	1	12.63	13.97	4	33.5	4
Diptera	Simuliidae spp.	0	0	26.27	17.49	6	63.5	13
Plecoptera	Siphonoperla sp.	1	1	18.40	10.72	4.5	32	5
Veneroida	Sphaerium spp.	0	0	21.17	33.10	1	120	12
Basommatophora	Stagnicola sp.	0	0	3.00	1.41	2	4	2
Diptera	Tabanidae spp.	1	1	2.06	1.67	1	6	9
Trichoptera	Tinodes sp.	1	1	17.00	0.00	17	17	1

Order	Taxon	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Diptera	Tipulidae sp.	1	1	2.67	1.53	1	4	3
Unionoida	Unionidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Heteroptera	Veliidae sp.	0	0	6.33	4.51	2	11	3
Trichoptera	Wormaldia sp.	1	1	2.00	0.00	2	2	1

¹ 1 = Species at risk, 0 = Species not at risk.

b) Finnish taxa

Order	Species	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Lepidoptera	Acentria ephemerella	1	1	1.50	1.00	1	3	4
Anisoptera	Aeshnidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Agrypnia sp.	1	1	2.00	1.73	1	4	3
Trichoptera	Anabolia sp.	1	1	2.83	2.88	1	8.5	6
Basommatophora	Ancylus sp.	0	0	4.50	0.71	4	5	2
Heteroptera	Arctocorixa sp.	1	1	15.00	0.00	15	15	1
Isopoda	Asellus aquaticus	0	1	41.15	50.39	1.5	169	13
Trichoptera	Athripsodes sp.	0	1	3.00	1.00	2	4	3
Ephemeroptera	Baetis digitatus	0	1	5.00	0.00	5	5	1
Ephemeroptera	Baetis fuscatus	0	1	41.00	44.58	4	90.5	3
Ephemeroptera	Baetis niger	0	1	3.60	2.97	1	8	5
Ephemeroptera	Baetis rhodani	0	1	39.55	53.95	1.5	178.5	10

Order	Species	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Ephemeroptera	Baetis subalpinus	0	1	9.25	7.42	4	14.5	2
Ephemeroptera	Baetis vernus	0	1	20.94	21.82	1	62	9
Trichoptera	Brachycentrus subnubilus	0	1	1.50	0.71	1	2	2
Plecoptera	Capnia atra	0	1	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Chaetopteryx sp.	1	1	3.17	0.29	3	3.5	3
Diptera	Chironomidae spp.	0	0	47.81	33.20	6	122	13
Ephemeroptera	Cloeon inscriptum	0	1	13.00	14.14	3	23	2
Anisoptera	Corduliidae sp.	0	0	4.00	0.00	4	4	1
Heteroptera	Corixa sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Coleoptera	Curculionidae sp.	0	0	2.00	0.00	2	2	1
Plecoptera	Diura bicaudata	1	1	2.00	0.00	2	2	1
Diptera	Dixa sp.	1	1	1.00	0.00	1	1	1
Diptera	Dixidae sp.	1	1	10.00	0.00	10	10	1
Coleoptera	Donaciinae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Coleoptera	Dryopoidea spp.	0	0	32.13	50.06	1	171.5	12
Coleoptera	Dytiscidae spp.	0	0	6.14	5.50	1	15	11
Diptera	Empididae sp.	1	1	2.00	1.41	1	3	2
Ephemeroptera	Ephemera danica	1	1	1.50	0.50	1	2	3
Ephemeroptera	Ephemera vulgata	1	1	4.75	3.33	2	9.5	4
Ephemeroptera	Ephemerella ignita	1	1	27.07	37.84	1	101.5	7
Hirudinae	Erpobdella spp.	0	0	7.70	11.73	1	39.5	10
Amphipoda	Gammarus pulex	0	0	254.10	462.84	2	1075	5
Heteroptera	Gerridae spp.	0	0	1.75	0.50	1	2	4

Order	Species	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Hirudinae	Glossiphoniidae spp.	0	0	1.93	1.40	1	5	7
Trichoptera	Goera pilosa	0	1	1.00	0.00	1	1	1
Anisoptera	Gomphidae sp.	0	0	3.00	2.83	1	5	2
Coleoptera	Gyrinidae sp.	0	0	1.25	0.50	1	2	4
Hirudinae	Haementeria sp.	0	0	1.67	0.58	1	2	3
Trichoptera	Halesus spp.	1	1	4.38	5.60	1	17.5	8
Coleoptera	Haliplidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Hirudinae	Helobdella sp.	0	0	2.00	1.15	1	3	4
Coleoptera	Helodes sp.	0	0	3.00	0.00	3	3	1
Ephemeroptera	Heptagenia sp.	1	1	4.83	5.80	1	11.5	3
Diptera	Hexatomini sp.	1	1	2.00	0.00	2	2	1
Trichoptera	Hydatophylax infumatus	0	1	1.00	0.00	1	1	2
Hydracarina	Hydracarina spp.	1	1	2.08	2.42	1	7	6
Trichoptera	Hydropsyche spp.	0	0	48.80	51.49	1	149	10
Trichoptera	Ironoquia dubia	0	1	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Lepidostoma hirtum	1	1	23.75	25.10	6	41.5	2
Plecoptera	Leuctra digitata	1	1	7.50	3.54	5	10	2
Plecoptera	Leuctra fusca	1	1	22.27	21.52	1	70	11
Plecoptera	Leuctra sp.	1	1	6.50	0.71	6	7	2
Trichoptera	Limnephilus flavicornis	0	1	5.00	0.00	5	5	1
Trichoptera	Limnephilus spp.	0	1	2.60	1.82	1	5	5
Diptera	Limoniidae spp.	1	1	17.23	11.43	2	38	13
Basommatophora	Lymnaea sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1

Order	Species	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Trichoptera	Lype sp.	1	1	2.33	1.53	1	4	3
Heteroptera	Mesovelgia furcata	0	0	4.00	0.00	4	4	1
Ephemeroptera	Metretopus borealis	0	1	17.00	22.72	1	43	3
Trichoptera	Molannodes tinctus	0	1	2.00	0.00	2	2	1
Trichoptera	Nemotaulius punctatolineatus	1	1	2.00	0.00	2	2	1
Plecoptera	Nemoura cinerea	1	1	8.80	10.08	1	26	5
Plecoptera	Nemoura dubitans	0	1	2.00	0.00	2	2	1
Trichoptera	Notidobia ciliaris	1	1	2.33	1.21	1	4	6
Oligochaeta	Oligochaeta spp.	0	0	31.04	20.92	6.5	84	13
Trichoptera	Oligostomis reticulata	0	1	3.00	2.29	1	5.5	3
Ephemeroptera	Paraleptophlebia sp.	1	1	3.50	0.00	3.5	3.5	1
Lepidoptera	Parapoynx stratiotata	1	1	2.00	1.73	1	4	3
Turbellaria	Phagocata sp.	0	0	180.00	0.00	180	180	1
Trichoptera	Phryganea sp.	1	1	2.00	0.00	2	2	1
Basommatophora	Physa sp.	0	0	2.00	0.00	2	2	1
Eulamellibranchia	Pisidium sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Turbellaria	Planariidae sp.	0	0	3.00	0.00	3	3	1
Basommatophora	Planorbidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1
Trichoptera	Plectrocnemia sp.	1	1	1.75	0.35	1.5	2	2
Trichoptera	Polycentropus sp.	1	1	3.75	1.06	3	4.5	2
Trichoptera	Potamophylax rotundipennis	0	1	5.94	5.91	1	19.5	8

Order	Species	SPEAR ¹	SPEAR _(PM) ¹	Mean abundance (per 0.5 m ²)	Standard deviation	Minimum abundance (per 0.5 m ²)	Maximum abundance (per 0.5 m ²)	Presence in number of sampling sites
Ephemeroptera	Procloeon bifidum	1	1	6.75	6.18	1	17	6
Basommatophora	Radix sp.	0	0	2.00	1.00	1	3	3
Trichoptera	Rhyacophila sp.	0	1	14.40	29.96	1	68	5
Trichoptera	Sericostoma personatum	1	1	7.25	3.89	4.5	10	2
Megaloptera	Sialis fuliginosa	0	1	4.00	2.83	2	6	2
Megaloptera	Sialis lutaria	0	1	11.00	0.00	11	11	1
Megaloptera	Sialis morio	0	1	10.75	12.37	2	19.5	2
Heteroptera	Sigara sp.	1	1	2.00	1.73	1	4	3
Diptera	Simuliidae spp.	0	0	134.50	348.83	1	1286	13
Eulamellibranchia	Sphaerium sp.	0	0	3.50	3.39	1	8.5	4
Diptera	Tabanidae spp.	1	1	2.67	2.09	1	6.5	6
Diptera	Tipulidae spp.	1	1	4.00	4.47	1	13	6
Turbellaria	Turbellaria sp.	0	0	4.50	0.71	4	5	2
Eulamellibranchia	Unionidae sp.	0	0	3.00	0.00	3	3	1
Heteroptera	Veliidae sp.	0	0	1.00	0.00	1	1	1

¹ 1 = Species at risk, 0 = Species not at risk.

