

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Gesamtfakultät
für Mathematik, Ingenieur- und Naturwissenschaften
der
Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

Vorgelegt von: Corinna Vaßholz

geboren in: Schorndorf

Tag der mündlichen Prüfung: 01.07.2024

Auswirkungen von
Bacillus thuringiensis israelensis
auf die Dipterenzönose im Auwald
mit einem Schwerpunkt
auf der Familie der *Chironomidae*

Gutachter: apl. Prof. Dr. Thomas Braunbeck

Prof. Dr. Michael Wink

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieses Werkes beigetragen haben:

Prof. Dr. Thomas Braunbeck und Prof. Dr. Michael Wink danke ich für die Übernahme des Erst- und des Zweitgutachtens sowie für die Möglichkeit, diese Arbeit am *Center for Organismal Studies* und dem *Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie* der Universität Heidelberg anzufertigen. Außerdem danke ich beiden sehr für die spontane Bereitschaft, mich unter ihre Fittiche zu nehmen, als inmitten der Arbeit plötzlich ein Betreuungswechsel anstand. Lieber Herr Wink, vielen Dank für die Möglichkeit, unter Ihrem fachlichen Rat und in Ihrem Labor die Arbeit zu Ende führen zu dürfen. Lieber Thomas, dir gebührt mein ganz persönlicher Dank. Ohne dein gewichtiges Wort im richtigen Moment wäre mein (akademisches) Leben wohl völlig anders verlaufen. Vielen Dank für deinen persönlichen Einsatz zur Rettung meiner Arbeit.

Ein besonderer Dank geht an den wissenschaftlichen Direktor der KABS, Dirk Reichle, für seine umfangreiche Unterstützung, sein ausgefeiltes Krisenmanagement und seinen unerschöpflichen Glauben daran, dass trotz aller Widrigkeiten diese Arbeit zu Ende geführt werden wird. Lieber Dirk, danke, dass du immer mit einer großen Portion Optimismus daran geglaubt hast, dass sich schon alles fügen wird. Selbst als wir vor der abgetauten Kühlanlage standen und erkannten, dass sich gerade mehr als ein Jahr Arbeit in Luft aufgelöst hat, hast du nicht aufgegeben, sondern mich stets in Wort und Tat unterstützt. Ich danke dir sehr dafür, dass du mir immer zur Seite gestanden hast und dich unermüdlich für den Fortbestand dieser Arbeit eingesetzt hast.

Hedi Sauer danke ich herzlich für die fachlichen Diskussionen und die umfangreiche Unterstützung im Molekularlabor. Sie ist das freundliche Herz der Arbeitsgruppe *Pharmazeutische Biologie* und wird zu Recht von allen Studierenden geliebt.

Dr. Richard Ottermanns (SCIDAC, RWTH Aachen) danke ich herzlichst für die Einführung in die Software CANOCO und der Beantwortung allerhand Fragen zum Thema multivariater Statistik. Von ihm durfte ich lernen, wie man mit großen Datensätzen umgeht.

Ich möchte mich auch bei allen wissenschaftlichen Hilfskräften und Studierenden in unserem Labor bedanken. Namentlich möchte ich hier Dominik Blank nennen, der mir wertvolle Tipps zum Thema Datenvisualisierungs-Skripte geben konnte.

Dr. Björn Pluskota-Jehle ist für mich ein ganz besonderer Wegbegleiter dieser Arbeit. In Worte zu fassen, für was ich dir alles dankbar bin, würde eine eigene Dissertation füllen. Nicht nur, dass wir wochenlang gemeinsam endlos und teilweise hitzig diskutierend durch den Schlamm gerobbt sind oder nächtelang Larven pipettiert haben, du bist auch mein persönlicher Daniel Düsentrieb, der jede meiner noch so fixen Ideen mit viel Panzertape in ein technisches Meisterwerk verwandelt hat. Danke für die gemeinsamen Kanu-Beprobungen, das Eis an der Siebkaskade (die sogar jahrelang in deinem Garten stand), die vielen aufbauenden Worte, deine Kreativität, deine Empathie – kurzum: Danke für die letzten fünf gemeinsamen Jahre und all deine Freundschaft!

Meiner Familie danke ich für die unablässige Unterstützung und den nie versiegenden Strom an Verständnis und Liebe. Merlin, du bist mit diesem Projekt aufgewachsen und bist mein ständiger Ansporn, mein Bestes zu geben. Ich werde nie vergessen, wie wir während der Corona-Pandemie die Tage zusammen Zuckmücken zählend verbrachten und gemeinsam durch die Wälder streiften. Danke dir für all die Liebe und dein zauberhaftes Lachen, das wirklich immer alles besser macht. Marc, du warst und bist mein persönlicher Fels in der Brandung. Danke für alles!

Abstract

The biocide *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), which is used in many (inter-)national mosquito control programmes, has been suspected to cause (sub-)lethal effects on non-target organisms of the *Chironomidae*. The main objective of the present study was therefore to assess the risk of Bti application to chironomids in the aquatic-terrestrial transition zone.

For that purpose, I reviewed the available scientific data and analysed a total of 59 different studies on the effects of Bti on chironomids. The results showed that a large number of chironomid species, in particular those belonging to the subfamily *Chironominae*, can be negatively affected by Bti at concentrations that are commonly used in the field (> 90 ITU/L Bti). This was more evident in the bioassay- and laboratory-/mesocosm-studies than in reported field studies.

Based on the data obtained, I determined the species-specific sensitivity of the first larvae of *Chironomus riparius*, *Ch. dorsalis* and *Ch. aprilinus* in bioassay experiments using the modified OECD TG 235 and performed an ecotoxicological risk assessment. I was able to show that all first instar larvae of the chironomid species studied are affected under laboratory conditions at Bti concentrations commonly used in mosquito control programmes.

In addition, I conducted two studies in the field. In the first *in situ* study, I recorded the dipteran community in two nature reserves in the Upper Rhine valley using emergence traps and compared them with reference data from 1995 to 1997. The results show that there have been no remarkable largescale changes in dipteran abundance and diversity over the last decades, while smaller-scale changes can be attributed to natural and climatic factors.

The second *in situ* study investigated the direct effect of Bti application on chironomid larvae. The potential damage to chironomid larvae caused by a double Bti application in the field was investigated. Although a partial overlap of culicid and chironomid habitats was observed in the small-scale and fluctuating mosaic of temporary aquatic habitats, no lasting damage to the chironomid population by Bti application could be detected.

If any (sub-)lethal damage had occurred, the population was able to compensate for it. Furthermore, no drift of the biocide from the application area to surrounding stagnant waters was observed.

In addition, as part of the second *in situ* study, I carried out a comparison of taxonomic methods (determination by morphological traits, sanger sequencing and metabarcoding) commonly used to identify chironomid larvae. Both morphological and molecular identification methods were found to have weaknesses in terms of detection reliability when used exclusively. Therefore, an integrative approach to chironomid identification is recommended.

Kurzfassung

Das in vielen (inter-)nationalen Stechmückenbekämpfungsprogrammen eingesetzte Biozid *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) steht immer wieder im Verdacht (sub-)letale Schäden bei Nichtzielorganismen der *Chironomidae* (Zuckmücken) hervorzurufen. Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, das Risiko einer Bti-Applikation für Chironomiden in der aquatisch-terrestrischen Grenzzone abzuschätzen.

Dazu habe ich eine Übersicht über die bisherige Datenlage erstellt und insgesamt 59 verschiedene Studien zur Wirkung von Bti auf Chironomiden ausgewertet. Dabei zeigte sich, dass viele Chironomidenarten, insbesondere aus der Unterfamilie *Chironominae*, durch Bti in freilandüblichen Konzentrationen (> 90 ITU/L Bti) negativ beeinflusst werden können. Dies zeigte sich sowohl in den ausgewerteten Bioassay- als auch in den Labor-/Mesokosmos-Studien deutlicher als in den referierten Freilandstudien.

Basierend auf den gewonnenen Daten habe ich in Bioassay-Experimenten die arttypische Sensitivität der Erstlarven von *Chironomus riparius*, *Chironomus dorsalis* und *Chironomus apralinus* mithilfe der modifizierten OECD TG 235 bestimmt und eine ökotoxikologische Risikoabschätzung durchgeführt. Ich konnte zeigen, dass alle Erstlarven der untersuchten Chironomidenarten bei Bti-Konzentrationen, wie sie üblicherweise in Stechmücken-Kontrollprogrammen eingesetzt werden, unter Laborbedingungen geschädigt werden.

Zusätzlich habe ich zwei *In-situ*-Studien durchgeführt. Im Rahmen der ersten *In-situ*-Studie habe ich die Dipterenzönose in zwei Naturschutzgebieten der Oberrheinaue mithilfe von Emergenzfällen erfasst und mit Referenzdaten aus den Jahren 1995 bis 1997 verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass, großräumig betrachtet, keine auffälligen Veränderungen der Dipterenabundanz und -diversität im Untersuchungszeitraum zu verzeichnen waren, während kleinräumige Veränderungen auf natürliche Einflussfaktoren zurückzuführen waren.

Die zweite *In-situ*-Studie untersuchte den direkten Effekt einer Bti-Applikation auf Chironomidenlarven. Zu diesem Zweck habe ich die potenzielle Schädigung von Chironomidenlarven durch zweifache Bti-Applikation im Freiland überprüft. Dabei konnte selbst in den Überlappungszonen von Culiciden (Stechmücken)- und Chironomidenhabitaten keine nachhaltige Schädigung der Chironomidenpopulation durch Bti-Applikation nachgewiesen werden. Sollte es zu (sub-)letalen Schädigungen gekommen sein, war die Chironomidenzönose in der Lage, diese zu kompensieren. Darüber hinaus konnte keine Verdriftung des Biozids aus dem Anwendungsgebiet in angrenzende Stillgewässer beobachtet werden.

Ergänzend hierzu habe ich im Rahmen der zweiten *In-situ*-Studie ein taxonomischer Methodenvergleich (Bestimmung mittels morphologischer Merkmale, Sanger-Sequenzierung und Metabarcoding) zur Bestimmung der Chironomidenlarven durchgeführt. Dabei wurde deutlich, dass sowohl die morphologischen als auch die molekularen Bestimmungsmethoden bei ausschließlicher Anwendung Schwächen bezüglich der Nachweistiefe aufweisen, sodass ein integrativer Ansatz zur Bestimmung von Chironomiden empfehlenswert ist.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Abstract	II
Kurzfassung	III
Inhaltsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	X
Tabellenverzeichnis	XIII
Abkürzungsverzeichnis	XIV
1. Einleitung und Zielsetzung	1
1.1 Fragestellungen dieser Arbeit	3
1.2 Überblick über den Aufbau der Arbeit und Inhalt der einzelnen Kapitel	3
1.2.1 Kurzüberblick.....	3
1.2.2 Zusammenfassung der Inhalte der einzelnen Kapitel.....	5
2. Thematisches Hintergrundwissen	7
2.1 Einführung in die Biologie der Chironomiden	7
2.1.1 Lebenszyklus.....	7
2.1.1.1 Larvalentwicklung.....	8
2.1.1.2 Puppenstadium	9
2.1.1.3 Imagines und Eigelege	10
2.1.2 Anpassung der Chironomiden an temporäre Habitate	10
2.1.2.1 Anpassungsstrategien der In-situ-Überdauerer	11
2.1.2.2 Anpassungsstrategien der Kolonisierer	13
2.2 Biozid Bti	15
2.2.1 Wirkweise Bti.....	15
2.2.2 Technische Formulierungen von Bti	17
2.3 Allgemeine Bioverfügbarkeit von Bti für Chironomiden	18
2.3.1 Effektivität an der Gewässeroberfläche	19
2.3.2 Verdünnungseffekt des Bti.....	19
2.3.3 Akkumulation und Persistenz von Bti entlang der Wassersäule	20
2.3.4 Einfluss von Transformationsprozessen auf die Effektivität von Bti.....	21
2.3.5 Akkumulation und Persistenz am Sediment.....	22
2.3.6 Bioverfügbarkeit im Sediment	24
2.4 Studienrelevante Grundannahmen	25
2.4.1 Gewässertypologie	25
2.4.1.1 Erläuterung der begrifflichen Unschärfe	25
2.4.1.2 Angewandte Gewässertypologie	27
2.4.2 Bekämpfungsstrategie der KABS	28
2.4.2.1 Brutstätten	28
2.4.2.2 Überflutungsdauer.....	29
2.4.2.3 Besatzkontrollen der Culiciden	29
2.4.2.4 Bekämpfung der Culiciden mithilfe einer Bti-Applikation.....	30

3.	Literaturauswertung zur Bti-Sensitivität von Chironomiden.....	31
3.1	Angewandte Methodik.....	31
3.2	Gemischte Freilandstudien.....	32
3.3	Labor- und Mesokosmos-Studien.....	34
3.4	Bioassay-Studien.....	34
4.	Die Dipterenzönose (temporärer) Auentümpel im Oberrheingebiet.....	37
4.1	Einführung.....	37
4.2	Dipteren der (temporären) Auentümpel.....	38
4.3	Material und Methoden.....	39
4.3.1	Photoelektoren.....	39
4.3.2	Umweltparameter.....	39
4.3.3	Morphologische Taxonomie und Abundanz Erhebung.....	39
4.3.4	Molekulare Taxonomie und Abundanz erhebung.....	41
4.3.5	Datenaufbereitung.....	41
4.3.6	Statistik.....	41
4.3.6.1	Multiple Response Permutation Procedure.....	42
4.3.6.2	Indicator Species Analysis.....	42
4.3.6.3	Unimodale Ordinationsverfahren.....	43
4.3.6.4	Kovarianzanalyse.....	44
4.4	Standortbeschreibung.....	45
4.4.1	Rußheimer Altrhein.....	45
4.4.1.1	Bisherige Untersuchungen.....	45
4.4.1.2	Probestellen.....	46
4.4.1.3	Wasserchemie.....	48
4.4.1.4	Meteorologische Daten und Pegelstände.....	48
4.4.2	Hockenheimer Rheinbogen.....	50
4.4.2.1	Bisherige Untersuchungen.....	51
4.4.2.2	Probestellen.....	51
4.4.2.3	Wasserchemie.....	54
4.4.2.4	Meteorologische Daten und Pegelstände.....	55
4.5	Ergebnisse.....	57
4.5.1	Dipterenzönose des Jahres 2019.....	58
4.5.1.1	Makrohabitate.....	58
4.5.1.2	Mikrohabitate.....	58
4.5.1.3	Gewässertypen.....	60
4.5.2	Chironomidenzönose des Jahres 2019.....	61
4.5.2.1	Makrohabitate.....	62
4.5.2.2	Mikrohabitate.....	63
4.5.2.3	Gewässertypen.....	64
4.5.3	Artbestimmung der Chironomidenzönose per Metabarcoding-Methode.....	64
4.5.4	Vergleich Dipterenzönose der Jahre 1995 bis 1997 und 2019.....	65
4.5.4.1	Makrohabitate.....	65
4.5.4.2	Mikrohabitate.....	67
4.5.4.3	Gewässertypen.....	69
4.5.5	Vergleich der Chironomidenzönose der Jahre 1995 bis 1997 und 2019.....	71

4.5.5.1	Makrohabitate	71
4.5.5.2	Mikrohabitate	73
4.5.5.3	Gewässertypen	77
4.5.5.4	Auswirkungen des Pegelstands auf die Chironomidenentwicklung	79
4.6	Diskussion	80
4.6.1	Dipterenzönose.....	80
4.6.1.1	Makrohabitate	80
4.6.1.2	Mikrohabitate	80
4.6.1.3	Gewässertypen	82
4.6.1.4	Die Dipterenentwicklung in temporären Auenhabitaten.....	83
4.6.2	Chironomidenzönose.....	84
4.6.2.1	Makrohabitate	84
4.6.2.2	Mikrohabitate	84
4.6.2.3	Gewässertypen	84
4.6.3	Zusammenfassung: Änderung und Diversität der Chironomidenzönose in (temporären) Auentümpeln der letzten zwanzig Jahre.....	85
5.	Direkte (Bti-)Effekte auf die Chironomidenlarven und taxonomischer Methodenvergleich.....	87
5.1	Material und Methoden.....	87
5.1.1	Probenahme.....	87
5.1.2	Vorextraktion der Chironomidenlarven	88
5.1.3	Selektive Extraktion der Chironomidenlarven.....	88
5.1.4	Taxonomische Bestimmung.....	89
5.1.5	Morphologische Bestimmung	89
5.1.6	Statistik der morphologischen Bestimmung	90
5.1.7	Molekulare Artbestimmung zum Vergleich der Bestimmungsmethoden	90
5.1.7.1	Material und Reagenzien.....	91
5.1.7.2	Sanger-Sequenzierung.....	93
5.1.7.3	Metabarcoding.....	97
5.1.7.4	Phylogenetische Rekonstruktion.....	98
5.2	Untersuchungsgebiet und Probestellen	98
5.2.1	Das Naturschutzgebiet „Horreninsel“	98
5.2.2	Beschreibung der einzelnen Probestandorte	100
5.2.3	Bekämpfungshistorie des Untersuchungsgebietes	102
5.3	Ergebnisteil I: Direkte Bti-Einflüsse auf die Chironomidenlarven	105
5.3.1	Taxonomische Auswertung.....	105
5.3.1.1	Ephemere Tümpel (U1 und B1).....	105
5.3.1.2	Aperiodisch temporäre Tümpel (U3 und B3)	105
5.3.1.3	Semipermanente Tümpel (U4 und B4)	105
5.3.1.4	Permanente Tümpel (U5 und B5)	107
5.3.2	Multiple Reponse Permutation Procedure.....	111
5.3.2.1	Einflussfaktoren Boden und organische Auflage.....	111
5.3.2.2	Einflussfaktor Überflutungsdauer	111
5.3.2.3	Einflussfaktor Gewässertyp	111
5.3.2.4	Einflussfaktor Vegetation.....	111
5.3.2.5	Einflussfaktor organische Substanz	112
5.3.2.6	Einflussfaktor Wasserstand im Untersuchungsgebiet.....	112

5.3.2.7	Einflussfaktor Kontroll- und Effekt-Transekt	112
5.3.2.8	Einflussfaktor Substrat	112
5.3.2.9	Einflussfaktor Trockenheit.....	112
5.3.3	Indicator Species Analysis	113
5.3.4	Multifaktorielle Korrespondenzanalyse der Chironomidenzönose	113
5.3.4.1	Allgemeine Betrachtung der multivariaten Korrespondenzanalysen	113
5.3.4.2	Korrespondenzanalysen mit besonderem Fokus auf die Verdriftung von Bti in permanenten Tümpeln.....	120
5.3.4.3	Korrespondenzanalysen mit besonderem Fokus auf den Effekt von Bti in semipermanenten Tümpeln	123
5.4	Diskussionsteil I: Direkte (Bti-)Einflüsse auf die Chironomidenlarven.....	127
5.4.1	Hydrologische Einflussfaktoren der unterschiedlichen Gewässertypen	128
5.4.1.1	Ephemere Tümpel (U1 und B1)	128
5.4.1.2	Aperiodische temporäre Tümpel (U3 und B3).....	128
5.4.1.3	Semipermanente Tümpel (U4 und B4)	129
5.4.1.4	Permanente Tümpel (U5 und B5)	131
5.4.1.5	Permanente Stillgewässer ohne Profundal (11).....	132
5.4.1.6	Zusammenfassung der hydrologischen Einflussfaktoren in den unterschiedlichen Gewässertypen	132
5.4.2	Einfluss der Temperatur und der Jahreszeiten	134
5.4.3	Einfluss des Pflanzenbewuchs	134
5.4.4	Einfluss des externen organischen (Pflanzen-)Materials	136
5.4.5	Einfluss der Substrate und Bodeneigenschaften	137
5.4.6	Ökotoxikologischer Einflussfaktor Bti.....	137
5.4.6.1	Mögliche Verdriftung des Biozids	138
5.4.6.2	Mögliche akute Schädigung der Chironomiden durch Bti-Applikation	138
5.4.7	Perspektiven zur Wirkung von Bti auf Chironomiden im Freiland	139
5.5	Ergebnisteil II: Taxonomischer Methodenvergleich	140
5.5.1	Vergleich zwischen morphologischer Bestimmung und Sanger-Sequenzierung.....	140
5.5.1.1	Methodenvergleich I	141
5.5.1.2	Methodenvergleich II.....	142
5.5.2	Methodenvergleich mit Einbeziehung der Metabarcoding-Ergebnisse	145
5.5.2.1	Vergleichende Ergebnisse des Methodenvergleichs I.....	145
5.5.2.2	Vergleichende Ergebnisse des Methodenvergleichs II	148
5.6	Diskussionsteil II: Taxonomischer Methodenvergleich	150
5.6.1	Bewertung der Genauigkeit und Präzision von Artenzuordnungen	150
5.6.1.1	Nachweishäufigkeit der Chironomidenarten.....	150
5.6.1.2	Die Frage der Replikatkonsistenz	151
5.6.2	Fehleranfälligkeit der untersuchten Bestimmungsmethoden	152
5.6.2.1	Korrekt bestimmte Taxa.....	152
5.6.2.2	Falsch-positiv bestimmte Taxa.....	152
5.6.2.3	Falsch-negativ bestimmte Taxa.....	154
5.6.3	Abschlussdiskussion des taxonomischen Methodenvergleichs	155
5.6.4	Ausblick und Anregungen zur Taxonomie der Chironomidenlarven	157

6.	Bioassay-Experimente zur Bestimmung der artspezifischen Empfindlichkeit von Chironomiden gegenüber Bti.....	158
6.1	Einleitung.....	158
6.2	Material und Methoden.....	158
6.2.1	Experimentaufbau	159
6.2.1.1	Schlupf der Erstlarven.....	159
6.2.1.2	Vorbereitung zur Exposition	160
6.2.1.3	Exposition	161
6.2.1.4	Messung abiotischer Faktoren.....	161
6.2.2	Formulierung und Konzentration des Bti.....	161
6.2.3	Endpunktbestimmung	162
6.2.4	Testvalidierung.....	162
6.2.5	Statistische Auswertung der Daten	162
6.2.5.1	Dosis-Wirkung-Beziehung.....	162
6.2.5.2	Risk Characterisation Ratio.....	162
6.3	Ergebnisse.....	163
6.3.1	Akute Toxizität von Bti auf Chironomus-Arten.....	163
6.3.1.1	<i>Chironomus riparius</i>	163
6.3.1.2	<i>Chironomus dorsalis</i>	164
6.3.1.3	<i>Chironomus apralinus</i>	165
6.3.2	Risk Characterisation Ratios	166
6.4	Diskussion	167
6.4.1	Begründung der vorgenommenen Modifikation der OECD TG 235.....	167
6.4.2	Vorteile der Modifikation der OECD TG 235	168
6.4.3	Akute Toxizität von Bti auf Chironomiden im Vergleich mit anderen Studien	168
6.4.4	Bedeutung der Bioassay-Ergebnisse für die Bti-Applikation im Freiland.....	169
6.4.4.1	Eingesetzte Bti-Konzentration im Freiland.....	169
6.4.4.2	Modellierung der erwarteten Wirkkonzentration im Freiland	170
6.4.4.3	Vergleich von Labor- und Freilanddaten	172
6.4.4.4	Risiko für benthische Chironomiden.....	173
7.	Zusammenfassung der Risikofaktoren für die Chironomiden durch Bti-Applikationen und ihr Management in der Praxis	175
7.1	Zusammenfassung der Risikofaktoren.....	175
7.1.1	Risiko der Wirkstoffkonzentration.....	175
7.1.1.1	Höhe der wirksamen Umweltkonzentration.....	176
7.1.1.2	Die Frage nach (sub-)letalen Bti-Effekten	176
7.1.1.3	Ergebnisse der eigenen Freilandstudie zur Wirkung von Bti auf Chironomidenlarven.....	177
7.1.1.4	Die Frage nach einer möglichen Persistenz und Mobilität.....	177
7.1.1.5	Zusammenfassende Betrachtung des Risikos durch die eingesetzte Biozidkonzentration	177
7.1.2	Frage des räumlichen Expositionsrisikos.....	178
7.1.2.1	Größe der Überlappungszonen der Chironomiden- und Culicidenhabitate ..	178
7.1.2.2	Artenvielfalt in den Überlappungszonen.....	179

7.2	Risikomanagement	180
7.2.1	Risikobeherrschung in Bezug auf Konzentration und Verwendung des eingesetzten Biozids.....	180
7.2.2	Verringerung des räumlichen Expositionsrisikos	181
7.2.3	Risikominimierung durch Schließen von Wissenslücken	181
	Bibliographie	183
	Anhang	208
	Eidesstattliche Versicherung	302

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Graphischer Überblick über den Aufbau der Arbeit und den Inhalt der einzelnen Kapitel.....	4
Abbildung 2: Lebenszyklus der Chironomiden	7
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Wirkung von Bti.....	16
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Bioverfügbarkeit von Bti in aquatischen Systemen	19
Abbildung 5: Schematischer Verlauf der Pegelstände in diversen Tümpeltypen.....	27
Abbildung 6: Darstellung der Stechmücken-Brutstätten im Höhenprofil einer Aue	29
Abbildung 7: Heatmap der aus der Literatur entnommenen Freiland-Daten für die Bti-abhängige Reduktion von Larven und Imagines der Chironomiden	33
Abbildung 8: Heatmap der aus der Literatur entnommenen Mesokosmos-/Labor-Daten für die Bti-abhängige Reduktion von Chironomidenlarven mit gemischten Larvenstadien.....	35
Abbildung 9: Übersicht der LC ₅₀ -Werte der Chironomidenlarven aus diversen Bioassay-Studien	36
Abbildung 10: Biologische Einflussfaktoren, die auf die Zusammensetzung und Abundanz von Dipteren in temporären Tümpeln wirken können	38
Abbildung 11: Eklektor für Emergenzfänge der phototaktischen Dipteren.....	39
Abbildung 12: Ablaufschema der taxonomischen Bestimmung der in den Sammelproben enthaltenen Individuen	40
Abbildung 13: Exemplarischer Biplot einer CCA	44
Abbildung 14: Übersicht der beiden Untersuchungsgebiete Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen.....	45
Abbildung 15: Übersicht der Probestellen im Makrohabitat Rußheimer Altrhein.	47
Abbildung 16: Meteorologische Daten 2019 für Speyer	48
Abbildung 17: Übersicht der Probestellen im Makrohabitat Hockenheimer Rheinbogen.....	51
Abbildung 18: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die Makrohabitate Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen.....	58
Abbildung 19: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die Mikrohabitate Schilf, Schlute, Wald und Gewässer.....	59
Abbildung 20: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die terrestrischen Flächen sowie die permanenten, semipermanenten und temporären Gewässertypen	61
Abbildung 21: Übersicht der Dipterenabundanz und Verteilung der monatlichen Chironomidenabundanz im Jahr 2019 für die beiden Makrohabitate	62
Abbildung 22: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die vier Mikrohabitatstypen Schilf, Schlute, Wald und Gewässer	63
Abbildung 23: Übersicht der Dipterenabundanz und Verteilung der monatlichen Chironomidenabundanz im Jahr 2019 für die terrestrischen Flächen sowie die permanenten, semipermanenten und temporären Gewässertypen.....	64
Abbildung 24: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Dipterenzönose abhängig vom Makrohabitat	66
Abbildung 25: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Dipterenzönose abhängig vom Mikrohabitat	68
Abbildung 26: Ordinationsdiagramm der indirekten Gradientenanalyse der Dipterenzönose abhängig vom Gewässertyp	70
Abbildung 27: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Makrohabitat	72

Abbildung 28: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Makrohabitat, erweitert um einen Symbolplot	73
Abbildung 29: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Mikrohabitat	75
Abbildung 30: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose aller Untersuchungsjahre, abhängig vom Mikrohabitat, ergänzt um einen Symbol-Plot	76
Abbildung 31: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Gewässertyp	78
Abbildung 32: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose aller Untersuchungsjahre, abhängig vom Gewässertyp, ergänzt um einen Symbol-Plot.....	79
Abbildung 33: Abundanz der <i>Chironomidae</i> in den verschiedenen Mikrohabitaten.....	80
Abbildung 34: Schematischer Ablauf der Chironomidenlarven-Analyse.....	87
Abbildung 35: Beispiele für drei angerfertigte Präparate für die morphologische Bestimmung. Zu sehen sind drei verschiedene Gattungen	90
Abbildung 36: Schematische Darstellung der Sequenzanalyse-Pipeline	96
Abbildung 37: Bezeichnungsbeispiel für die phylogenetische Auswertung von Sanger-Sequenzierungsergebnissen.....	96
Abbildung 38: Bezeichnungsbeispiel für phylogenetische Auswertung der Metabarcoding-Ergebnisse	98
Abbildung 39: Übersichtskarte des Untersuchungsgebietes im Naturschutzgebiet „Horreninsel“ (NSG-7300-020) und der Probestellen.....	99
Abbildung 40: Bodentypen des Untersuchungsgebietes im Naturschutzgebiet „Horreninsel“ (NSG-7300-020).....	100
Abbildung 41: Flächengröße der Probestellen (in ha) sowie der dazugehörige prozentuale Anteil an der Gesamtfläche des Naturschutzgebiets	101
Abbildung 42: Ordinationsdiagramm der indirekten Gradientenanalyse (Korrelations-Triplot) mit den sieben ordinalen Merkmalen	114
Abbildung 43: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Korrelations-Triplot der indirekten Gradientenanalyse) mit gewichteten Mittelwerten der Gewässertypen	115
Abbildung 44: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen-Biplot (indirekte Gradientenanalyse) mit den einzelnen Artaufnahmen	116
Abbildung 45: Korrespondenzanalysen-Attributplot (indirekte Gradientenanalyse) der Artaufnahmen.....	117
Abbildung 46: Korrespondenzanalysen-Triplot (direkte Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Chironomidentaxa der beiden Untersuchungsjahre.....	118
Abbildung 47: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten aus 2020.....	119
Abbildung 48: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten der permanenten Tümpel des Jahres 2020.....	120
Abbildung 49: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten der Effekt-Transekts der permanenten Tümpel (B5) des Jahres 2020	121
Abbildung 50: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten des Kontroll-Transekts der permanenten Tümpel (U5) des Jahres 2020	122

Abbildung 51: Phänologiekurve von <i>Chironomus plumosus</i> in den permanenten Tümpeln 2020	123
Abbildung 52: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten der semipermanenten Standorte aus 2020	124
Abbildung 53: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Triplot der direkten Gradientenanalyse) des Effekttransekts B4 im Jahr 2020	125
Abbildung 54: Phänologiekurven verschiedener Chironomidenarten im semipermanenten Tümpel 2020	126
Abbildung 55: Vergleich der Submenten von <i>Tanytus kraatzi</i> und <i>Tanytus punctipennis</i>	142
Abbildung 56: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs I	143
Abbildung 57: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs II	144
Abbildung 58: Übersicht der detektierten Arten des Methodenvergleichs I mit der jeweiligen Bestimmungsmethode	147
Abbildung 59: Übersicht der detektierten Arten des Methodenvergleichs II mit der jeweiligen Bestimmungsmethode	149
Abbildung 60: Schematische Darstellung der modifizierten OECD TG 235-Methodik für die Experimente zur Bestimmung der akuten Toxizität von Bti	159
Abbildung 61: Mittels Probit-Regression berechnete Dosis-Wirkungs-Beziehung aller Versuchsreihen für die Art <i>Chironomus riparius</i> , nach 24 h und 48 h der Exposition mit Bti	163
Abbildung 62: Mittels Probit-Regression berechnete Dosis-Wirkungs-Beziehung aller Versuchsreihen für die Art <i>Chironomus dorsalis</i> , nach 24 h und 48 h der Exposition mit Bti	164
Abbildung 63: Mittels Probit-Regression berechnete Dosis-Wirkungs-Beziehung aller Versuchsreihen für die Art <i>Chironomus aprilius</i> , nach 24 h und 48 h der Exposition mit Bti	165
Abbildung 64: Spanne der Risk Characterisation Ratios (RCR) der untersuchten Arten basierend auf ermittelten $LC_{50,48h}$ -Werten für eine Predicted Environment Concentration (PEC)	166
Abbildung 65: Übersicht der LC_{50} -Werte der Chironomidenlarven aus verschiedenen Bioassay- Studien mit zusätzlicher Berechnung der Risk Characterisation Ratios (RCR).....	174

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die Probestellen für die Erhebung der Dipterenzönose	40
Tabelle 2: Abiotische Werte für Wasser führende Probestandorte des Rußheimer Altrheins im Untersuchungsjahr 2019.....	48
Tabelle 3: Übersicht über die Umweltparameter im Makrohabitat Rußheimer Altrhein.....	49
Tabelle 4: Abiotische Werte für Wasser führende Probestellen des Makrohabitats Hockenheimer Rheinbogen	54
Tabelle 5: Übersicht über die Umweltparameter im Makrohabitat Hockenheimer Rheinbogen	55
Tabelle 6: Übersicht über die detektierten Taxa mit dazugehörigem Trivialnamen	57
Tabelle 7: Per ISA ermittelte Indikatortaxa für die beiden Makrohabitate Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen	65
Tabelle 8: Per ISA ermittelte Indikatortaxa für die Mikrohabitate	67
Tabelle 9: Per ISA ermittelte Indikatortaxa für die semipermanenten und permanenten Gewässer	69
Tabelle 10: Per ISA ermittelte Chironomiden-Indikatorarten für die Mikrohabitate Schilf und Gewässer	74
Tabelle 11: Ermittelte Chironomiden-Indikatorarten für die Gewässertypen der semipermanenten und permanenten Gewässer.....	77
Tabelle 12: Verwendete Chemikalien und Enzyme	91
Tabelle 13: Verwendetes Labormaterial	92
Tabelle 14: Verwendete Lösungen und Puffer.....	93
Tabelle 15: Liste der für die PCR verwendeten Primer	94
Tabelle 16: Übersicht über die Bti-Anwendungen der Jahre 2013 bis 2023.....	103
Tabelle 17: Artenliste des semipermanenten Tümpels im Kontroll-Transekt, Probestelle U4, aufgeschlüsselt nach Monaten.....	106
Tabelle 18: Artenliste des semipermanenten Tümpels im Effekt-Transekt, Probestelle B4, aufgeschlüsselt nach Monaten.....	107
Tabelle 19: Artenliste des permanenten Tümpels im Kontroll-Transekt, Probestelle U5, aufgeschlüsselt nach Monaten.....	108
Tabelle 20: Artenliste des permanenten Tümpels im Effekt-Transekt, Probestelle B5, aufgeschlüsselt nach Monaten.....	109
Tabelle 21: Hochrechnung der Chironomidenproduktivität der einzelnen Gewässertypen im NSG Horreninsel.....	133
Tabelle 22: Allgemeine Übersicht über die Ergebnisse zwischen morphologischer Bestimmung und Bestimmung per Sanger-Sequenzierung	141
Tabelle 23: Vergleichende Ergebnisse der Datenbanken NCBI GenBank und BOLD	153
Tabelle 24: Eingesetzte Erstlarven und technische Wiederholungen der einzelnen Versuchsreplikate	161
Tabelle 25: Aufstellung der angegebenen applizierten Bti-Konzentrationen in diversen Stechmückenbekämpfungsprojekten.....	171

Abkürzungsverzeichnis

AF	<i>Assesment factor</i> , Unsicherheitsfaktor
BOLD	Barcode of Life Data System
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
c	Konzentration
CA	<i>Correspondence analysis</i> , indirekte Korrespondenzanalyse
CCA	<i>Canonical correspondence analysis</i> , direkte Korrespondenzanalyse
HTS	Hochdurchsatz-Sequenzierungsdaten
ISA	<i>Indicator Species Analysis</i> , Indikatorartanalyse
ITU	<i>International Toxic Units</i> , Bestimmung der toxischen Potenz
IV	Indikatorwert
KABS	Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage e.V.
K _{oc}	Adsorptionskoeffizient
LC _{50, 24h}	Mittlere Letalkonzentration nach 24 Stunden
LC _{50, 48h}	Mittlere Letalkonzentration nach 48 Stunden
LC _{50, 72h}	Mittlere Letalkonzentration nach 72 Stunden
MRPP	<i>Multiple response permutation procedure</i> , Permutaionsverfahren mit Mehrfachantworten
n. d.	nicht bekannt
o. D.	ohne Datum
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NSG	Naturschutzgebiet
OTU	<i>Operational Taxonomic Units</i> , operative taxonomische Einheit
PEC	<i>Predicted Environment Concentration</i> , erwartete Umweltkonzentration
RCR	<i>Risk Characterisation Ratio</i>
p	p-Wert, Signifikanzwert

1. Einleitung und Zielsetzung

Sowohl regional in den Oberrheinauen als auch weltweit werden Culiciden (Stechmücken) als lästige und potenziell gesundheitsgefährdende Schädlinge eingestuft. In (sub-)tropischen Gebieten werden Culiciden sowohl als Larven als auch als adulte Tiere aufgrund ihrer Vektorkompetenz für zahlreiche humanpathogene Erreger, wie zum Beispiel Malaria-, Dengue-, West-Nil- und Chikungunya-Viren, mit Insektiziden bekämpft (Belton, 2005; Carrieri et al., 2011; Colton et al., 2005; Donnelly et al., 2002; Gingrich und Casillas, 2004; Schmidt-Chanasit et al., 2010). In den zahlreichen Auengebieten der gemäßigten Breiten werden die Culiciden dagegen vor allem deshalb anthropogen eingedämmt, weil sie durch ihre zeitweilige Massenvermehrung die Lebensqualität der Bevölkerung erheblich einschränken können (Becker, 2006; Becker, 2010; Brühl et al., 2020; Jakob und Poulin, 2016; Persson Vinnersten et al., 2010; Poulin et al., 2022; Schäfer und Lundström, 2014; Wolfram et al., 2018). In diesen Feuchtgebieten steht die Dezimierung der sich entwickelnden Culicidenlarven mithilfe des Biozids *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) im Vordergrund. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde als Untersuchungsgebiet die Region der Oberrheinauen gewählt, in der plageartige Massenvermehrungen insbesondere durch die multivoltinen Überschwemmungsmücken *Aedes vexans* und *Aedes sticticus* hervorgerufen werden (Becker, 2006; 2010).