Kapitel 6: Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei neue Methoden für die Erfassung der Pestizidexposition in kleinen Fließgewässern eingeführt und überprüft sowie eine Abschätzung der Effekte des Pestizideintrags für zwei beispielhafte Regionen in Frankreich und Finnland vorgenommen. Des Weiteren wurde die Eignung des SPEAR Index, der auf ökologischen und physiologischen Merkmalen von Makroinvertebraten beruht, für das vergleichende Biomonitoring größerer geografischer Einheiten untersucht. Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse dargestellt und dann in Hinblick auf Forschungsfragen diskutiert, die sich an diese Arbeit anschließen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Entwicklung und Anwendung einer Extraktionsmethode für 10 schwebstoffadsorbierte polare und semipolare Pestizide

Um die Belastung der Schwebstoffe aus 16 französischen Bächen mit 10 ausgewählten Pestiziden zu bestimmen (Tabelle 1), wurde eine neue analytische Methode zur Extraktion von schwebstoffadsorbierten polaren und semipolaren Pestiziden entwickelt (Kapitel 2). Für die Extraktion wurde die beschleunigte Lösemittelextraktion (ASE) verwendet und in Bezug auf die Wiederfindungsraten optimiert. Als optimale Extraktionsparameter wurden ein Lösungsmittelgemisch aus Ethylacetat-Aceton (2:1) und 2 Extraktionszyklen (jeweils 6 Minuten) bei 110°C und 11 MPa identifiziert. Die Wiederfindungen mit diesen Extraktionsparametern lagen zwischen 71 und 103% mit relativen Standardabweichungen unter 25% für 8 der 10 Analyten, wenn die Größenausschlusschromatographie als Aufreinigungsmethode verwendet wurde (Tabelle 1). Die Aufreinigung der Extrakte mit Festphasenextraktion lieferte im Allgemeinen geringere Wiederfindungen (13 – 67%).

Da die Wiederfindungen bei Proben mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften schwanken können, wurde die Eignung von 6 deuterierten Analyten zur Verwendung als interne Standards untersucht. Die Wiederfindungen von 3 deuterierten Standards mit 10 oder mehr Deuteriumatomen (Tabelle 1) unter verschiedenen

Extraktionsbedingungen korrelierten mit einem Pearson's r zwischen 0.88 und 0.97 ($n = 15$) mit den entsprechenden Ausgangsverbindungen. Die Differenzen in den Wiederfindungsraten zwischen diesen deuterierten Verbindungen und den zugehörigen Analyten lagen unter 4%. Dementsprechend eignen sich diese Verbindungen als interne Standards, um mögliche Abweichungen in der Wiederfindung bei der Extraktion und Aufreinigung von Feldproben anzuzeigen. Die deuterierten Verbindungen mit 4 oder 6 Deuteriumatomen wiesen hingegen bis zu 40% Differenz zu den Wiederfindungsraten der zugehörigen Analyten auf (Tabelle 1) und korrelierten in ihren Wiederfindungen nur mit einem Pearson's r zwischen 0.76 und 0.89 ($n = 15$) mit den entsprechenden Analyten.

Tabelle 1: Physikochemische Eigenschaften von 10 Pestiziden sowie 6 deuterierten Standards und Wiederfindungen (WF) mit relativer Standardabweichung (rel. Std.) für die ASE mit Festphasenextraktion (SPE) oder Größenausschlusschromatographie (SEC) als Aufreinigungsmethode

Verbindung	Typ ^a	Verbindungs-kategorie ^a	log K_{oc} ^b	SPE WF (%)	SPE rel. Std. (%)	SEC WF (%)	SEC rel. Std. (%)
Acetochlor	H	Chloracetamid	2.32	63.6	7.9	96.7	10.7
Acetochlor D11	-	-	-	66.6	9.7	94.2	17.3
Alachlor	H	Chloracetamid	2.28	63.5	7.2	99.6	16.2
Alachlor D13	-	-	-	63.9	8	96.8	17.9
Carbofuran	I	Carbamat	1.75	45.8	25.9	97.5	16.6
Chlorfenvinphos	I	Organophosphorsäure	2.47	66.1	12.3	94.3	9.5
Chlorfenvinphos D10	-	-	-	63.8	14.7	94.3	8.1
α -Endosulfan	I	Organochlor	4.13	50.1	6.6	102.7	21.9
α -Endosulfan D4	-	-	-	51.3	13.2	83.2	11.3
Fenpropidin	F	Piperidin	3.2 ^d	13.7	38.4	0	-
Linuron ^e	H	Carbamid	2.7	36.8	32.4	0	-
Oxadiazon	H	Oxadiazol	3.51	60.4	12.9	70.9	11.3
Pirimicarb	I	Carbamat	1.9	55.1	26.2	89.7	35.8
Pirimicarb D6	-	-	-	46.8	28.1	80.1	33.2
Tebuconazol	F	Triazol	3.5 ^d	52.8	8.4	89.8	24.2
Tebuconazol D6	-	-	-	39.7	25.1	50.1	19.7

^a aus Tomlin (2003), I = Insektizid, H = Herbizid, F = Fungizid ^b aus Sabljic et al. (1995)

^c als 3,4-Dichloranilin bestimmt ^d mit Chemprop 4.1 berechnet

(<http://www.ufz.de/index.php?en=6738>)

Die entwickelte Extraktionsmethode wurde zur Extraktion von Schwebstoffproben aus 16 französischen Bächen angewendet, die in zweiwöchigen Intervallen innerhalb von 4 Wochen gesammelt worden waren. Dabei wurden die Substanzen Acetochlor, Pirimicarb, Tebuconazol, Fenpropidin, α -Endosulfan and Chlorfenvinphos detektiert.

Acetochlor und Chlorfenvinphos wurden in Konzentrationen von bis zu 1 mg/kg, Fenpropidin und Tebuconazol wurden mit bis zu 350 µg/kg und α -Endosulfan und Pirimicarb wurden mit bis zu 140 µg/kg Trockengewicht gefunden. Ein Vergleich mit Toxizitätsdaten für Makroinvertebraten hatte zum Ergebnis, dass die Konzentrationen von Pirimicarb, α -Endosulfan und Chlorfenvinphos ökotoxikologische Effekte haben könnten, wenn ein Verteilungsgleichgewicht zwischen Wasserphase und Schwebstoffphase angenommen wird. **Zusammenfassend konnte eine Extraktionsmethode mit der ASE für die Bestimmung von schwebstoffadsorbierten polaren und semipolaren Pestiziden unterschiedlicher chemischer Stoffklassen entwickelt und erfolgreich auf Freilandproben angewendet werden.**

Kalibrierung des Chemcatcher[®] Passivsammlers zur Bestimmung von 10 polaren und semipolaren Pestiziden und Einsatz in 16 kleinen französischen Fließgewässern

Damit nach einer Freilandexposition des Chemcatcher[®] Passivsammlers zeitlichgewichtete Durchschnittskonzentrationen (TWA-Konzentrationen) für Analyten bestimmt werden können, werden für den Chemcatcher[®] der jeweiligen Empfängerphase substanzspezifische Sammelraten benötigt. Zur Ermittlung von Sammelraten wurden deshalb zwei Laborexperimente durchgeführt, in denen jeweils 14 Chemcatcher[®] in einem Durchflusssystem unter zwei unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten (0.135 m/s und 0.4 m/s) gegenüber 12 polaren und semipolaren Pestiziden mit einer konstanten Wasserkonzentration von 100 µg/L exponiert wurden (Kapitel 3). Innerhalb der jeweils 14-tägigen Experimente blieben die Aufnahmeraten in die Empfängerphase der Passivsammler (SDB-XC Empore Disk) für alle Substanzen linear, was bedeutet, dass der Chemcatcher[®] in der beschriebenen Konfiguration bis zu 14 Tage als integrativer Passivsammler bei Freilanduntersuchungen eingesetzt werden kann. Die Sammelraten der Substanzen reichten von 0.13 bis 0.44 L/Tag und waren leicht höher für die niedrigere Fließgeschwindigkeit (Tabelle 2). Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Sammelraten und dem $\log K_{ow}$ oder der Löslichkeit gefunden.

Ein Problem bei Freilanduntersuchungen mit Passivsammlern stellen mögliche Unterschiede in den Umweltbedingungen zwischen Probestellen dar, weil sie die Aufnahmeraten von Substanzen in den Passivsammler beeinflussen können. Bei isotroper Austauschkinetik kann das Performance Reference Compound (PRC)-Konzept verwendet werden (Huckins et al. 2002), um den Einfluss der Umweltbedingungen bei der Berechnung der TWA-Konzentrationen berücksichtigen zu können. Deswegen wurde im Rahmen des Kalibrationsexperimentes die Abgabekinetik von zwei beispielhaften

deutierten polaren Insektiziden (Pirimicarb D6 und Chlorfenvinphos D10) von der Empfängerphase untersucht. Die Abgabekinetik beider Substanzen wies eine hohe Variabilität von bis zu 250% Standardabweichung auf, was die Anwendung des PRC-Konzeptes für polare Empfängerphasen ohne diffusionslimitierende Membran in Frage stellt.

Bei der Freilandexposition des Chemcatchers® über einen Zeitraum von 10-13 Tagen in 16 französischen Bächen (Kapitel 4) wurden 7 der 10 ausgewählten Verbindungen detektiert (Tabelle 2). Dabei wurden die beiden Herbizide Acetochlor und Alachlor mit TWA-Konzentrationen von bis zu 1230 ng/L gefunden, während die anderen Substanzen maximale TWA-Konzentrationen von 159 ng/L aufwiesen. Insgesamt zeigte sich beim Kalibrationsexperiment und der Freilandexposition, dass der Chemcatcher® mit einer SDB-XC Empore Disk als Empfängerphase geeignet ist, polare und semipolare Substanzen zu erfassen.

Tabelle 2: Physikochemische Daten, Sammelraten (R_s) mit Variationskoeffizienten (CV) aus zwei Kalibrationsexperimenten mit unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten (v) und maximale TWA-Wasserkonzentration in 16 französischen Bächen für 10 ausgewählte Pestizide

Pestizid	log K_{ow} ^a	Typ ^b	Löslichkeit ^b (mg/L)	$v = 0.14$ m/s		$v = 0.4$ m/s		Max. TWA Konz. (ng/L) ^c
				R_s (L/d)	CV (%)	R_s (L/d)	CV (%)	
Pirimicarb	1.70	I	3000	0.32	16.5	0.31	11.7	12
Carbofuran	2.32	I	320	0.28	10	0.22	10	159
Acetochlor	2.39	H	223	0.13	14.8	0.14	23.3	1158
Fenpropidin	2.90 ^b	F	530	0.42	16.6	0.38	10.8	nn
Chlorfenvinphos	3.10	I	121	0.3	19	0.27	17.8	nn
Linuron	3.20	H	63.8	0.26	24.2	0.21	15.9	66
Alachlor	3.52	H	170	0.12	21.5	0.13	17.8	1233
Tebuconazol	3.70 ^b	F	36	0.44	22.6	0.34	12.2	15
α -Endosulfan	3.83 ^b	I	0.32	0.38	20	0.29	11.4	nn
Oxadiazon	4.80	H	1	0.19	30.1	0.24	12.4	26

^a entnommen aus Sabljic et al. (1995) ^b entnommen aus Tomlin (2003), I = Insektizid, H = Herbizid, F = Fungizid ^c nn = nicht nachgewiesen

Vergleich von drei Probenahmemethoden für die Erfassung der Pestizidbelastung in kleinen Fließgewässern

Um die Geeignetheit zur Erfassung der Pestizidbelastung von kleinen Fließgewässern zu beurteilen, wurden drei verschiedene Probenahmemethoden für einen Zeitraum von 2 Wochen miteinander verglichen (Kapitel 4). Bei den Probenahmemethoden handelte es

sich um den Chemcatcher[®] Passivsammler mit einer SDB-XC Empore Disk als Empfängerphase, einen Schwebstoffsammler bei dem die Extraktion wie oben beschrieben (S.141) erfolgte und einen ereignisbezogenen Wasserprobenehmer (Technische Zeichnungen aller Probenahmesysteme auf S.101). Der ereignisbezogene Wasserprobenehmer nahm jeweils bei einer signifikanten Erhöhung des Wasserspiegels des entsprechenden Fließgewässers (> 5-10 cm) eine 1-L Wasserprobe, da vorherige Studien gezeigt hatten, dass die Erhöhung des Wasserspiegels mit dem Eintrag von Pestiziden über Runoff einherging (Schulz et al. 2001, Liess und von der Ohe 2005).

Mit dem ereignisbezogenen Wasserprobenehmer wurden alle 10 ausgewählten Pestizide und mit dem Chemcatcher[®] 7 der 10 Substanzen gefunden (Tabelle 2). An den Schwebstoffen wurden im entsprechenden Zeitraum nur die 5 Verbindungen Acetochlor, Tebuconazol, Fenpropidin, α -Endosulfan und Chlorfenvinphos nachgewiesen. Die absolute Anzahl an Detektionen über der Bestimmungsgrenze war in der Wasserphase mit 66 für den ereignisbezogenen Wasserprobenehmer und mit 54 für den Chemcatcher[®] signifikant höher (χ^2 -Test mit Bonferroni-Korrektur, $p < 0.05$) als an den Schwebstoffen, wo nur 22 Detektionen oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden wurden. Dabei wurde auch festgestellt, dass die TWA-Konzentrationen des Passivsammlers und die Wasserkonzentrationen des ereignisbezogenen Wasserprobenehmers signifikant korrelierten (Pearson's $r = 0.79$, $p > 0.01$, $n = 75$). Dieser enge Zusammenhang zeigt, dass die hauptsächliche Belastung, die der Passivsammler in den 2 Wochen registrierte, in Verbindung mit der Erhöhung des Wasserspiegels durch ein starkes Regenereignis auftrat, was wiederum auf die Relevanz des Eintragspfades Runoff hinweist.

Die Pestizidkonzentrationen in der Wasserphase waren auch relevanter für die Erklärung der Variation des SPEAR-Index, der biologische Effekte durch Pestizidstress anzeigt. So konnten die TWA-Konzentrationen des Chemcatchers[®] 50% und die Konzentrationen des ereignisbezogenen Wasserprobenehmers 38% der Varianz des SPEAR-Index erklären, während die Schwebstoffkonzentrationen nur 1% dieser Varianz erklären konnten.

Insgesamt ist also die Beprobung der Wasserphase geeigneter, um die Belastung mit polaren und semipolaren Pestiziden zu bestimmen. Außerdem zeigte die Untersuchung, dass der Chemcatcher[®] in der Lage ist, episodische Eintragsereignisse wie pestizidbelasteten Runoff zu erfassen.