Die dabei eingesetzten sterilisierten Bti-Formulierungen gelten als der bisher umweltfreundlichste Wirkstoff zur Kontrolle von Culicidenlarven (Becker, 2002). Darüber hinaus ist Bti das einzige larvenwirksame Biozid, das derzeit von der Europäischen Union für die Stechmückenbekämpfung zugelassen ist (Europäische Union, 2010). Es ist ein nematoceren-spezifisches Larvizid, dessen Wirkmechanismus auf vier Prototoxinen beruht, die im alkalischen Mitteldarm der Larven zu Toxinen aktiviert werden (Becker, 1997; Ben-Dov, 2014; Boisvert und Boisvert, 2000; Bravo et al., 2007).

In den letzten Jahrzehnten wurde immer wieder über mögliche Nebenwirkungen der Bti-Anwendung auf dipterische Nicht-Zielorganismen und insbesondere auf die Familie der *Chironomidae* (im Folgenden auch als Chironomiden bezeichnet) diskutiert. Trotz des zum Teil hochemotionalen Forschungsdiskurses hinsichtlich des Ausbleibens oder Vorhandenseins von negativen Effekten, ist diese Fragestellung bis heute noch nicht ausreichend geklärt (Allgeier et al., 2019b; Boisvert und Boisvert, 2000; Brühl et al., 2020; Charbonneau et al., 1994; Fillinger, 1999; Gerstle et al., 2023; Jakob und Poulin, 2016; Kolbenschlag et al., 2023; Persson Vinnersten et al., 2010; Poulin et al., 2022; Theissing et al., 2020; Wolfram et al., 2018).

Die Widersprüche, die es in den dazugehörigen Forschungsergebnissen gibt, sind unter anderem darauf zurückzuführen, dass die Bti-Applikationsflächen meist in temporär überfluteten Feuchtgebieten liegen. Hier bildet sich ein hochkomplexes Mosaik unterschiedlichster Lebensräume mit fluktuierenden Wasserständen aus (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Diese hochdynamischen Untersuchungsgebiete werden durch viele verschiedene Umweltfaktoren beeinflusst, was eine adäquate Risikoabschätzung hinsichtlich des Einsatzes von Bti auf diesen Flächen erschwert.

Für die Entwicklung der *Chironomidae*, als sehr individuen- und artenreiche Dipterenfamilie, spielt diese aquatisch-terrestrische Grenzzone jedoch eine zentrale Rolle (Armitage et al., 2012; Dettinger-Klemm, 2003; Mauch et al., 2017; Milošević et al., 2013; Puntí et al., 2009; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Die Familie der *Chironomidae* stellt wiederum mit ihren weltweit über 7000 und allein in Deutschland 758 beschriebenen Arten einen wichtigen Knotenpunkt im Nahrungsnetz der semiaquatischen Habitate dar (Mauch et al., 2017).

Für die ökotoxikologische Bewertung der Bti-Anwendung sind die Habitate mit ihren fluktuierenden Wasserständen von besonderem Interesse, weil sich hier nicht nur eine hohe Vielfalt und

Abundanz der Chironomiden ausbildet, sondern weil sich hier auch typische Massenbrutstätten von Culiciden und die Habitate der Chironomiden überlagern können (Batzler und Wissinger, 1996; Becker, 1984; Fritz, 1982; Mauch et al., 2017; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Es ist daher davon auszugehen, dass Bti in diesen Bereichen für Chironomiden verfügbar ist und somit ein Risiko für sie darstellen kann.

Grundsätzlich haben Chironomiden in verschiedenen Labor- und Mesokosmosstudien eine hohe Sensitivität gegenüber Bti gezeigt (Boisvert und Boisvert, 2000; Cao et al., 2012; Gerstle et al., 2023; Kästel et al., 2017; Kolbenschlag et al., 2023; Liber et al., 1998; Pont et al., 1999).

Die Ergebnisse dieser Studien sind jedoch nicht direkt auf die Freilandbedingungen während einer Stechmücken-Routinebehandlung übertragbar. Dies liegt zum einen daran, dass biotische und abiotische Umweltfaktoren die toxische Wirkung des Biozids abschwächen können, und zum anderen daran, dass sich Bti im natürlichen Wasserkörper anders verhält als unter Laborbedingungen. Die tatsächliche Umweltkonzentration kann somit von der ursprünglich ausgebrachten Anwendungskonzentration abweichen (Cao et al., 2012; Charbonneau et al., 1994; Stevens et al., 2004). Für Experimente zur ökotoxikologischen Bewertung des Biozids ist daher abzuwägen, ob eher Einbußen hinsichtlich der abstrakten Aussagekraft von Labor- und Mesokosmosstudien oder eher die mangelnde Vergleichbarkeit von Freilandstudien aufgrund der dort vorherrschenden Umwelteinflüsse auf die Chironomidenpopulation in Kauf genommen werden sollen.

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, eine Brücke zwischen der Betrachtung des großräumigen Risikos von Bti-Anwendungen für Chironomiden unter realistischen Freilandbedingungen und immer detaillierteren und engmaschigeren (Labor-)Experimenten zu schlagen. Dazu wurden unter *In-situ*-Bedingungen sowohl die möglichen Veränderungen der Zusammensetzung der Dipterenzönose in den letzten 20 Jahren beschrieben, als auch die direkten Auswirkungen von Bti-Applikationen auf Chironomidenlarven untersucht. Dies wurde durch Bioassay-Experimente zur Bestimmung der Empfindlichkeit verschiedener Chironomidenarten gegenüber Bti ergänzt. Darüber hinaus wurde mithilfe einer Literaturstudie die aktuelle Datenlage referiert und ein kritischer Methodenvergleich verschiedener molekularer und morphologischer Bestimmungsmethoden durchgeführt.

Ziel der verschiedenen Untersuchungen war es, die Auswirkungen eines Bti-Einsatzes auf die Chironomiden als Nicht-Zielorganismen im Rahmen von Stechmückenbekämpfungsszenarien abzuschätzen und mögliche Perspektiven für den Einsatz von Bti-Präparaten aufzuzeigen.

1.1 Fragestellungen dieser Arbeit

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit konzentrieren sich auf die Abschätzung der Auswirkungen eines Bti-Einsatzes auf Chironomiden im Rahmen einer Stechmückenbekämpfung. Ein besonderer Schwerpunkt liegt dabei auf der Stechmückenbekämpfung in den Oberrheinauen, deren Auswirkungen auf die Chironomiden bisher noch nicht endgültig geklärt ist. Aus diesem Forschungsdefizit ergeben sich Fragen, deren Beantwortung im Rahmen der vorliegenden Arbeit angestrebt wurde:

- Wie empfindlich reagieren verschiedene Chironomidenarten auf Bti-Wirkstoffe?
- Wo besteht im Freiland ein Expositionsrisiko für Chironomiden gegenüber Bti?
- Gibt es Überlappungszonen zwischen den Lebensräumen von Culiciden und Chironomiden und kann es bei der routinemäßigen Stechmückenbehandlung zur Schädigung der Chironomiden kommen?
- Hat sich die Artenzusammensetzung und Abundanz von Dipteren in Auenwäldern in den letzten Jahrzehnten verändert?
- Welche taxonomische Methode (morphologische oder molekulare Bestimmung) ist für ein Chironomiden-Monitoring am besten geeignet?
- Wie kann das Risiko für Chironomiden im Rahmen der Stechmückenbekämpfung minimiert werden?

1.2 Überblick über den Aufbau der Arbeit und Inhalt der einzelnen Kapitel

1.2.1 Kurzüberblick

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in sechs thematische Blöcke (Abbildung 1). Die Arbeit beginnt mit einer theoretischen Einführung (Kapitel 2). Es folgt eine Literaturlauswertung der bisherigen Forschungsergebnisse zur Bti-Empfindlichkeit verschiedener Chironomidenarten (Kapitel 3) und die Darstellung der Dipteren- und speziell der Chironomidenzönose von (temporären) Tümpeln im Auwald (Kapitel 4).

Während die ersten Kapitel allgemeiner gehalten sind und alle Entwicklungsstadien der Chironomiden behandeln, sind die Kapitel 5 und 6 ausschließlich den Chironomidenlarven gewidmet. Dazu werden in Kapitel 5 zum einen die möglichen ökotoxikologischen Konsequenzen einer Bti-Anwendung auf Chironomiden im Freiland sowie weitere Umweltfaktoren, die die Chironomidenzönose beeinflussen, dargestellt. Zum anderen wird der Frage nachgegangen, mit welcher taxonomischen Methode die Chironomidenlarven am besten bestimmt werden können. Darüber hinaus werden in Kapitel 6 die Bioassay-Ergebnisse zur Bestimmung der Sensitivität ausgewählter Arten der Gattung *Chironomus* mithilfe der modifizierten OECD TG 235 vorgestellt.

Die Arbeit schließt mit einer Zusammenfassung der Risikofaktoren für Chironomiden im Zusammenhang mit der Anwendung von Bti und Empfehlungen für den Umgang mit diesen Faktoren in der Praxis.

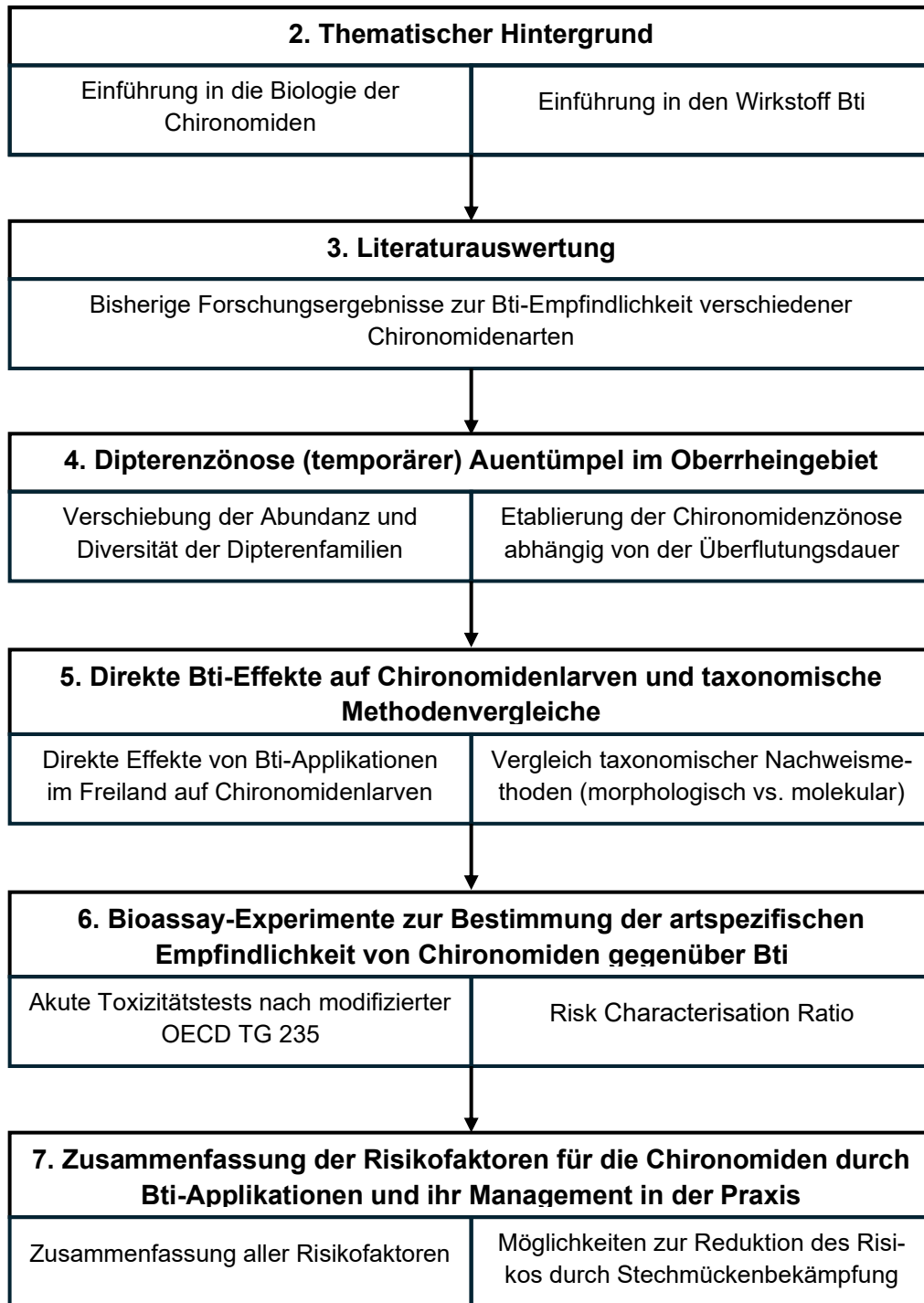


Abbildung 1: Graphischer Überblick über den Aufbau der Arbeit und den Inhalt der einzelnen Kapitel

1.2.2 Zusammenfassung der Inhalte der einzelnen Kapitel

Zur Beantwortung der oben beschriebenen Forschungsfragen (Kapitel 1.1) stelle ich in Kapitel 3 die Ergebnisse einer Vielzahl von Publikationen vor, die sich mit der Frage der Empfindlichkeit verschiedener Chironomidenarten gegenüber Bti beschäftigen. Es zeigte sich, dass die meisten der untersuchten Taxa durch Bti-Konzentrationen im Bereich einer routinemäßigen Freilandanwendung (90 bis 1225 ITU/L Bti) negativ beeinflusst werden. Allerdings scheint der Effekt unter kontrollierten Labor- und Mesokosmosbedingungen stärker zu sein als im Freiland. Dies kann einerseits auf einen multifaktoriellen Einfluss und andererseits auf das Verhalten von Bti im Freiland zurückgeführt werden. Diese Schlussfolgerungen bilden die Grundlage für die folgenden Kapitel.

Im ersten experimentellen Teil der Arbeit (Kapitel 4) gehe ich der Frage nach, ob es in den letzten Jahrzehnten zu einer Verschiebung der Artenzusammensetzung und Abundanz von Dipterenfamilien im Oberrheingebiet gekommen ist. Dazu habe ich im Untersuchungsyear 2019 die Dipterenzönose in zwei Naturschutzgebieten (Hockenheimer Rheinbogen und Rußheimer Altrhein) mit 18 Photoektoren beprobt und auf Familienebene morphologisch bestimmt. Zusätzlich wurden die Chironomidenarten mittels Metabarcoding erfasst. Die gewonnenen Daten habe ich mit den Referenzdaten von Fillinger (1999) aus den Untersuchungsjahren 1995–1997 verglichen.

Methodisch habe ich dazu unter anderem multivariate statistische Verfahren eingesetzt. Ich konnte zeigen, dass in den letzten 20 Jahren keine signifikanten Verschiebungen innerhalb der Dipteren- und Chironomidenzönosen stattgefunden haben. Zusätzlich habe ich im Rahmen dieser *In-situ*-Studie den Zusammenhang zwischen der Überflutungsdauer temporärer Auenhabitats und der Ausbildung der Chironomidenzönose ermittelt. Insgesamt konnte ich feststellen, dass die Chironomidenabundanz positiv mit der Überflutungsdauer ihrer Habitats korreliert und die Artendiversität der Chironomiden in den temporären bis semipermanenten Habitats grundsätzlich als hoch einzuschätzen ist.

Im zweiten experimentellen Teil der Arbeit (Kapitel 5) vertiefe ich die gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der Artenzusammensetzung der Chironomidenzönose. Die zugrunde liegenden *In-situ*-Untersuchungen konzentrierten sich dabei auf das Larvenstadium der Chironomiden. Die Daten habe ich in den Jahren 2020 und 2022 im Naturschutzgebiet Horreninsel bei Altrip erhoben. Im Jahr 2020 fanden zusätzlich zwei kurz aufeinanderfolgende Bti-Anwendungen im Rahmen der routinemäßigen Stechmückenbekämpfung statt. Für die effiziente Analyse der Chironomidenlarven habe ich zunächst eine novellierte Extraktionsmethode mittels *Floating-Pipe* entwickelt. Die extrahierten Larven habe ich sowohl morphologisch als auch molekular mittels Sanger-Sequenzierung bestimmt. Zusätzlich wurden Metabarcodierung-Analysen durchgeführt. Anschließend habe ich die Larven mittels multivariater statistischer Methoden, wie beispielsweise der (kanonischen) Korrespondenzanalyse, analysiert. Ich konnte keine (akuten) ökologischen Schäden in Form einer reduzierten Abundanz oder Diversität der Chironomiden nachweisen. Auch eine Verdriftung des Bti-Materials in angrenzende Stillgewässer konnte ich ausschließen. Meine Ergebnisse zeigen jedoch, dass in Jahren mit länger anhaltenden hohen Wasserständen eine Besiedlung und Etablierung von Chironomiden auch in temporären Gewässern möglich ist, sodass es dann zu einer Überlappung typischer Culiciden- und Chironomidenhabitats kommen kann. Dies könnte zu einer Beeinträchtigung derjenigen Chironomidenarten führen, die temporäre bis semipermanente Habitats bevorzugen oder ausschließlich dort vorkommen.

Der zweite Abschnitt des fünften Kapitels ist einem methodischen Problem gewidmet. Für die Erfassung und Analyse von Chironomidenzönosen ist eine effiziente und möglichst präzise Artbestimmung der Chironomidenlarven notwendig. Um herauszufinden, welche der derzeit

wissenschaftlich verfügbaren taxonomischen Methoden (morphologische Bestimmung, Sanger-Sequenzierung und Metabarcoding) für größere Monitoringprojekte geeignet ist, habe ich die taxonomische Nachweismethoden miteinander verglichen. Dazu habe ich im Rahmen der Larvenuntersuchungen im Naturschutzgebiet Horreninsel zwei getrennte Methodenvergleiche (Dezember 2021 und Juli 2022) durchgeführt, um aufgrund der Saisonalität eine größtmögliche Artenvielfalt zu erreichen. Zusätzlich habe ich getestet, ob unterschiedliche Replikatgrößen einen Einfluss auf die Nachweisqualität der Methoden haben.

Im sechsten Kapitel der Arbeit wird die Frage nach der Sensitivität der Gattung *Chironomus* und dem möglichen generellen Risiko einer Bti-Applikation für Chironomiden im Freiland vertieft. Zu diesem Zweck habe ich akute Toxizitätstests nach einer von mir optimierten *In-vivo*-Methode basierend auf der OECD TG 235 sowie die Berechnung von *Risk Characterisation Ratios* durchgeführt. Als Testorganismen habe ich die Erstlarven von *Chironomus riparius*, *Chironomus aprilinus* und *Chironomus dorsalis* verwendet. Ich konnte zeigen, dass die pelagischen Erstlarven der Gattung *Chironomus* durch eine Bti-Applikation mit freilandüblichen Konzentrationen geschädigt werden können. Aber auch ältere Larvenstadien unterliegen dem Risiko einer (sub-)letalen Schädigung durch Bti.

In der abschließenden praxisbezogenen Diskussion (Kapitel 7) führe ich die Ergebnisse der vorherigen Kapitel zusammen und diskutiere sie im Kontext der Stechmückenbekämpfung in den Oberrheinauen.

2. Thematisches Hintergrundwissen

In diesem Kapitel gebe ich einen Überblick über den theoretischen Hintergrund der Arbeit. Dabei wird nicht nur ein Überblick über die Biologie der Chironomiden und ihre Anpassungsstrategien an die temporären Auenhabitate vermittelt, sondern auch das in den vorgenommenen Studien verwendete Biozid Bti vorgestellt. Dazu stelle ich sowohl den Wirkmechanismus als auch die Bioverfügbarkeit für Chironomiden dar.

2.1 Einführung in die Biologie der Chironomiden

Eine Einführung in die Biologie der Zuckmücken und ihre Anpassungsstrategien an die temporären Tümpel der Auen wird im folgenden Unterkapitel gegeben. Damit soll ein besseres Verständnis für die im Kapitel 2.3 beschriebene Bioverfügbarkeit des Bti für diese artenreiche Dipterenfamilie in den überflutungsgeprägten Auenhabitaten ermöglicht werden.

2.1.1 Lebenszyklus

Chironomiden gehören zu den holometabolen Insekten und durchlaufen in ihrem Leben eine vollständige Metamorphose von Ei, Larve, Puppe zur Imago. Dabei sind sie den größten Teil ihres Lebens an feuchte Lebensräume gebunden. Nur wenige Arten der Unterfamilie *Orthoclaadiinae* können rein terrestrisch überleben. Viele Chironomiden-Arten der mittleren Breiten weisen einen jährlichen Zyklus der Verpuppungsreife auf. Aus den Chironomiden-Eiern entwickeln sich die Larven, die bis zu 360 Tage in diesem Stadium verbleiben können. Danach verpuppen sie sich innerhalb von drei bis vier Tagen. Als Imagines überdauern sie nur etwa sechs Tage. Damit ist die larvale (und damit meist feuchtigkeitsgebundene) Entwicklungszeit bis zu 60-mal länger als die adulte Lebensphase (Platzer-Schultz, 1974).

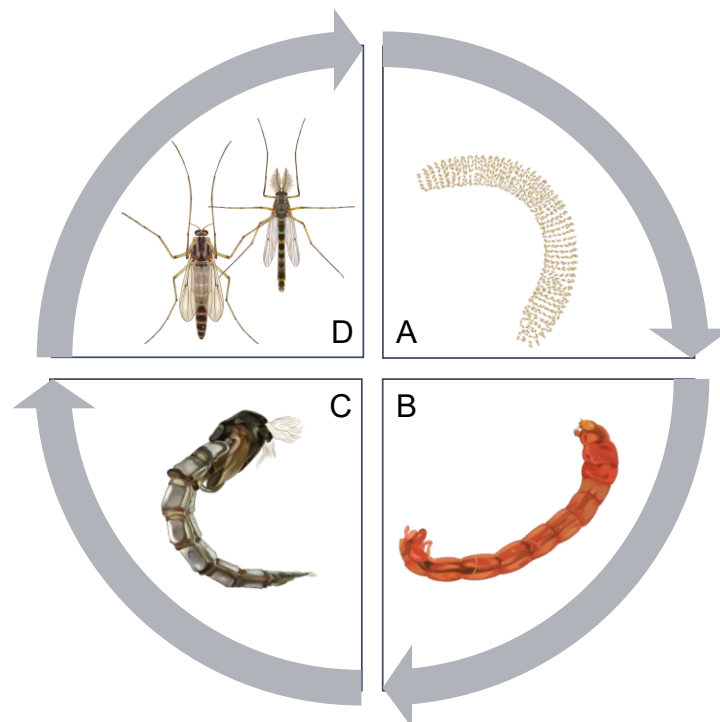


Abbildung 2: Lebenszyklus der Chironomiden. A) Eigelege, B) Larve, C) Puppe, D) Imagines (weiblich und männlich). Vom Ei bis zur Puppe sind die meisten Chironomiden an das Wasser gebunden.

2.1.1.1 Larvalentwicklung

Während der Larvalentwicklung gibt es deutliche morphologische Unterschiede zwischen dem ersten und den folgenden drei Larvenstadien (Kaliguna, 1960). Hierbei weist die Augenposition bereits unmittelbar nach dem Schlupf der Larven die für die Unterfamilie jeweils typischen Merkmale auf (Vallenduuk, 2009). So hat die Larve des ersten Larvenstadiums noch unfertige Proportionen. Die Kopfkapsel erscheint im Verhältnis zum restlichen Körper überproportional groß. Sie beherbergt ausschließlich in diesem Entwicklungsstadium die Ober- und Unterschlundganglien, die ab dem zweiten Larvenstadium in das erste Thorakalsegment wandern (Platzer-Schultz, 1974).

Kurz nach dem Schlupf halten sich die Larven noch in der Nähe des gallertartigen Eigeleges auf. Nach dem Verlassen der Gallerthülle führen sie für die nächsten zwölf bis 24 Stunden ein rein pelagisches und positiv phototaktisches Leben (Davies, 1976). Dieses Verhalten gilt bei allen Vertretern der drei Unterfamilien *Chironominae*, *Orthocladinae* und *Tanypodinae* als gesichert (Davies, 1976; Lellák, 1968; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Dabei spielt weder die Ernährung eine Rolle, noch, ob die Arten pelophil, benthisch oder phytophil sind. Photophile Arten wurden sowohl bei detritivoren und filtrierenden Arten als auch bei predatorischen und omnivoren Arten gefunden (Lellák, 1968).

In dieser ersten, pelagischen Lebensphase sind die Larven sehr mobil, sodass diese Phase prägend für die Migration in spätere Habitate, wie zum Beispiel Wasserpflanzengesellschaften, Hartsubstrate und Sedimente, ist. Die Larven ernähren sich in dieser pelagischen Phase von feinkörnlichem Material wie besonders feinem Detritus, Einzellern, Algen etc. (Branch, 1923; Davies, 1976; Lellák, 1968; Mackey, 1976; Mackey, 1979; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Die Larven werden nach 36 bis 48 Stunden sessil (Branch, 1923; Danks, 1971; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Ab diesem Zeitpunkt zeigen die Larven die arttypischen Verhaltensweisen, sodass man zum Beispiel zwischen Blattminierer und Sedimentbewohner unterscheiden kann.

In den meisten Fällen beginnt die erste Larvenhäutung etwa nach zwei bis acht Tagen, manchmal aber auch erst nach acht bis vierzehn Tagen. Danach wird das zweite Larvenstadium eingeleitet (Platzer-Schultz, 1974; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Bei optimalen Bedingungen (Temperatur, Nahrungsverfügbarkeit, Sauerstoffsättigung) beläuft sich die durchschnittliche Verweildauer auf zwei bis sechs Tagen im ersten Larvenstadium (Lellák, 1968).

Nach der ersten Larvenhäutung nehmen die Larven bereits ihre endgültige Larvenform an, die sie bis zum Ende des Viertlarvenstadiums beibehalten. Obwohl die meisten Chironomidenarten im zweiten Larvenstadium ihren sessilen Lebensabschnitt beginnen, können einige Larven in diesem Stadium noch positiv phototaktisch sein. Erst im dritten und vierten Larvenstadium verlieren sie diese Eigenschaft endgültig (Branch, 1923). Danach sind sie in der Regel negativ phototaktisch, was ihnen bei der Besiedlung von Bodensubstraten hilft. Kurz vor der Verpuppung kann es jedoch zu einer kurzzeitigen Umkehr der Phototaxis kommen und die ab dem dritten Larvenstadium stabile negative Phototaxis wechselt kurzfristig in eine positive Phototaxis zur Einleitung des Verpuppungsprozesses. Ohne äußere Störungen wie Sauerstoff- oder Nahrungsmangel oder durch Fressfeinde ausgelöste Stressreaktionen bleiben die Chironomidenlarven sessil (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Erst unter Stress wandern die Larven pelagisch. Eine allgemeine Migrationsbewegung kann in den Herbstmonaten beobachtet werden, wenn die Larven die Pflanzenoberfläche absterbender Makrophyten in Richtung Bodensediment verlassen (Mason und Bryant, 1975) oder in tiefere Bodenschichten wandern, um sich vor den Wintertemperaturen zu schützen (Danks, 1971; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Die gesamte Larvenentwicklung sowie die Dauer der einzelnen Stadien ist artspezifisch und hängt auch von den umgebenden Umweltbedingungen ab (Branch, 1923; Heinis und Davids, 1993). Der Faktor, der die Entwicklungsdauer am

stärksten beeinflusst, ist die Temperatur (Dettinger-Klemm, 2003; Platzer-Schultz, 1974; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013).

Aber auch die Larvendichte (Biever, 1971; Dettinger-Klemm, 2003; Fischer, 1974), das Nahrungsangebot und externe Stressfaktoren können die Entwicklungsdauer beeinflussen (Fischer, 1974; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Dies betrifft vor allem Arten, die in Gebieten mit schwankenden Bedingungen, wie temporären (Kleinst-)Gewässern, leben. Je instabiler das Habitat ist, desto kürzer ist die zu erwartende Entwicklungszeit (Dettinger-Klemm, 2003; Frouz et al., 2003; Platzer-Schultz, 1974; Tronstad et al., 2010; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Obwohl viele Faktoren die Entwicklungszeit beeinflussen, gibt es einige Gemeinsamkeiten über das Arten- und Habitatspektrum hinweg. So findet in der Regel ein kontinuierliches und gleichmäßiges Larvenwachstum statt, sodass keine abrupten Entwicklungsschübe zu erwarten sind (Gooderis, 1983; Hempel, 2010), und die Entwicklungsdauer zwischen den Larvenstadien wird von Larvenstadium zu Larvenstadium länger (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013).

Chironomidenlarven können in allen Larvenstadien außer dem ersten eine Diapause einlegen. Diese Diapausephasen ermöglichen es, ungünstige Umweltbedingungen, wie etwa saisonal zu hohe oder zu niedrige Temperaturen oder Trockenperioden, zu tolerieren (Danks, 2004, 1971; Dettinger-Klemm, 2003; Fischer, 1974; Frouz et al., 2003; Gooderis, 1983; Grodhaus, 1980; Tronstad et al., 2010; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). An niedrige Wintertemperaturen sind vor allem Arten angepasst, die einen zweijährigen Entwicklungszyklus haben und daher im Larvenstadium überwintern müssen (Platzer-Schultz, 1974). Die Winterruhe hilft aber auch den Individuen einer Population, ihr Schwarmverhalten und damit ihr Paarungsverhalten zu synchronisieren (Gooderis 1983, 1989). Dies ist besonders wichtig, wenn die Chironomidenart mehrere Generationen pro Jahr ausbildet. Bei zwei Generationen (bivoltine Arten) schlüpft in den mittleren Breiten die erste Generation meist im Mai und die zweite Generation folgt im September, wobei die erste Generation eine Gesamtentwicklungszeit von etwa acht Monaten aufweist und die Folgegeneration aufgrund der höheren Temperaturen nur die Hälfte der Entwicklungszeit benötigt. Darüber hinaus gibt es auch zahlreiche uni- und polyvoltine Arten (Platzer-Schultz, 1974; Porter, 1971; Porter und Martin, 2011).

2.1.1.2 Puppenstadium

Am Ende des vierten Larvenstadiums beginnt die Verpuppung. Dazu schwellen die Thoraxsegmente an und heben sich deutlich vom übrigen Larvenkörper ab (Platzer-Schultz, 1974). Das Puppenstadium selbst ist relativ kurz und dauert nur wenige Stunden bis Tage (Oliver, 1971; Platzer-Schultz, 1974). In dieser Phase kann es noch zu einer passiven Wanderung der Chironomiden kommen. Besonders die Gattung *Tanypus* ist dafür bekannt. Die Larve selbst lebt sedimentnah, schwimmt aber als Puppe frei wie fast alle Puppen der Unterfamilie *Tanypodinae*. Puppen terrestrischer Arten (*Orthocladinae*) findet man meist frei auf der Bodenoberfläche liegend (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013; Wilson und Ruse, 2005). Einige Puppen haften an einem Substrat, um eine passive Verdriftung zu verhindern (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013; Wilson und Ruse, 2005). Das Schlüpfen der Imagines aus der Puppenhülle erfolgt, indem sich der Zwischenraum mit Gasen füllt. Durch den entstehenden Druck brechen drei dorsale Bruchlinien der Puppenhaut auf und die Imago kann sich innerhalb weniger Sekunden befreien (Platzer-Schultz, 1974).

2.1.1.3 Imagines und Eigelege

Die Emergenz der Chironomiden markiert den Phasenwechsel zwischen der meist aquatischen Lebensphase als Larve und Puppe zu der frei fliegenden Imago. Als adultes Tier leben die Chironomiden nur wenige Stunden bis Tage. Wenn sie Nahrung aufnehmen, dann in Form von Honig oder Nektar, da sie mit ihren verkümmerten Mundwerkzeugen nur flüssige Nahrung aufnehmen können (Downes, 1969; Platzer-Schultz, 1974). Die Fortpflanzung erfolgt in Schwärmen, welche von den Männchen gebildet werden. Die Weibchen, die anhand ihrer unterschiedlichen Fluggeräuschen erkennbar sind, nähern sich den Schwärmen einzeln und durchfliegen diese. Dabei werden sie von einem Männchen an den Beinen gegriffen und die Paarung wird eingeleitet. Abhängig von der Art kommt es hierbei zu unterschiedlichen Paarungsstellungen („Face-to-face“-, „Face-to-back“-, „End-to-end“-Stellung, jeweils im Flug oder auf Oberflächen abgesetzt (Platzer-Schultz, 1974)). Dieses artspezifische Verhaltensmuster (Paarungsstellung, Flugton, Schwärmhöhe, Schwärmzeit, etc.) und die sehr artspezifisch ausgeprägten und weit variierenden Genitalstrukturen, die in der Form des „Schlüssel-Schloss-Prinzips“ für eine erfolgreiche Paarung ineinander greifen müssen, sorgen für eine reproduktive Isolation und stellen damit eine Bastardisierungsschranke dar (Pinder, 1986; Platzer-Schultz, 1974; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Nach einer erfolgreichen Paarung, die meist nur wenige Sekunden dauert, legen die Weibchen entweder schon wenige Minuten später ihre Eigelege ab oder können ihre Eipakete auch bei Bedarf mehrere Stunden bis zu einigen Tagen verwahren. Auch beim Eiablageverhalten und der Formenvielfalt der Eigelege selbst lassen sich wieder arttypische Charakteristika unterscheiden: Einige Arten legen ihre Eigelege frei auf der Wasseroberfläche ab, wo sie frei treiben oder zu Boden sinken, während andere Arten ihre Eigelege an schwimmenden oder statischen Objekten (Makrophyten, Totholz, Steine etc.) anheften. Die Eigelege selbst sind formenreich. Es lassen sich Laichschnüre, Laichballen oder Spiralen mit wiederum einer artspezifischen Anzahl von Einzeleiern finden (Nolte, 1993; Platzer-Schultz, 1974). Die Weibchen legen meist nur ein Eigelege ab, wobei auch schon ein zweites Ablegen nach erfolgter Nahrungsaufnahme beobachtet worden ist (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Eine Eiablage kann auch gänzlich ohne Paarung erfolgen, da bei wenigen Arten eine Jungfernzeugung in Form der Parthenogenese erfolgen kann. Da aus diesen unbefruchteten Eiern ausschließlich Weibchen schlüpfen, handelt es sich hierbei um Thelytokie, die abhängig von der Art entweder obligatorisch (bspw. bei einigen *Orthoclaadiinae*- und *Tanytarsini*-Arten) oder fakultativ (z. T. bei *Chironomus*-Arten) sein kann (Grodhaus, 1971; Lackmann et al., 2020; Porter, 1971; Porter und Martin, 2011).

2.1.2 Anpassung der Chironomiden an temporäre Habitate

Temporäre und semipermanente Tümpel stellen einen Großteil der aquatischen Habitate in den Oberrheinauen dar. Chironomiden, die in diesen fluktuierenden Lebensräumen überleben wollen, müssen an astatische Ökofaktoren angepasst sein. Zu den limitierenden Faktoren der temporären Gewässer, die eine Adaption der Chironomiden unabdingbar machen, zählen neben großen Temperaturgradienten auch eine hohe Räuberichte und vor allem extreme Wasserstandsschwankungen. Hierbei können sowohl Hochwasser- als auch Trockenperioden zu katastrophalen Habitatverlusten führen (Fritz, 1982; Frouz et al., 2003; Gladden und Smock, 1990; McLahalan und Ladle, 2001).