Effekte von Pestiziden auf das Ökosystem kleiner Fließgewässer in zwei beispielhaften Gebieten mit intensiver Landwirtschaft

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Felduntersuchungen zu den Auswirkungen von Pestiziden auf Fließgewässerökosysteme in zwei unterschiedlichen biogeografischen Regionen mit kontrastierendem Pestizideinsatz durchgeführt (Kapitel 5). Hierfür wurden zwei Regionen in Frankreich und Finnland ausgewählt, da für diese Gebiete Ergebnisse behördlicher Monitoringprogramme und Anwendungsmengendaten vorlagen, die benötigt wurden, um aus den Hunderten von zugelassenen Wirkstoffen potentiell ökotoxikologisch relevante Substanzen zu identifizieren. Für jedes Gebiet wurden die 10 Pestizide mit der höchsten Ökotoxizität gegenüber dem Standardtestorganismus *Daphnia magna* ausgewählt (Tabelle 3). Die Untersuchungen umfassten zum einen die Aufnahme des ökologischen Gewässerzustandes durch Beprobung der Makroinvertebratengemeinschaft sowie Messung der Blattabbaurate und zum anderen die Bestimmung der Konzentrationen der ausgewählten Pestizide.

In den finnischen Fließgewässern wurde nur eine der zehn ausgewählten Substanzen (das Fungizid Trifluralin) detektiert, die aber keine nachweisbaren Effekte auf die Makroinvertebratengemeinschaften oder den Blattabbau hatte. In der französischen Region wurden alle der zehn ausgewählten Pestizide gefunden (Tabelle 3). Mit steigendem Pestizidstress, gemessen in toxischen Einheit (TU) für *Daphnia magna*, nahm die Abundanz und Artenzahl der mit dem SPEAR-Konzept als empfindlich klassifizierten Makroinvertebraten ab (siehe S.111 für Details zur Methode). Die Verfügbarkeit von unbelasteten Gewässerabschnitten flussaufwärts konnte die Auswirkungen von Pestiziden auf die empfindlichen Arten signifikant verringern (Welch's t-Test, $p < 0.01$, $n = 16$), vermutlich dadurch, dass diese Gewässerabschnitte als Rekolonisationsreservoir dienen. Das Ausmaß der strukturellen Änderung in der Invertebratengemeinschaft in den französischen Fließgewässern korrelierte eng mit der Abnahme einer Ökosystemfunktion, dem Blattabbau (Pearson's $r = 0.94$, $p < 0.01$, $n = 11$).

Im Anschluss wurde untersucht, inwieweit das SPEAR-Konzept geeignet ist, um Biomonitoringdaten aus verschiedenen biogeografischen Regionen vergleichend zu analysieren. Dafür wurden auch die Ergebnisse von Felduntersuchungen in Norddeutschland einbezogen (Liess und von der Ohe 2005). Es zeigte sich, dass die SPEAR-Indizes von Referenzgewässern und belasteten Gewässern über die drei Regionen in Finnland, Frankreich und Deutschland hinweg signifikant unterschiedlich waren (Behrens-Fischer post-hoc Test, $p < 0.05$, $n = 49$). Des Weiteren wurden signifikante

Effekte von Pestiziden auf die Invertebratengemeinschaft im Bereich zwischen 1/100 bis 1/1000 des LC50 für *Daphnia magna* festgestellt (Behrens-Fischer post hoc Test, $p < 0.01$, $n = 49$), ein Expositions niveau das bisher als unproblematisch galt.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass Pestizide die Struktur der Invertebratenfauna verändern können, woraus eine Beeinträchtigung von wichtigen Ökosystemfunktionen resultieren kann. Außerdem ist der SPEAR-Index geeignet, um ökologische Effekte über große geografische Regionen hinweg zu identifizieren.

Tabelle 2: Physikochemische Eigenschaften, Toxizität und maximal gemessene Konzentrationen (MK) mit der zugehörigen toxischen Einheit für *Daphnia magna* (TU) für die ausgewählten Substanzen im finnischen und französischen Monitoringprogramm (MP)

Pestizid	MP ^a	Typ ^{b,c}	Verbindungs- klasse ^{b,d}	log K_{ow} ^b	LC50 ($\mu\text{g/L}$) ^{b,e}	MK ($\mu\text{g/L}$) ^f	TU ^f
Acetochlor	FR	H	Chloracetamid	4.14	9000	1.920	-3.67
Aalachlor	FR	H	Chloracetamid	3.09	10000	0.806	-4.09
α -Endosulfan	FR	I	Organochlor	4.74	75	0.076	-2.99
Carbofuran	FR	I	Carbamat	1.52	38.6	0.715	-1.73
Chlorfenvinphos	FR	I	OPS	3.85	0.3	0.115	-0.42
Fenpropidin	FR	F	Piperidin	2.59	500	0.059	-3.93
Linuron	FR	H	Carbamid	3.00	120	0.097	-3.09
Oxadiazon	FR	H	Oxadiazol	4.91	2400	0.071	-4.53
Pirimicarb	FR	I	Carbamat	1.70	17	0.072	-2.37
Tebuconazol	FR	F	Triazol	3.70	4200	0.070	-4.78
α -Cypermethrin	FIN	I	Pyrethroid	6.94	0.15	nn	nn
α -Endosulfan	FIN	I	Organochlor	4.70	75	nn	nn
Azoxystrobin	FIN	F	Strobilurin	2.50	259	nn	nn
Cyprodinil	FIN	F	Pyrimidin	3.90	10	nn	nn
Deltamethrin	FIN	I	Pyrethroid	6.20	3.5	nn	nn
λ -Cyhalothrin	FIN	I	Pyrethroid	7.00	0.38	nn	nn
Malathion	FIN	I	OPS	2.75	1	nn	nn
Sulfotep	FIN	I	OPS	3.99	2	nn	nn
τ -Fluvalinate	FIN	I	Pyrethroid	6.70	1	nn	nn
Trifluralin	FIN	F	Dinitroanilin	4.80	245	0.001 ^g	-4.34

^aFR = Frankreich, FIN = Finnland ^bentnommen aus Tomlin (2001) ^cH = Herbizid, F = Fungizid und I = Insektizid ^dOPS = Organophosphorsäure ^eLC50 für *Daphnia magna* ^fnn = nicht nachgewiesen ^gTWA-Konzentration

Diskussion der wichtigsten Ergebnisse und Ausblick

Neue Methoden für die Expositionsabschätzung von Pestiziden

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine neue Extraktionsmethode für partikeladsorbierte Pestizide entwickelt und eine Passivsammlermethode mit dem Chemcatcher® für polare Pestizide kalibriert und angewendet. Im Vergleich zu Probenahmemethoden für die Wasserphase konnte die Erfassung der schwebstoffadsorbierten Pestizide keinen Beitrag zur Aufklärung von Effekten liefern (Kapitel 4, S.92). Diesbezüglich gilt es in zukünftigen Studien zu klären, ob die Erklärungskraft der schwebstoff- oder sedimentadsorbierten Pestizidkonzentrationen für unpolare Substanzen mit einem $\log K_{oc} > 3$ oder für chronische Effekte höher wäre. Eine große Herausforderung stellt diesbezüglich auch die Entwicklung einer effizienteren Aufreinigungsmethode für polare und semi-polare Substanzen dar, da die Bestimmungsgrenzen aufgrund der starken Matrixbelastung von Schwebstoff- und Sedimentproben vergleichsweise hoch waren. Inwiefern hier die Möglichkeiten der Dialyse mit der beschleunigten Lösemittelextraktion (ASE) genutzt werden könnten, wäre ein Ansatzpunkt für zukünftige Studien (Wenzel et al. 2004).

Ferner stellt sich die grundsätzliche Frage, ob zur Beurteilung der Exposition nicht direkt Biota extrahiert werden sollten (Nödler 2007). Letztendlich ist es die Konzentration im Organismus die ökotoxikologisch relevant ist und bei einer ausreichend großen Menge an Probenmaterial würde die Extraktion der Organismen ein realistischeres Bild der Belastungssituation abgeben (Fent 1998). Somit wäre ein weiterer Ansatz die Eignung der entwickelten Extraktionsmethode für die Extraktion von Biota zu überprüfen.

Ein wichtiges Ergebnis dieser Arbeit ist, dass der Chemcatcher® Passivsammler geeignet ist, die Belastung mit polaren und semipolaren Substanzen im Allgemeinen und speziell bei Runoff-Ereignissen zu erfassen. Allerdings scheint das Performance Reference Compound-Konzept (Huckins et al. 2002), das zur Berücksichtigung von Unterschieden in den Umweltbedingungen bei Feldexpositionen eingesetzt wird, nicht anwendbar zu sein, zumindest nicht ohne die Verwendung einer diffusionslimitierenden Membran (Tran et al. 2007). Die Verwendung einer solchen Membran könnte auch das Problem des Biofouling der Empfängerphase lösen. Inwiefern bei Verwendung einer Membran allerdings noch ein kurzfristiges Eintragsereignis wie Runoff erfasst wird, müsste in zukünftigen Studien geklärt werden.

Im Vergleich mit einem ereignisbezogenen Wasserprobenehmer, der schon in verschiedenen Feldstudien eingesetzt wurde (Schulz et al. 2001, Liess und von der Ohe 2005), detektierte der Chemcatcher® eine etwas geringere Anzahl von Substanzen. Bezüglich der Erklärung der Variabilität des SPEAR-Index ergaben sich daraus aber keine nennenswerten Unterschiede zum ereignisbezogenen Wasserprobenehmer. Die gute Erklärungsleistung der zeitlich-gewichteten Durchschnittskonzentrationen (TWA) des Chemcatcher® für ökologische Effekte ergab sich vermutlich aus dem Umstand, dass Runoff der hauptsächliche Eintragspfad war. In Situationen, wo neben episodischer Exposition auch eine kontinuierliche Belastung mit der gleichen Verbindung vorkommt, wäre die Erklärungsleistung der TWA-Konzentrationen wahrscheinlich gering, da sich keine eindeutige Beziehung zur akuten oder chronischen Konzentration herstellen ließe.

Nichtsdestotrotz stellt das Passivsammeln ein effektives Instrument zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung dar. Auch für größere Freilandmonitoringprogramme, bei denen die Proben aus dem ereignisbezogenen Wasserprobenehmer nicht unmittelbar nach einem episodischen Ereignis eingesammelt werden können, stellen Passivsammler eine Alternative dar. Schließlich wird mit dem Einsatz von Passivsammlern häufig auch eine wesentlich geringere Nachweisgrenze als bei Wasserproben erreicht, so dass sie für das Screening von neuen Problemstoffen in der Umwelt eingesetzt werden könnten (Muir und Howard 2006).

Finnland als Leitbild für die Reduktion der Pestizidbelastung in anderen europäischen Ländern?

Für das europäische Gewässermanagement legen die Ergebnisse der Feldstudien nahe, dass eine Pestizidanwendung, wie sie in der finnischen Landwirtschaft praktiziert wird, keine nachhaltige Schädigung der Gewässerfauna erwarten lässt. Als Hauptursache für die geringe Belastung der finnischen Gewässer wurde die niedrige Ausbringungsmenge angenommen, die in Finnland im Vergleich zu anderen europäischen Ländern um bis zu einen Faktor 10 kleiner ist (EUROSTAT 2002). Eine Untersuchung in zwei Regionen in Kalifornien identifizierte ebenfalls die Ausbringungsmenge von Pestiziden als primäre Prädiktorvariable der Konzentration und Toxizität von Pestiziden in Gewässern (Hunt et al. 2006). Auch eine Studie zur Fracht und Konzentration von 25 Pestiziden in schwedischen Fließgewässern erklärte den Großteil der Variabilität in diesen Variablen mit Unterschieden in der Ausbringungsmenge (Kreuger und Tornqvist 1998). Die geringe Ausbringungsmenge in Finnland resultiert aus der geografischen Lage, die mit einer

vergleichsweise niedrigen Präsenz von potentiellen Schädlingen für die Landwirtschaft einhergeht (Patterson et al. 1999). Daraus folgt, dass die finnische Ausbringungsmenge von Pestiziden nicht ohne weiteres auf mittel- und südeuropäische Regionen mit stärkerem Vorkommen an Schädlingen übertragbar ist, wenn Einbußen bei den Ernteerträgen vermieden werden sollen. Eine empirische Untersuchung in verschiedenen Entwicklungsländern zeigte jedoch, dass die Ausbringungsmengen um 42% verringert werden konnten, ohne Einbußen bei den Ernteerträgen hervorzurufen wenn geänderte landwirtschaftliche Nutzungspraktiken wie das integrierte Schädlingsmanagement oder das integrierte Nährstoffmanagement angewendet wurden (Pretty et al. 2006). Inwiefern diese Ansätze auch in der europäischen Landwirtschaft Anwendung finden könnten, müsste näher untersucht werden.

Allerdings können die Pestizideinträge in Gewässer nicht nur durch eine Verringerung der Ausbringungsmenge sondern auch durch Maßnahmen zur Reduktion des Austrags der Pestizide vom Feld reduziert werden (Abbildung 1). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde bis auf die Aufnahme der Feldrandstreifenbreite nicht untersucht, inwiefern solche Maßnahmen zur geringen Belastung der finnischen Gewässer beitragen. Allerdings fiel auf, dass bei zwei Feldern mit relativ insektizidintensiven Früchten (Zuckerrüben) ein Streifen mit Getreide den Abstand zum Gewässer vergrößerte. Ansonsten waren die Randstreifen bei den finnischen Gewässern im Durchschnitt nicht breiter als bei den französischen. Zukünftige Studien müssten eine Befragung der Landwirte in das Untersuchungsdesign integrieren, um die Anwendung und Wirkung solcher Maßnahmen zu untersuchen. Die Effektivität von Maßnahmen zur Reduktion der Einträge in die Gewässer wie z.B. das Anlegen von Feldrandstreifen oder die zeitliche Anpassung der Ausbringung wurde kürzlich in einer Metastudie untersucht (Reichenberger et al. 2007). Dabei zeigte sich, dass die Wirksamkeit der Maßnahmen unter anderem vom jeweiligen Substanzspektrum abhängt. So sind z.B. Randstreifen primär zur Verringerung des Austrags von unpolaren Substanzen effektiv. Diesbezüglich schließt sich auf Basis der Ergebnisse dieser Arbeit auch die Frage an, inwieweit das angewendete Substanzspektrum in Finnland (eher unpolar) für geringere Einträge in die finnischen Gewässer verantwortlich ist im Vergleich zu den in Frankreich eingesetzten Wirkstoffen (eher polar). Offen ist vor allem, ob ein geringerer Eintrag von unpolaren Substanzen die Effekte aufgrund der meist höheren Toxizität dieser Verbindungen kompensieren kann (von der Ohe et al. 2005).

Insgesamt kann auf Grundlage der Ergebnissen der vorliegenden Arbeit geschlossen

werden, dass in den finnischen Fließgewässern im Allgemeinen keine negativen Auswirkungen durch Pestizide zu erwarten sind. Allerdings kann die finnische Situation aufgrund der mit der geografischen Situation verbundenen Randbedingungen nur eingeschränkt als Leitbild für andere europäische Regionen fungieren. Ohnehin stellt es eine Wertentscheidung dar, ob ein solcher Umweltzustand erreicht werden soll oder die Kosten für dieses Schutzniveau für andere Regionen zu hoch wären (Boesten et al. 2007).