Eine Folge des hohen Anpassungsdrucks ist eine geringere taxonomische Vielfalt der Chironomiden in temporären Gewässern im Vergleich zu permanenten Gewässern (Dettinger-Klemm, 1996, 2003; Frouz et al., 2003).

Die hohen Individuendichten und Artenzahlen der Chironomiden in den temporären Auengebieten zeigen, dass sich solche Anpassungsmuster für Chironomiden dennoch lohnen. So konnten Findlay et al. (1989) einen Anteil von Chironomiden auf temporär überstauten Flächen von 15 bis 50 % und Steinhart (1999) von 21 bis 58 % der gesamten Makrozoobenthoszönose feststellen. Auch Dettinger-Klemm (2000) beschreibt eine dichte Besiedlung von temporären und semipermanenten Auentümpeln mit jährlich bis zu 45.175 Individuen/m². Fillinger (1999) konnte in temporären Röhrichtbeständen bis zu 3593 Individuen/m², auf 69 Taxa verteilt, detektieren. In semipermanenten, druckwassergespeisten Schluten konnte sie sogar bis zu 5263 Individuen/m², auf 77 Taxa verteilt, nachweisen.

Diese hohe Produktivität wird durch die Vielfalt an spezifischen physiologischen und verhaltensbiologischen Anpassungen, wie zum Beispiel Austrocknungsresistenz, schnelle Entwicklungszeiten oder Diapausephasen, ermöglicht.

So besitzen beispielsweise adulte Chironomiden eine ausgezeichnete Wanderfähigkeit und sind daher meist die ersten Kolonisten, die neu entstandene Feuchtgebiete besiedeln (Barnes, 1983; Batzer und Wissinger, 1996; Layton und Voshell, 1991; Lods-Crozet und Castella 2009). Layton und Voshell (1991) konnten trotz kalter Temperaturen in einem neu angelegten Teich die ersten Chironomiden-Emergenzen (*Chironomus* sp.) nach weniger als sechs Wochen nachweisen. Auch Dettinger-Klemm (2003) konnte in Kolonisierungsexperimenten eine erste Emergenz von *Chironomus dorsalis* nach nur 23 Tagen feststellen. Dies wird durch Ergebnisse der vorliegenden Studie zur Frage der direkten Bti-Effekte auf Chironomidenlarven bestätigt, die zeigen, dass im Jahr 2020, innerhalb von drei Wochen nach der ersten Flutung, eine hohe Abundanz von *Chironomus plumosus* in aperiodisch temporären Tümpeln nachgewiesen werden konnte (Kapitel 5.3.1.2).

Die Chironomidenarten, die eine hohe Besiedelungskompetenz aufweisen, werden auch als Kolonisierer bezeichnet. Daneben gibt es jedoch auch Chironomiden, die in ungünstigen Umweltbedingungen, unter Zuhilfenahme zahlreicher spezifischer physiologischer und verhaltensbiologischer Anpassungen, ausharren. Sie werden *In-situ*-Überdauerer genannt. In den meisten astatischen Auentümpeln des Oberrheins treten diese beiden Anpassungsstrategien parallel auf. Es bilden sich innerhalb dieser Ökotope lokale Chironomidenpopulationen, von denen in der Regel zumindest ein kleiner Teil die extremen Veränderungen der Standortbedingungen überlebt (*In-situ*-Überdauerer) oder in benachbarte Mikrohabitate abwandert (Kolonisierer), bis sich die Ökofaktoren im ursprünglichen Habitat wieder stabilisiert haben (Dettinger-Klemm, 1996, 2000; 2003; Frouz et al., 2003; Steinhart, 1999).

2.1.2.1 Anpassungsstrategien der In-situ-Überdauerer

Unabhängig davon, ob die Chironomiden der temporären Auentümpel aquatisch, semiterrestrisch oder terrestrisch leben, haben sie als größten Stressfaktor die Gefahr der Austrocknung gemeinsam. Denn obwohl Buck (1965) in Austrocknungsexperimenten beobachten konnte, dass Larven von *Chironomus dorsalis* einen Verlust von bis zu 50 % ihres Körperwassers überleben können, sind Chironomidenlarven kaum in der Lage, durch physiologische Anpassungen Wasserverlust zu reduzieren. Ihre Cuticula zeigt keine funktionellen Anpassungen an Trockenheit (Buck, 1965; Delettre, 1986; Frouz et al., 2003; McLachlan, 1983). Watanabe et al. (2003) beschreiben für *Polypedilum vanderplanki* die Akkumulation von intrazellulärer Trehalose während der Trockenperiode, um eine Veränderung der Osmolarität der Larven mit geringeren Wasserverlusten zu bewirken. Frouz und Matěna (2015) konnten feststellen, dass sich bei Chironomidenlarven ein Gleichgewichtspunkt zwischen Wasserverlust durch Transpiration und hygroskopischer Wasseraufnahme aus der Umgebungsluft einstellt. Damit ist gewährleistet, dass die Chironomidenlarven noch überleben können, solange dieser Gleichgewichtspunkt noch über dem letalen

Wassergehalt der Larven liegt. Liegt der Gleichgewichtspunkt jedoch darunter, erfolgt der Trockentod der Larven.

Da Chironomidenlarven physiologisch also kaum gegen Wasserverlust angepasst sind, müssen sie auf Trockenheit mit anderen Strategien, wie beispielsweise Verhaltensanpassungen, reagieren. Denn die Austrocknungsresistenz ist die wichtigste Anpassung an temporäre Lebensräume. Sie bedeutet, dass die Larven in terrestrischen Habitaten ohne oder mit nur wenig Kontaktwasser überleben können. Eine weit verbreitete Anpassungsstrategie ist der Bau von Wohnröhren oder Kokons.

Der Kokon wird im zweiten oder dritten Larvenstadium gebildet (Grodhaus, 1980). Je nachdem, ob der Kokon zur Überdauerung trockener Sommermonate oder frostreicher Winter dienen soll, wird er zwar jeweils in der permanent aquatischen Phase, aber zu unterschiedlichen Jahreszeiten gebildet (Grodhaus, 1980; Thienemann, 1921; Saether, 1962). Die Anpassung an frostreiche Winter wird auch als Kryptobiose bezeichnet. Sie ermöglicht es den Chironomidenlarven, wie zum Beispiel *Polypedilum vanderplanki*, in Extremfällen, Temperaturen von bis $-270\text{ }^{\circ}\text{C}$ (unter Laborbedingungen gemessen) zu überleben (Hinton, 1951; Hinton, 1960; Sakurai et al., 2008; Suemoto et al., 2005).

Die fertigen Kokons stellen eine bedingte Transpirationsbarriere dar, die die Larve zusätzlich vor mechanischer Beschädigung schützt, wenngleich sie Transpirationsverluste nur reduzieren, aber nicht verhindern kann (Dettinger-Klemm, 2003; Hinton, 1951; Hinton, 1960; Steinhart, 1999). Das wohl bekannteste Beispiel für die Bildung eines Kokons ist die Larve von *Polypedilum vanderplanki* (Hinton, 1951; Hinton, 1960; Sakurai et al., 2008; Suemoto et al., 2005). Die Larven dieser Art scheiden zum Kokonbau ein Silikatgel ab, das es ihnen ermöglicht, selbst mehrere aufeinander folgende Trockenperioden bis zu einer Austrocknung von 92 % ihres Eigengewichts zu überstehen. Neben dem Kokonbau kommt auch der aktive Bau von Wohnröhren als Temperatur- und Transpirationsschutz vor, wie er beispielsweise von Larven der *Chironomus plumosus*-Gruppe betrieben wird (Delettre, 1988; Frouz und Matěna, 2015; Frouz et al., 2003; Grodhaus, 1980; Nogeitzig et al., 2007; Roskosch et al., 2009, 2010; Rossaro und Delettre, 1992; Tokeshi, 1986).

Aber selbst Larven, die normalerweise (semi-)aquatisch leben, weisen häufig zusätzliche Anpassungen an Trockenheit auf. So sind beispielsweise die Larven der *Chironomus plumosus*-Gruppe hauptsächlich in permanenten Gewässern zu finden und müssen sich daher selten mit dem Stressor Austrocknung auseinandersetzen (Baktina, 1980; Dettinger-Klemm, 2003; Roskosch et al., 2009; Roskosch et al., 2010). Hilsenhoff (1966) konnte jedoch trotzdem zeigen, dass sich die Larven bis zu 51 cm tief in den Schlamm eingraben können, um ungünstige Bedingungen zu überdauern. Dettinger-Klemm (2003) beobachtete bei diesen Larven keine Trockenwanderung, sondern ein Verharren in den Wohnröhren.

Weitere Arten migrieren bei Trockenperioden in feuchtere Gebiete, was auch als häufigste Reaktion von Chironomiden auf Trockenstress beschrieben wird (Blanchart et al., 1987; Frouz und Matěna, 2015; Frouz et al., 2003; Jackson und McLachlan, 1991; Steinhart, 1999; Strenzke, 1950).

Dettinger-Klemm (2003) unterteilt die Reaktionen von Chironomidenlarven auf Austrocknungsereignisse in drei nacheinander ablaufende Verhaltensmuster: Zu Beginn führen die Larven horizontale Bewegungen aus und folgen dem zurückgehenden Wasserstand, um der Austrocknung zu entgehen (zum Beispiel *Chironomus dorsalis*, *Chironomus imicola* und *Pseudosmittia naseni*). Weist ihr Habitat gar kein Wasser mehr auf, graben sie sich in den Schlamm ein und schließlich beginnen sie vor Ort mit einer passiven Transpiration, die zum Verlust des körperlernen

Wassergehaltes führt (Dettinger-Klemm, 2003). Als weitere Strategien, die es einer Art ermöglichen können, Trockenperioden zu überstehen, nennt er noch die Beschleunigung der Larvalentwicklung durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten und die terrestrische Eklosion, die als spezifische Anpassung an temporäre Tümpel angesehen werden kann. Darunter versteht man die Fähigkeit, sich nach dem Wegfall von Oberflächenwasser auf dem trockenen Untergrund zu adulten Tieren zu entwickeln. In seiner Studie konnte er zeigen, dass bis zu 61 % der Larven des vierten Stadiums von *Chironomus dorsalis*, *Polypedilum tritum* und *Paralimnophyes hydrophilus* sich unter ungünstigen Bedingungen nur teilweise verpuppten und dann erst unter terrestrischen Bedingungen emergierten (Dettinger-Klemm, 2003).

2.1.2.2 Anpassungsstrategien der Kolonisierer

Die Kolonisierer unter den Chironomiden der Auengewässer ermöglichen den Fortbestand ihrer Populationen durch die Besiedlung neu entstandener Gewässer, wie sie zum Beispiel nach Hochwasserereignissen entstehen. Hierbei wird zwischen aktiver und passiver Kolonisation unterschieden, wobei die passive Besiedlung bei Chironomiden, wie beispielsweise die Verdriftung der Puppen, kaum eine Rolle spielt (Dettinger-Klemm, 2000). Aktive Kolonisierer zeigen ein effektives Ausbreitungsverhalten, schnelle Entwicklungszyklen und eine Toleranz gegenüber hohen Besiedlungsdichten, sind aber meist nicht austrocknungsresistent (Dettinger-Klemm, 2000). Die Strategie der Neu- bzw. Wiederbesiedlung erfordert eine Anpassung der Entwicklungszeit der Larven, um vor einer möglichen Austrocknung schlüpfen zu können. Aber nicht nur im Larvenstadium, sondern auch bei den Imagines sind Anpassungen der Überlebensstrategie notwendig. Ein Größenvorteil der kolonisierenden Arten ermöglicht eine effektivere Wanderung und damit eine bessere Besiedlung temporärer Gewässer. Dies konnte von McLachlan (1985) gezeigt werden, der die Zusammenhänge zwischen Flügellänge und Habitaten untersuchte. Meistens waren Chironomidenarten mit größerer durchschnittlicher Flügellänge typische Vertreter in sehr kurzlebigen Tümpeln, während Imagines mit kurzen Flügeln in permanenten Gewässern zu finden waren. In einer anderen Studie konnte McLachlan (1983) zeigen, dass weibliche Imagines der afrikanischen Chironomidenart *Chironomus imicola* signifikant größer waren, wenn sie aus isolierten temporären Habitaten stammten, als wenn sie aus Gebieten mit engmaschigen Gewässernetz kamen. Er schließt daraus, dass bei den Chironomiden die Flügellänge in der Regel mit der Fortpflanzungsfähigkeit und der Größe des Wandergebiet korreliert und daher als Indikator für die Kolonisierungsfähigkeit angesehen werden kann. Er konnte auch beobachten, dass nach einer Besiedlung der temporären Habitats die Larvenentwicklungszeit eine große Bandbreite von zwölf bis 40 Tagen aufwies. Dabei korrelierte das Gewicht der Imagines positiv mit der Dauer der Entwicklungszeit. McLachlan (1983) diskutiert die Idee einer Risikostreuung der Larvalentwicklung: Da sich Larven aus Eigelegen, die in einen frischen Wasserkörper gelegt wurden, mit höherer Wahrscheinlichkeit bis zum Imago entwickeln können (da noch kein intraspezifischer Druck vorherrscht), sind die daraus hervorgehenden Imagines verhältnismäßig klein, aber dafür schnell entwickelt. Dies ist dann nützlich, wenn nicht sicher ist, ob ein Risiko des Austrocknens des Brutgewässers besteht. Spätere Einwanderer in dasselbe Gewässer entwickeln sich dagegen langsamer und sind dafür meist massiger. Dies verschafft ihnen aufgrund der damit verbundenen höheren Reproduktionsfähigkeit einen Vorteil im intra- und interspezifischen Konkurrenzkampf. Tote Larven, die sich nicht bis zur Verpuppung entwickelt haben, dienen als proteinreiche Nahrungsquelle und fördern das Wachstum der anderen Individuen der Population, was durch die Anreicherung mit Nährstoffen als weiterer Katalysator in der Entwicklungszeit wirkt (McLachlan, 1983).

Generell lässt sich feststellen, dass ein enger Zusammenhang zwischen möglichst kurzen Entwicklungszyklen und der Besiedlung temporärer Gewässer besteht. Dies bedeutet jedoch nicht automatisch, dass sich von einer kurzen Entwicklungszeit auf die Entwicklung in temporären Gewässern schließen lässt (Frouz et al., 2003). Die kürzeste Generationszeit für Chironomiden von weniger als einer Woche wurde für *Apedilum elachitus* festgestellt. *Apedilum elachitus* ist jedoch ein Generalist und nicht spezifisch für temporäre Habitate (Nolte, 1996). Weitere Chironomiden mit sehr kurzen Entwicklungszeiten sind *Chironomus dorsalis* mit einer Entwicklungszeit von zwölf bis 14 Tagen (Dettinger-Klemm, 2000; 2003) und *Chironomus riparius* mit einer Entwicklungszeit von 16 Tagen (Holloway, 1983; Scharf, 1973). Beide Arten sind an temporäre und sogar ephemere Habitate angepasst, da sie mehrere Tage bis Wochen in feuchtem Schlamm überleben können. Sie versterben erst bei völligem Austrocknen des Schlamms (Frouz und Matêna, 2015). Während *Chironomus riparius* als Generalist auch permanente Gewässer besiedelt, ist *Chironomus dorsalis* ein typischer Vertreter der Pionierbesiedlung. Weibchen dieser Art besiedeln gezielt temporäre Gewässer, wo sie aufgrund der strategischen Standortwahl hohe Dichten erreichen können (Dettinger-Klemm, 2000; 2003; Strenzke, 1960).

Eine hohe Artenzahl und Abundanz von Arten der Gattung *Chironomus* ist typisch für temporäre Habitate (Matêna, 1990; Matêna und Frouz, 2000). Dabei gelten die Larven von *Chironomus sp.* als typische Besiedler von Überschwemmungsgebieten (Matêna, 1990; Matêna und Frouz, 2000). Insbesondere *Chironomus melanescens*, *Chironomus piger* und *Chironomus annularius* sind typische Vertreter neuer Stillgewässer (Matêna, 1990). Sie bilden unmittelbar nach einer Überflutung eine individuenstarke Generation aus, um in den kommenden Wochen ihre Pioniergewässer zu verlassen. Dann sind sie nur noch in geringer Zahl in den Pioniergewässern, dafür verstärkt in den umliegenden Bestandsgewässern zu finden (Matêna, 1990; Matêna und Frouz, 2000).

Der Ausbreitungsweg der Pionier- bzw. Besiedlungsspezialisten ist keine Einbahnstraße, sondern ein komplexes Netz aus kurzzeitig überfluteten temporären Gewässern mit hohen Larvendichten und länger stehenden Gewässern der (weiteren) Umgebung. Ein typisches Beispiel für die vernetzte Ausbreitungsstrategie stellt *Chironomus dorsalis* dar (Dettinger-Klemm, 2000, 2003). Diese Art ist in permanenten Stillgewässern meistens in geringer Individuendichte zu finden. Mit hohen Dichten kommt *Chironomus dorsalis* nur in frisch angelegten Stillgewässern, sogenannten Pioniergewässern, vor. Teilweise kehren sie auch gezielt zum Überwintern in die permanenten Gewässer zurück. Allgemein bilden *Chironomus dorsalis* ihre höchsten Dichten in stark ephemeren Lachen aus (Dettinger-Klemm und Bohle, 1996). Dabei findet der größte Teil der Fortpflanzung von *Chironomus dorsalis* in den temporären Gewässern mit rasch aufeinanderfolgenden Generationen statt. Von dort aus werden die permanenten Pioniergewässer und weitere temporäre Gewässer besiedelt (Dettinger-Klemm, 2000, 2003).

Eine hohe Chironomidendichte in Pioniergewässern wird auch von Lods-Crozet und Castella (2009) bestätigt, die die Besiedlung neu angelegter Tümpel über einen Zeitraum von drei Jahren (1994–1996) dokumentierten. Hier zählten die Chironomiden mit 78 Taxa zu den artenreichsten Kolonisierern. Sie stellten fest, dass die Abundanz der Chironomiden im temporären Schilfgürtel, insbesondere in den ersten beiden Jahren der Besiedlung, geringer war als in neu angelegten Teichen. Der Schilfgürtel wies jedoch eine höhere Artenvielfalt auf als die neu angelegten Teiche. Auffallend bei dieser Untersuchung war auch, dass kaum Chironomidenarten aus dem ca. 40 m entfernten Nachbar-teich in die neu angelegten Tümpel einwanderten. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Ruhi et al. (2009), die drei Teichkomplexe (< 2 m Wassertiefe), von denen zwei als frisch angelegtes Stillgewässer und der dritte als temporär mit sommerlicher Austrocknung beschrieben werden können, überstauten und im ersten Jahr beobachteten. *Procladius choreus* und *Psectrocladius gr. sordidellus* wurden als Indikatorarten für die neu angelegten Teiche bestimmt,

die sich später zu permanenten Gewässern entwickelten. Steinhart (1999, 2000) wies auf den Inundationsflächen in den Auen des Unteren Odertals insgesamt 78 Chironomidentaxa nach. Diese stellten zwischen bis zu 69 % der Gesamtabundanz des Makrozoobenthos dar. Sie konnte zeigen, dass die saisonalen und temporären Überflutungsereignisse in den Auen den größten Einfluss auf die Chironomidenpopulationen haben. Außerdem konnte sie beobachten, dass kaum Einwanderung von Chironomiden aus der Oder in die Habitate der Inundationsflächen erfolgte. Stattdessen erfolgt die Besiedelung über das Netzwerk der verschiedenen temporären Auengewässer, was die Wichtigkeit dieser Habitate für die Produktivität und Artendichte der Chironomiden in den Auengebieten unterstreicht.

2.2 Biozid Bti

2.2.1 Wirkweise Bti

Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) ist eine grampositive, sporenbildende Unterart des *Bacillus thuringiensis*, die als hochtoxisch für Dipterenarten, insbesondere innerhalb der Nematocera wie *Culicidae* (Stechmücken), *Simuliidae* (Kriebelmücken), oder *Chironomidae* (Zuckmücken), gilt. Die toxische Wirkung von Bti beruht wie bei anderen Unterarten des *Bacillus thuringiensis* (Bt) auf den bei der Sporulation gebildeten parasporalen Einschlusskörpern, die die Funktion eines inerten Protoxins übernehmen (Ben-Dov, 2014; Bravo et al., 2007; Federici et al., 2007; Schnetter et al., 1983; Schnetter et al., 1981; Valtierra de Luis, 2019). Die spezifische Wirkung der verschiedenen Bt-Stämme auf bestimmte Insektenordnungen, wie Diptera (Zweiflügler), Lepidoptera (Schmetterlinge), Hymenoptera (Hautflügler) und Coleoptera (Käfer), oder auch Nematoda (Fadenwürmer) beruht auf der selektiven Wirkung der Cry-Proteine (Kristallproteine), von denen bisher mehr als 200 identifiziert werden konnten (Ben-Dov, 2014; Bravo et al., 2007; Federici et al., 2007; Wolfram und Wenzlund, 2018). Bti besitzt drei dieser parasporalen Einheiten: zwei stabförmige und eine sphärische, wobei die Nematoceren-spezifische Toxizität an die sphärische Einheit gebunden ist. Diese sphärische Einheit mit Glykoproteincharakter wurde lange Zeit als δ -Endotoxin bezeichnet (Bravo et al., 2007; Fabis, 1995; Federici et al., 2007; Frouz et al., 2007, 2003; Heimpel, 1967; Mittal, 2003; Morawski, 1983; Rukmini et al., 2000; Schnetter et al., 1981; Valtierra de Luis, 2019; Ward et al., 1988; Wirth et al., 2004). Allerdings argumentieren Ibrahim et al. (2010), dass diese Terminologie nicht konsistent sei, da die sphärische Einheit mit Lipo-Polysacchariden auf der Zelloberfläche verschiedener gramnegativer Bakterien in einem engen Zusammenhang stehen. Cry-Toxine hingegen sind monomere oder oligomere Moleküle.

Nach der peroralen Aufnahme von Cry-Proteinen werden diese im alkalischen Milieu des entodermalen Mitteldarms von Nematocerenlarven gelöst und setzen Protoxine frei, die durch Proteasen und bakterielle Aktivität des Mikrobioms zu Toxinen aktiviert werden (Rukmini et al., 2000; Yiallourous, 1996). Im Fall von Bti besteht die protoxische Kombination aus den drei Cry-Proteinen Cry4Aa (134 kDa), Cry4Ba (128 kDa) und Cry11Aa (72 kDa), sowie einem Cyt-Protein, dem Cyt1Aa (27 kDa) (Ben-Dov, 2014; Vachon et al., 2012). Jedes dieser erst einzelnen Protoxinproteine wäre für sich genommen nur schwach toxisch, sodass Bti seine Wirkung erst durch das synergistische Zusammenspiel der einzelnen Bindungsinteraktionen der Protoxine entfaltet (Cantón et al., 2011; Crickmore et al., 1998; Pérez et al., 2005; Poncet et al., 1995; Schnepf et al., 1998; Soberón et al., 2013; Vachon et al., 2012; Wirth et al., 2004). Im Gegensatz zu den Cry-Proteinen weist das Cyt-Protein *in vitro* eine allgemeine zytolytische (hämolytische) Aktivität auf (Butko, 2003).

Nach Aktivierung der Protoxine binden die Cry-Toxine an spezifische Proteinrezeptoren der äußeren Membran der Darmzellen. Diese oligomerisieren und bilden Poren in der Zellmembran. Die Folge ist eine irreversible Schädigung der Zellmembran mit Störung des osmotischen Gleichgewichts, was zu einer hohen Flüssigkeitsaufnahme der Darmepithelzellen und zum Platzen dieser Zellen führt. Die tödliche Folge ist eine Darmlähmung und Perforation der Darmwand (Ben-Dov, 2014; Boisvert und Boisvert, 2000; Bravo et al., 2007; Tetreau et al., 2020; Vachon et al., 2012). Die toxische Wirkung von Bti auf einzelne Nematocerenlarven ist davon abhängig, ob die inerten Protoxine aufgenommen und anschließend im alkalischen Milieu ($\text{pH} > 10$) mithilfe der entsprechenden Enzyme, wie zum Beispiel Proteasen, zu den Cry-Toxinen metabolisiert werden können. Außerdem müssen entsprechende Proteinrezeptoren im Darmepithel vorhanden sein, an die die Toxine spezifisch binden können. Da Chironomiden sowohl über die entsprechenden Proteinrezeptoren als auch über das entsprechende alkalische Darmmilieu verfügen, sind die Voraussetzungen für den Wirkmechanismus von Bti erfüllt (Boisvert und Boisvert, 2000). Zudem ähnelt ihre Ernährungsweise der von Culiciden. Auch sie filtern das Bti aus dem Wasserkörper oder weiden es in abgelagerter Form ab (Boisvert und Boisvert, 2000). Aber nicht nur bei filternden Chironomiden, sondern auch bei den überwiegend karnivoren bis omnivoren Unterfamilie der Tanypodinen konnte die Wirkung von Bti auf die Mitteldarmzellen histologisch nachgewiesen werden (Fabis, 1995; Rey et al., 1998; Yiallourous, 1996). Allerdings haben Frouz et al. (2007) den pH-Wert im Darm der Larven von *Chironomus crassicaudatus* und *Glyptotendipes paripes* gemessen und festgestellt, dass dieser neutral bis leicht sauer ist. Dies kann die Metabolisierung der Bti-Protoxine zu den toxischen Cry-Proteinen reduzieren und damit die allgemeine Toxizität verringern.



Abbildung 3: Schematische Darstellung der Wirkung von Bti. Darstellung der Schritte, die zur Porenbildung und zum Tod der Larve führen. Dieser Ablauf ist sowohl für Culiciden als auch Chironomiden gültig. Verändert nach Vachon et al., 2012.

2.2.2 Technische Formulierungen von Bti

Das Biozid Bti wird in verschiedenen Formulierungen vermarktet, die je nach Anwendung als Granulat, Pulver, Flüssigkonzentrat oder Pellets eingesetzt werden (Derua et al., 2019; Glare, 1998). VectoBac, Bactimos, Aquabac, Vectocide und Teknar sind häufig verwendete Produktlinien, die wiederum in verschiedenen Formulierungen auf dem Markt verfügbar sind (Brown et al., 2001; Derua et al., 2019; Wolfram und Wenzlund, 2018). Welches Präparat zum Einsatz kommt, hängt zum einen vom Zielorganismus ab, zum anderen aber auch von der Lagerung sowie den Anwendungsmethoden (Wolfram und Wenzlund, 2018). Um das ökotoxikologische Risiko von Bti-Anwendungen abschätzen zu können, ist es wichtig, neben dem eigentlichen Wirkstoff auch die inerten Komponenten oder auch Sekundärwirkstoffe, also die Nebenbestandteile der Formulierungen, zu betrachten. Diese werden von den Biozid-Herstellern in der Regel nicht offengelegt, obwohl diese Formulierungsbestandteile einen Einfluss auf die Toxizität des Biozids haben können (Cox und Sorgan, 2006; de Araújo-Coutinho et al., 2003; Glare, 1998; Nagy et al., 2020; Swadener, 1994). Diese inerten Bestandteile sowie die unterschiedliche Wirksamkeit der verschiedenen Bti-Formulierungen erschweren einen direkten Vergleich der Präparate.

Derua et al. (2019) beschreiben die große Vielfalt der Bti-Formulierungen hinsichtlich der Inhaltsstoffe und Wirkkonzentrationen. Sie nennen allein 27 verschiedene Präparate, die in Afrika zur Bekämpfung von Malariaüberträgern eingesetzt werden. In dieser Aufzählung reicht das Wirkungspotenzial von 20 ITU/mg (Vecto Lex G, Valent Bioscience) bis zu 10.000 ITU/mg (Bactimos PP, Valent Bioscience). Diese große Bandbreite der Wirksamkeit wird auch von Mittal (2003) bestätigt, der die durch kommerzielle Bti-Produkte hervorgerufenen LC_{50} -Werte von vier verschiedenen Stechmückenarten (*Anopheles culicifacies*, *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* und *Aedes aegypti*) bestimmte. Dabei konnte er Abweichungen um den Faktor 10 nachweisen. Dies zeigt sehr deutlich, warum es notwendig ist, die in den verschiedenen Untersuchungen jeweils verwendeten Wirkkonzentrationen auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen, wobei sich die Einheit ITU/L als besonders geeignet erwiesen hat.

2.3 Allgemeine Bioverfügbarkeit von Bti für Chironomiden

Zusammenfassung: Bioverfügbarkeit und Risikoabschätzung von Bti im Wasserkörper

Bti stellt in allen Teilbereichen des Wasserkörpers ein **Risiko für (sub-)letale Effekte auf Chironomidenlarven** dar. Im freien Wasserkörper und insbesondere an der Wasseroberfläche sind vor allem die Erst- und Zweitlarven der später sessilen Chironomidenarten sowie die dauerhaft freischwimmenden *Tanypodinae* dem Bti gegenüber exponiert. Abhängig von der Tiefe des Wasserkörpers zeigt sich der **Verdünnungseffekt der Konzentration in der Wassersäule**, was zu einem vorerst reduzierten Risiko führt. Jedoch sedimentiert das Bti nach kurzer Zeit am Gewässergrund, wo es durch mikrobielle Transformationsprozesse zwar **zum Teil inaktiviert wird**, sich jedoch auch an Tonpartikel, Huminsäuren sowie weitere organische Partikel bindet, ohne seine Wirksamkeit zu verlieren. Nach **erneuter Remobilisation**, ausgelöst durch Wasserströmungen oder Bioturbation und Bioirrigation benthischer Organismen, können die Toxine gegebenenfalls auch noch Wochen später zur Verfügung stehen. Insbesondere beim Einsatz hoher Konzentrationen ist das der Fall. Auch bei der **Ablagerung von Bti auf mit Chironomiden besiedelten Strukturen**, wie Pflanzenbewuchs (submerse Makrophyten oder Helo- und Hydrophyten in temporären Gewässern) und Totholzansammlungen ist das **Risiko des Bti für grassende Chironomidenarten** als **besonders hoch** einzuschätzen.

Sowohl die Persistenz von Bti als auch seine Bioverfügbarkeit für benthische Chironomiden müssen in weiteren Studien untersucht werden. Dies gilt auch für mögliche Verdriftungseffekte von Bti, für die bisher kaum Daten zur Risikoabschätzung vorliegen. In diesem Zusammenhang wäre es vor allem wichtig, verlässliche Daten über die tatsächliche Wirkungsdauer von Bti unter Freilandbedingungen zu generieren und eine Messmethode für Bti-Kristalle in Sedimenten zu entwickeln.

Um abschätzen zu können, ob und inwieweit Bti-Anwendungen die Chironomidenpopulation schädigen, muss zuerst die Bioverfügbarkeit von Bti in aquatischen Systemen näher betrachtet werden. Die unterschiedliche räumliche Verteilung des Biozids im aquatischen System sowie seine Transformationsprozesse können die Bioverfügbarkeit von Bti für die Chironomiden und damit seine toxische Wirkung beeinflussen.

Die Hauptschwierigkeit bei der Risikoabschätzung des Effektes von Bti ist die mobile Disposition des Biozids im Wasserkörper, denn Bti verbleibt nicht dauerhaft an der Wasseroberfläche, sondern sinkt mit der Zeit in der Wassersäule ab, um dann gegebenenfalls an der Sedimentoberfläche zu akkumulieren. Hierbei ist es diversen abiotischen und biotischen Transformationsprozessen ausgesetzt. Diese Prozesse sind insbesondere in den Auengebieten mit ihrer mosaikartigen Anordnung an unterschiedlichen Mikrohabitaten und Gewässertypen (Kapitel 2.4.1) schwer nachzuvollziehen, da hier die Gewässerkörper abhängig von den Hochwasserereignissen einer stetigen Veränderung unterworfen sind.

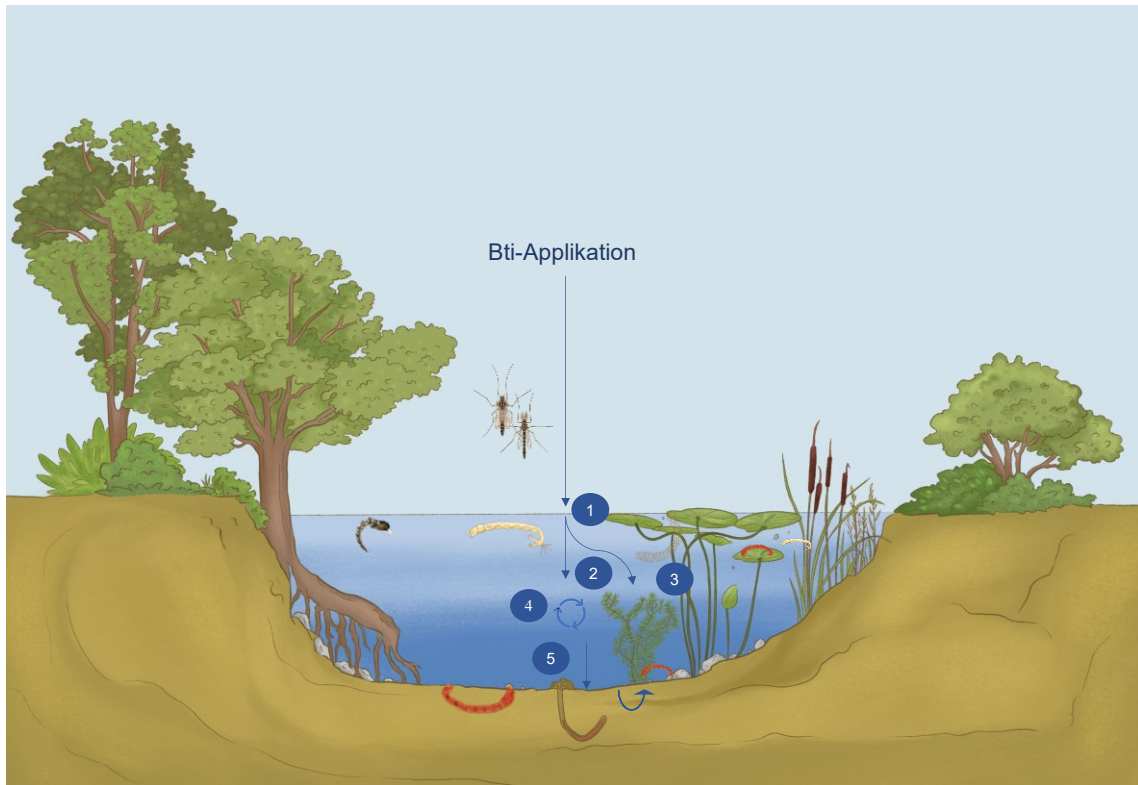


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Bioverfügbarkeit von Bti in aquatischen Systemen. 1) Effektivität an der Wasseroberfläche, 2) Absinken und Verdünnung, 3) Wirkung am Pflanzenbewuchs (Helo- und Hydrophyten), 4) biotische und abiotische Transformationsprozesse, 5) Akkumulation, Persistenz und Remobilisierung an der Wasser-Sediment-Grenze. Bti ist für Chironomiden ausschließlich im Larvenstadium bioverfügbar, weder auf das Eigelege, noch auf die Puppe, noch auf die Imago hat es toxische Effekte. Die tatsächliche Höhe der Wassersäule kann im Freiland zwischen wenigen Zentimetern und mehreren Metern variieren (abhängig vom Gewässertyp und Hochwasserereignissen). Der Pflanzenbewuchs ist abhängig vom Gewässertyp (bspw. Schilf-/Röhrichtgürtel, Helo- und Hydrophyten, submers Makrophyten oder auch Brennnesselflure).

2.3.1 Effektivität an der Gewässeroberfläche

Bti wird entweder als flüssige (AS), granuliert (G) oder wasserdispergierbare (WG) Formulierung des technischen Produktes Vectobac ausgebracht. Hierbei kann es entweder manuell per Handausbringung oder als Eisgranulat per Helikopter auf die zu bekämpfende Wasserfläche ausgebracht werden. Beim Einsatz des Eisgranulats kann das Biozid präziser ausgebracht werden und wird auch langsamer an der Wasseroberfläche freigesetzt (Kapitel 2.4.2.4).

Unmittelbar nach der Ausbringung weisen die positiv phototaktischen Erst- oder auch Zweitlarven der Chironomiden (Kapitel 2.1.1.1) sowie die pelagisch lebenden Arten der Unterfamilie *Tanypodinae* eine besonders hohe Empfindlichkeit gegenüber dem ausgebrachten Bti auf, da es zu diesem Zeitpunkt in der höchsten Konzentration vorliegt.