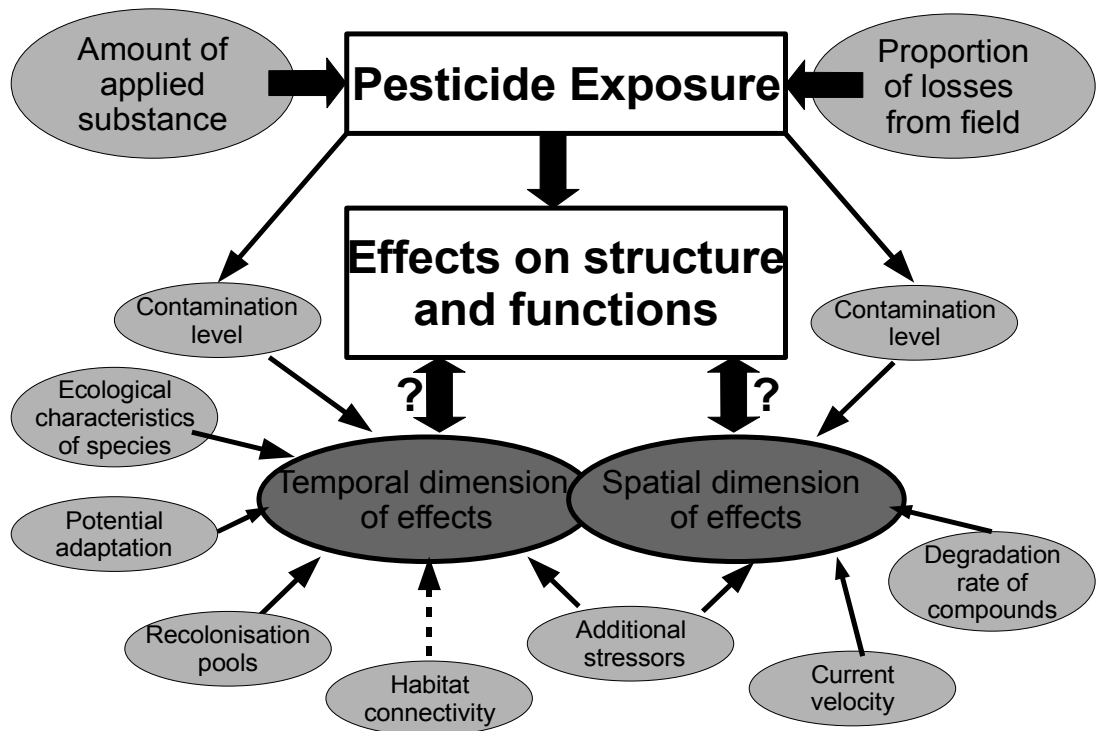


Abbildung 1: Einflussfaktoren für die räumliche und zeitliche Dimension der Effekte von Pestiziden.

Folgerungen und offene Fragen aus der Studie an französischen Fließgewässern über die Gefährdung von Fließgewässerökosystemen durch Pestizide

Die Ergebnisse einiger Feldstudien inklusive dieser Arbeit zeigen, dass die gegenwärtige Praxis der Pestizidanwendung Effekte auf die Invertebratenfauna kleiner Fließgewässer haben kann (vgl. S.25). Die vorliegende Arbeit kommt außerdem zum Ergebnis, dass auch unterhalb einer toxischen Einheit von 1/100 des LC50 für *Daphnia magna* Veränderungen der Struktur der Makroinvertebratengemeinschaft auftreten können, was wiederum in einer Beeinträchtigung von Ökosystemfunktionen resultieren kann. Bisher wurde davon ausgegangen, dass unterhalb der Schwelle von 1/100 der TU für *Daphnia magna* keine nachteiligen Effekte auftreten. Deshalb wurde diese Schwelle als zulässiges Expositionsniveau bei der Zulassung von Pestiziden in der EU festgelegt (EEC 1991).

Auf die Gründe, warum in den meisten Mesokosmenstudien keine Effekte bei einem Expositionsniveau von 1/100 der TU für *Daphnia magna* gefunden wurden, wurde bereits in Kapitel 5 (S.124) ausführlich eingegangen. Ein häufiger Vorwurf gegenüber Felduntersuchungen ist, dass Effekte bei geringen Konzentrationen lediglich das Artefakt einer unterschätzten Höchstkonzentration seien. In Bezug auf diese Arbeit sei dazu angemerkt, dass selbst eine Unterschätzung der Höchstkonzentration im Gewässer um den Faktor 2 nur eine Veränderung der TU um den Faktor 1.3 ($\log_{10} 2$) zur Folge hätte. Eine solche Unterschätzung der Höchstkonzentrationen würde also das Ergebnis, dass Effekte unterhalb der Schwelle von 1/100 der TU für *Daphnia magna* auftreten, nicht grundsätzlich verändern. Allerdings zeigte das Verhältnis zwischen den Durchschnittskonzentrationen in den Passivsammlern und den Spitzenkonzentration die mit dem ereignisbezogenen Probenehmer ermittelt wurden ohnehin, dass die Spitzenkonzentrationen nicht wesentlich unterschätzt wurden (S.95).

Eine wichtige Fragestellung die sich in Bezug auf die Effekte anschließt, ist die Frage, welcher zeitlichen und räumlichen Dimension die beobachteten Effekte angehören. Zu beiden Aspekten gibt es bisher nur wenige Freilanduntersuchungen. Bezüglich der zeitlichen Dimension zeigte eine Untersuchung, bei der ein Fließgewässer intentionell mit Methoxychlor kontaminiert wurde, dass die Wiedererholung der geschädigten Gemeinschaft bis zu fünf Jahre dauern kann (Wallace et al. 1986). Eine weitere Studie in der Region Braunschweig kam zu dem Ergebnis, dass innerhalb von einem Jahr keine vollständige Wiedererholung von einer Schädigung durch Pestizide erfolgte (Liess und von der Ohe 2005). Generell determinieren verschiedene Faktoren die Dauer der Wiedererholung, wobei die Relevanz der einzelnen Faktoren bisher noch nicht vergleichend untersucht wurde (Schäfer und Liess 2005) (Abbildung 1). Ein wichtiger Faktor für die Wiedererholung ist die Anwesenheit von flussaufwärts gelegenen unbelasteten Gewässerabschnitten, was auch die vorliegende Arbeit zeigte. Diese Abschnitte können die Effekte von Pestiziden auf die Gemeinschaftsstruktur vermutlich durch Wiederbesiedelung puffern (Hatakeyama und Yokoyama 1997, Liess und von der Ohe 2005), die genauen ökologischen Mechanismen sind allerdings ungeklärt. Da viele Invertebraten sich per Flug ausbreiten, könnte auch das Vorhandensein von unbelasteten Fließgewässern in der Nähe belasteter Gewässer zur Wiederbesiedelung und damit zur Abfederung von Pestizideffekten beitragen (Jansson et al. 2007). Weitere Faktoren, welche die Dauer der Wiedererholung beeinflussen, sind die ökologischen Eigenschaften der betroffenen Arten (Calow et al. 1997, Liess und von der Ohe 2005) und eine mögliche

Anpassung an die Störung durch Pestizide (Heckman 1981, Landis et al. 1996). Schließlich müsste eine realistische Beurteilung des Wiedererholungspotentials auch die Wirkung von anderen Stressoren auf die aquatische Biozönose einbeziehen (Heugens et al. 2001).

Bezüglich der räumlichen Dimension der Effekte existieren kaum Untersuchungen. So wurde bisher nicht untersucht, auf welcher Länge des betroffenen Gewässers Effekte durch Pestizide auftreten. Wichtige Faktoren, die die räumliche Dimension der Schädigung beeinflussen, sind die Höhe der Kontamination, die Persistenz der Substanzen und die Fließgeschwindigkeit, da diese Faktoren bestimmen wie weit die Pestizide transportiert werden. Die Relevanz dieser Faktoren für die räumliche Dimension der Effekte zeigte sich beim Sandozunfall im Rhein (Heil 1990).

Des Weiteren ist nicht bekannt, inwiefern die Effekte durch Pestizide auf kleinere Fließgewässer beschränkt sind. Bis auf Unfälle wurden bisher die Effekte von Pestiziden in größeren Gewässern aus mehreren Gründen kaum untersucht:

- Durch die Vielzahl von Stressoren und der hohen Fluktuation der Konzentrationen ist das Herstellen von einer eindeutigen kausalen Verbindung zwischen einem einzelnen Stressor und der Gemeinschaftsstruktur fast unmöglich (Allan 1995)
- Flüsse bestehen im Querschnitt aus einer Vielzahl von Habitaten mit heterogener Verteilung der Arten, so dass auch die Effekte innerhalb des Querschnitts vermutlich unterschiedlich ausfallen würden (Lake 2000)
- Ein repräsentatives Monitoring der Invertebratengemeinschaft ist wesentlich aufwändiger als in kleinen Fließgewässern (Flotemersch et al. 2006)
- Es lassen sich nur schwer unbelastete Referenzgewässer mit ähnlichen Eigenschaften finden, da es nur eine begrenzte Anzahl von größeren Fließgewässern in einer Region gibt. Aufgrund der geringeren Stichprobe wäre die statistische Teststärke, signifikante Unterschiede zu finden, dann niedrig.