2.3.2 Verdünnungseffekt des Bti

Nach kurzer Zeit beginnt Bti zum Gewässergrund abzusinken, was zu einer Abnahme der Konzentration durch Verdünnung führt. Wie schnell Bti im Gewässer tatsächlich absinkt, hängt von der Höhe der vorhandenen Wassersäule und der verwendeten Biozidformulierung ab. Untersuchungen haben beispielsweise gezeigt, dass die Formulierung Bactimos schneller absinkt als VectoBac WDG (Fillinger et al., 2003). Neugebauer (1993) konnte die Wirksamkeit von Bti (in Form von sterilisiertem Bactimos) an der Wasseroberfläche für mindestens sechs Stunden nachweisen.

Gleichzeitig konnte sie erste, wenn auch schwache toxische Effekte im Sediment nachweisen. Engler-Fritz (1984) konnte sedimentiertes Bti (Stamm H 14-A 201, kein kommerzielles Produkt) am Boden von mit Wasser gefüllten Wannen (300 L) nach fünf Minuten nachweisen. Sie wiederholte den Versuch in einem natürlichen Graben (30 cm Wasserstand) und konnte sedimentiertes Bti nach 30 Minuten nachweisen.

Mullen und Hinkle (1988) untersuchten die Sedimentationsgeschwindigkeit und die Verteilung der Wirksamkeit in der Wassersäule (0–25 cm) von kommerziell erhältlichen Bti-Formulierungen (H-14; Bactimos wettable powder; Teknar aqueous concentrate und Vectobac wettable powder). Vectobac wettable powder ($c = 1,12 \text{ kg/ha}$) sank zwar schnell ab, blieb aber in den obersten 5 cm der Wassersäule für drei bis vier Stunden ausreichend suspendiert, um dort Mortalität bei *Aedes aegypti* hervorzurufen. Im Gegensatz dazu blieb Bactimos bis zu fünf Stunden nach der Anwendung in den oberen 5 cm der Wassersäule suspendiert, wonach es nicht mehr in ausreichender Konzentration vorhanden war, um weiterhin eine Mortalität zu verursachen. Teknar hingegen sedimentierte wesentlich langsamer als die beiden anderen Präparate und konnte die Larven in der obersten Wasserschicht über 24 Stunden abtöten. In tieferen Wasserschichten war die Mortalitätsrate durchweg hoch. Daraus kann geschlossen werden, dass die Abnahme der Mortalität in den oberen Wasserschichten auf das Absinken und nicht auf die Inaktivierung des Materials zurückzuführen ist.

Dem widersprechen Clark et al. (2007), die eine homogene Verteilung von VectoBac WG in einer Wassersäule von 26 cm über einen Zeitraum von 16 Stunden und somit kein schnelles Absinken beobachten konnten. Sie führten diesen Effekt auf die Brown'sche Bewegung zurück, sodass fraglich ist, ob sich Bti in größeren Wasserkörpern ähnlich verhalten würde oder ob es sich hierbei um einen ausschließlich im Labor reproduzierbaren Effekt handelt.

Charbonneau et al. (1994) untersuchten die Wirksamkeit von VectoBac G gegenüber den beiden Chironomiden *Chironomus riparius* und *Micropsectra* sp. in Abhängigkeit von der Wassertiefe. Sie stellten fest, dass die Larvenmortalität in flacheren Wasserschichten signifikant höher war als in tieferen Wasserschichten (6,7–40,6 cm Wassersäule). Die Wirkung von VectoBac G war umgekehrt proportional zur Höhe der Wassersäule.

Daraus lässt sich Folgendes ableiten: Je niedriger der Wasserstand des behandelten Gewässers ist, desto weniger wird das Bti während des Sedimentationsprozesses verdünnt und es sinkt schneller zum Gewässergrund ab. Ist der Wasserstand dagegen dauerhaft hoch, kommt es zu einer stärkeren Verdünnung in der Wassersäule, was das toxikologische Risiko für permanent pelagisch lebende Arten sowie der, noch nicht sessilen, Erst- und Zweitlarvenstadien reduziert. Die Erst- und Zweitlarven profitieren besonders von einem Verdünnungseffekt, da sie im Vergleich zu den Dritt- und Viertlarven 4- bis 100-mal empfindlicher auf das Toxin reagieren (Kästel, 2017; Morawski, 1983). Eine vorübergehende Verdünnung der Bti-Konzentration in der Wassersäule ist jedoch nicht gleichbedeutend mit einer generellen Risikominderung. Denn ob und in welchem Ausmaß benthische Chironomiden durch Bti geschädigt werden, hängt vor allem von der Wirkungsdauer des Biozids am Gewässergrund und seiner Persistenz ab.

2.3.3 Akkumulation und Persistenz von Bti entlang der Wassersäule

Obwohl es mittlerweile zahlreiche Studien gibt, die sich mit der räumlichen Verteilung von Bti in Gewässern und seiner Persistenz beschäftigen, konnte die genaue Bioverfügbarkeit von Bti für Chironomiden am Gewässergrund bisher nicht geklärt werden. Dies liegt vor allem daran, dass es bisher keine etablierten chemischen Analysemethoden für das Biozid gibt, obwohl in den

letzten Jahren an innovativen Methoden zur Analyse von Bt-Toxinen in Boden- und Sedimentmaterial gearbeitet wurde (Patil et al., 2016; Yang et al., 2015).

Für benthische Chironomiden besteht die Gefahr einer langfristigen Anreicherung von appliziertem Bti am Gewässergrund. Zu einer solchen Akkumulation kann es beispielsweise nach mehrfacher Ausbringung des Biozids in kurzen zeitlichen Abständen kommen, wie dies zum Beispiel bei direkt aufeinanderfolgenden Hochwasserereignissen mit jeweils steigendem Pegelstand der Fall ist (Kapitel 2.4.2).

Dies kann zu kritischen Bti-Konzentrationen an der Wasser-Sediment-Grenze (Boisvert und Boisvert, 2000; Tilquin et al., 2008) oder zu weiteren additiven oder synergistischen toxikologischen Effekten führen, die wiederum (sub-)letale Schädigungen der Chironomiden zur Folge haben können. Laut Zulassungsordnung darf das in den Oberrheinauen verwendete Präparat VectoBac WG (Zulassungsnummer: DE-0011520-18) maximal achtmal pro Jahr und mit einem Mindestintervall von zehn Tagen im selben Gebiet appliziert werden (BAuA, 2018). Damit soll sichergestellt werden, dass keine zu intensiven Akkumulationseffekte auftreten.

Die Wirkung von Bti in natürlichen Gewässern hält nach Angaben verschiedener Autoren aufgrund der externen Umwelteinflüsse nur wenige Tage bis Wochen an (Boisvert und Boisvert, 2000; Ohana et al., 1987; Sheeran und Fisher, 1992), kann aber im Labor oder in geschlossenen Testsystemen auch mehrere Wochen andauern (Batra et al., 2000; Ignoffo et al., 1983; Lacey, 2007; Mittal, 2003). Der Assessment Report der Europäischen Union führt für Gewässer mit Sedimentanteilen eine Abbaugeschwindigkeit mit einer Halbwertszeit von 14 Tagen an, wobei betont wird, dass die verringerte toxische Aktivität auf eine Adsorption an Sedimentpartikel zurückzuführen sei. Die Adsorption sei jedoch reversibel (Europäische Union, 2010). Engler-Fritz (1984) hingegen konnte nicht sterilisiertes Bti (H14-A201, $c = 4700$ ITU/mg) in einem 30 cm tiefen Graben bis zu vier Monate in der Wassersäule (2 cm über dem Grund) und zwei Jahre im Bodenschlamm mittels Antibiotikaresistenztest nachweisen. Pluskota et al. (2018) untersuchten die Wirkungsdauer von Bti (Culinex Tab plus, $c = 11.000$ ITU/L) in Regentonnen sowohl mit als auch ohne mikrobielle Effekte durch Zugabe von Detritus, wobei je nach Versuchsansatz bis zu 65 Tage eine Mortalitätsrate von 60 bis 100 % bei *Aedes albopictus* festgestellt werden konnte.

Bti kann in Form von Sporen noch Monate bis Jahre nach der Applikation nachgewiesen werden (De Respinis et al., 2006; Duchet et al., 2008; Guidi et al., 2011). Wird jedoch sterilisiertes Bti-Material ausgebracht, dann ist sowohl die Sporulation von Bti-Sporen als auch jede Form der De-Novo-Synthese oder des bakteriellen Recyclings (durch lebendes Sporenausgangsmaterial) ausgeschlossen (De Respinis et al., 2006; Duchet et al., 2008; Guidi et al., 2011). In einem solchen Fall kann, wenn überhaupt, eine Persistenz der Bti-Kristalle im Sediment eintreten.

2.3.4 Einfluss von Transformationsprozessen auf die Effektivität von Bti

Die Frage, ob und in welchem Ausmaß sich eine Bti-Kristall-Persistenz ausbildet, steht auch in direktem Zusammenhang mit der Aufrechterhaltung der Bti-Effektivität im Freiland. Diese wird von verschiedenen abiotischen und biotischen Umweltfaktoren negativ beeinflusst, sodass davon auszugehen ist, dass Bti im Freiland im Vergleich zu Laboruntersuchungen schneller transformiert und damit inaktiviert wird. Dies wiederum bedeutet, dass die realen Freilandbedingungen zu einer reduzierten Wirksamkeit von Bti (Charbonneau et al., 1994; Cheung und Hammock, 1984; Wraight et al., 1982) und damit zu einem geringeren Risiko für Chironomiden führen.

Abiotische Faktoren, die die Wirkung von Bti abschwächen können, sind zum Beispiel die Temperatur, die Sonneneinstrahlung und die damit verbundene UV-Strahlung (Griego und Spence, 1978; Ignoffo et al., 1983; Lei et al., 2005; Myasnik et al., 2001; Neugebauer, 1993; Zgomba und

Petrić, 1991). Weitere Faktoren sind die Wassertiefe, die Sedimentationsgeschwindigkeit und die Trübung (Allgeier et al., 2019; Engler-Fritz, 1984; Lacey, 2007; Ohana et al., 1987). Biotische Faktoren hingegen sind beispielsweise der Bewuchs des Gewässers mit aquatischen Makrophyten und die Menge an organischem Material im Wasserkörper. Diese Faktoren können die Wirksamkeit von Bti reduzieren (Ben-Dov, 2014; Ben-Dov et al., 2003; Pluskota et al., 2018). Auch von Charbonneau et al. (1994) wurden diese beiden biotischen Faktoren näher untersucht. So korrelierte in ihrer Studie die Bedeckung der Gewässeroberfläche mit Makrophyten mit der Wirksamkeit des ausgebrachten Bti in der Wassersäule. Bti kann durch Adhäsionseffekte an den Blättern der submersen Vegetation dem Wasserkörper entzogen und dort von Konsumenten aufgenommen werden. Dies wird auch durch Garcia et al. (1980) gestützt, die ähnliche Effekte bei Algenmatten beobachteten. Bezieht man diesen Faktor in die Risikoabschätzung von Bti für Chironomiden mit ein, so könnte man daraus schließen, dass die Akkumulation von Bti an submersen Makrophyten oder auch anderen Pflanzenstrukturen, wie Brennesselfluren, zu einer verstärkten Exposition von Makrophyten-assoziierten Chironomidenarten führen kann.

Weitere Ergebnisse von Charbonneau et al. (1994) widersprechen allerdings der weitverbreiteten Annahme, dass der organische Gehalt von Wasser und Sediment einen Einfluss auf die Wirksamkeit von Bti habe. Ihre Untersuchungen konnten keinen Unterschied zwischen der Verwendung von Wasser aus einem natürlichen Feuchtgebiet und klarem Brunnenwasser in Bioassays mit *Chironomus riparius*-Larven nachweisen. Die Wirkung von VectoBac G erwies sich hier auch als unabhängig vom Gehalt an organischem Material im getesteten Sediment.

Die Abundanz des Zielorganismus und anderer Filtrationsorganismen führt zu einer Reduktion von Bti im Gewässerkörper (Ben-Dov, 2014; Engler-Fritz, 1984; Zgomba und Petrić, 1991). Eine besonders hohe Dichte an verfügbaren Nahrungspartikeln im Wasserkörper führt dagegen zu einer geringeren Aufnahme von Bti durch die Zielorganismen (Ali et al., 1995, 2008; Ben-Dov et al., 2003).

Cao et al. (2012) diskutiert eine Kombination aus den Faktoren Temperatur und Nahrungsverfügbarkeit als Einflussfaktor für Wirksamkeit von Bti gegenüber Chironomiden. Diese Studie hält es für wahrscheinlich, dass eine höhere Temperatur zu einer erhöhten Fressaktivität der Chironomidenlarven und damit zu einer stärkeren Aufnahme der Toxine führt, was auch von Stevens et al. (2004) und Charbonneau et al. (1994) unterstützt wird.

2.3.5 Akkumulation und Persistenz am Sediment

Während das frei in der Wassersäule gelöste Bti am ehesten den pelagischen oder mit Makrophyten-assoziierten Formen der Chironomiden schaden kann, sind für die benthischen Chironomiden vor allem die an sediment-gebundenen Formen von Bti kritisch. Denn obwohl für aquatische als auch benthische Organismen die gelösten Anteile an Umwelttoxinen am besten verfügbar sind (da diese am einfachsten herausgefiltert werden und somit am besten bioverfügbar sind), gibt es unter den Chironomiden zahlreiche Vertreter, wie beispielsweise die *Grazer*, die Detritusfresser und die Wohnröhren-Strudler, die durch ihre Lebensweise nicht nur von frei verfügbarem Bti, sondern auch von ligandisierten Bti-Kristallen gefährdet sein können. Dabei bestimmen die Sedimentationsgeschwindigkeit und die Adsorption der Bti-Kristalle an Tonmineralen oder anderen Bodenpartikeln die tatsächliche Toxizität.

Die meisten der Studien, die sich mit dem Einfluss von Sediment auf die Bioverfügbarkeit von Bti beschäftigten, kamen zum Schluss, dass der Einsatz von Sediment zu einer Verringerung der Bti-Effektivität in der freien Wassersäule führt, da sich das Bti am Sediment akkumuliert

(Boisvert und Boisvert, 2000; Dupont und Boisvert, 1986; Ignoffo et al., 1983; Ramoska et al., 1982; Sheeran und Fisher, 1992; Van Essen und Hembree, 1982).

Ramoska et al. (1982) untersuchten die Wirksamkeit von Bti in heterogenen Ton-, Sand- und Bodenproben. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Mortalität der pelagischen Testorganismen *Culex quinquefasciatus* und *Aedes aegypti* bei der Verwendung von Boden- und Tonmaterial im Versuchsaufbau geringer und somit die Wirksamkeit von Bti in der Wassersäule deutlich reduziert ist. Sie begründen dies mit der Nahrungsaufnahme der Testorganismen, da diese das Toxin aufgrund seiner Komplexgröße nicht mehr aufnehmen können. Als amphotere Moleküle lagern sich die Proteinkristalle mit den Ton- oder Bodenpartikeln zusammen und nehmen dadurch an Umfang zu. Durch die Größenzunahme der Moleküle können diese nicht mehr von den Culicidenlarven aufgenommen werden, wodurch ihre Bioverfügbarkeit und damit ihre toxische Wirkung reduziert wird. Zu gleichen Schlussfolgerungen kommen auch Boisvert und Boisvert (2000), Ohana et al. (1987) und van Essen und Hembree (1982).

Dem widersprechend zeigten Lee et al. (2003), dass nach 45 Tagen in nicht sterilem Wasser die Toxizität von tongebundenen Toxinen gegenüber *Culex pipiens* signifikant höher war (Mortalität von 63 %) als die der freien Toxine (Mortalität von 25 %). Zudem wiesen sie nach, dass die kristallinen Toxine des Bti, die fest an Montmorillonit- und Kaolinit-Tone gebunden sind, den mikrobiellen Abbau des Wirkstoffs verhindern und somit die Wirksamkeit von Bti erhöhen.

Der Einfluss des Sediments auf die Wirkung von Bti auf die Chironomiden wurde von Cao et al. (2012) und Charbonneau et al. (1994) untersucht: Beide Studien zeigten, dass die Sedimenteigenschaften einen Einfluss auf die Empfindlichkeit von Chironomiden gegenüber Bti haben. Cao et al. (2012) zeigten, dass die Zugabe von autoklaviertem Sediment die Mortalitätsraten im Vergleich zu unbehandeltem Material signifikant erhöht. Dies deutet darauf hin, dass Mikroorganismen im Sediment in der Lage sind, das vorhandene Bti zu metabolisieren und damit zu inaktivieren. Cao et al. (2012) untersuchten den Einfluss von VectoBac WG auf *Chironomus kiiensis* und zeigten, dass die Mortalitätsraten in sandigen Substraten höher waren als in terrestrischen Bodensubstraten. Dies wird auch von Stevens et al. (2004) bestätigt. Charbonneau et al. (1994) konnten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Mortalität von *Chironomus riparius* und dem Gehalt an organischer Substanz im Sediment nachweisen.

Stotzky (2005) untersuchte nicht steriles Bti im Wirkungsgefüge verschiedener Bodenmaterialien unter Berücksichtigung der Ausbringungsmenge, des mikrobiellen Abbaus und anderer abiotischer Faktoren, die zur Deaktivierung der Proteinkomplexe führen können. Er kam zu dem Schluss, dass Bti sich schnell und stabil an Tone, Huminsäuren und Komplexe aus Ton-Huminsäure-Al-Hydroxypolymeren bindet, wobei die Bindung pH-abhängig und in der Nähe des isoelektrischen Punkts des Proteins am stärksten ist. Die gebundenen Proteine verloren durch die Bindung weder ihre Struktur, Antigenizität, noch ihre insektizide Wirkung. Auch der Abbau der Proteine war vermindert, solange sie komplexiert waren. Er untersuchte auch die vertikale Mobilität der Cry1Ab-Proteine (Kapitel 2.2.1) im Boden und stellte fest, dass die Fähigkeit zur vertikalen Bewegung hauptsächlich von der Fähigkeit abhängt, sich an oberflächenaktive Partikel zu binden. Da das Bindungsvermögen bei Ton und organischem Material besonders hoch ist, sind in tonhaltigen Böden eine starke Bindung und damit eine hohe Persistenz zu erwarten. Daher verbleiben die Cry1Ab-Proteine nahe der Bodenoberfläche, was die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass sie durch Erosion und Abschwemmung in Oberflächengewässer gelangen. Im Gegensatz dazu werden die Cry1Ab-Proteine in Böden mit geringeren Tonkonzentrationen schneller aus dem Bodenmaterial ausgewaschen und sinkt daher schneller in tiefere Bodenschichten ab. Bei Trockenheit verbleibt das Protein in der biologisch aktiven Wurzelzone, wo ein Teil des Proteins mineralisiert wird.

Obwohl Stotzky (2005) nur die vertikale Mobilität von Cry1Ab-Proteinen untersuchte, die nicht Bestandteil von VectoBac WG bzw. VectoBac G sind, lassen seine Ergebnisse erste Rückschlüsse auf die mögliche Bioverfügbarkeit von Bti für bodenbewohnende Chironomiden zu. Denn er konnte zeigen, dass auch aufgereinigte Proteine aus *Bacillus thuringiensis israelensis* ihre insektizide Wirkung während der Bindung an Tonmineralien nicht verlieren. Dies könnte bedeuten, dass sich appliziertes Bti ohne Wirkungsverlust im Sediment anreichern könnte, sofern es nicht vor der Bindung an Tonmineralien biochemischen Transformationsprozessen unterliegt.

Dies wird auch durch das Absinken von Bti selbst durch Ohana et al. (1987) belegt: In ihrer Untersuchung sanken 99,8 % des aktiven Bti innerhalb von 45 Minuten auf den Becherboden ab, sodass es an die Schlammschicht gebunden und im Flüssigkeitsüberstand nicht mehr nachweisbar war. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch Neugebauer (1993). Sie applizierte sowohl 1 als auch 100 mg/l Bti auf die Wasseroberfläche eines Tümpels im Oberrheingebiet und konnte bei der Dosierung von 100 mg/l eine Mortalitätsrate von 100 % und bei der Konzentration von 1 mg/l eine Mortalität von 12 % bei *Aedes aegypti* in Wasserproben vom Grund des Tümpels feststellen. Pluskota et al. (2018) konnten zeigen, dass in Regentonnen appliziertes Bti mit der Zeit absinkt, sich am Boden anreichert und nach Turbulenzen insgesamt 65 Tage wirksam bleibt. Dabei war es unerheblich, ob die Regentonnen zusätzlich mit Detritus beladen waren oder nicht. Der abiotische Faktor UV-Licht wurde in dieser Untersuchung ausgeschlossen, indem die Regentonnen lichtdicht verschlossen wurden.

2.3.6 Bioverfügbarkeit im Sediment

Führt man die ersten Ergebnisse von Stotzky (2005) und die ersten Erkenntnissen des Assessment Report der Europäischen Union (2010) weiter und geht davon aus, dass nicht nur die von ihm untersuchten Cry1Ab-Proteine, sondern auch die Cry-Proteine des Bti vertikal mobil sind, so könnten diese in die obersten Bodenschichten gelangen. Dort wären sie vor weiteren abbauenden Umwelteinflüssen, vor allem aber vor UV-Strahlung geschützt. Da die meisten Chironomiden im dritten und vierten Larvenstadium in den obersten 5 cm der Bodenschichten leben (Olafsson, 1992) und in diesen Bodenschichten auch ihre Diapause verbringen (Kapitel 2.1.1.1), könnte somit ein Großteil der Chironomidenlarven, selbst Wochen bis Monate nach der letzten Bti-Applikation, von dieser möglichen Persistenz der Bti-Kristalle betroffen sein. Dies ist besonders kritisch, da viele Chironomiden Bioturbation und Bioirrigation verursachen. Die weit verbreitete Art *Chironomus plumosus* ist beispielsweise für den Bau von Wohnröhren bekannt, die der Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen dienen. Diese Wohnröhren haben in der Regel einen Ein- und einen Ausgang an der Wasser-Sediment-Grenze und reichen bis zu 20 cm tief in den Boden. Nach Berechnungen von Nogeitzig et al. (2007) stehen einer *Chironomus plumosus*-Larve in einem natürlichen Dauergewässer 1 cm² Oberfläche und ca. 20.000 mm³ Sedimentvolumen zur Verfügung. Die Wohnröhren haben dagegen ein durchschnittliches Volumen von 2000 mm³, d. h., etwa zehn Prozent des gesamten Sedimentvolumens können durch die Wohnbauten der Chironomiden eingenommen werden. Berücksichtigt man zusätzlich den Stofftransport durch die Pumpleistung von *Chironomus plumosus*, so zeigt sich, dass diese Chironomiden täglich etwa das Tausendfache ihres Wohnröhrenvolumens durch das Sediment pumpen. Dies führt an der Sediment-Wasser-Grenze sowohl zu einem vertikalen Stofftransport als auch zu einer Veränderung der biochemischen Umsetzungsprozesse (Baranov et al., 2016; Biswas et al., 2009; Nogeitzig et al., 2007; Roskosch et al., 2009; Roskosch et al., 2010; Seibt et al., 2009). Durch den adjunktiven Stofftransport der röhrenbauenden Chironomiden entsteht somit eine kontinuierliche, turbulente Strömung, die wiederum zur Remobilisierung und damit zur erneuten Bioverfügbarkeit sedimentierter Bti-Kristalle führen kann.

2.4 Studienrelevante Grundannahmen

Die *In-situ*-Versuche der vorliegenden Arbeit fanden im Rahmen der Stechmückenbekämpfung der KABS statt. Das bedeutet, dass bei der Applikation des Bti auf den Untersuchungsflächen sowohl die üblichen Bekämpfungsmethoden als auch die Richtlinien der KABS eingehalten wurden. Zum besseren Verständnis des angewandten Untersuchungskonzepts definiere ich im folgenden Kapitel einerseits die verwendete Gewässertypologie. Andererseits erläutere ich die übliche Bekämpfungsstrategie und Vorgehensweise der KABS.

2.4.1 Gewässertypologie

Zusammenfassung: Gewässertypologie

Die meisten Untersuchungsgewässer der vorliegenden Studie sind **temporär und vom Hochwasserstand des Rheins abhängig**. Dieser neigt in Oberrheingebiet zu sommerlichen wie auch winterlichen Hochwässern (nivales bzw. pluvino-nivales Abflussregime). Die Wasserführung der temporären Stillgewässer in den Auengebieten des Oberrheingraben ist daher nicht, beziehungsweise nur sehr kurzfristig, vorhersagbar. **Überflutungs- und Trockenphasen können sich mehrmals im Jahr abwechseln**, oder sogar ganz ausbleiben. Bei den vorliegenden **Untersuchungsgewässern** handelt es sich überwiegend um **temporäre bis semi-permanente Tümpel mit unterschiedlich ausgeprägten Trockenphasen**. Allen gemeinsam ist, dass die hier angesiedelte Fauna eine Mischstrategie aus *In-situ*-Überdauerung und Kolonisation verfolgt.

2.4.1.1 Erläuterung der begrifflichen Unschärfe

Die Still- und Kleinstgewässer der Auen zeichnen sich durch eine hohe Sukzessionsdynamik aus. Diese ist vor allem auf die hohe Fluktuation im Wechsel von Austrocknungs- und Überflutungsphasen zurückzuführen. Während Hochwasser- und Druckwasserereignisse für einen Anstieg des Wasserspiegels und eine Ausdehnung des Wasserkörpers sorgen, führen die anschließenden Trockenphasen wieder zu einer zunehmenden Austrocknung der Gewässer. Der stetige Wechsel der ökologischen Rahmenbedingungen führt zur Ausbildung vielfältiger Nischen, die sich in einem fein strukturierten und engmaschigen Mosaik unterschiedlicher Mikrohabitate und Ökotope widerspiegelt.

Mit der Benennung und Definition der vielfältigen gewässerabhängigen Ökotope, wie sie für Auen typisch sind, haben sich in der Vergangenheit zwar zahlreiche Autoren beschäftigt, jedoch ohne einen gemeinsamen Konsens der Benennung zu erreichen (Dettinger-Klemm, 2000, 2003; Heitkamp, 1989, 2006; Kreuzer, 1940; Pardey et al., 2005; Pichler, 1939, 1947; Schlüpfmann, 2003; Williams, 1997).

Ein Begriff, der in diesem Zusammenhang häufig synonym verwendet wird und daher in seiner Verwendung kritisch betrachtet wird, ist der Begriff „ephemer“. Er wird je nach Autor anstelle von „intermittierend“ oder „temporär“ verwendet. So argumentieren Williams et al. (2005), dass die eigentliche Wortbedeutung des griechischen Ursprungswortes *ephemeros*, also „nur einen Tag lebend“, verdeutlicht, dass „ephemer“ als biologischer Begriff zur Beschreibung temporärer Gewässer ungeeignet sei und daher durch „temporär“ ersetzt werden solle.

Die ursprüngliche Klassifikation von Stillgewässern wurde von Thienemann (1974) vorgenommen, der Stillgewässer in vier Hauptgruppen untergliedert: Seen, permanente Gewässer ohne Profundal, Lachen und temporäre Tümpel. Dabei definiert er „Tümpel“ als jährlich austrocknende Kleingewässer. Dieser periodische bzw. temporäre Charakter wird in der Literatur kontrovers

diskutiert. Er wird unter anderem von Thienemann (1926), Naumann (1931) und Wiggins et al. (1980) vertreten. Dieser Meinung widersprechen Pichler (1947, 1993) Pesta (1935), Spandl (1923), Heitkamp (1989, 2006), Neugebauer (1990) und Dettinger-Klemm (2003). Sie definieren Gewässer auch als Tümpel, wenn sie dauerhaft Wasser führen und somit perennierend sind. Heitkamp (1989) betont daher, dass die Begrifflichkeit „Tümpel“ nicht exakt anhand der Wasserführungskapazität abgrenzbar sei, zumal es zwischen den einzelnen Subtypen wiederum Übergangsformen geben könne.

Eine andere Kategorisierung von Kleingewässer wurde von Pichler (1939) nach Wassertemperatur und Schichtungsverhalten vorgenommen. Er unterscheidet insgesamt drei Kleingewässertypen:

- **Pfützen:** sehr kleine, bis zu 20 cm tiefe Gewässer mit stark sonnenerwärmtem Gewässergrund, im Sommer praktisch ohne Schichtung, wobei der Tagesschwankungsbereich der Temperatur bis zu 25 °C betragen kann.
- **Tümpel:** bis zu 60 cm tiefe Gewässer mit weniger Wärmeeintrag in den Boden. Die thermische Schichtung wird täglich umgewälzt und die sommerlichen Temperaturschwankungen können bis zu 15 °C an der Oberfläche und 5 °C am Grund betragen.
- **Kleine Teiche:** bis zu 100 cm tiefes Wasser. Das Substrat wird kaum erwärmt und die Schichtung ist stabiler. Das Wasser kann jedoch täglich umgewälzt werden. Die Temperaturschwankungen im Sommer betragen bis zu 10 °C an der Oberfläche und 2 °C in Bodennähe (Pichler, 1939).

Hydrologisch lassen sich die Tümpel wiederum in zwei Haupttypen einteilen: die permanenten Tümpel, die in der Regel einen hohen Wasserstand aufweisen, der jedoch in den Sommermonaten aufgrund der starken Verdunstung deutlich absinken kann (Abbildung 5). Das Minimum wird hier meist in den Monaten September und Oktober erreicht. Eine zusätzliche Auffüllung des Wasserkörpers kann durch sommerliche Gewitter erfolgen, die in Mitteleuropa häufig im Juni und Juli auftreten. Im Gegensatz dazu führen periodische Tümpel nicht das ganze Jahr über Wasser, sondern fallen in einem jährlichen Zyklus trocken. Diese periodischen Tümpel lassen sich wiederum in verschiedene Subtypen unterteilen: periodische Herbst-Winter-Frühjahrstümpel und periodische Frühjahrstümpel, die beide im Sommer ihren niedrigsten Wasserstand aufweisen. Die Dauer und der Zeitpunkt der Wasserführung stehen jedoch auch bei den periodischen Tümpeln in direktem Zusammenhang mit den aktuellen Witterungsbedingungen wie Niederschlag und Umgebungstemperatur. Die Übergänge zwischen permanenten und periodischen Tümpeln sind daher fließend, und aufgrund ihrer astatischen Bedingungen müssten die Gewässer jährlich neu klassifiziert werden (Dettinger-Klemm, 2000, 2003; Heitkamp, 1989; Neugebauer, 1990). Eine Möglichkeit, diese Übergangsformen besser voneinander abzugrenzen, bietet die Betrachtung der pflanzensoziologischen Zusammensetzung in den verschiedenen Gewässertypen. Während in permanenten Gewässern sowohl Wasserpflanzen (Hydrophyten) als auch Sumpfpflanzen (Helophyten) siedeln können, finden sich in den temporären Gewässern nur Helophyten und Pflanzenarten, die sich an schwankende Wasserstände angepasst haben. Auch aus faunistischer Sicht besteht der Hauptunterschied darin, dass in den permanenten Gewässern das Spektrum der phänologischen Gruppen (von saisonal bis ganzjährig vorkommenden Tierarten) deutlich ausgeprägter ist. Im Gegensatz dazu müssen die Arten der periodischen Herbst-Winter-Frühjahr-Gewässer entweder in ihrem Entwicklungszyklus auf die Winter- und Frühjahrsmonate beschränkt sein, trockenheitsresistente Anpassungen aufweisen oder durch schnelle Kolonisierungsfähigkeiten hervorstechen. Für die Arten der periodischen Frühjahrstümpel gelten diese Anpassungskriterien sogar noch in stärkeren Maße, da hier der Lebenszyklus durch die längere Trockenperiode noch weiter eingeengt wird (Dettinger-Klemm, 2000, 2003; Heitkamp, 1989; Wiggins et al., 1980).

Auch im Übergang zwischen permanenten und temporären Gewässern gibt es zahlreiche Übergangsformen, sodass eigentlich eine jährliche Revision der Einstufung eines Untersuchungsge­wässers vorgenommen werden müsste. Aufgrund dieser Begriffsunschärfen und widersprüchlichen Bezeichnungen erscheint es wichtig, die Begrifflichkeiten zur Gewässertypologie im Vorfeld der vorliegenden Studie genauer zu definieren, um eine klar umrissene Definition für die eigenen Untersuchungs­gewässer zu haben.

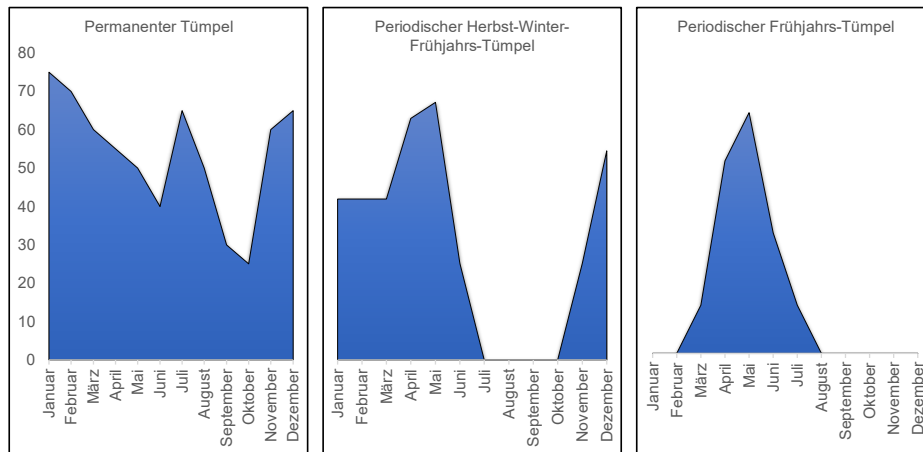


Abbildung 5: Schematischer Verlauf der Pegelstände in diversen Tümpeltypen, verändert nach Heitkamp (1989)

2.4.1.2 Angewandte Gewässertypologie

Im Rahmen der vorliegenden Studie werden die Untersuchungs­gewässer nach der Gewässertypologie von Dettinger-Klemm kategorisiert. Dettinger-Klemm (2000, 2003) hat sich im Rahmen eigener Untersuchungen zur Zönose temporärer Tümpel intensiv mit der Begrifflichkeit und einer Unterteilung der vielfältigen Kleinstlebensräume temporärer Tümpel beschäftigt. Dabei schlägt er vor, alle Flachgewässer (mit Ausnahme von Lachen) mit einer Wassertiefe von weniger als einem Meter als Tümpel zu definieren (Dettinger-Klemm 2000, 2003). Gewässer mit einer Wassertiefe von mehr als einem Meter werden demnach als permanente Stillgewässer klassifiziert.

Die Flachgewässer lassen sich nach Dettinger-Klemm (2000, 2003) in permanente, semipermanente und temporäre Tümpel unterteilen:

- **Permanente Tümpel:** Flachgewässer mit häufigen und zum Teil starken Wasserstandsschwankungen, die jedoch nie vollständig austrocknen. Sie sind am ehesten mit den permanenten Stillgewässern ohne Profundal vergleichbar, auch weil sie eine ähnliche Biozönose aufweisen.
- **Semipermanente Tümpel:** Flachgewässer, die nur kurzzeitig und in unregelmäßigen Abständen austrocknen. Vollständige Austrocknungsereignisse müssen nicht in jedem Jahr auftreten und sind daher für die dort angesiedelte Biozönose nicht prognostizierbar (Neugebauer, 1990).
- **Temporäre Tümpel:** Flachgewässer, die jedes Jahr für eine unterschiedliche Dauer vollständig austrocknen. Im Gegensatz zu den semipermanenten Tümpeln ist die wiederkehrende Trockenphase für die Lebensgemeinschaften der temporären Tümpel ein konstanter ökologischer Faktor, auf den die Biozönose der temporären Tümpel mit Anpassung reagiert.

Temporäre Tümpel lassen sich aufgrund ihrer Vorhersagbarkeit und der Dauer ihres Bestehens in drei Subtypen unterteilen:

- **Periodisch temporäre Tümpel:** Hier findet der Wechsel zwischen Austrocknungs- und Wasserphase mindestens einmal pro Jahr zu einem ähnlichen Zeitpunkt statt.
- **Aperiodisch temporäre Tümpel:** Hier findet der Wechsel zwischen Austrocknungs- und Wasserphase zwar mindestens einmal pro Jahr, aber sehr unregelmäßig und nicht vorhersehbar statt. Es kann zu langfristigen Trockenphasen mit nur kurzer Wasserführung kommen.
- **Ephemere Tümpel:** Ephemere Tümpel existieren zwar nur für mehrere Tage, werden aber ebenfalls von Spezialisten besiedelt, die die Trockenphasen überdauern.

Allen temporären Tümpeln ist gemein, dass sie stark astatische abiotische und biotische Faktoren aufweisen. Die größten Schwankungen innerhalb der Gewässer weisen der Wasserstand, die Sauerstoffkonzentration, die Leitfähigkeit und die Temperatur auf. Die Sedimente der Kleinstgewässer verändern sich in Abhängigkeit vom Trockenheitsgrad und können von stets wassergesättigt über schlammig, kontaktfeucht bis hin zu zeitweise terrestrisch reichen (Dettinger-Klemm, 2000).

2.4.2 Bekämpfungsstrategie der KABS

Die Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage e. V. (KABS) ist ein eingetragener, gemeinnütziger Verein, der sich die Bekämpfung der Stechmückenplagen im Oberheingebiet zur Aufgabe gemacht hat. Die Bekämpfung der Culiciden erfolgt seitens der KABS seit dem Gründungsjahr 1976. Das in den 1980er Jahren neu entwickelte Bti wird seitdem in wechselnder Formulierung für die Bekämpfung verwendet. Aktuell werden von der KABS die Formulierungen VectoBac WG und VectoBac G, beide basierend auf *Bacillus thuringiensis israelensis* (Serotyp H-14, Stamm AM65-52), zur Bekämpfung von Stechmückenpopulationen eingesetzt (Kapitel 2.2). Die Anwendung des Biozids unterliegt dabei naturschutzbehördlichen Auflagen.

2.4.2.1 Brutstätten

Die Biozidanwendung zur Reduktion der Auwald- und Sumpfwald-Stechmücken erfolgt seitens der KABS ausschließlich auf kartierten und behördlich genehmigten Flächen. Dazu wird eine Feinkartierung im Gelände auf der Basis digitaler Geodaten durchgeführt. In einem ersten Schritt werden die Brutstätten der Culiciden als Flächenpolygone kartiert und durch eine differenzierte Feinkartierung ergänzt. Die Feinkartierung enthält ökologisch relevante Informationen wie Vegetationstypen und Leitarten, die potenzielle Überschwemmungsflächen anzeigen, den Höhenbezug zu Mittelwasserlinie, Auwald-Zonierung, Produktivität der Eiablagehorizonte und Schutzstatus und vieles mehr. Zudem werden störungsempfindliche und seltene Arten erhoben.

Im ersten Schritt werden seitens der KABS die Eiablageplätze von Überschwemmungs-Stechmücken als Brutstätten bestimmt (Abbildung 6). Damit eine Fläche als Brutstätte eingestuft werden kann, müssen folgende Faktoren erfüllt sein:

- Auf der Fläche müssen Eiablageplätze vorhanden sein.
- Die Fläche muss sporadisch oder regelmäßig überflutet werden und bald wieder austrocknen.
- Während der Larvalentwicklung der Culiciden darf nur eine geringe Abundanz natürlicher Prädatoren vorhanden sein.

2.4.2.2 Überflutungsdauer

Im Zuge der Feinkartierung wird auch die Wasserführung anhand von hochauflösenden Geodaten und Geländedokumentationen erhoben. Dabei unterscheidet die KABS zwischen potenziellen Überschwemmungsflächen verschiedener Höhenzonen, Röhrichtflächen, Stillgewässern und temporären Gewässern. Dauergewässer, wie ständig Wasser führende Altrheinarme, Seen oder Weiher, werden von der KABS ebenfalls kartiert, sind jedoch von der Anwendung ausgeschlossen, da hier der durch Überflutung ausgelöste Schlupfreiz für die *Aedes* sp. fehlt. Auch semipermanente Gewässer, die zwar zu den temporären Gewässern zählen, aber meist Wasser führend sind und nur selten austrocknen, spielen als Brutstätten für plageerregende Culiciden meist nur eine untergeordnete Rolle und sollen daher von der Anwendung ausgeschlossen werden.

Neben der Gewässertypologie spielt auch die tatsächliche Überflutungsdauer der kartierten Flächen eine wichtige Rolle bei der Bekämpfung von *Aedes*-Larven. Diese hängt von der Hochwasserdynamik des Rheins ab und ist daher ständigen Veränderungen unterworfen (Abbildung 6).

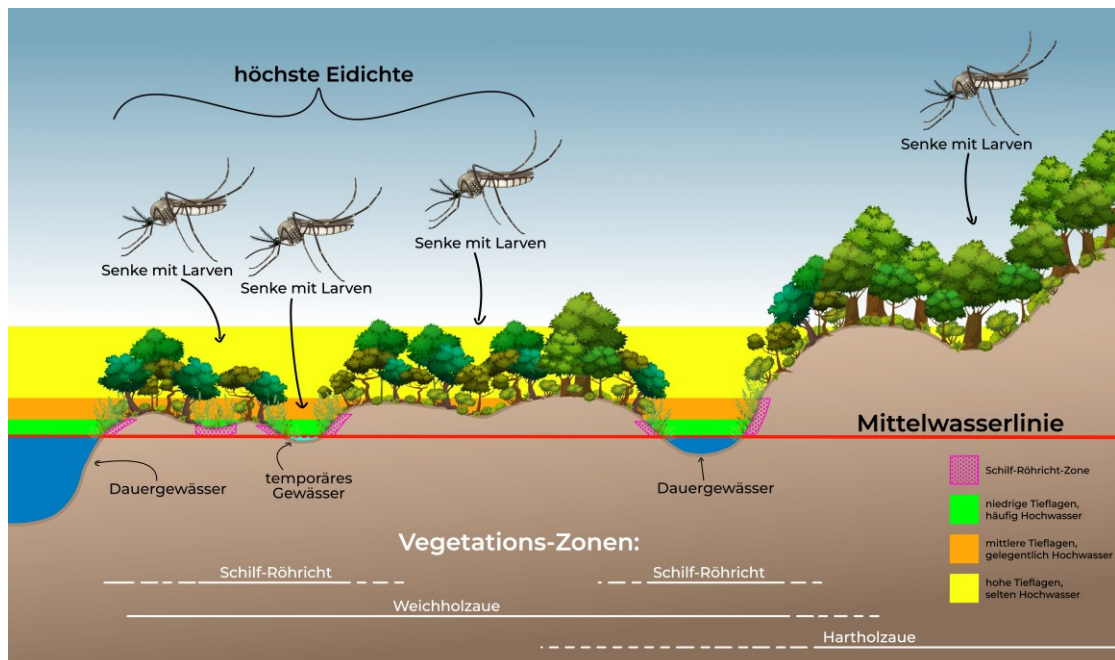


Abbildung 6: Darstellung der Stechmücken-Brutstätten im Höhenprofil einer Aue. Die höchsten Eidichten von *Aedes vexans* findet man in diversen Senken der niedrigen bis hohen Tieflagen oberhalb der Mittelwasserlinie (Bildquelle: Xenia Augsten, KABS, o. D.).

2.4.2.3 Besatzkontrollen der Culiciden

Um abschätzen zu können, ob eine Bekämpfung der Überschwemmungs-Stechmücken im KABS-Gebiet in absehbarer Zeit erforderlich sein wird, werden die Pegelstände des Rheins und seiner Nebenflüsse, Grundwasserstände sowie weitere relevante Umweltparameter wie Niederschlag und Temperatur regelmäßig überwacht. Kommt es durch Druckwasser oder kleinere Hochwasser zu Überflutungen von kartierten Flächen, wird dort eine Besatzkontrolle durchgeführt. Mit Schöpfproben wird die Abundanz der Culicidenlarven in den Überschwemmungsflächen erfasst. Dazu werden pro kartierte Brutstätte mindestens zehn Schöpfproben entnommen und nach Individuenzahl, Entwicklungsstadium und Gattung analysiert. Überschreitet die Abundanz der Culicidenlarven einen kritischen Schwellenwert wird die Fläche zur Anwendung freigegeben. Hierbei ist die Höhe des Schwellenwertes abhängig von der Gewässergröße, liegt meist jedoch bei einer Culicidendichte von fünf Larven pro Liter Wasser.

2.4.2.4 Bekämpfung der Culiciden mithilfe einer Bti-Applikation

Die Ausbringung des Biozids erfolgt entweder per Hubschrauber aus der Luft oder per Handapplikation am Boden. Die Wahl der Applikationsmethode richtet sich nach der Flächengröße in Abhängigkeit von der Larvendichte, der Zugänglichkeit der Flächen und den behördlichen Vorgaben hinsichtlich der Einschränkung der Applikationsflächen (Tabuzonen).

Applikation aus der Luft per Helikopter

Die Ausbringung aus der Luft erfolgt in der Regel bei großflächigen Brutstätten. Die genaue Ausbringungsfläche wird durch GPS-Messungen im Gelände auf Basis eines digitalen Höhenmodells ermittelt und bildet die Grundlage für die Flugroute des Hubschraubers. Bei diesem Verfahren wird Eisgranulat eingesetzt, das 4 % VectoBac WG (Valent BioSciences Corporation, Zulassungsnummer DE-0011520-18) enthält. Dieses Eisgranulat wird von der Firma IcyBac GmbH, Speyer, hergestellt, indem eine sterilisierte Bti-Wasser-Suspension (4 %) in 3 bis 5 mm große Kugeln mithilfe von flüssigem Stickstoff schockgefroren wird. Dieses Material wird mit kalibrierten, wärmeisolierten Kreiselstreuern in Streubreiten von 30 m ausgebracht. Durch eine festgelegte und konstante Fluggeschwindigkeit wird eine Ausbringmenge von 15 kg/ha Bti-Eisgranulat auf der Fläche erreicht. Gemäß EU-Zulassungsbescheid können je nach Larvendichte im Gewässer 5 bis 30 kg/ha Bti-Eisgranulat bei der Ausbringung aus der Luft ausgebracht werden (ECHA, 2014; EU Kommission, 2015; KEMI, 2015; BAuA 2018). Das ausgebrachte Bti-Eisgranulat kann auch die Auenvegetation durchdringen und erreicht dann, vergleichbar mit einem Graupelschauer, die Wasseroberfläche. Nach kurzem Absinken steigt es aufgrund seiner spezifischen Dichte wieder an die Wasseroberfläche, wo das Eisgranulat innerhalb von 30 bis 90 Sekunden schmilzt und dabei das eigentliche Biozid in Form seiner Proteinkristalle freisetzt. Das verwendete Biozid hat ursprünglich eine toxische Potenz von 3000 ITU pro mg. Bei der Sterilisation durch Gammabestrahlung bei 25 kGy verliert das Bti allerdings 20 bis 30 % an Effektivität (Becker, 2002), sodass die Feld-Potenz bei 2400 ITU/mg bzw. 1440 ITU/L liegt (die entsprechende Berechnung kann dem Kapitel 6.4.4 entnommen werden). Nach aktuellen Berechnungen beträgt die durchschnittliche Freilandkonzentration 1225 ITU/L (persönliche Kommunikation). Dieser Wert entspricht im Rahmen der vorliegenden Studie der *Predicted Environmental Concentration* 1. Grades (PEC 1. Grades) (Kapitel 6.4.4).

Applikation per Handausbringung

Die Handapplikation erfolgt immer dann, wenn die zu behandelnde Fläche für eine Ausbringung aus der Luft zu klein oder eine Luftapplikation unzulässig ist. Bei der Handapplikation wird ebenfalls die Formulierung VectoBac WG (Hersteller: Valent BioSciences Corporation, Zulassungsnummer DE0011418-18) eingesetzt, jedoch als wässrige Suspension ($c \leq 500$ g/ha). Hierbei werden unter Standardbedingungen 250 g VectoBac WG in 5 l Wasser suspendiert und in dieser Konzentration mit dem Rückenspritzgerät auf die Wasseroberfläche ausgebracht. Diese Produktmenge ist für eine Fläche von 0,5 ha vorgesehen, sodass eine Wirkkonzentration von 500 g/ha erreicht wird. Das Fertiggranulat VectoBac G (Hersteller: Valent BioSciences Corporation, Zulassungsnummer DE0011418-18) wird dann eingesetzt, wenn die räumlichen Gegebenheiten eine Rückenspritzapplikation nicht zulassen. Dies kann der Fall sein, wenn beispielsweise die Auenvegetation zu dicht ist. In diesen Fällen wird VectoBac G (meist 10 kg/ha) per Handwurf ausgebracht.

3. Literaturauswertung zur Bti-Sensitivität von Chironomiden

Zusammenfassung: Literaturauswertung zur Bti Sensitivität von Chironomiden

Zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeit einer möglichen Bti-induzierten Beeinträchtigung der Chironomidenpopulation wurden 59 publizierte Studien ausgewertet und die gewonnenen Erkenntnisse graphisch dargestellt. Trotz der zum Teil sehr unterschiedlichen Versuchsdesigns der zahlreichen einbezogenen Studien und der Verwendung verschiedener technischer Formulierungen von Bti lässt sich ein gemeinsamer Trend erkennen: Denn die **meisten der untersuchten Taxa und insbesondere die Vertreter der Unterfamilie *Chironominae*** wurden im erwarteten Konzentrationsbereich bei einer **Routineapplikation im Freiland** mit einer **Bti-Konzentration von 90 bis 1225 ITU/L negativ beeinflusst**.

Der Effekt fällt unter kontrollierten Labor- bzw. Mesokosmosbedingungen stärker als im Freiland aus. Dies kann zum einen an einem multifaktoriellen Einfluss und dem Verhalten von Bti im Freiland liegen (Kapitel 2.3) könnte aber auch auf die sehr unterschiedliche Untersuchungsmethodik im Freiland zurückzuführen sein. In diesem Zusammenhang muss auch berücksichtigt werden, dass die Verwendung unterschiedlicher technischer Formulierungen mit einer unterschiedlichen Kombination nicht definierter inerter Begleitstoffe einhergehen und somit die jeweilige Wirkung auf Nicht-Zielorganismen unterschiedlich ausfallen kann (Kapitel 2.2.2).

3.1 Angewandte Methodik

Insgesamt habe ich im Rahmen dieser Literaturstudie 59 Publikationen nach den Effekten auf die Chironomidenpopulation durchsucht (eine genaue Darstellung der Studien ist in Anhang 1, Anhang 2 und Anhang 3 einsehbar). Da die verschiedenen Autoren in den jeweiligen Studien sowohl unterschiedliche Versuchsdesigns als auch unterschiedliche technische Formulierungen von Bti verwendeten, habe ich die publizierten Daten zur besseren Vergleichbarkeit normiert, das heißt, ich habe die jeweils verwendeten Bti-Konzentrationen in ITU/L umgerechnet. Die Ergebnisse habe ich anschließend in gemeinsamen Überblicksgrafiken dargestellt. Hierzu wurden die Daten in drei Gruppen eingeteilt:

- Freilandstudien (in lotischen oder lenitischen Habitaten)
- Mesokosmos- und Laborstudien, in denen die Veränderung der Abundanz von Chironomiden beschrieben wurden
- Bioassays, in denen exakte Mortalitätsraten (LC_{50}) bestimmt wurden

Da noch nicht abschließend geklärt ist, wie sich Bti im Freiland nach der Ausbringung verhält (vgl. Kapitel 2.3), habe ich die beiden ermittelten Extremwerte von 1920 ITU/L (entspricht der maximal zulässigen Ausbringungskonzentration der KABS, PEC 1. Grades) und der auf Basis der mittleren Ausbringungskonzentration der KABS von 1225 ITU/L berechnete PEC-Wert 2. Grades von 90 ITU/L als Rahmenwerte der Biozidkonzentration gewählt (die entsprechende Berechnung kann dem Kapitel 6.4.4 entnommen werden). Diese Werte wurden deshalb als Rahmenwerte bestimmt, weil davon auszugehen ist, dass die tatsächliche Effektkonzentration des Bti im Freiland in diesem Wertebereich liegt. Bei den Freiland- und Mesokosmos-/Laborstudien ist jedoch zu beachten, dass hier jeweils die in den Publikationen genannten

Ausbringungskonzentrationen dargestellt wurden, da für eine PEC-Wert-Berechnung des 1. und 2. Grades zu wenig Informationen vorlagen. Das bedeutet, dass der gewählte Konzentrationsbereich nur einer ersten Orientierung dient, aber nicht als scharfe Grenze zu interpretieren ist. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass in den ausgewerteten Studien gemischte Entwicklungs- und Larvenstadien verwendet wurden. Das heißt, für die 4- bis 100-fach empfindlicheren Erstlarven muss eine Schädigung auch bei geringeren Bti-Applikationsmengen angenommen werden (Fillinger, 1999; Kästel et al., 2017; Morawcski, 1983).

3.2 Gemischte Freilandstudien

Die Daten der 39 ausgewerteten Freilandstudien (Abbildung 7) umfassen Analysen sowohl der Larven als auch der Imagines der Chironomiden. Die jeweiligen Publikationen, aus denen die Daten entnommen wurden, sind in tabellarischer Form im Anhang 1 aufgeführt. Hierbei weisen sie insgesamt deutlich mehr Datenpunkte für Chironomiden der Unterfamilie *Chironominae* als für *Tanypodinae* oder *Orthoclaadiinae* auf. Darüber hinaus wird deutlich, dass die Untersuchungen in lotischen Habitaten, also Gewässern mit einer starken lokalen Wasserströmung, eine deutlich geringere Bti-Empfindlichkeit der Chironomiden aufzeigen als in lenitischen Gebieten, die sich durch schwache bis fehlende Wasserströmung auszeichnen. Hier mussten meist deutlich höhere Bti-Konzentrationen eingesetzt werden, um eine Reduktion der Chironomiden-Abundanz zu erreichen. Dies liegt daran, dass in lotischen Habitaten aufgrund der vorliegenden Strömung eine Verdriftung des Bti erfolgt und daher erst deutlich höhere Applikationskonzentrationen zu einer Reduktion der Chironomiden führen. Für die Risikoabschätzung der routinemäßigen Bti-Applikation in den Oberrheinauen spielen die Ergebnisse aus lotischen Habitaten allerdings nur eine untergeordnete Rolle, da das Bti bei der Culicidenbekämpfung nur in lenitische Bereiche appliziert wird.

Die ausgewertete Literatur zeigt, dass für alle Unterfamilien Daten vorliegen, die eine Reduktion der Chironomiden durch eine bekämpfungsübliche Bti-Konzentration belegen (Abbildung 7). Insbesondere Gattungen und Arten der Unterfamilie *Chironominae* zeigten eine Schädigung im Konzentrationsbereich bis 1920 ITU/L. Als sensitive Vertreter des Tribus *Chironomini* sind die Arten *Chironomus stigmaterus*, *Chironomus tepperi*, *Cryptochironomus holoprasinus* und *Microchironomus deribae* zu nennen. Bei den *Tanytarsini* wurde die Abundanz der Arten *Tanytarsus fimbriatus* und *Tanytarsus horni* aufgrund einer Bti-Applikation reduziert. Allerdings reagierten auch weitere, nicht näher definierte Vertreter der *Tanytarsini* empfindlich auf Bti. Sie wiesen bei einem Konzentrationsbereich bis zu 1920 ITU/L eine Reduktion von bis zu 75 % auf. Für die *Tanypodinae* wurde im lotischen Bereich eine Schädigung von 100 % an der oberen Grenze des gewählten Konzentrationsbereiches beschrieben (De Moor und Car, 1986). Die Datenbasis für die *Orthoclaadiinae* ist relativ dünn. Die Reduktionsquote durch Bti fiel hier im Vergleich zu den anderen Unterfamilien am geringsten aus.

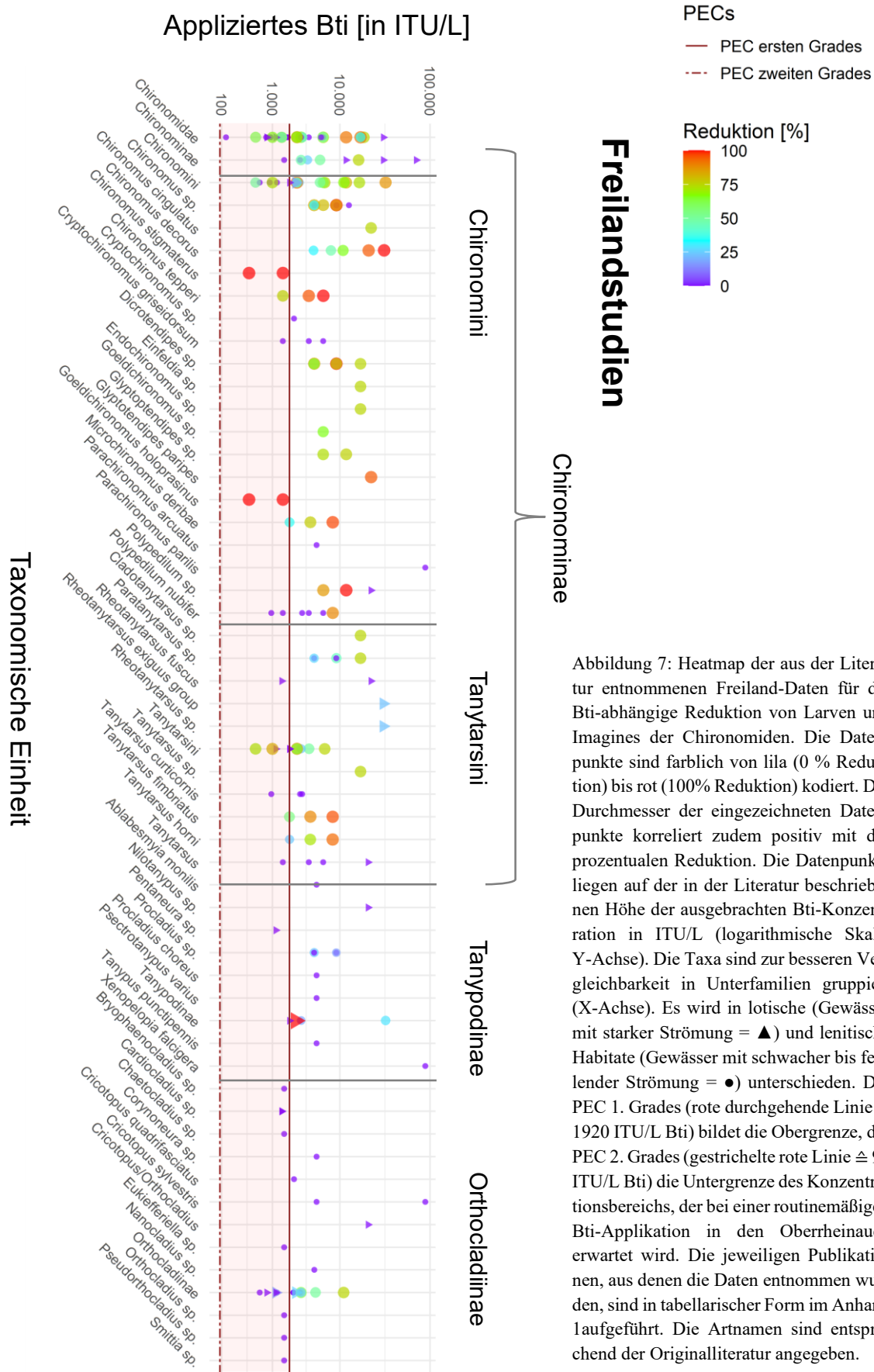


Abbildung 7: Heatmap der aus der Literatur entnommenen Freiland-Daten für die Bti-abhängige Reduktion von Larven und Imagines der Chironomiden. Die Datenpunkte sind farblich von lila (0 % Reduktion) bis rot (100% Reduktion) kodiert. Der Durchmesser der eingezeichneten Datenpunkte korreliert zudem positiv mit der prozentualen Reduktion. Die Datenpunkte liegen auf der in der Literatur beschriebenen Höhe der ausgebrachten Bti-Konzentration in ITU/L (logarithmische Skala, Y-Achse). Die Taxa sind zur besseren Vergleichbarkeit in Unterfamilien gruppiert (X-Achse). Es wird in lotische (Gewässer mit starker Strömung = ▲) und lenitische Habitate (Gewässer mit schwacher bis fehlender Strömung = ●) unterschieden. Der PEC 1. Grades (rote durchgehende Linie $\hat{=}$ 1920 ITU/L Bti) bildet die Obergrenze, der PEC 2. Grades (gestrichelte rote Linie $\hat{=}$ 90 ITU/L Bti) die Untergrenze des Konzentrationsbereichs, der bei einer routinemäßigen Bti-Applikation in den Oberrheinauen erwartet wird. Die jeweiligen Publikationen, aus denen die Daten entnommen wurden, sind in tabellarischer Form im Anhang aufgeführt. Die Artnamen sind entsprechend der Originalliteratur angegeben.

3.3 Labor- und Mesokosmos-Studien

In allen der 24 Mesokosmos- und Laborstudien wurde die Wirkung von Bti ausschließlich auf die Chironomidenlarven untersucht. Die jeweiligen Publikationen, aus denen die Daten entnommen wurden, sind in tabellarischer Form im Anhang 2 aufgeführt. Sie geben die prozentuale Reduktion der Larvendichten an (Abbildung 8). Die Ergebnisse werden stark von den Datenpunkten der Vertreter der *Chironominae* dominiert. Die *Orthocladinae* sind nur durch die beiden Arten *Cricotopus sylvestris* und *Psectrocladius psilopterus* vertreten. Die Zusammenstellung der Daten zeigt, dass unter kontrollierten Bedingungen fast alle untersuchten Taxa bei Stechmücken-Bekämpfungskonzentrationen im Bereich von 90 bis 1920 ITU/L von einer Schädigung durch Bti in Form einer Abundanzreduktion betroffen sind.

Generell ist im erwarteten Konzentrationsbereich jedoch eine mittlere bis hohe Reduktion der Individuenstärke zu beobachten (wobei die Reduktion zwischen 50 und 75 % lag). Bei einigen Taxa, wie *Chironomus plumosus*, der *Chironomus-thummi*-Gruppe oder den *Tanypodinae*, konnte sogar eine Mortalität von 100 % festgestellt werden (Morawcski, 1983).

3.4 Bioassay-Studien

Eine gezielte Abschätzung, inwieweit Chironomiden durch die applizierten Bti-Konzentrationen geschädigt werden können, ist durch die Auswertung verschiedener Bioassay-Studien möglich, da hier die exakten Werte der mittlere Letalkonzentration (LC₅₀-Werte) beziffert sind (Anhang 3). Zudem lassen sich in Bioassay-Studien, im Vergleich zu der oben genannten Freiland- und Labor/Mesokosmenstudien, nicht nur die exakte Wirkkonzentration, sondern auch die exponierten Larvenstadien in die Bewertung einbeziehen.

Auch in dieser Zusammenstellung der Daten (Abbildung 9) setzt sich der bisherige Trend fort, dass deutlich mehr Studien mit den gewählten Testorganismen der *Chironominae* vorliegen als mit anderen Unterfamilien. Es wird deutlich, dass die meisten getesteten Chironomiden schädigende Effekte im Bereich zwischen 90 und 1920 ITU/L erfahren.

Auffällig ist die teilweise hohe intraspezifische Streuung der Ergebnisse. So wurden für *Glyptotendipes paripes* aus drei verschiedenen Studien LC_{50, 48h}-Werte zwischen 150 und 15.330 ITU/L beschrieben (Fillinger, 1999; Ali, 1981; Ali et al., 1981). Auch bei *Chironomus riparius* schwanken die beobachteten LC_{50,48h}-Werte für das dritte bis vierte Larvenstadium zwischen 0,4 und 485 ITU/L (Charbonneau et al., 1994; Kästel et al., 2017). Diese Werte sollten zukünftig durch weitere Bioassay-Studien verifiziert werden.

Die LC₅₀-Werte von *Chironomus annularius* und *Endochironomus tendens* (gemischte Larvenstadien) liegen knapp oberhalb des erwarteten Konzentrationsbereiches bis 1920 ITU/L Bti, wobei *Chironomus annularius* schon nach 24 Stunden ausgewertet wurde. Daher muss nach 48 Stunden mit einer höheren Mortalität gerechnet werden. Die LC_{50, 24h}-Werte von *Chironomus thummi thummi* (viertes Larvenstadium) liegen auch knapp außerhalb des Risikobereiches, weswegen auch hier bei jüngeren Larvenstadien von einer Schädigung durch Bti ausgegangen werden kann (Yiallourous et al., 1999). Die LC₅₀-Werte der Dritt- und Viertlarven der Arten *Chironomus crassicaudatus* (Ali 1981; Ali et al., 1981), *Chironomus salinarius* (Ali et al., 1985), *Tanytarsus sp.* (Ali 1981; Ali et al., 1981) und *Xenelopoia nigricans* (Yiallourous et al., 1999) liegen dagegen schon deutlicher außerhalb des erwarteten Konzentrationsbereiches (>1920 ITU/L Bti).

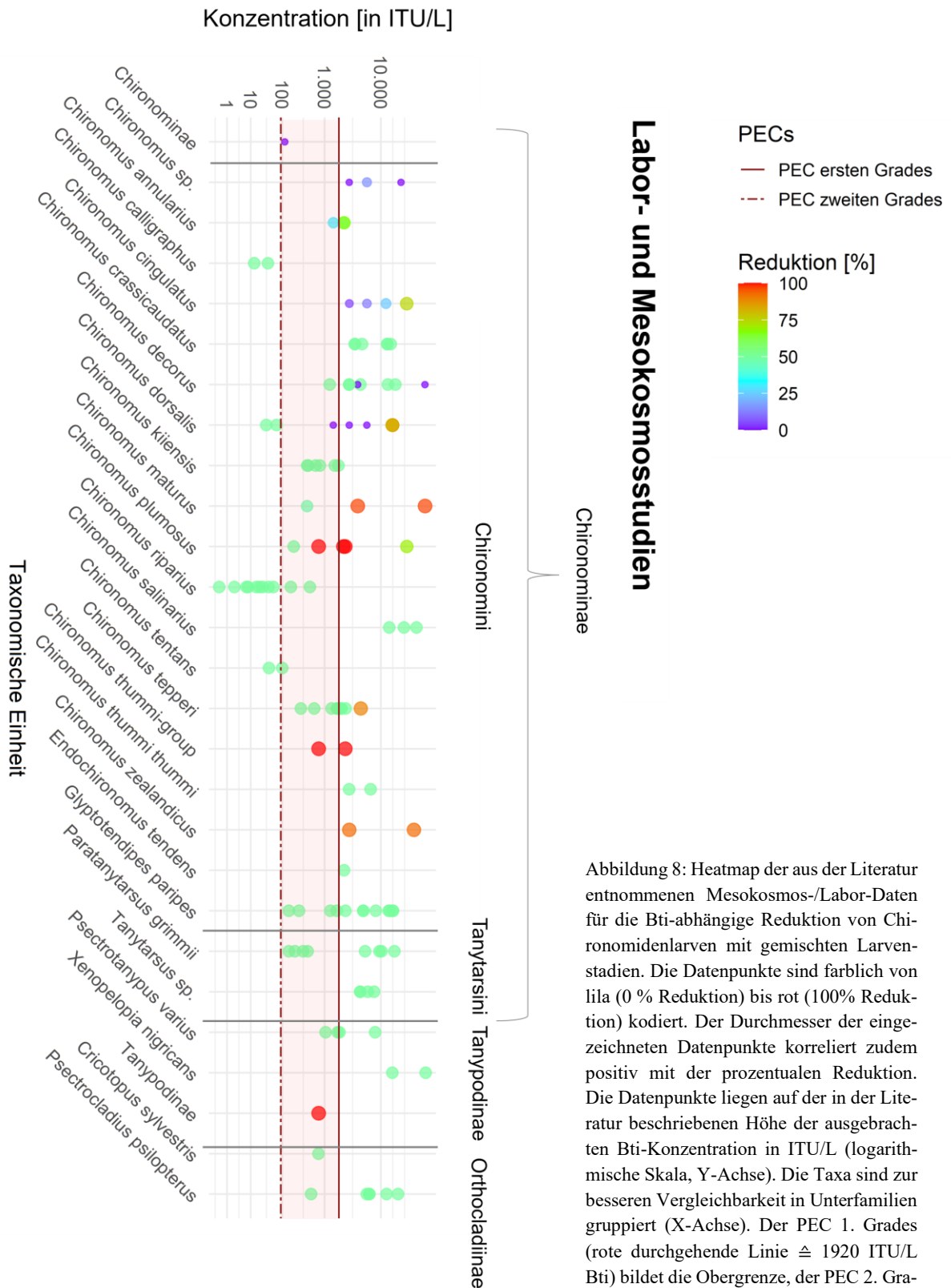


Abbildung 8: Heatmap der aus der Literatur entnommenen Mesokosmos-/Labor-Daten für die Bti-abhängige Reduktion von Chironomidenlarven mit gemischten Larvenstadien. Die Datenpunkte sind farblich von lila (0 % Reduktion) bis rot (100% Reduktion) kodiert. Der Durchmesser der eingezeichneten Datenpunkte korreliert zudem positiv mit der prozentualen Reduktion. Die Datenpunkte liegen auf der in der Literatur beschriebenen Höhe der ausgebrachten Bti-Konzentration in ITU/L (logarithmische Skala, Y-Achse). Die Taxa sind zur besseren Vergleichbarkeit in Unterfamilien gruppiert (X-Achse). Der PEC 1. Grades (rote durchgehende Linie $\hat{=}$ 1920 ITU/L Bti) bildet die Obergrenze, der PEC 2. Grades (gestrichelte rote Linie $\hat{=}$ 90 ITU/L Bti) die Untergrenze des Konzentrationsbereichs, der bei einer routinemäßigen Bti-Applikation in den Oberrheinauen erwartet wird. Die jeweiligen Publikationen, aus denen die Daten entnommen wurden, sind in tabellarischer Form im Anhang 2 aufgeführt. Die Artnamen sind entsprechend der Originalliteratur angegeben.

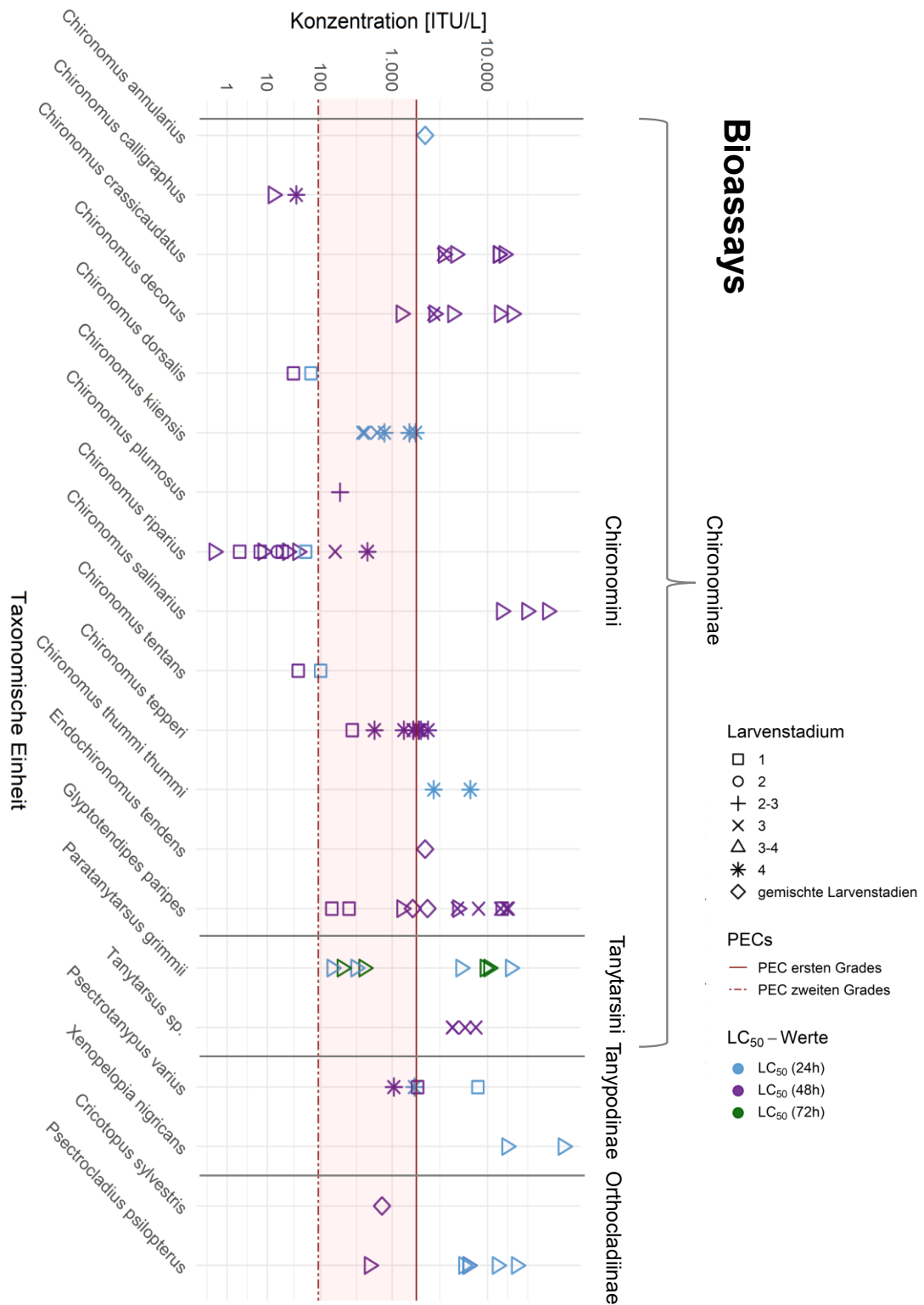


Abbildung 9: Übersicht der LC₅₀-Werte der Chironomidenlarven aus diversen Bioassay-Studien. Die verwendeten Larvenstadien sind über die unterschiedlichen geometrischen Formen, und der Zeitpunkt der Mortalitätsbestimmung über die Farbe (blau = 24 h, lila = 48 h, grün = 72 h), kodiert. Die LC₅₀-Werte der Chironomidenlarven sind als ITU/L Bti angegeben (logarithmische Skala, Y-Achse). Die Taxa sind zur besseren Vergleichbarkeit in Unterfamilien gruppiert (X-Achse). Der PEC 1. Grades (rote durchgehende Linie $\hat{=}$ 1920 ITU/L Bti) bildet die Obergrenze, der PEC 2. Grades (gestrichelte rote Linie $\hat{=}$ 90 ITU/L Bti) die Untergrenze des Konzentrationsbereichs, der bei einer routinemäßigen Bti-Applikation in den Oberrheinauen erwartet wird. Die jeweiligen Publikationen, aus denen die Daten entnommen wurden, sind in tabellarischer Form im Anhang 3 aufgeführt. Die Artnamen sind entsprechend der Originalliteratur angegeben.