Gleichwohl ergab eine Auswertung von Punktwasserproben in norddeutschen Flüssen, dass bis zu 20% der Proben eine TU von größer als 1/10 des LC50 für *Daphnia magna* aufwiesen, was eine Konzentration darstellt bei der sowohl in Mesokosmen- als auch Freilandstudien deutliche Effekte beobachtet wurden (Van Wijngaarden et al. 2005). Da zur Zeit häufig noch großes Unwissen bezüglich der Ursachen des schlechten ökologischen Zustands von Fließgewässern besteht (Posthuma und De Zwart 2006), wären auch Studien an größeren Fließgewässern dringend notwendig, um die Relevanz von Pestiziden auf der Ebene des Einzugsgebietes beurteilen zu können.

Identifikation von Stressoren mit merkmalsbasierten Indizes

Die Invertebratenfauna wird durch verschiedene Stressoren beeinflusst und wie auch die vorliegende Arbeit aufzeigt, können Pestizide ein relevanter Stressor sein. Im Rahmen einer Feldstudie an 20 Fließgewässern im Raum Braunschweig wurde der SPEAR-Index eingeführt, um Effekte von Pestiziden nachzuweisen (Liess und von der Ohe 2005). Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, dass dieser Index brauchbar ist, um Effekte von Pestiziden vor dem Hintergrund der natürlichen Variabilität von Lebensgemeinschaften zu identifizieren. Bemerkenswert war dabei insbesondere, dass die Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Pestizidstress und dem SPEAR-Index in verschiedenen biogeografischen Regionen nicht signifikant unterschiedlich war. Auch für das Biomonitoring über größere geografische Regionen hinweg erwies sich der Index als anwendbar, da:

- Referenzstellen in drei Regionen in Mittel- und Nordeuropa sich nicht signifikant unterschieden,
- und die Referenzstellen aller Regionen signifikant unterschiedliche Indexwerte im Vergleich mit belasteten Probestellen zeigten.

Dieses Ergebnis korrespondiert mit den Resultaten anderer Studien, die ein ähnliches Profil der Merkmalausprägungen von Invertebratengemeinschaften an europäischen Referenzstellen aufzeigten (Charvet et al. 2000, Statzner et al. 2005). Daran schließen sich verschiedene Fragestellungen an.

Zunächst stellt sich die Frage, ob die Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Pestizidstress und dem SPEAR-Index auf südeuropäische Regionen übertragen werden kann. Dabei ist insbesondere zu berücksichtigen, dass viele kleine Fließgewässer in Südeuropa zeitweise trocken fallen. Inwiefern dadurch die Auswirkungen von toxischem Stress verstärkt werden oder aber umgekehrt toxischer Stress vergleichsweise unbedeutend ist, sollte in zukünftigen Studien untersucht werden. Die Ergebnisse wären auch für nordeuropäische Regionen relevant, denn für diese wird in einigen Klimaszenarien eine Zunahme von Trockenheit vorhergesagt (Arnell 1999, Milly et al. 2005).

Als weitere Fragestellung schließt sich die Eignung von Indizes, die auf ökologischen und physiologischen Merkmalen beruhen, für andere Stressoren an. Besonders im Kontext der Umsetzung der europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) ist die Identifizierung der Ursachen für die Abweichung vom guten ökologischen Zustand ein dringendes Problem. In zwei Studien zu den Auswirkungen von Landnutzung und Salinität wurde bereits

gezeigt, dass merkmalsbasierte Indizes ein effektives Instrument zur Identifikation dieser Stressoren darstellen könnten (Doledec et al. 2006, Piscart et al. 2006). Dabei wäre für Stressoren wie Salinität oder Schwermetalle die Entwicklung eines Indexsystems analog zum SPEAR-Index möglich, da eine Vielzahl von Daten zur physiologischen Toleranz von Invertebraten (Kefford et al. 2003, von der Ohe und Liess 2004) und zu den ökologischen Merkmalen für europäische und nordamerikanische Arten vorliegen (Vieira et al. 2006, Statzner et al. 2007). Für andere Stressoren wie z.B. Habitatdegradation durch Kanalisierung oder Ausbaggerung dürfte die Entwicklung von merkmalsbasierten Indikatoren schwieriger sein, denn hier wird die Merkmalszusammensetzung von Gemeinschaften sich vermutlich schon zwischen verschiedenen Flusstypen unterscheiden, da hier Veränderungen in der Zielvariable (Geomorphologie) schon konstitutiv für Unterschiede zwischen Fließgewässertypen sind (Lorenz et al. 2004). Für solche Stressoren müssten also Referenzzustände in Abhängigkeit von den jeweiligen Fließgewässertypen definiert werden. Insgesamt sind auf diesem Gebiet also einige Ansatzpunkte zur Entwicklung effektiver Instrumente für die Identifikation von Stressoren vorhanden und der Autor hofft, mit dieser Arbeit einen Anstoß zu weiteren Studien geleistet zu haben.

Literaturverzeichnis Kapitel 6

- Allan, J. D. 1995. *Stream Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Arnell, N. W. 1999. The effect of climate change on hydrological regimes in Europe: a continental perspective. *Global Environmental Change-Human and Policy Dimensions* 9:5-23.
- Boesten, J. J. T. I., H. Kopp, P. I. Adriaanse, T. C. M. Brock, und V. E. Forbes. 2007. Conceptual model for improving the link between exposure and effects in the aquatic risk assessment of pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66:291-308.
- Calow, P., R. M. Sibly, und V. Forbes. 1997. Risk assessment on the basis of simplified life-history scenarios. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16:1983-1989.
- Charvet, S., B. Statzner, P. Usseglio-Polatera, und B. Dumont. 2000. Traits of benthic macroinvertebrates in semi-natural french streams: An initial application to biomonitoring in Europe. *Freshwater Biology* 43:277-296.
- Doledec, S., N. Phillips, M. Scarsbrook, R. H. Riley, und C. R. Townsend. 2006. Comparison of structural and functional approaches to determining landuse effects on grassland stream invertebrate communities. *Journal of the North American Benthological Society* 25:44-60.
- EEC. 1991. Council Directive of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. . Pages 137 in. Office for Official Publications of the European Communities.
- EUROSTAT, S. O. o. t. E. C. 2002. Use of plant protection products in the European Union Office for Official Publication of the European Union, Luxembourg.
- Fent, K. 1998. *Ökotoxikologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Flotemersch, J. E., K. Blocksom, J. J. Hutchens, und B. C. Autrey. 2006. Development of a standardized Large River Bioassessment Protocol (LR-BP) for macroinvertebrate assemblages. *River Research and Applications* 22:775-790.
- Hatakeyama, S., und N. Yokoyama. 1997. Correlation between overall pesticide effects monitored by shrimp mortality test and change in macrobenthic fauna in a river. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 36:148-161.
- Heckman, C. W. 1981. Long-term effects of intensive pesticide applications on the aquatic community in orchard ditches near Hamburg, Germany. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 10:393-426.
- Heil, K. H. 1990. Die Auswirkungen des Sandoz-Unfalls auf die Biozönose des Rheins. Pages 11-26 in G. Friedrich und R. Kinzelbach, editors. *Limnologie aktuell: Biologie des Rheins*. Gustav Fischer, Stuttgart, New York.