4. Die Dipterenzönose (temporärer) Auentümpel im Oberrheingebiet

Zusammenfassung:

In der Freilandstudie wurde sowohl die allgemeine Dipterenzönose als auch speziell die Chironomidenzönose in zwei Naturschutzgebieten der Oberrheinauen hinsichtlich **ihrer natürlichen Einflussfaktoren** untersucht. Ziel war es zu prüfen, ob es in den letzten 20 Jahren zu einer Veränderung der Artenzusammensetzung und Abundanz der Dipteren gekommen ist. Als Referenz wurden Daten von Fillinger (1999) verwendet. Es konnte gezeigt werden, dass in den **letzten 20 Jahren keine wesentlichen Verschiebungen innerhalb der Dipteren- und Chironomidenzönose** stattgefunden haben. Dies gilt insbesondere bei großräumiger Betrachtung der gesamten Untersuchungsgebiete (Makrohabitate). Je kleiner der Bezugsrahmen gewählt wird (Mikrohabitate, Gewässertypen), desto größer werden die Unterschiede. Diese Varianz kann jedoch auf natürliche Gegebenheiten, wie beispielsweise veränderte klimatische und hygrische Bedingungen, zurückgeführt werden. Generell konnte festgestellt werden, dass die **Abundanz der Chironomiden zwar positiv mit der längerfristigen Wasserführung korreliert**, die Diversität der Chironomiden in den temporären Auenhabitaten aber nicht unterschätzt werden sollte. Denn insbesondere in den **temporären bis semipermanenten Auenhabitaten bildet sich bei länger andauernder Überflutung eine hohe Diversität an Chironomiden** aus, weshalb diese Habitate als besonders schützenswert für die Chironomiden gelten.

4.1 Einführung

Die Auengebiete des Oberrheingebiets werden durch eine Vielzahl mosaikartig vernetzter Mikrohabitate geprägt. Die hier lebenden Organismen müssen an ständig wechselnde hydrologische, abiotische und biotische Umweltfaktoren angepasst sein (Abbildung 10). Zwar bedeutet dieser fluktuierende Lebensraum für die einzelnen Individuen adaptiven Stress, jedoch ermöglicht er die Ausbildung einer hohen Diversität und eine artenreiche Biozönose (Thienemann, 1950).

Einen großen Anteil an dieser Diversität hat die Ordnung der Diptera. Mit weltweit etwa 149 Familien und über 150.000 Arten sind sie global betrachtet die drittartenreichste Insektenordnung (Mauch et al., 2017; Yeates und Wiegmann, 2005, 2017). In Deutschland stellen sie mit 9200 Arten etwa 19 % aller bestimmten Tierarten (Mauch et al., 2017). Insbesondere in den semiaquatischen und aquatischen Gewässern dominieren sie sowohl die Makrozoobenthos- als auch die Insektenzönose. Hierbei werden die Diptera in zwei Unterordnungen geteilt: Die Brachycera (Fliegen) und die Nematocera (Mücken). Zu Letzteren zählen auch die *Chironomidae* (Zuckmücken), *Ceratopognidae* (Gnizen) und *Limoniidae* (Stelzmücken). Diese drei Familien stellen die individuenreichsten aquatischen Dipterenarten (Yeates und Wiegmann, 2017). Als ökologische Begleituntersuchung der Stechmückenbehandlung im Oberrheingebiet nahm Fillinger (1999) eine dreijährige Emergenzanalyse der Dipteren in verschiedenen Makro- und Mikrohabitaten des Oberrheingebietes vor. Zwanzig Jahre später habe ich im Rahmen der vorliegenden Studie ein Auszug derselben Probestandorte untersucht, um eine mögliche Veränderung in Abundanz und Biodiversität der Dipterenfamilien zu ermitteln.

4.2 Dipteren der (temporären) Auentümpel

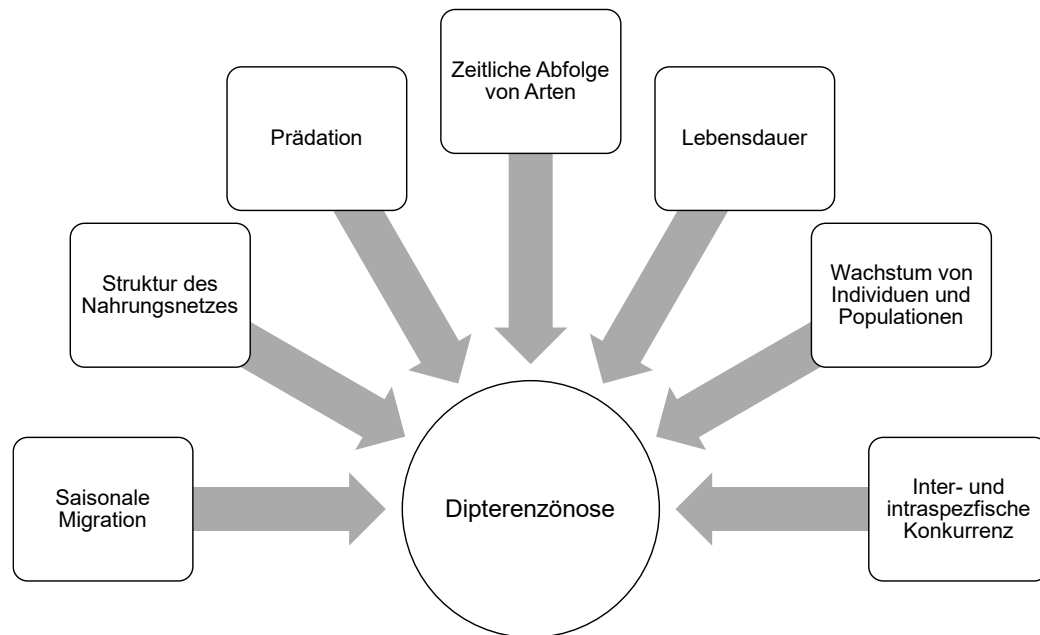


Abbildung 10: Biologische Einflussfaktoren, die auf die Zusammensetzung und Abundanz von Dipteren in temporären Tümpeln wirken können, verändert nach Williams (1996)

Obgleich der extreme Wechsel zwischen Trockenheits- und Überschwemmungsphasen prägend für die Dipterenzönose in temporären Gewässern ist, gehen die Meinungen der Autoren auseinander, welches der beiden Extreme nun das einflussreichere ist. So stellten Boulton und Lake (1992) nach einer Makrozoobenthoserhebung eines temporären Baches in der Sorona-Wüste fest, dass dort die Trockenphasen einen gravierenderen Einfluss ausüben würden als die darauf folgenden Überschwemmungsphasen. Dem anschließend definiert Dettinger-Klemm (2003) die Anpassung an Trockenheitsereignisse als die wichtigste Errungenschaft der Chironomiden in temporären Habitaten. Anders sehen das Poff und Ward (1989), die argumentieren, dass der Einfluss von Überschwemmungen zunehme, wenn die Trockenheitsphasen zwischen den Flutungsereignissen kürzer würden. Daraus ist abzuleiten, dass für die Entwicklung der Dipteren der temporären Auwaldtümpel der hochdynamische Wechsel zwischen Trocken- und Überflutungsphasen entscheidend ist (Dettinger-Klemm, 2000, 2003; Dettinger-Klemm und Bohle, 1996; Fillinger, 1999; Fritz, 1982; Steinhart, 1999, 2000).

Da der Phasenwechsel zwischen den aquatischen und terrestrischen Bedingungen und die Dauer der beiden Extremhabitats kaum vorhersehbar sind, bedürfen die dort angesiedelten Arten hochspezialisierter Adaptionen. Auffällig ist dabei, dass sich, obgleich die Dipteren auf eine der größten adaptiven Radiationen der Eukaryoten zurückblicken, einige ihrer Merkmale sich gleichen (Yeates und Wiegmann, 2005, 2017). Eines dieser vereinenden Merkmale ist die r-Strategie. Sie weisen also alle eine hohe Ausbreitungskapazität, ein schnelles Wachstum, eine kurze Lebensspanne, eine geringe Körpergröße und eine generalistische Ernährungsform auf (Dettinger-Klemm, 2003; Dudley Williams, 2005). Die arttypische Adaption der Familie *Chironomidae*, als einer der dominierenden Dipterenfamilien der (temporären) Auentümpel findet sich ausführlich in Kapitel 2.1.2.

4.3 Material und Methoden

4.3.1 Photoelektoren



Abbildung 11: Eklektor für Emergenzfänge der phototaktischen Dipteren

Die Abundanz und Zusammensetzung der Dipterenfamilien wurde von mir mithilfe von Photoelektoren in zwei Naturschutzgebieten (Kapitel 4.4) untersucht. Dazu wurden Wasser-Photoelektoren der Firma ecoTech Umweltsysteme (Bonn), mit einer Grundfläche von 1 m² oder 0,5 m² verwendet. Diese bestehen aus einem 15 cm hohen Grundgestell aus Kunststoff. Darüber ist ein Zelt aus Gaze gespannt. Die Spannelemente bestehen aus Edelstahl und dienen gleichzeitig als Kopfdosenhalterung am oberen Ende des Zeltes. Die Kopfdose hat einen Durchmesser von 15 cm und eine Höhe von 11 cm. Sie besteht aus weißem, transluzentem Polystyrol und ist mit einem transparenten Deckel verschlossen. Um die Schwimmfähigkeit der Eklektoren zu gewährleisten, wurden Auftriebskörper am Boden der Eklektoren angebracht. Um ein Verdriften der Eklektoren zu verhindern, wurden diese mit Seilen an

nahen gelegenen Bäumen befestigt. Durch die lichtdurchlässige Kopfdose eignen sich die Eklektoren zur Erfassung von im Wasser oder am Boden schlüpfenden phototaktischen Insekten. Zur Konservierung der geschlüpften Insektenimagines wurde als Fangflüssigkeit Ethylenglykol (< 98 % Monoethylenglykol) verwendet. Dieses gilt als gutes Konservierungsmittel und hat zudem eine gewisse Lockwirkung auf einige Wirbellose (Schuch, 2020; Woodcock, 2005).

4.3.2 Umweltparameter

Zur Beurteilung der Wasserqualität habe ich alle vier Wochen an den Probestellen des Mikrohabitatstyps „Gewässer“ chemische Analysen durchgeführt. Hierfür wurden die Parameter Sauerstoffgehalt, pH-Wert, Leitfähigkeit und Wassertemperatur mit dem Messgerät PCE-PHD 1 (PCE Instruments, Meschede) erfasst. Um den Pegelstand an den Probestandorten zu bestimmen, wurde bei jeder Probenahme zudem der aktuelle Wasserstand mit einer Messlatte gemessen. Weitere Tests für PO₄, NH₄ und NO₃ wurden von mir im Labor durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden 500 ml Wasser von jedem Standort in Polyethylenflaschen (1 L) abgefüllt. Die Analysen wurden mit einem Kompaktphotometer PF-3 Fish (Machery-Nagel, Düren) etwa zwei Stunden nach der Probenahme durchgeführt (PO₄: vis-color ECO Phosphat, 660 nm; NH₄: viscolor ECO Ammonium 3, 660 nm; NO₃: viscolor ECO Nitrat, 450 nm).

4.3.3 Morphologische Taxonomie und Abundanz Erhebung

Für die morphologische Taxonomie habe ich von April bis Oktober 2019 an neun Untersuchungsstandorten (Tabelle 1) zwei Photoelektoren (jeweils mit 1 m² Grundfläche) ausgebracht und wöchentlich geleert. Dazu wurden die in den Photoelektoren konservierten Insekten in ein Polyethylenflaschen (1 L) überführt. Im Labor wurden die Proben mithilfe von Papierfiltern mit Nylongewebe (Maschenweite 125 µm) in 80 % Ethanol überführt, um eine Langzeitkonservierung zu gewährleisten.

Tabelle 1: Übersicht über die Probestellen für die Erhebung der Dipterenzönose. HR = Naturschutzgebiet Hockenheimer Rheinbogen, RA = Naturschutzgebiet Rußheimer Altrhein. Wenn Fillinger (1999) an denselben Stellen untersucht hat, dann „+“, sonst „-“.

Eklektor-Nummer	Gewässertyp	Mikrohabitat	Makrohabitat	Vergleichsdaten (Fillinger, 1999)
01 und 02	ephemerer, temporärer Tümpel	Schilf	HR	+
03 und 04	ephemerer, temporärer Tümpel	Schlute	HR	+
05 und 06	terrestrisch	Wald	HR	+
07 und 08	Aperiodisch, temporärer Tümpel	Gewässer	HR	-
09 und 10	semipermanenter Tümpel	Gewässer	RA	-
11 und 12	terrestrisch	Wald	RA	+
13 und 14	Aperiodisch, temporärer Tümpel	Schilf	RA	+
15 und 16	Dauergewässer	Gewässer	RA	+
17 und 18	Dauergewässer	Gewässer	RA	-

Aufgrund der großen Zahl der gesammelten Individuen erfolgte die Determination der Organismen nach folgendem Schema:

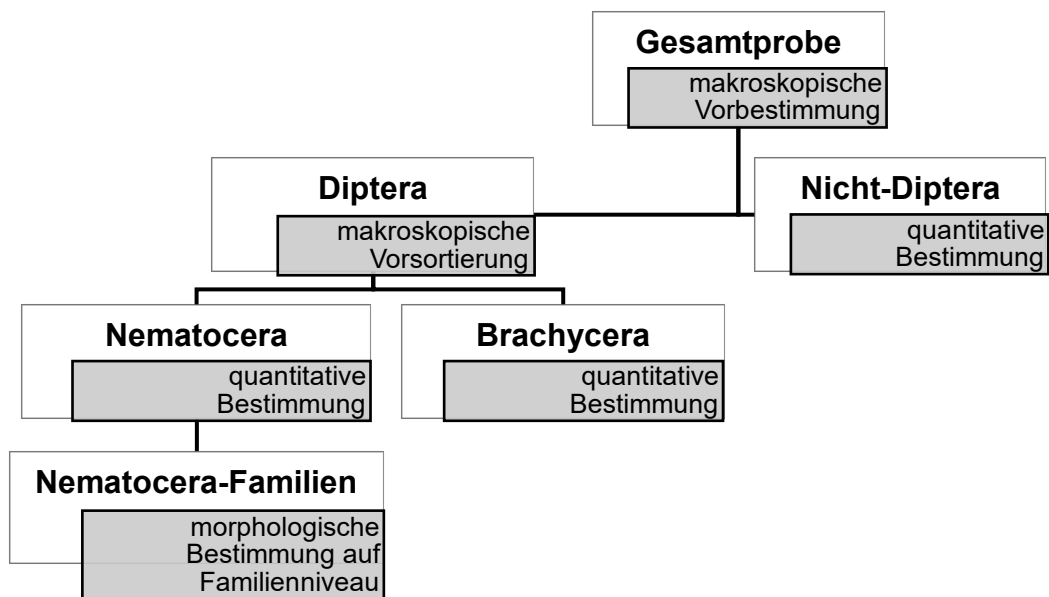


Abbildung 12: Ablaufschema der taxonomischen Bestimmung der in den Sammelproben enthaltenen Individuen

Zur Bestimmung habe ich eine makroskopische Vorsortierung in die Untergruppen Diptera versus Nicht-Diptera und Brachycera versus Nematocera vorgenommen (Abbildung 12). Dazu habe ich die Gesamtprobe in kleinere Teilproben unterteilt und diese mithilfe des Stereomikroskops (Stemi 508, Carl Zeiss, Oberkochen) nach morphologischen Merkmalen den verschiedenen taxonomischen Einheiten zugeordnet. Sowohl die Nicht-Diptera (Beifang) als auch die Brachycera wurden ausschließlich quantitativ bestimmt. Die Nematocera hingegen habe ich nach morphologischen Merkmalen auf Familienniveau bestimmt. Folgende Bestimmungsschlüssel wurden verwendet: Sauer (2001), Marshall (2012), Oosterbroek (2006). Nach der Auswertung wurden die einzelnen Untergruppen zur Archivierung getrennt in einzelnen Polyethylen-Röhrchen (20 ml) in Ethanol (80 %) verwahrt.

4.3.4 Molekulare Taxonomie und Abundanzenerhebung

Für die Taxonomie mit molekularen Methoden habe ich im Zeitraum von Juli bis November 2019 an insgesamt neun Probestellen Eklektoren von 0,5 m² Grundfläche, begleitend zu den morphologischen Emergenzanalysen (Tabelle 1), aufgestellt. Als Fangflüssigkeit und zur Konservierung der gesammelten Individuen habe ich die Kopfdosen mit Di-Ethylenglykol befüllt. Die gefangenen Individuen habe ich in DNA-freie Polyethylengefäße (1 l) überführt. Anschließend habe ich das Di-Ethylenglykol durch Papierfilter mit Nylongewebe (Maschenweite 190 µm) extrahiert. Die Individuen wurden bis zur weiteren Analyse in hoch konzentriertem Ethanol (98 %) konserviert. Die Bestimmung der Arten erfolgte mittels *Metabarcoding* durch Advanced Identification Methods GmbH, Leipzig (Morinière et al., 2016, 2019). Für weitere Details siehe Kapitel 5.1.7.3.

4.3.5 Datenaufbereitung

Um die Zusammensetzung der Chironomidenzönose im Jahr 2019 zu untersuchen, habe ich die Methode des *Metabarcoding* gewählt. Die Referenzdaten von Fillinger (1999) wurden dagegen morphologisch erhoben. Dementsprechend habe ich alle Daten zur Frage der Chironomidenzönose zur besseren Vergleichbarkeit mithilfe der *Absence-Presence*-Methode normiert. Zudem wurden sowohl alle wöchentlich erhobenen Daten aus dem Jahr 2019 als auch aus den Referenzdaten-Jahren 1995–1997 von mir zu Gesamt-Monatswerten zusammengefasst (Anhang 7).

Die Artenliste der taxonomischen *Metabarcoding*-Analyse wurde seitens der AIM-GmbH sowohl als *Fasta*-Sequenzen als auch bioinformatisch aufbereitet als *Excel*-Tabelle zur Verfügung gestellt.

4.3.6 Statistik

Als Datengrundlage für die statistische Analyse der Dipterenfamilien wurden die tatsächlich erhobenen Abundanzwerte verwendet. Für die Auswertung der Chironomidenarten wurde dagegen eine *Presence-Absence*-Transformation durchgeführt, bei der das Vorkommen einer Art in einer Probe mit dem Wert 1 und ihr Fehlen mit dem Wert 0 belegt wurde. Alle im Rahmen dieser Untersuchung eingesetzten statistischen Methoden wurden in Kooperation mit Dr. Richard Ottermanns (SCIDAC, Raeren, RWTH Aachen) durchgeführt, der mich bei der bioinformatischen Analyse meiner (selbst erhobenen und aufbereiteten) Daten unterstützte.

4.3.6.1 Multiple Response Permutation Procedure

Die statistischen Analysen der *Multiple response permutation procedure* (MRPP) wurden mit der Software PC-ORD 6 auf Basis des Jaccard-Koeffizienten durchgeführt.

Bei der MRPP handelt es sich um einen nichtparametrischen Test, mit dem die Übereinstimmung von Variablen innerhalb von Gruppen im Vergleich zu benachbarten Datengruppen ermittelt werden kann. Die MRPP prüft ob ein signifikanter Unterschied zwischen zwei oder mehr Gruppen von Stichprobeneinheiten besteht. Hierbei wird der Abstand zwischen den Stichprobeneinheiten jeder Gruppe erhoben. Gruppen unterscheiden sich, wenn die mittlere Distanz innerhalb der Gruppen kleiner ist als die mittlere Distanz zwischen zufällig ausgewählten Gruppen (Berry et al., 1983).

4.3.6.2 Indicator Species Analysis

Mithilfe der *Indicator Species Analysis* (ISA) konnte ich im Rahmen der vorliegenden Studie die Frage nach den Habitatpräferenzen einzelner Dipteren bzw. Chironomiden beantworten. Die Indikatorartenanalyse ist ein multivariater Ansatz, bei dem geprüft wird, ob es zwischen definierten Gruppen Unterschiede in der Affinität gibt, die auf dem Vorkommen und der relativen Abundanz von einem untersuchten Taxon innerhalb der Gruppen beruhen (Dufrene und Legendre, 1997). Die statistischen Analysen erfolgten mit der Software PC-ORD 6 auf Basis des Jaccard-Koeffizienten.

Die ISA ist eine Kombination der relativen Abundanz der Arten und der Häufigkeit ihres Vorkommens zur Bestimmung eines maximalen Indikatorwertes für jede Art. Die Indikatorwerte reichen von 0 bis 100, wobei ein Wert von 100 für eine perfekte Indikatorart steht, das heißt für eine Art, die ausschließlich in einer Gruppe vorkommt, die in allen Proben dieser Gruppe zu finden ist und die in dieser Gruppe eine hohe relative Häufigkeit aufweist. Der Wert Null entspricht einer Art, die für keine Gruppe Indikatorwert hat. Sie ist in der Regel entweder im Datensatz selten oder in allen oder den meisten Gruppen nahezu gleichmäßig verteilt. Der Indikatorwert wird wie folgt berechnet:

$$\text{Indikatorwert (IV)} = \text{Relative Abundanz} \times \text{Relative Häufigkeit} \times 100$$

Dabei können die relative Abundanz und die relative Häufigkeit jeweils Werte von 0 bis 1 annehmen (Dufrene und Legendre, 1997).

Zur Bestimmung der Wahrscheinlichkeit wird ein Randomisierungstest durchgeführt. Der sich daraus ergebende p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass der berechnete Indikatorwert für eine beliebige Art größer ist als ein zufälliger Indikatorwert (Dufrene und Legendre, 1997; Severns und Sykes, 2020).

Ein Taxon bzw. eine Art wurde immer dann als Indikator definiert, wenn der dazugehörige Indikatorwert mindestens dem Wert des folgenden Quotienten entspricht:

$$\text{Indikatorwert (IV)} = \frac{100}{\text{Anzahl aller definierten Gruppen}}$$

Zudem wurde die Indikatorart nur dann als signifikant eingestuft, wenn der p-Wert $\leq 0,05$ war.

4.3.6.3 Unimodale Ordinationsverfahren

Die Methode der Korrespondenzanalyse wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit eingesetzt um darzustellen, welche Umweltvariablen auf den gewählten Probeflächen einen Einfluss auf die Artzusammensetzung haben. Hierfür wurde für die Auswertung der Dipterenzönose das indirekte Verfahren der Korrespondenzanalyse (*Correspondence Analysis*, CA) eingesetzt. Die Wahl der Tests erfolgte, da sich eine große Zahl der Taxa unimodal entlang der zugrunde gelegten Umweltvariablen verhalten.

Die CA (indirekte Gradientenanalyse) erfolgte mittels einer Form der multiplen Regression nach dem Prinzip des gewichteten Mittels (*weighted average*) mithilfe der Software CANOCO 4.5. Als Distanzmaß wurden χ^2 -Distanzen benutzt (ter Braak und Beest, 2022). Als Voreinstellung wurde jeweils eine logarithmische Transformation der Taxa, das *Hill's-Scaling*, *Inter-Sample-Distance* und *down-weighting of rare species* verwendet. Die Vorabselektion der Umweltmerkmale erfolgte mit Monte-Carlo-Permutationstests (199 Permutationsdurchläufe). Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte über Ordinationsdiagramme. Zudem wurden für die kanonischen Modelle eine Schwelle von 5 Prozent ($p \leq 0,05$) als signifikant zugrunde gelegt.

Prinzip der Ordinationsdiagramme: Die Ergebnisse der CA (und auch der CCA, Kapitel 5.3.4) werden grafisch in einem Koordinatensystem in Form von Ordinationsdiagrammen dargestellt (Abbildung 13). Zwar gleichen sich die Diagramme der CA und CCA im grundsätzlichen Aufbau, allerdings werden ihre Achsen unterschiedlich interpretiert. Bei der CA sind diese eine Linearkombination der Abundanzwerte der erhobenen Taxa. Eine Koinzidenz zwischen den Abundanzwerten der erhobenen Taxa und der Umweltfaktoren wird angezeigt, indem die Umweltfaktoren graphisch über die Linearkombinationen gelegt werden. Bei der CCA dagegen ist die x-Achse nicht nur eine Linearkombination der Abundanzen der erhobenen Taxa, sondern beinhaltet bereits selbst den Umweltfaktor. Somit werden die Abundanzen der erhobenen Taxa mit Umweltfaktoren korreliert. Zur graphischen Darstellung einer CA und CCA werden die Daten durch Dimensionsreduktionen in einem zweidimensionalen Raum dargestellt (Ordinationsdiagramm). Hierfür werden Achsen extrahiert, die maximal mit den verwendeten Umweltfaktoren korrelieren. Hierfür werden die Umweltfaktoren in Form von Vektorpfeilen dargestellt. Diese gehen immer vom Zentrum des Koordinatensystems aus. Ihre Länge entspricht nur bei CCA (jedoch nicht bei der CA) der relativen Bedeutung der Umweltvariablen für die Verteilung der jeweils untersuchten Gruppen (Gück, 2003; Leyer und Welsche, 2007; Pantel, 2003).

Die Darstellung der Ordinationsdiagramme ermöglicht es, verschiedene Arten (im vorliegenden Fall sind es die Dipterenfamilien und die Chironomidenarten) miteinander zu vergleichen und ihre unterschiedliche Korrelation mit den Umweltfaktoren in Form von Gradienten darzustellen. Durch die Dimensionsreduktion kann zusätzlich die Lage der Artaufnahmen (also die Artzusammensetzung eines einzelnen Replikats) in diesem zweidimensionalen Raum dargestellt werden. Die Achsen des Koordinatensystems werden dann über eine multiple Regression mit den erhobenen Umweltdaten in Beziehung gesetzt. Anhand der Ordination kann abgelesen werden, inwieweit die ausgewählten Gruppen (Taxa, Artaufnahmen der Probestelle) mit den Umweltgradienten auf den Ordinationsachsen korrelieren. Je weiter zwei Gruppensymbole auseinander liegen, desto weniger ähnlicher sind sie, bezogen auf dem graphisch dargestellten Varianzanteil, zueinander. Dies bedeutet wiederum, dass Arten oder Artnachweise der Probenahmestelle, die einander ähnlich sind, auch eine ähnliche Anordnung im Ordinationsdiagramm erhalten

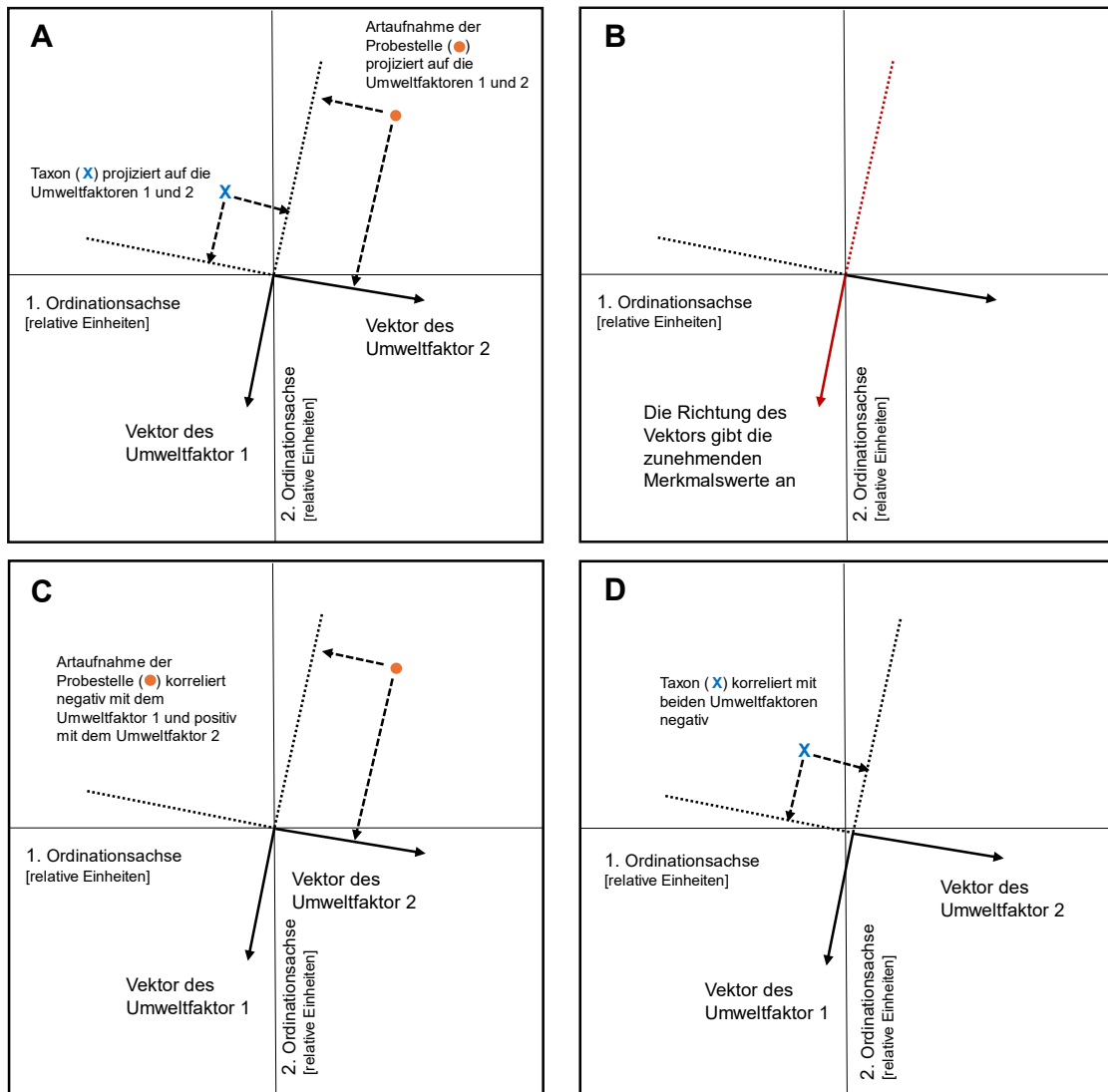


Abbildung 13: Exemplarischer Biplot einer CCA. A) zeigt sowohl die Datenpunkte (Artaufnahmen) der Probestellen (●), die eingezeichneten Taxa (x) als auch die Vektoren der Umweltfaktoren. Diese sind entlang der beiden Ordinationsachsen angeordnet. Die Ordinationsachsen enthalten relative Einheiten. B) Die Länge und die Richtung des Umweltfaktorvektors sind immer in Richtung der zunehmenden Merkmalswerte ausgerichtet. C) und D) zeigen die Anordnung der jeweiligen Gruppen (hier Art und Taxon) innerhalb der Ordination. Das jeweilige Gruppensymbol wird senkrecht auf die anderen Elemente, wie zum Beispiel die Umweltfaktorvektoren, projiziert. Liegt das Gruppensymbol zwischen der Pfeilspitze des Vektors und dem Mittelpunkt des Koordinatensystems (hier dargestellt durch eine durchgezogene Linie des Vektors), so ist der gewichtete Mittelwert dieses Datenpunktes größer als der Gesamtmittelwert aller erhobenen Datenpunkte. Der Datenpunkt dieses Gruppensymbols korreliert also positiv mit dem Umweltfaktor. Befindet sich das Gruppensymbol jedoch auf der gegenüberliegenden Seite (hier durch eine gestrichelte Linie des Vektors dargestellt), dann ist der gewichtete Mittelwert dieses Zentrums kleiner als der Gesamtmittelwert aller erhobenen Datenpunkte. Es liegt eine negative Korrelation vor. Je näher die Datenpunkte beieinander liegen, desto ähnlicher sind sie in Bezug auf den dargestellten Varianzanteil.

4.3.6.4 Kovarianzanalyse

Neben der multivariaten Statistik wurde der Zusammenhang zwischen Chironomidenentwicklung und Wasserstand mithilfe einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) in R berechnet (R Core Team, 2023). Hierfür wurde neben der unabhängigen Variablen Habitat der Pegel als zusätzliche Kovariante einbezogen.

4.4 Standortbeschreibung

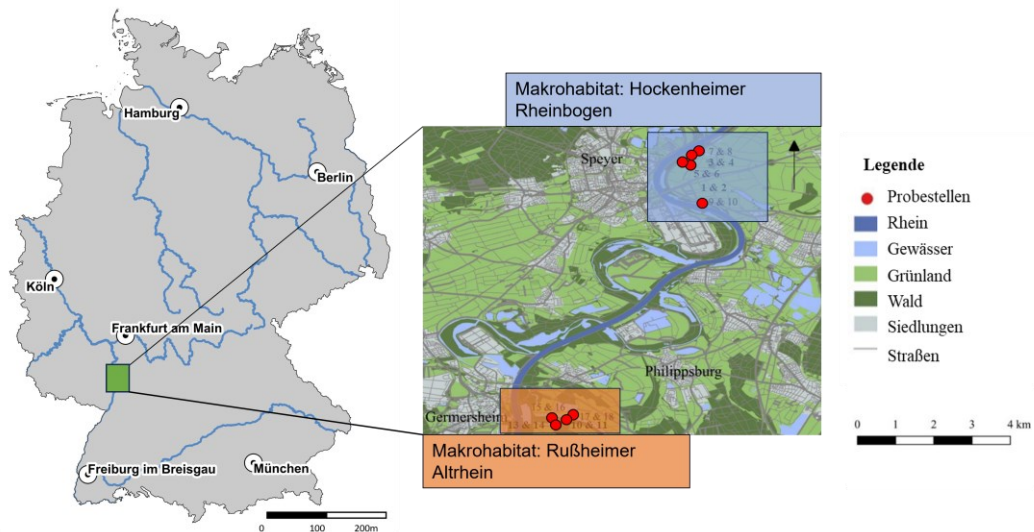


Abbildung 14: Übersicht der beiden Untersuchungsgebiete Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen

4.4.1 Rußheimer Altrhein

Das Naturschutzgebiet Rußheimer Altrhein-Elisabethenwört hat eine Größe von ungefähr 532 ha und liegt auf den Gemarkungen Philippsburg und Dettenheim. Das Naturschutzgebiet erstreckt sich auf der östlichen Rheinseite zwischen Rheinkilometer 380 und 384 auf Höhe der gegenüber liegenden Stadt Germersheim. Der Rußheimer Altrhein ist durch die Abtrennung einer ehemaligen Rheinschleife im Zuge des „Germersheimer Durchstichs“ im Jahre 1826 entstanden (Regierungspräsidium Karlsruhe, 1984).

Der Rußheimer Altrhein hat an seinem nördlichen Ende eine Verbindung zum Rhein, die jedoch über die „Kurfürsten-Schleuße“ künstlich gesteuert werden kann. Dies hat zur Folge, dass der Wasserstand des Rußheimer Altrheins nicht mehr unbedingt mit dem Rheinwasserstand korreliert und Hoch- und Niedrigwasserereignisse anthropogen erzeugt werden können. Diese entsprechen daher nicht den natürlichen Verhältnissen.

Das von Alt- und Neu-Rhein umgebene Gebiet ist die heutige Insel „Elisabethenwört“, die in naher Zukunft als ungefähr 400 ha großer Retentionsraum dienen wird. Das Gebiet des Rußheimer Altrheins gilt als eines der makrophytenreichsten Gewässer am Oberrhein. Hier kommt auch die in Deutschland seltene und unter Schutz stehende *Trapa natans* vor (Regierungspräsidium Karlsruhe, 1984). Die Ufer des Rußheimer Altrheins sind von einem typischen Weichholzauenwald geprägt. Dominierend tritt *Salix alba* und *Phragmites australis* auf.