- Heugens, E., A. Hendriks, T. Dekker., N. M. Van Straalen, und W. Amiraal. 2001. A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology* 31:247-284.
- Huckins, J. N., J. D. Petty, J. A. Lebo, F. V. Almeida, K. Booij, D. A. Alvarez, R. C. Clark, und B. B. Mogensen. 2002. Development of the permeability/performance reference compound approach for in situ calibration of semipermeable membrane devices. *Environmental Science and Technology* 36:85-91.
- Hunt, J. W., B. S. Anderson, B. M. Phillips, R. S. Tjeerdema, N. Richard, V. Connor, K. Worcester, M. Angelo, A. Bern, B. Fulfrost, und D. Mulvaney. 2006. Spatial relationships between water quality and pesticide application rates in agricultural watersheds. *Environmental Monitoring and Assessment* 121:245-262.
- Jansson, R., C. Nilsson, und B. Malmqvist. 2007. Restoring freshwater ecosystems in riverine landscapes: the roles of connectivity and recovery processes. *Freshwater Biology* 52:589-596.
- Kefford, B. J., P. J. Papas, und D. Nugegoda. 2003. Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. *Marine and Freshwater Research* 54:755-765.
- Kreuger, J., und L. Tornqvist. 1998. Multiple regression analysis of pesticide occurrence in streamflow related to pesticide properties and quantities applied. *Chemosphere* 37:189-207.
- Lake, P. S. 2000. Disturbance, patchiness, and diversity in streams. *Journal of the North American Benthological Society* 19:573-592.
- Landis, W. G., R. A. Matthews, und G. B. Matthews. 1996. The layered and historical nature of ecological systems and the risk assessment of pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15:432-440.
- Liess, M., und P. C. von der Ohe. 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24:954-965.
- Lorenz, A., C. K. Feld, und D. Hering. 2004. Typology of streams in Germany based on benthic invertebrates: Ecoregions, zonation, geology and substrate. *Limnologia* 34:379-389.
- Milly, P. C. D., K. A. Dunne, und A. V. Vecchia. 2005. Global pattern of trends in streamflow and water availability in a changing climate. *Nature* 438:347-350.
- Muir, D. C. G., und P. H. Howard. 2006. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environmental Science & Technology* 40:7157-7166.
- Nödler, K. 2007. Asellus aquaticus als Passivsammler lipophiler organischer Schadstoffe in belasteten Gewässern. Master thesis. University Duisburg, Duisburg.
- Patterson, D. T., J. K. Westbrook, R. J. V. Joyce, P. D. Lingren, und J. Rogasik. 1999. Weeds, insects, and diseases. *Climatic Change* 43:711-727.

- Piscart, C., J. C. Moreteau, und J. N. Beisel. 2006. Monitoring changes in freshwater macroinvertebrate communities along a salinity gradient using artificial substrates. *Environmental Monitoring and Assessment* 116:529-542.
- Posthuma, L., und D. De Zwart. 2006. Predicted effects of toxicant mixtures are confirmed by changes in fish species assemblages in Ohio, USA, Rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:1094-1105.
- Pretty, J. N., A. D. Noble, D. Bossio, J. Dixon, R. E. Hine, F. de Vries, und J. I. L. Morison. 2006. Resource-conserving agriculture increases yields in developing countries. *Environmental Science & Technology* 40:1114-1119.
- Reichenberger, S., M. Bach, A. Skitschak, und H. G. Frede. 2007. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. *Science of the Total Environment* 384:1-35.
- Schäfer, R. B., und M. Liess. 2005. Langzeitwirkungen von Pflanzenschutzmitteln im Freiland. Pages 217-243 in B. L. f. Wasserwirtschaft, editor. *Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei und Flussbiologie*. Oldenbourg, München.
- Sabljić, A., Gusten, H., Verhaar, H., Hermens, J., 1995. Qsar Modeling of Soil Sorption - Improvements and Systematics of Log K_{oc} Vs Log K_{ow} Correlations. *Chemosphere* 31, 4489-4514.
- Schulz, R., S. K. C. Peall, J. M. Dabrowski, und A. J. Reinecke. 2001. Current-use insecticides, phosphates and suspended solids in the Lourens River, Western Cape, during the first rainfall event of the wet season. *Water SA* 27:65-70.
- Statzner, B., P. Bady, S. Doledec, und F. Scholl. 2005. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: an initial assessment of trait patterns in least impacted river reaches. *Freshwater Biology* 50:2136-2161.
- Statzner, B., N. Bonada, und S. Doledec. 2007. Conservation of taxonomic and biological trait diversity of European stream macroinvertebrate communities: a case for a collective public database. *Biodiversity and Conservation* 16:3609-3632.
- Tomlin, C.D.S., 2003. *The pesticide manual, a world compendium* BCPC Publications, Hampshire, UK.
- Tran, A. T. K., R. V. Hyne, und P. Doble. 2007. Calibration of a passive sampling device for time-integrated sampling of hydrophilic herbicides in aquatic environments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26:435-443.
- Van Wijngaarden, R. P. A., T. C. M. Brock, und P. J. Van Den Brink. 2005. Threshold levels for effects of insecticides in freshwater ecosystems: A review. *Ecotoxicology* 14:355-380.
- Vieira, N. K. M., N. L. Poff, D. M. Carlisle, S. R. Moulton, M. L. Koski, und B. C. Kondratieff. 2006. A database of lotic invertebrate traits for North America: U.S. Geological Survey Data Series 187. Retrieved: December 22 2006, from <http://pubs.water.usgs.gov/ds187>.

- von der Ohe, P., und M. Liess. 2004. Relative Sensitivity Distribution (RSD) of Aquatic Invertebrates to Organic and Metal Compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23:150-156.
- von der Ohe, P. C., R. Kuhne, R. U. Ebert, R. Altenburger, M. Liess, und G. Schuurmann. 2005. Structural alerts - A new classification model to discriminate excess toxicity from narcotic effect levels of organic compounds in the acute daphnid assay. *Chemical Research In Toxicology* 18:536-555.
- Wallace, J. B., D. S. Vogel, und T. F. Cuffney. 1986. Recovery of a headwater stream from an insecticide-induced community disturbance. *Journal of the North American Benthological Society* 5:115-126.
- Wenzel, K. D., B. Vrana, A. Hubert, und G. Schuurmann. 2004. Dialysis of persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons from semipermeable membranes. A procedure using an accelerated solvent extraction device. *Analytical Chemistry* 76:5503-5509.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Ralf Bernhard Schäfer

geboren am 8.5.1977 in Kassel

Promotion

seit 10/2004

Doktorand am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung in Leipzig (UFZ) im Department Systemökotoxikologie mit einem Promotionsstipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes e.V.

Bildung

04/2003 – 03/2004

Zweitstudium im Magisterstudiengang Statistik, Soziologie und Philosophie an der Universität Kassel (Zwischenprüfung in Soziologie mit 1,0 bestanden)

10/1998 – 03/2003

Diplomstudiengang Umweltwissenschaften an der Leuphana Universität Lüneburg (Gesamtnote 1,1)
Thema der Diplomarbeit: „Pestizide in niedersächsischen Fließgewässern“

10/1997 – 09/1998

Diplomstudiengang Marine Umweltwissenschaften an der Universität Oldenburg

08/1996 - 10/1997

Zivildienst im Haus der Jugend, Kassel

08/1993 – 06/1996

Abitur an der Jacob-Grimm-Schule Kassel
(Gesamtnote 1,3)

09/1987 – 06/1993

Heinrich-Schütz-Schule Kassel, Gymnasialzweig

08/1983 – 07/1987

Grundschule am Wartenberg, Kassel

Veröffentlichungen vor der Promotion

Schäfer, R., Palm, W.-U., Steffen, D. und Ruck, W.: Pflanzenbehandlungs- und Schädlingsbekämpfungsmittel in niedersächsischen Fließgewässern von 1994 bis 2001 – in: Hydrologie und Wasserbewirtschaftung, 48 (3): S.117-125

Schäfer, R.: Pestizide in niedersächsischen Fließgewässern – Hildesheim: Niedersächsisches Landesamt für Ökologie, Reihe „Oberirdische Gewässer“ 19/2003, 48 Seiten

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die eingereichte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel verfasst habe. Anderer als der von mir angegebenen Hilfsmittel und Schriften habe ich mich nicht bedient. Alle wörtlich oder sinngemäß den Schriften anderer Autorinnen oder Autoren entnommenen Stellen habe ich kenntlich gemacht.

Die vorliegende Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zwecke der Promotion oder eines Prüfungsverfahrens vorgelegt.

Ralf B. Schäfer

Leipzig, 13.12.2007