Eine Aufstellung der im Naturschutzgebiet Rußheimer Altrhein vorkommenden Arten, auf die im Rahmen der Stechmückenbekämpfung besonders Rücksicht genommen werden muss, kann Anhang 4 entnommen werden (Becker et al., 1996a).

4.4.1.1 Bisherige Untersuchungen

Das Naturschutzgebiet Rußheimer Altrhein-Elisabethenwörth wurde seitens Fillinger (1999) von 1995 bis 1997 im Rahmen ihrer Doktorarbeit untersucht.

4.4.1.2 Probestellen

Im Makrohabitat „Rußheimer Altrhein“ wurden insgesamt acht Eklektoren bestimmt (Abbildung 15).

terrestrisch (11 und 12): Wald

Der Auwald am Rußheimer Altrhein ist ein stark anthropogen geprägter Hartholzauenwald, der jedoch aufgrund der forstlichen Nutzung weniger die pflanzensoziologischen Hartholzauenarten aufweist, sondern vor allem durch die gepflanzte Hybridpappel geprägt ist. Der Eklektor-Standort liegt auf ca. 97,5 m ü. NN und ist stark terrestrisch geprägt. Überflutungen traten weder in den Untersuchungsjahren 1995–1997 noch im Jahr 2019 auf (Fillinger, 1999).

aperiodisch temporärer Tümpel (13 und 14): Schilf

Die Fläche 13 und 14 liegt in einem Röhrichtgürtel südlich der Altrheinflächen in einer Weichholzaue. Es handelt sich um eine ca. 1 m tiefer gelegene Senke (ca. 96 m ü. NN), sodass das Wasser hier länger stehen bleibt als im umgebenden Wald. Obwohl der Boden direkt unter den Eklektoren teilweise kurzfristig austrocknet, gibt es in diesem Schilfgürtel Bereiche, die dauerhaft feucht bleiben (im Vergleich zum Schilfgürtel des Hockenheimer Rheinbogens, Kapitel 4.4.2). Fillinger (1999) wählte die Standorte ihrer Eklektoren für die Jahre 1995–1997 so, dass sie außerhalb des permanent aquatischen Bereichs lagen und eher einem semiaquatischen bis amphibischen Standort ähnelten.

Im Untersuchungsjahr 2019 erfolgte die Standortwahl nach ähnlichen Kriterien. Obwohl der Eklektor immer wieder kurzzeitig trocken fiel, war das umgebende Mikrohabitat an sich fast durchgehend durch Kontaktfeuchte bis Staunässe gekennzeichnet. Lediglich bei anhaltender Trockenheit in den Sommermonaten fiel der Schilfgürtel kurzzeitig vollständig trocken.

Dauergewässer (15, 16, 17 und 18): Altrhein

Zwei der vier Eklektoren (15 und 16) wurden sowohl von Fillinger (1999) in allen Untersuchungsjahren 1995–1997, als auch von mir im Untersuchungsjahr 2019, so positioniert, dass die Eklektoren fast ständig auf dem Wasser trieben. Die Zusatzeklektoren 17 und 18 wurden ausschließlich im Jahr 2019 auf der gegenüberliegenden Altrheinseite aufgestellt und beprobt. Aufgrund der wechselnden und künstlich veränderten Wasserstände war ein kurzzeitiges Trockenfallen der Uferbereiche (und damit auch einzelner Eklektoren) nicht auszuschließen. 2019 standen die Eklektoren am Standort 15 und 16 in den Kalenderwochen 38–40 im Uferbereich auf dem Trockenen. Auf der gegenüberliegenden Altrheinseite fielen in diesem Jahr die Eklektoren 17 und 18 in den Kalenderwochen 39 und 40 ebenfalls kurzzeitig trocken. Der gesamte Altrhein fiel jedoch in keinem der Untersuchungsjahre vollständig trocken. Die Uferlinie am Rußheimer Altrhein ist durch eine typische Weichholzaunenvegetation (*Salvinia natans*, *Salix alba* und *Phragmites australis*) geprägt. Im Wasserkörper ist eine dichte und artenreiche Makrophytenvegetation zu beobachten (*Najas* sp., *Nymphaea alba*, *Nuphar lutea*, *Lemna minor*). Der Untergrund des Altrheinarms ist schlammig, jedoch wenig mit Faulschlamm überlagert. Sowohl nach Fillinger als auch nach Dettinger-Klemm handelt es sich bei den Altrheinstandorten um klassische Dauergewässer (Dettinger-Klemm, 2003; Fillinger, 1999).



Abbildung 15: Übersicht der Probestellen im Makrohabitat Rußheimer Altrhein. Mit Ausnahme der Probestellen 17 und 18, die ausschließlich 2019 beprobt wurden, wurden alle Probestellen sowohl 1995–1997 (Fillinger, 1999) als auch 2019 untersucht.

4.4.1.3 Wasserchemie

Tabelle 2: Abiotische Werte für Wasser führende Probestandorte des Rußheimer Altrheins im Untersuchungsjahr 2019

Untersuchungstag	Dauergewässer (15/16)			Dauergewässer (17/18)			
	01.08.	02.09	30.10	01.08	02.09	02.10	30.10
Pegelstand [cm]	64	24	34	68	43	20	54
Wassertemperatur [°C]	25,4	22,3	12,3	25	23,6	16,5	12,3
pH	8,1	7,64	4,7	8,75	7,69	7,75	4,9
Sauerstoff [mg/l]	5,4	4,4	9,5	13	3,9	5	9,5
NO ₃ [mg/l]	<4	5	8	<4	5	<4	<4
NH ₄ [mg/l]	<0,1	<0,1	0,14	<0,1	<0,1	0,63	0,67
PO ₄ [mg/l]	0,8	<0,6	<0,6	0,8	<0,6	<0,6	0,7
Leitfähigkeit [µS/cm]	422	383	470	470	480	154	540

4.4.1.4 Meteorologische Daten und Pegelstände

Die folgenden Wetterdaten (Abbildung 16) stammen von der Messstation Speyer (DWD, o. D.). Im Jahr 2019 gab es 61 Frosttage und 34 Tage mit Temperaturen über 30°C. Die höchste Temperatur wurde am 30. Juni mit 39,5°C Lufttemperatur gemessen. Im Vergleich zum langjährigen Mittel (1961–1990) gab es im Jahr 2019 39 % mehr Sonnenstunden und 11,1 % weniger Niederschlag.

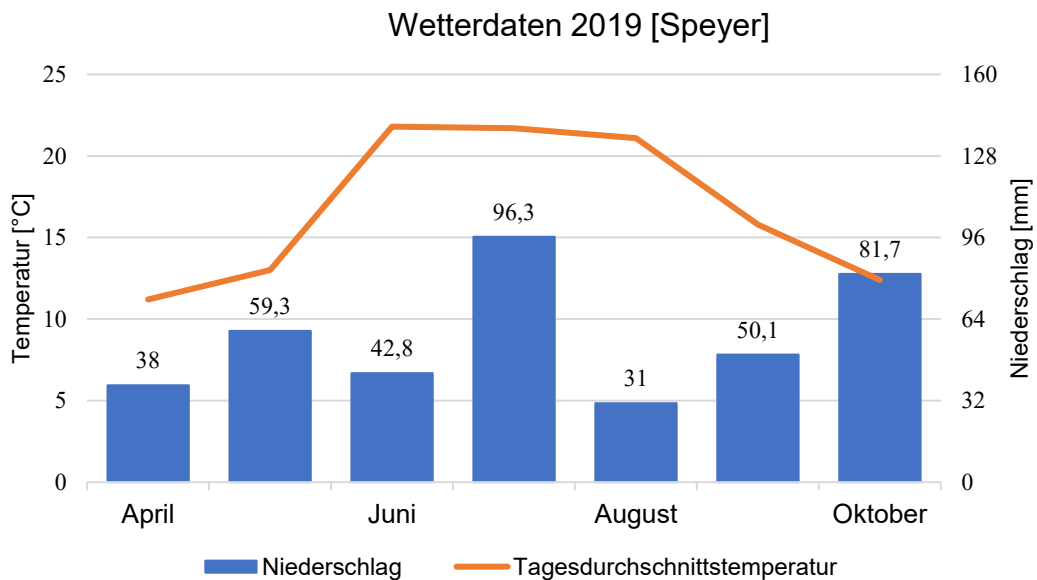


Abbildung 16: Meteorologische Daten 2019 für Speyer (DWD, o. D.)

		Eklektoren							
Kalenderwoche	Umweltparameter	11	12	13	14	15	16	17	18
KW 35	Wassertiefe	0	0	0	0	24	24	43	43
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 36	Wassertiefe	0	0	0	0	35	35	42	42
	Wetter	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW
KW 37	Wassertiefe	0	0	5	12	36	36	56	56
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 38	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	25	25
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 39	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	0	0
	Wetter	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW
KW 40	Wassertiefe	20	20	0	0	0	0	5	5
	Wetter	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW
KW 41	Wassertiefe	0	0	16	19	66	66	65	65
	Wetter	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
KW 42	Wassertiefe	0	0	0	0	40	40	47	47
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 43	Wassertiefe	0	0	12	12	60	60	42	42
	Wetter	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW
KW 44	Wassertiefe	0	0	0	0	34	34	54	54
	Wetter	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW

4.4.2 Hockenheimer Rheinbogen

Das Untersuchungsgebiet „Hockenheimer Rheinbogen“ ist ein Naturschutzgebiet des Landkreises Rhein-Neckar. Es umfasst eine Gesamtfläche von ca. 2500 ha, davon sind 1847 ha Landschaftsschutzgebiet und 656 ha Naturschutzgebiet. Der Hockenheimer Rheinbogen wurde 1990 unter Schutz gestellt, um eine weitere anthropogene Übernutzung des Gebietes, insbesondere in Form von großflächigen Flurbereinigungen und Zerschneidungen, zu verhindern. Denn seit 1830 wurde ein Großteil der ehemaligen Grünlandflächen des Gebietes in Acker- und Siedlungsflächen umgewandelt. Der 1986 begonnene Ausbau der Autobahn A 61 von Hockenheim in Richtung Speyer und der damit verbundene Bau der Rheinbrücke Speyer führte zu einer weiteren Zerschneidung des Gebietes (Heidenreich, 2019). Ein Großteil des Naturschutzgebietes, das sich auf 30 einzelne Teilflächen verteilt, ist durch Grünland und Feuchtgebiete geprägt. Diese Biotope umfassen vor allem biologisch vielfältige Feuchtbiotope mit einer an unterschiedliche Feuchtestufen angepassten Vegetation in Gräben, Röhrichtern, Wiesen, Gebüsch, Hecken und Auwäldern. Aber auch verschiedene gefährdete bis vom Aussterben bedrohte Pflanzen-, Amphibien-, Vogel- und Insektenarten sind im Hockenheimer Rheinbogen heimisch. Das ausgewählte Teilgebiet „Speyerer Grün“ liegt zwischen Rheinkilometer 401 und 404 (Fillinger, 1999; Heidenreich, 2019). Eine Aufstellung der im Naturschutzgebiet Hockenheimer Rheinbogen vorkommenden Arten, auf die im Rahmen der Stechmückenbekämpfung besonders Rücksicht genommen werden muss, kann Anhang 5 entnommen werden (Becker et al., 1996a).

4.4.2.1 Bisherige Untersuchungen

Die vorliegende Untersuchung gliedert sich in eine Reihe mit vorangegangenen Studien ein. Metzger (1991) führte in den Jahren 1988 und 1989 Untersuchungen zur Chironomidenpopulation in diesem Gebiet durch. Fillinger (1999) untersuchte das Naturschutzgebiet „Speyerer Grün“ im Rahmen ihrer Diplomarbeit in den Jahren 1993 und 1994 und dann erneut in den Jahren 1995 bis 1997 im Rahmen ihrer Doktorarbeit. Dabei wurden drei verschiedene Mikrohabitate untersucht: ein Hartholzauenstandort im Auwald, ein Weichholzauenstandort in einer Schlute und ein Röhricht-Standort. Diese Standorte unterscheiden sich nicht nur in ihrer pflanzensoziologischen Zusammensetzung, sondern vor allem in ihren hydrologischen Eigenschaften. Während der Hartholzauenstandort als terrestrisch zu charakterisieren ist, sind der Weichholzauenstandort und der Röhricht-Standort als (ephemere) temporäre Tümpel zu beschreiben. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden zwei weitere Mikrostandorte untersucht: ein periodisch temporärer Tümpel im Bereich des Siegelhains und ein semipermanenter Tümpel im Bereich des Naturschutzgebietes Rheinwald Altlußheim. Um die Abundanz und Diversität der Dipterenfamilien sowie der Chironomidenarten im Verlauf der letzten 20 Jahre zu analysieren, wurden die Fallenstandorte von Fillinger (1999) auch für die vorliegenden Untersuchungen erneut beprobt.

4.4.2.2 Probestellen

Im Makrohabitat „Hockenheimer Rheinbogen“ habe ich die insgesamt zehn Eklektoren, welche in der Abbildung 17 dargestellt sind, untersucht.

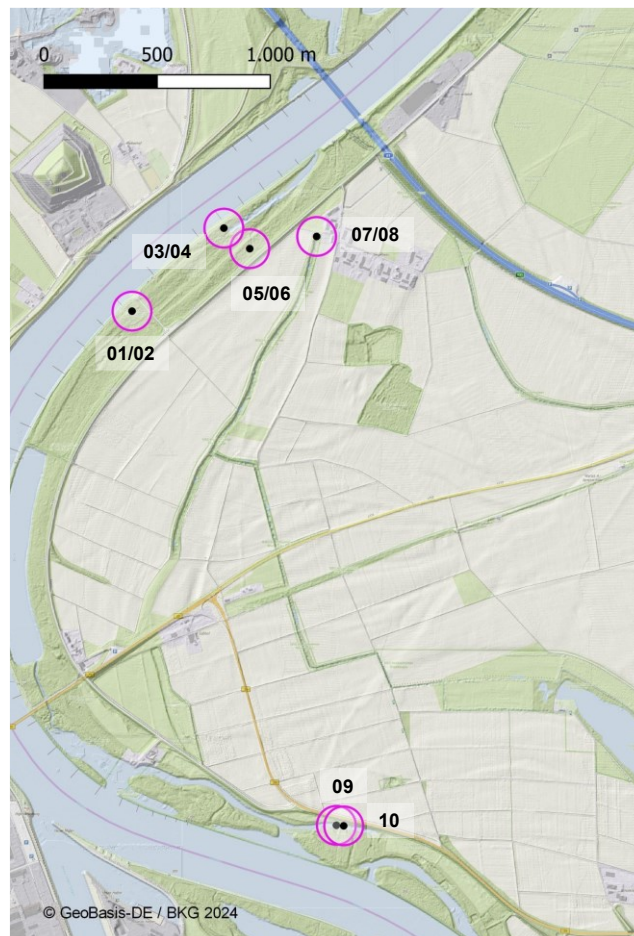


Abbildung 17: Übersicht der Probestellen im Makrohabitat Hockenheimer Rheinbogen. Die Probestellen 07/08 und 09/10 wurden nur im Jahr 2019 untersucht. Die Probestellen 01–06 wurden sowohl 1995–1997 (Fillinger, 1999) als auch 2019 untersucht.

Ephemere temporäre Tümpel (01 und 02): Schilf

Der Standort umfasst die Eklektoren 01 und 02. Der Standort Schilf besteht aus einem reinen Schilfröhricht (*Phragmites*) und liegt mit 93 m ü. NN etwas höher als der benachbarte Standort „Schlute“. Er zeichnet sich im Vergleich zum Schluten-Standort durch einen noch stärker ausgeprägten ephemeren Charakter aus, da er nur unregelmäßig und nur für wenige Wochen Wasser führt (Dettinger-Klemm, 2000). Obwohl die Schilfhöhe in den Untersuchungsjahren schwankte, war in allen Untersuchungsjahren (1995–1997 und 2019) ein mehr oder weniger dichter Schilfbestand mit angrenzenden *Urtica-dioica*-Beständen (Brennnessel) vorhanden. Der Schilfstandort zeichnete sich in allen Untersuchungsjahren durch eine extreme Sonneneinstrahlung aus, da kein ausreichender Baumbestand für eine mögliche Beschattung vorhanden war. In allen Untersuchungsjahren wurden hier zwei Eklektoren mit einer Grundfläche von 1 m² aufgestellt (Fillinger, 1999). Die Probestelle liegt in der Stechmückenbrutstätte 19-1001 und darf nur per Helikopter mit Bti behandelt werden.

Ephemere temporäre Tümpel (03 und 04): Schlute

Die Probestelle umfasst die Eklektoren 03 und 04. Er wird in der Studie von Fillinger (1999) als „Schlute“ bezeichnet und entspricht nach der Gewässertypologie von Dettinger-Klemm (2000) einem ephemeren temporären Tümpel, da er nur unregelmäßig und nur wenige Wochen Wasser führt. Zur einheitlichen Darstellung wird die Begrifflichkeit der „Schlute“ auch in der vorliegenden Arbeit zur Beschreibung des Mikrohabitatstyps weiterverwendet. Die Weichholzaue liegt in einer Senke bei Rheinkilometer 402,2 und auf einer Höhe von ca. 92 m ü. NN. Dieser Weichholzauenwald wurde bereits bei Fillinger (1999) von der Hybridpappel dominiert. Da bereits Ende der 1990er-Jahre keine Aufforstungen mehr erfolgten, wurde der forstlich aufgelichtete Hybridpappelbestand sukzessive von Silberweiden (*Salix alba*) ersetzt. Aufgrund der vielen trockenen Jahre ist der Baumbestand im Bereich des Speyerer Grüns als nicht sehr stabil einzustufen. Die Krautschicht wurde auch im Jahr 2019 von *Urtica dioica* dominiert. Die Schlute selbst besteht aus einem abgegrenzten Verlandungsgewässer, das sich nur bei hohen Rheinwasserständen füllt. Bei niedrigen Rheinwasserständen fällt die Schlute trocken. Teilweise können kleine Restflächen im Mündungsbereich zum Rhein mit Restwasserbeständen oder Kontaktwasserflächen erhalten bleiben. Hier ist jedoch zu beachten, dass der Bereich, in dem die Eklektoren aufgestellt wurden, vollständig trockenfällt.

Bei kleineren Hochwasserereignissen füllt sich die Schlute mit Druckwasser und bleibt ohne Abfluss. Fillinger (1999) konnte jedoch bei einem starken Winterhochwasser 1993/94 und bei einem Sommerhochwasser 1995 die Ausbildung eines Strömungsprofils beobachten. In den Jahren 1995 bis 1997 und 2019 war die Schlute völlig frei von Makrophyten, 1993 und 1994 konnte eine Besiedelung von *Lemna minor* beobachtet werden (Fillinger, 1999). Die Probestelle Schlute zeichnet sich durch ihre wechselnden Wasserstände als ideales Brutgebiet für Stechmücken aus. In der Brutstättenkartierung der KABS gehört die Probefläche zur Brutstättennummer 19-1002, die mit den Brutstättennummern 19-1001 und 19-1003 zu einem gemeinsamen Brutstättenkomplex zusammengefasst ist. Dieser Brutstättenkomplex wird ab einem Rheinwasserstand von mindestens 7 m (Pegel Speyer) von Norden her überflutet und entwickelt sich dann zu einer Massenbrutstätte für Stechmücken. In den Teilflächen 19-1002 und 19-1003 darf Bti von Hand ausgebracht werden, in 19-1001 nur per Hubschrauber (Becker et al., 1996a). In allen Untersuchungsjahren fand keine Ausbringung von Bti durch die KABS statt. Zur Untersuchung der Dipterenzönose wurden in den Jahren 1995 bis 1997 und 2019 zwei Standard-Eklektoren mit einer Grundfläche von 1 m² aufgestellt.

Terrestrischer Waldstandort (05 und 06): Wald

Im Vergleich zu den beiden anderen Eklektor-Standorten im Naturschutzgebiet liegt der Standort in der Hartholzaue mit 94,8 m ü. NN am höchsten. Zudem liegt er mit ca. 200 m Luftlinie am weitesten vom Rhein entfernt. Der terrestrische und meist trockene Standort zeichnet sich auch durch eine waldähnlichere Krautschicht als in der Schlute aus. Die Probestelle ist frei von *Urtica dioica* (Brennnessel). Es dominieren Baumarten wie *Quercus robur* (Stieleiche), *Fraxinus excelsior* (Esche) und *Acer platanoides* (Spitzahorn). In den Jahren 1995 bis 1997 wurde der terrestrische Waldstandort mit jeweils einem Eklektor beprobt (Fillinger, 1999). Der terrestrische Waldstandort gehört zur Brutstätte 19-1003. Im Jahr 2019 wurden erneut zwei Standard-Eklektoren mit einer Grundfläche von 1 m² aufgestellt.

Aperiodisch temporärer Tümpel (07 und 08)

Die Probestelle befindet sich im Weiler Siegelhain. Hier wurden im Jahr 2019 die beiden Eklektoren 07 und 08 in einem kleinen Tümpel (< 50 m² Wasserfläche) in einer Senke platziert. Der Tümpel ist von einer lockeren Baum- und Strauchvegetation umgeben, die den Charakter einer Weichholzaue aufweist (*Salix alba* (Silber-Weide), *Corylus avellana* (Gemeine Haselnuss), *Juglans regia* (Echte Walnuss) und *Sambucus nigra* (Schwarzer Holunder)). Durch die umgebende Vegetation ist der Tümpel reich an organischem Material wie Laub und Totholz. Der angrenzende Baumbestand sorgt für ständige Beschattung und Windschutz des Gewässers. Der Tümpel hat einen Zu- und Abfluss über den ehemaligen Altrheinarm „Oder“. Der Kleinstlebensraum ist nach der Fillinger-Klassifikation (Fillinger, 1999) den permanenten Gewässern zuzuordnen, da der Wasserkörper über den gesamten Untersuchungszeitraum 2019 bestand. Ähnlich wie bei den Altrheinstandorten im Rußheimer Altrhein (vgl. Kapitel 4.4.1) wurden die Eklektoren hier sehr ufernah platziert, sodass sich der Charakter der Probestelle je nach Wasserstand änderte. Nach der Einstufung von Dettinger-Klemm (2000) handelt es sich um einen aperiodisch temporären Tümpel. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der Tümpel sowohl in den Wintermonaten als auch während der Vegetationsperiode häufig austrocknet. Die Probestelle wurde von der KABS noch nie mit Bti behandelt, da sie aufgrund des langjährigen Wasserregimes nicht als Stechmückenbrutstätte einzustufen ist. Der Standort wurde 2019 erstmals mit zwei Standard-Eklektoren mit einer Grundfläche von 1 m² untersucht.

Semipermanenter Tümpel (9 und 10)

Die Probenahmestelle liegt westlich der Bundesstraße B 39 und hat eine direkte Verbindung zum Rhein im Süden. Der Wasserkörper ist durch ein kleines Wehr getrennt, das den vom Rhein gespeisten Wasserkörper teilt. Die beiden Teilgewässer sind durch ein Betonrohr an der Sohle des Wehrs verbunden, was zu unterschiedlichen Wasserständen in den beiden Teilgewässern führen kann. Auch die Fließrichtung kann unterschiedlich sein. Der gesamte Wasserkörper ist mit Bäumen und Sträuchern der Weichholzaue (*Salix babylonica*, *Salix alba*, *Populus nigra* und *Rubus* sp.) bewachsen, wobei der Randbewuchs auf der Nordseite dichter ist und dort für eine stärkere Beschattung sorgt. Der Wasserkörper fällt selten vollständig trocken, sodass meist ein Restwasserkörper zurückbleibt. Der Charakter des Gewässers ändert sich jedoch je nach Wasserstand der beiden Teilgewässer. In der Charakteristik von Fillinger (1999) würde es sich aufgrund der Weichholzauevegetation mit Makrophytenbildung (*Lemna minor*) um ein Dauergewässer handeln. Nach Dettinger-Klemm (2000) und Neugebauer (1990) ist der Tümpel ein semipermanentes Gewässer, das nur selten und in unregelmäßigen Abständen austrocknet. Das Gewässer ist als Stechmückenbrutgewässer der KABS unter Brutstättennummer 18-1001 kartiert. Es wird bei Wasserständen von mindestens 4,5 m über einen Graben aus dem Kriegsbach geflutet. Bei

Pegelständen über 6 m (Pegel Speyer) wird das Gebiet flächig überflutet. Die Probefläche wurde 2019 erstmals mit zwei Eklektoren untersucht (Becker et al., 1996a).

4.4.2.3 Wasserchemie

Tabelle 4: Abiotische Werte für Wasser führende Probestellen des Makrohabitats Hockenheimer Rheinbogen. Am 02.10.2019 fielen die Probestandorte 07 bis 10, 15 und 16 trocken. Am 30.10.2019 fiel zusätzlich der Standort 09 trocken. Daher fehlen die entsprechenden Messwerte.

	aeriodisch temporärer Tümpel (07/08)			semi-permanen- ter Tümpel (09)		semi-permanenter Tümpel (10)		
	01.08.19	02.09.19	30.10.19	31.07.19	02.09.19	01.08.19	02.09.19	30.10.19
Pegelstand [cm]	25	21	21	40	27	35	0	15
Wassertemperatur [°C]	-	18,6	12,6	23,5	20,2	25,1	18,4	9,5
pH	7,5	7,24	7,21	7,84	7,54	7,86	7,62	4,3
Sauerstoff [mg/l]	1,7	1,2	2	6,2	4,7	8,2	3,6	8
NO ₃ [mg/l]	4	< 4	15	< 4	6	< 4	5	4
NH ₄ [mg/l]	0,7	0,3	1	0,1	<0,1	0,3	0,1	0,5
PO ₄ [mg/l]	< 0,6	< 0,6	4,5	< 0,6	2	< 0,6	2	< 0,6
Leitfähigkeit [µS/cm]	1420	1638	1670	498	625	488	639	715

4.4.2.4 Meteorologische Daten und Pegelstände

Die klimatischen Wetterdaten gleichen sich in den beiden untersuchten Makrohabitaten. Sie können der Abbildung 16 entnommen werden.

Tabelle 5: Übersicht über die Umweltparameter im Makrohabitat Hockenheimer Rheinbogen. Pegelstand (in cm) und tagesaktuelle Wetterlage (SO = sonnig, NS = Niederschlag, BW = bewölkt, HW = Hochwasser, nd = nicht bekannt). Die Daten wurden parallel zur Beprobung der Eklektoren erhoben.

Kalenderwoche	Umweltparameter	Eklektoren									
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
KW 18	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 19	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
KW 20	Wassertiefe	0	0	5	5	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW	BW
KW 21	Wassertiefe	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Wetter	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW
KW 22	Wassertiefe	12	20	12	12	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 23	Wassertiefe	7	7	11	11	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 24	Wassertiefe	0	0	7	14	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
KW 25	Wassertiefe	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Wetter	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW	HW
KW 26	Wassertiefe	5	5	44	47	0	0	nd	nd	nd	nd
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 27	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	33	33	41	41
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 28	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	22	22	30	30
	Wetter	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
KW 29	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	28	28	16	23
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 30	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 31	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	25	25	40	35
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 32	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19
	Wetter	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO	SO
KW 33	Wassertiefe	0	0	0	0	0	0	19	19	34	45

4.5 Ergebnisse

Die Ergebnisse sind für eine übersichtlichere Darstellung wie folgt gegliedert:

Zuerst stelle ich die eigens erhobenen Daten aus dem Untersuchungsjahr 2019 vor, wobei ich zunächst die Ergebnisse der allgemeinen Dipterenzönose (auf Familienebene) und anschließend die Familie der Chironomiden (auf Artebene) betrachte (Tabelle 6).

Anschließend erfolgt jeweils ein Vergleich der Dipterenzönose und der Chironomidenzönose mit den Ergebnissen der Untersuchungsjahre 1995–1997 (Fillinger, 1999). Ziel dieses Vergleichs mit den Referenzdaten ist es, eine Verschiebung der Artenzusammensetzung und der Abundanz der Dipteren und insbesondere der Chironomiden in den letzten Jahrzehnten aufzuzeigen. Am Ende dieses Kapitels stelle ich außerdem den Zusammenhang zwischen Wasserstand und Chironomidenabundanz anhand der gewonnenen Ergebnisse dar.

Die jeweiligen Darstellungen der Dipteren- und Chironomidenzönosen sind in folgende Bezugsrahmen gegliedert:

- Makrohabitate: Vergleich der Naturschutzgebiete Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen
- Mikrohabitate: Einteilung der Naturschutzgebiete entsprechend Fillinger (1999) in Schluten-, Schilf-, Wald- und Fließgewässerstandorte
- Gewässertypen: Unterteilung der temporären Auenlebensräume nach der Dauer ihrer Wasserführung in terrestrische Standorte, temporäre Tümpel, semipermanente Tümpel und permanente Gewässer.

Tabelle 6: Übersicht über die detektierten Taxa mit dazugehörigem Trivialnamen

Taxon	Trivialnamen
Ordnung	
Diptera	Zweiflügler
Unterordnung	
Nematocera	Mücken
Brachycera	Fliegen
Familie	
<i>Anisopodidae</i>	Fenstermücken
<i>Cecidomyiidae</i>	Gallmücken
<i>Ceratopogonidae</i>	Gnitzen
<i>Chaoboridae</i>	Büschelmücken
<i>Chironomidae</i>	Zuckmücken
<i>Limoniidae</i>	Stelzmücken
<i>Mycetophilidae</i>	Pilzmücken
<i>Psychodidae</i>	Schmetterlingsmücken
<i>Scatopsidae</i>	Dungmücken
<i>Sciaridae</i>	Trauermücken
<i>Simuliidae</i>	Kriebelmücken
<i>Tipulidae</i>	Schnaken
<i>Trichoceridae</i>	Wintermücken

4.5.1 Diptererenzönose des Jahres 2019

Im Jahr 2019 habe ich insgesamt 284 Eklektorenproben an 18 Probenahmestellen ausgewertet. Insgesamt habe ich dabei 64.490 Individuen analysiert. Davon waren ein Drittel Beifänge ($n = 21.920$) und 16,4 % Brachyceren ($n = 10.575$). Insgesamt wurden 31.994 Nematoceren ($\hat{=} 49,61\%$) analysiert.

4.5.1.1 Makrohabitate

Die *Chironomidae* dominieren mit insgesamt 23.263 Individuen die Dipteren in beiden Makrohabitaten (Abbildung 18). Im Rußheimer Altrhein wurden etwa doppelt so viele Nematocera ($n = 20.140$) gefangen wie im Hockenheimer Rheinbogen ($n = 10.575$). Das Auftreten von Brachycera dominierte jedoch im Hockenheimer Rheinbogen mit $n = 7853$. Auch der Beifang war im Hockenheimer Rheinbogen ($n = 17.514$) etwa viermal so hoch wie im Rußheimer Altrhein.

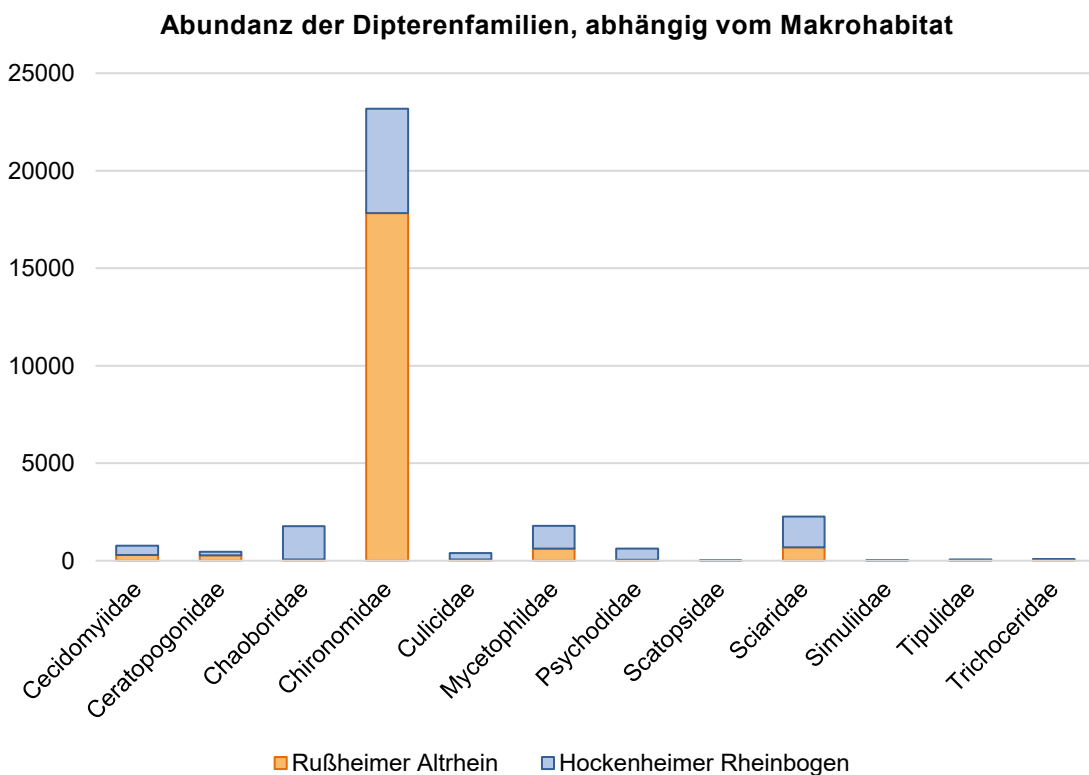


Abbildung 18: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die Makrohabitate Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen

4.5.1.2 Mikrohabitate

Die Einstufung der Mikrohabitate erfolgte anhand der Referenzdaten von Fillinger (1999). Fillinger (1999) teilte die Untersuchungsgebiete in die folgenden Mikrohabitat-Typen ein: Gewässer, Schluten, Schilf und Wald. Für eine detaillierte hydrologische Betrachtung ist dies jedoch zu grob, weshalb im nächsten Schritt eine Einteilung in Gewässertypen (Kapitel 2.4.1) erfolgte.

Die Gewässer wiesen eine Gesamtabundanz von 35.471 Individuen auf (Abbildung 19). Davon dominierten mit großem Abstand die *Chironomidae* ($n = 22.4845$), gefolgt von den *Mycetophilidae* ($n = 1360$), den *Psychodidae* ($n = 596$) und den *Ceratopogonidae* ($n = 442$). Von den *Simuliidae* wurden nur drei Individuen gefunden. Die Nematocera ($n = 26.139$) dominierten die

Gesamtabundanz mit 74 %, gefolgt von den Brachycera (n = 5457) mit 15 % und dem Beifang (n = 3875) mit 11 %.

An den Schlutenstandorten dominierten mit einer Gesamtabundanz von 10.401 Individuen auf der Ebene der Nematocera die *Chaboridae* (n = 1645), gefolgt von den *Sciaridae* (n = 678). Es konnten 257 *Mycetophilidae* und 184 *Cecidomyiidae* nachgewiesen werden. *Culicidae* (n = 257) und *Chironomidae* (n = 67) waren nur mäßig vertreten. Die Nematocera (n = 3274) machten 31 % und die Brachycera (n = 1197) 11 % der Gesamtabundanz aus.

Die Gesamtzahl der Individuen in den Schilfbeständen betrug 8988. Davon machten die Beifänge (n = 5742) 64% der Gesamtzahl aus. Die Brachycera (n = 2101) machten 23 % und die Nematocera (n = 1145) 12 % aus. Unter den Nematocera-Familien dominierten die *Sciaridae* (n = 419), gefolgt von den *Chironomidae* (n = 228) und den *Cecidomyiidae* (n = 195).

Die Waldstandorte wiesen insgesamt 9630 Individuen auf, wobei mit n = 6374 der Beifang 66 % der Gesamtabundanz ausmachte. Die prozentuale Verteilung der Nematocera (n = 1436) und Brachycera (n = 1820) war mit 15 bzw. 19 % relativ ähnlich. Auf Familienebene der Nematoceren dominierten die *Sciaridae* (n = 904) mit großem Abstand. Eine deutlich niedrigere Abundanz wiesen die *Cecidomyiidae* mit 319 Individuen auf. Die Abundanz aller anderen Nematoceren-Familien liegt unter 100 Individuen. Bei den *Chironomidae* und den *Culicidae* konnten jeweils 13 Individuen nachgewiesen werden.

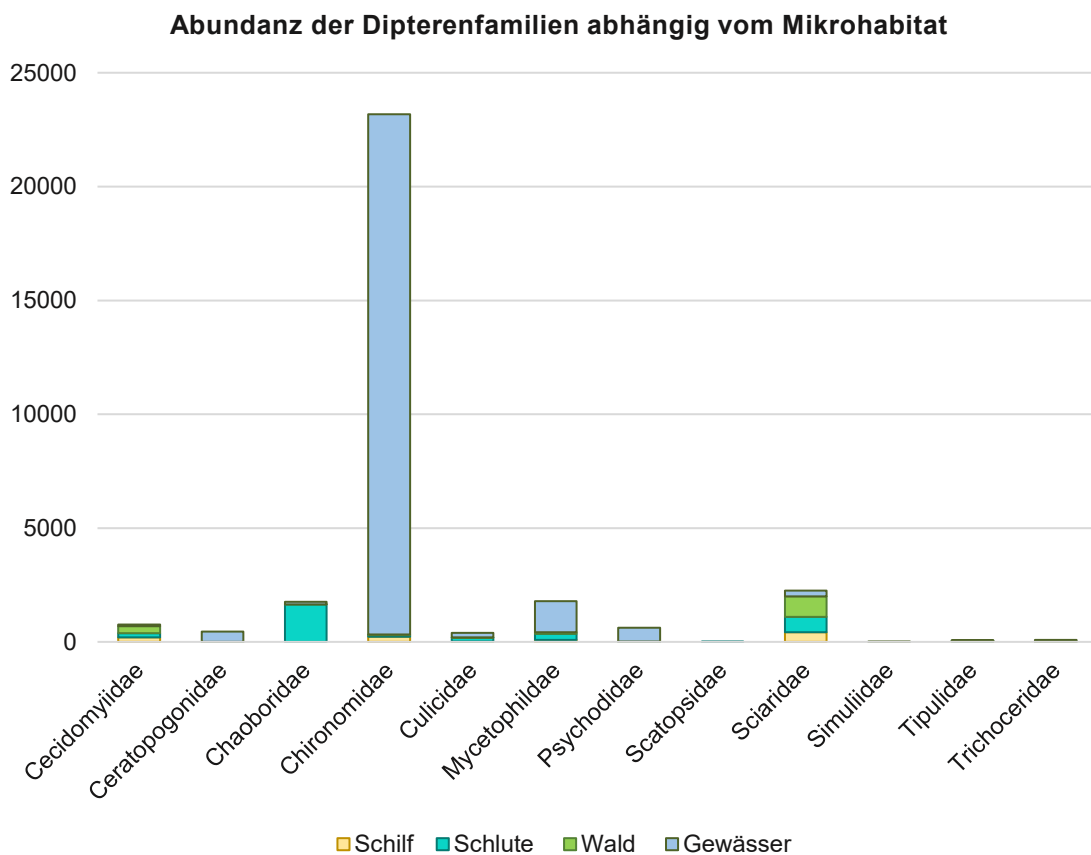


Abbildung 19: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die Mikrohabitate Schilf, Schlute, Wald und Gewässer

4.5.1.3 Gewässertypen

Die permanenten Gewässer wiesen eine Gesamtabundanz von 22.201 Individuen auf (Abbildung 20).

Diese werden mit 85 % von den Nematocera ($n = 18.915$) dominiert. Die Brachycera ($n = 1716$) und der Beifang ($n = 1570$) lagen mit etwas mehr als 7 % dicht beieinander. Die Nematocera wurden von den *Chironomidae* ($n = 17647$) dominiert. Sie stellten 79 % der Gesamtabundanz und sogar 93 % der Nematocera. Familien mit mindestens 100 Individuen waren die *Mycetophilidae* ($n = 540$), die *Ceratopogonidae* ($n = 269$) und die *Sciaridae* ($n = 128$).

Die semipermanenten Gewässer wiesen eine Gesamtabundanz von 13.270 Individuen auf. Auch hier dominierten die Nematocera ($n = 7224$) mit 54 %. Der Anteil der Brachycera ($n = 3741$) betrug 28 % und der Anteil der Beifänge 17 %. Innerhalb der Nematocera dominierten die *Chironomidae* ($n = 5198$). Sie stellen 39 % der Gesamtabundanz der semipermanenten Gewässer und sogar 72 % der Nematocera. Weitere dominante Familien sind die *Mycetophilidae* ($n = 820$), die *Psychodidae* ($n = 549$), die *Ceratopogonidae* ($n = 173$) und die *Sciaridae* ($n = 129$).

Die temporären Gewässer wiesen eine Gesamtzahl von 19.389 Individuen auf. Die Beifänge ($n = 11672$) dominieren mit 60 % der Gesamtzahl. Die Brachycera ($n = 3298$) machten 17 % und die Nematocera ($n = 4419$) 23 % aus. Innerhalb der Nematocera dominierten die *Chaboridae* ($n = 1645$, 8,48 % der Gesamtabundanz) und die *Sciaridae* ($n = 1097$, 5,6 % der Gesamtabundanz). Die *Chironomidae* stellten mit 295 Individuen 1,5 % der Gesamtabundanz und 6,7 % der Nematocera-Abundanz. Es wurden 192 *Culicidae* in den temporären Flächen gefunden. Dies entspricht 4,3 % der Nematoceren-Abundanz und weniger als 1 % der Gesamtabundanz.

Die terrestrischen Standorte wiesen eine Gesamtabundanz von 9630 Individuen auf. Die Beifänge ($n = 6374$) dominierten mit 66 %. Nematocera ($n = 1436$) und Brachycera ($n = 1820$) haben einen ähnlichen Anteil von 14,9 und 18,9 %. Innerhalb der Nematocera dominierten die *Sciaridae* ($n = 904$) mit einem Anteil von 19 % an der Gesamtabundanz und 63 % aller Nematocera. Eine weitere dominante Art waren die *Cecidomyiidae* ($n = 319$). Es wurden 33 *Chironomidae* und 13 *Culicidae* detektiert.

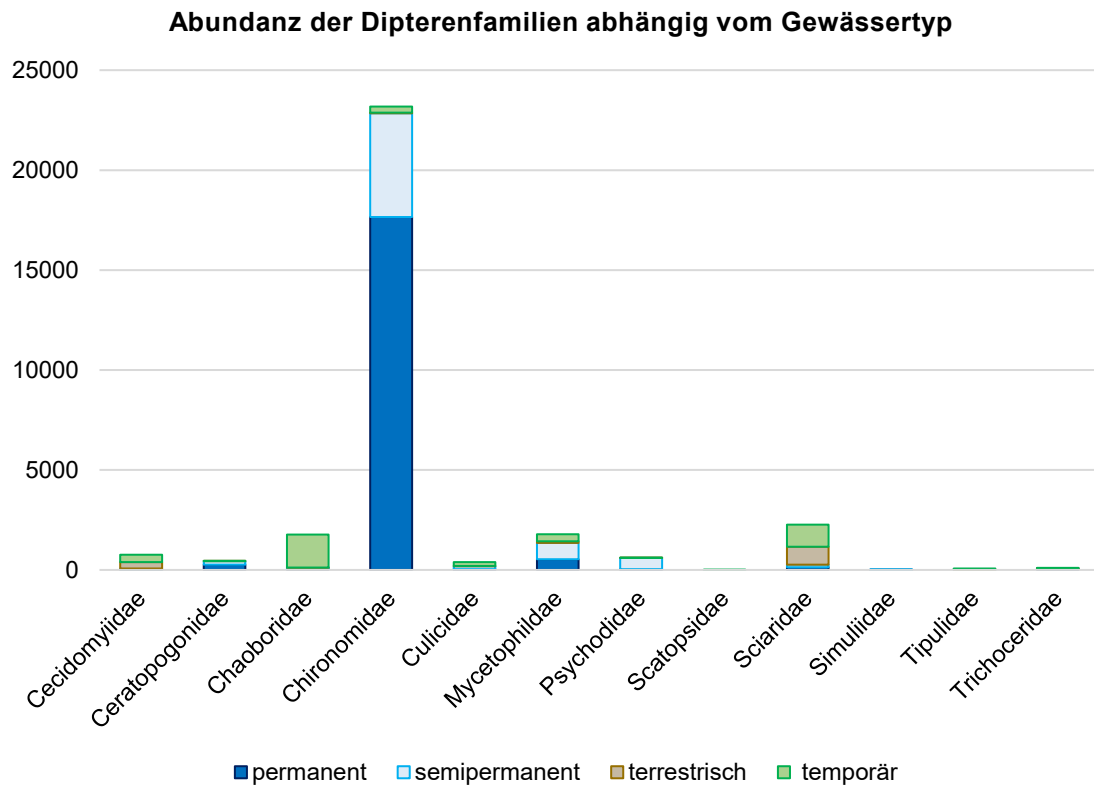


Abbildung 20: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die terrestrischen Flächen sowie die permanenten, semipermanenten und temporären Gewässertypen

4.5.2 Chironomidenzönose des Jahres 2019

In den folgenden Unterkapiteln stelle ich die Chironomidenzönose des Jahres 2019 dar. Auch hier erfolgt eine Unterteilung nach Makro- und Mikrohabitaten, sowie nach Gewässertypen. Die Erhebung der Artdiversität erfolgte per Metabarcoding.

4.5.2.1 Makrohabitate

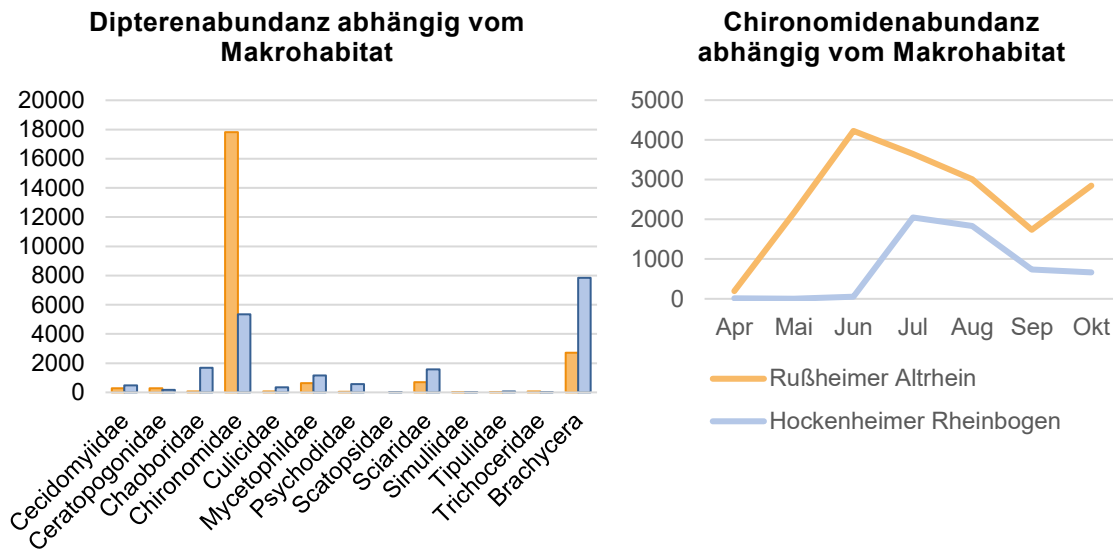


Abbildung 21: Links: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die beiden Makrohabitate Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen. Es zeigt sich, dass die *Chironomidae* in beiden Makrohabitaten die höchsten Abundanz der Dipterenfamilien aufweist. Rechts: Verteilung der monatlichen Chironomidenabundanz in beiden Makrohabitaten. Die Chironomidenabundanz ist im Rußheimer Altrhein etwa 3,3-mal so hoch wie im Hockenheimer Rheinbogen.

Im Jahr 2019 habe ich insgesamt 23.173 Chironomiden nachgewiesen (Abbildung 21). Im direkten Vergleich der Makrohabitate zeigt sich, dass im Makrohabitat Rußheimer Altrhein absolut betrachtet 3,3-mal mehr Chironomiden gefunden wurden als im Hockenheimer Rheinbogen. Im Monatsvergleich zeigt sich, dass die absolute Chironomidenabundanz im Makrohabitat im Juni mit 4278 ihr Maximum erreichte und in den Sommermonaten abnahm. Im September lag der Wert bei 2475 Individuen, um im Oktober wieder auf 3518 Individuen anzusteigen. Im Hockenheimer Rheinbogen verlief die Entwicklung der Chironomidenpopulation in den Monaten April bis Juni etwas langsamer. Sie erreichte im Juli mit 2047 Individuen ihr Maximum und flacht dann ebenfalls bis Oktober ab.

4.5.2.2 Mikrohabitate

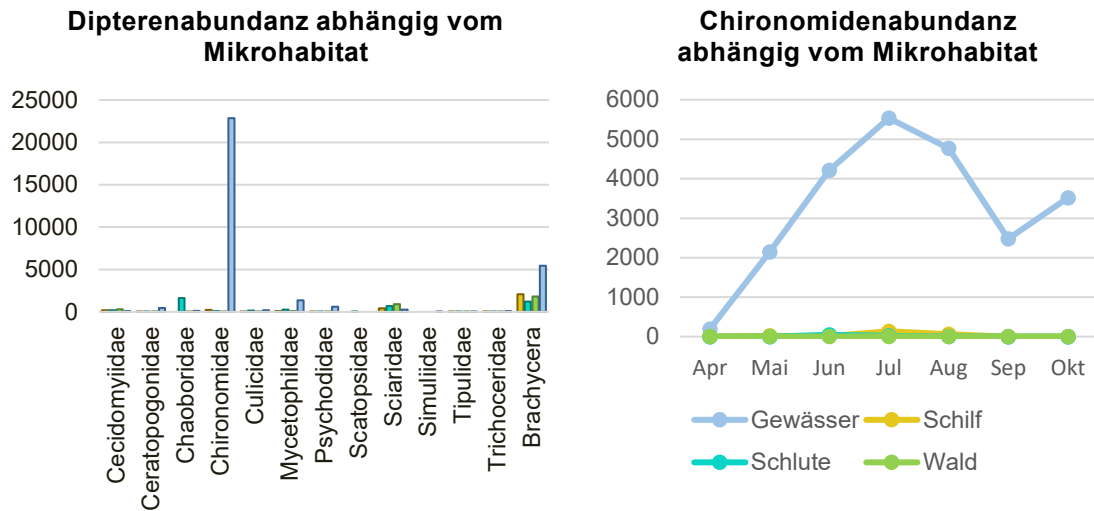


Abbildung 22: Links: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die vier Mikrohabitatstypen Schilf, Schlute, Wald und Gewässer. Es zeigt sich, dass die Gewässerhabitate im Vergleich zu den anderen Mikrohabitaten die mit Abstand höchste Nematocera-Abundanz aufweist. Rechts: Verteilung der monatlichen Chironomidenabundanz in den vier Mikrohabitaten. Die höchsten Chironomidendichten entwickeln sich in den Gewässerhabitaten.

Von den 23.173 nachgewiesenen Chironomiden befanden sich 22.845 in Gewässerhabitaten, was einem Anteil von 98,6 % entspricht. An Schilfstandorten wurden 228 Individuen, an Schlutenstandorten 67 Individuen und im Wald 33 Individuen nachgewiesen. In den Waldstandorten entwickelten sich somit am wenigsten Chironomiden. Die monatliche Betrachtung der Emergenzzahlen zeigt, dass im Juni 46 Individuen, im Juli 18 und im August drei Individuen nachgewiesen werden konnten. An den Schilfstandorten herrschte die höchste Abundanz im Juli mit 136 Individuen vor. Die Abundanzkurve stieg in absoluten Zahlen der permanenten Gewässer über den Sommer deutlich an, hier ist das Peak im Juli mit 5533 Chironomiden-Individuen erreicht.

4.5.2.3 Gewässertypen

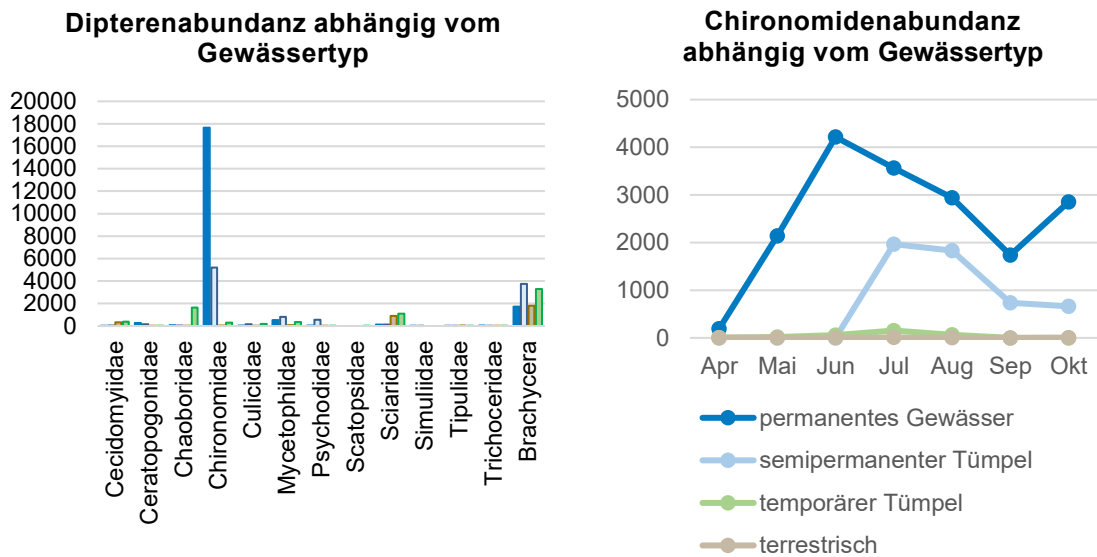


Abbildung 23: Links: Übersicht der Dipterenabundanz im Jahr 2019 für die terrestrischen Flächen sowie die permanenten, semipermanenten und temporären Gewässertypen. Rechts: Verteilung der monatlichen Chironomidenabundanz in den verschiedenen Gewässertypen.

Vergleicht man die Gewässertypen, so wird deutlich, dass die höchste Chironomidenabundanz in den permanenten Gewässern ($n = 17.647$) mit 76,15 % vorherrschte, gefolgt von den semipermanenten Tümpeln ($n = 5198$) mit 22 % (Abbildung 23). Die temporären Gewässer hatten einen Anteil von 1,3 % mit 295 Chironomiden. An den terrestrischen Standorten konnten nur 33 Individuen gefunden werden. Im Jahr 2019 lag der Höhepunkt der Gesamtabundanz der Chironomidenpopulation im Juli. In den permanenten Stillgewässern wurde das Maximum bereits im Juni mit 4215 Individuen erreicht. In den Sommermonaten kam es dann zu einem Rückgang der Emergenz bis zum September. Hier wurde nur noch eine Emergenz von 1739 Individuen gezählt. Ein erneuter Anstieg der Emergenz erfolgte im Oktober mit 2850 Chironomiden. Die semipermanenten Tümpel wurden erst ab Juni 2019 beprobt. Ihre Emergenz nahm langsam von 1967 im Juli auf 665 Individuen im Oktober ab. Die Emergenzzahlen der temporären Tümpel begannen mit zwei Chironomiden im April und stiegen bis auf 154 Chironomiden im Juli an. Im September und Oktober konnten keine Chironomiden in den temporären Tümpeln nachgewiesen werden. Die terrestrischen Funde schwankten zwischen einem Individuum im September und maximal acht Chironomiden im Juli.

4.5.3 Artbestimmung der Chironomidenzönose per Metabarcoding-Methode

Insgesamt konnten per Metabarcoding 148 Chironomidenarten detektiert werden (die Artenliste kann Anhang 6 entnommen werden). Die Ergebnisse der Metabarcoding-Methode zeigen, dass das Makrohabitat Rußheimer Altrhein im Jahr 2019 um zehn Chironomidenarten reicher war als das Makrohabitat des Hockenheimer Rheinbogens. Im Vergleich der Mikrohabitate waren die aquatischen Standorte mit 31 Arten am artenreichsten, gefolgt von den Schlutenstandorten mit zehn Arten. Die Waldstandorte wiesen sieben Chironomidenarten auf, während im Schilfgürtel nur zwei Chironomidenarten gefunden wurden. Die höchste Vielfalt an Chironomiden-Arten wiesen die permanenten Gewässer mit 76 Arten auf. In den semipermanenten Gewässern wurden 21 Arten und in den temporären Gewässern zwölf Arten gefunden. Im terrestrischen Bereich wurden sieben Chironomidenarten mittels Metabarcoding nachgewiesen.

4.5.4 Vergleich Dipterenzönose der Jahre 1995 bis 1997 und 2019

Zur Analyse der Zusammensetzung und Diversität der Dipterenzönose über einen Zeitraum von 20 Jahren habe ich den Gesamtdatensatz der Jahre 1995 bis 1997 von Fillinger (1999) sowie die Daten aus dem Jahr 2019 als Berechnungsgrundlage herangezogen. Für jeden einzelnen Habitats-Bezugsrahmen (auf Ebene der Makro- und Mikrohabitate sowie des Gewässertyps) wurde jeweils eine MRRP und ISA berechnet (Kapitel 4.3.6). Zusätzlich wurde die Zusammensetzung der Dipterenfamilien jeweils per indirekter Gradientenanalyse (CA) dargestellt. Eine Einführung der dazugehörigen Ordinationsdiagramme findet sich in Kapitel 4.3.6.3.

4.5.4.1 Makrohabitate

Beide Makrohabitate konnten per MRPP statistisch signifikant mit $p < 0,001$ differenziert werden. Lediglich für das Makrohabitat Hockenheimer Rheinbogen konnten auf der Ebene der Dipteren Indikator taxa mit aussagekräftigem Indikatorwert ermittelt werden. Dabei handelt es sich um die Brachycera und die *Sciaridae*. Die *Chironomidae* verfehlen mit einem Indikatorwert von 48,4 (p -Wert: 0,020) nur formal knapp den Indikatorwertquotienten ($IV \geq 50$) als Indikator taxa für den das Makrohabitat Rußheimer Altheim (Tabelle 7).

Tabelle 7: Per ISA ermittelte Indikator taxa für die beiden Makrohabitate Rußheimer Altrhein und Hockenheimer Rheinbogen. IV = Indikatorwert, $p < 0,05$. Die jeweiligen Indikator taxa weisen eine Affinität für das jeweilige Makrohabitat auf.

Art	Makrohabitat	IV	p
<i>Sciaridae</i>	Hockenheimer Rheinbogen	70,3	< 0,001
Brachycera	Hockenheimer Rheinbogen	67,9	< 0,001

Die Ergebnisse der indirekten Gradientenanalyse zeigen, dass sich im Untersuchungszeitraum 1995 bis 1997 die Artaufnahmen des Makrohabitats Rußheimer Altrhein räumlich in Richtung des Vektors der Umweltvariable Pegel absetzen (Abbildung 24, A). Die Musterverteilung ist 2019 nicht so eindeutig, jedoch korrelieren auch hier die Artaufnahmen beider Makrohabitate mit dem Vektor des Pegels. Die Diversität der beiden Makrohabitate ist ähnlich verteilt und die höchste Diversität wird mit über 10 Arten pro Artaufnahme unabhängig vom Pegelstand, erreicht (Abbildung 24, C).

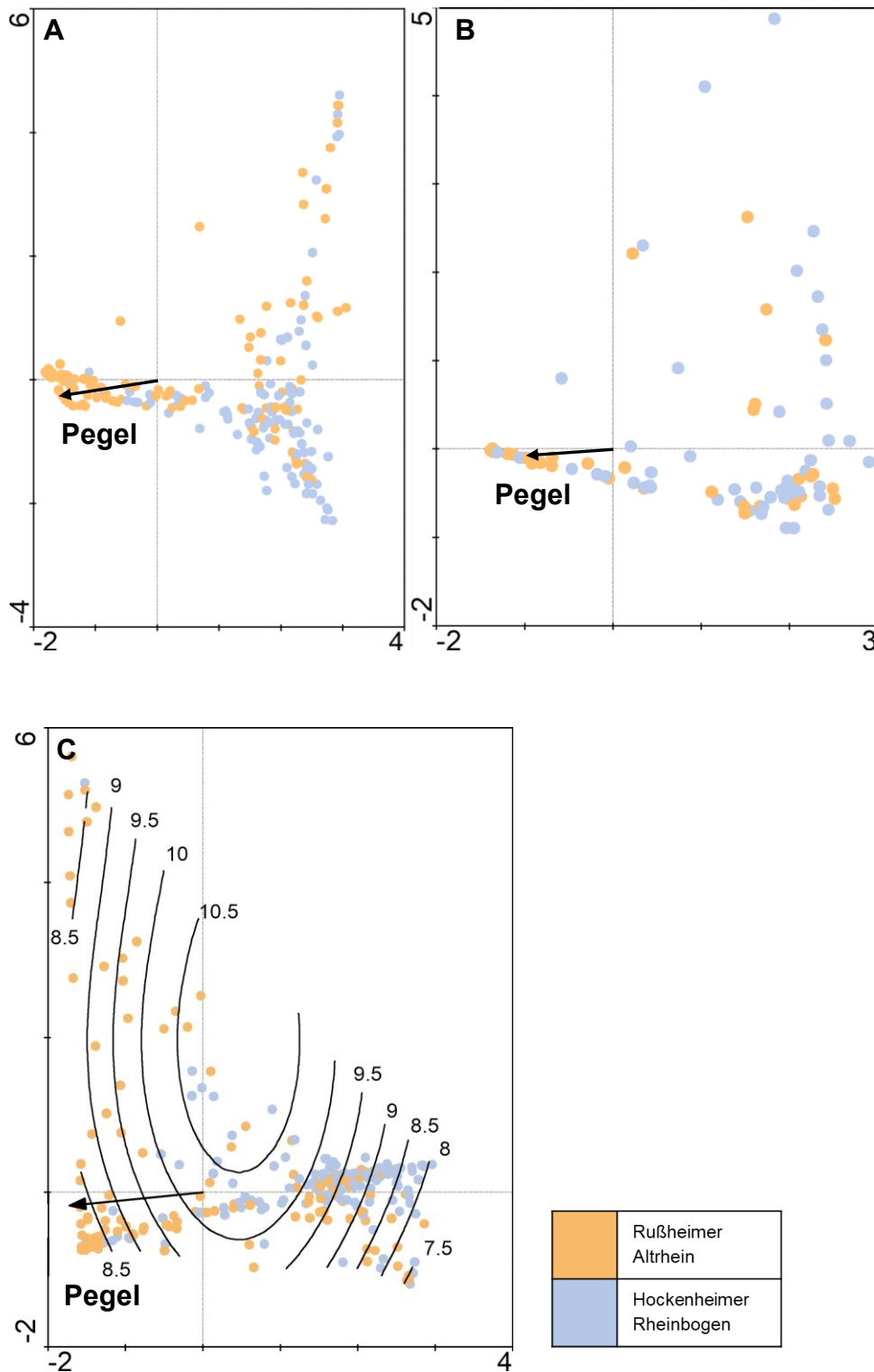


Abbildung 24: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Dipterenzönose abhängig vom Makrohabitat. A) Daten 1995–1997, B) Daten 2019, C) Ordinationsdiagramm für alle Untersuchungsjahre erweitert um einen Symbolplot. Die Isolinien im Symbolplot geben die jeweiligen Artzahlen und der Pfeil den Vektor des Umweltfaktors Pegelstand an. Eigenwerte der ersten Ordinationsachse: A) = 0,755, B) = 0,624 und C) = 0,707. Eigenwerte der zweiten Ordinationsachse: A) = 0,567, B) = 0,430 und C) = 0,566. Es zeigt sich, dass die Dipterenzönose im Zeitraum 1995–1997 sich etwas stärker an der zunehmenden Umweltvariablen Pegel orientiert (stärkere Gruppierung der Artaufnahmen entlang des Vektors). Der Symbolplot C) zeigt, dass die Dipteren-Diversität (bezogen auf die jeweilige detektierte Anzahl an Dipterenfamilien) in beiden Makrohabitaten ähnlich hoch ausfällt. Die Dipteren-Diversität korreliert hierbei nicht positiv mit der Zunahme des Pegelstands, sondern ist unabhängig von dieser.

4.5.4.2 Mikrohabitate

Die MRPP für den Umweltfaktor Mikrohabitat konnte die vier Mikrohabitate Schilf, Schlute, Wald und Gewässer paarweise vergleichen und zeigte für alle Klassifikationen signifikant unterschiedliche Artenzusammensetzungen. Bei der ISA konnten für die Mikrohabitate Schlute und Gewässer Indikatortaxa bestimmt werden. Für die Gewässer-Standorte waren *Chironomidae*, *Chaoboridae* und *Simuliidae* typisch. Die Schlutenstandorte wiesen mit *Sciaridae*, *Brachycera*, *Cecidomyiidae* und *Psychodidae* die meisten Indikatortaxa auf. Die *Ceratopogonidae*, verfehlen mit einem Indikatorwert von 22,2 (p-Wert: 0,017) formal knapp den Indikatorwertquotienten ($IV \geq 25$) als Indikatortaxa für die Gewässer (Tabelle 8), können aber als eine zusätzliche schwache Indikatorart für das Mikrohabitat Schlute gewertet werden.

Tabelle 8: Per ISA ermittelte Indikatortaxa für die Mikrohabitate. IV = Indikatorwert, $p < 0,05$. Die jeweiligen Indikatortaxa weisen eine Affinität für das jeweilige Mikrohabitat auf.

Art	Mikrohabitat	IV	p
<i>Sciaridae</i>	Schlute	60,6	< 0,001
<i>Brachycera</i>	Schlute	35,6	0,010
<i>Cecidomyiidae</i>	Schlute	32,6	< 0,001
<i>Psychodidae</i>	Schlute	32,5	< 0,001
<i>Chironomidae</i>	Gewässer	61,6	< 0,001
<i>Chaoboridae</i>	Gewässer	22,8	0,012
<i>Simuliidae</i>	Gewässer	6,7	0,002

Die indirekte Gradientenanalyse (Abbildung 25) zeigt, dass die Dipterenzusammensetzung der Gewässerhabitate im Ordinationsdiagramm in beiden Untersuchungszeiträume mit dem Vektor des Pegels korreliert. In der Untersuchungsperiode 1995 bis 1997 ist zudem auffällig, dass die Art-aufnahmen der Schilfstandorte sich räumlich über die Gesamtfläche des Ordinationsdiagramm anordnen.

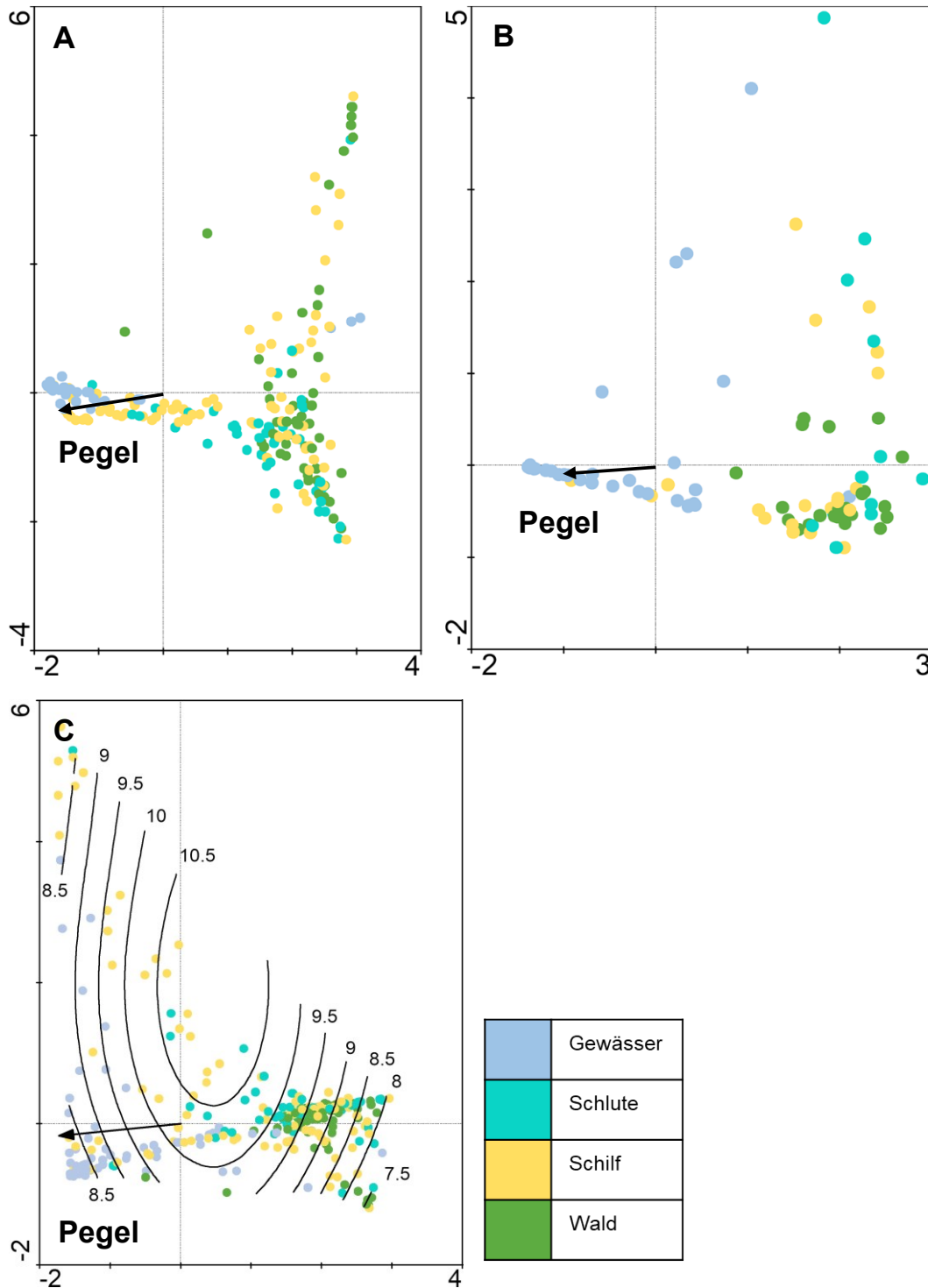


Abbildung 25: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Dipterenzönose abhängig vom Mikrohabitat. A) Daten 1995–1997, B) Daten 2019, C) Ordinationsdiagramm für alle Untersuchungsjahre, erweitert um einen Symbolplot. Die Isolinien im Symbolplot geben die jeweiligen Artzahlen und der Pfeil den Vektor des Umweltfaktors Pegelstand an. Eigenwerte der ersten Ordinationsachse: A) = 0,755, B) = 0,624 und C) = 0,707. Eigenwerte der zweiten Ordinationsachse: A) = 0,567, B) = 0,430 und C) = 0,566. Es zeigt sich, dass sich die Dipterenzönose der Gewässer- als auch der Schilfstandorte im Zeitraum 1995–1997 stark an der Umweltvariablen Pegel orientieren. 2019 korrelieren die Dipteren an den Schilfstandorten nicht so ausgeprägt mit dem Pegel. Die Zunahme der Taxazahlen korreliert nicht mit dem Pegel. Die höchste Diversität wurde in den Schilf- und Schlutenstandorten mit über 10 Arten pro Artaufnahme erfasst.

4.5.4.3 Gewässertypen

Alle Gewässertypen der terrestrischen Standorte, der temporären sowie semipermanenten Tümpel und der permanenten Gewässer sind im paarweisen Vergleich per MRPP signifikant voneinander unterscheidbar. Für die terrestrischen und temporären Standorte konnten kein Indikatortaxon nachgewiesen werden. Als Indikatortaxa der semipermanenten Tümpel konnten die *Psychodidae* und die *Culicidae* nachgewiesen werden. Die Indikatortaxa für die permanenten Gewässer sind die *Chironomidae* und die *Chaoboridae* (Tabelle 9).

Tabelle 9: Per ISA ermittelte Indikatortaxa für die semipermanenten und permanenten Gewässer. IV = Indikatorwerte, $p < 0,05$. Die jeweiligen Indikatortaxa weisen eine Affinität für das jeweilige Gewässertypen auf.

Indikatorart	Gewässertyp	IV	p
Brachycera	semipermanenter Tümpel	59,8	< 0,001
<i>Psychodidae</i>	semipermanenter Tümpel	56	< 0,001
<i>Culicidae</i>	semipermanenter Tümpel	31,8	0,007
<i>Chironomidae</i>	permanentes Gewässer	51,6	< 0,001
<i>Chaoboridae</i>	permanentes Gewässer	37,2	0,004

Die indirekte Gradientenanalyse der beiden Untersuchungsperioden 1995 bis 1997 und 2019 zeigt, dass die Gruppe der permanenten Gewässer mit dem Vektor für den Umweltfaktor Pegel korreliert. Die Untersuchungsperioden unterscheiden sich jedoch in der jeweils zweiten abgesetzten Gruppe. Diese wird in den 1990er-Jahren von den temporären Tümpeln und im Jahr 2019 von den semipermanenten Tümpeln gebildet (Abbildung 26).

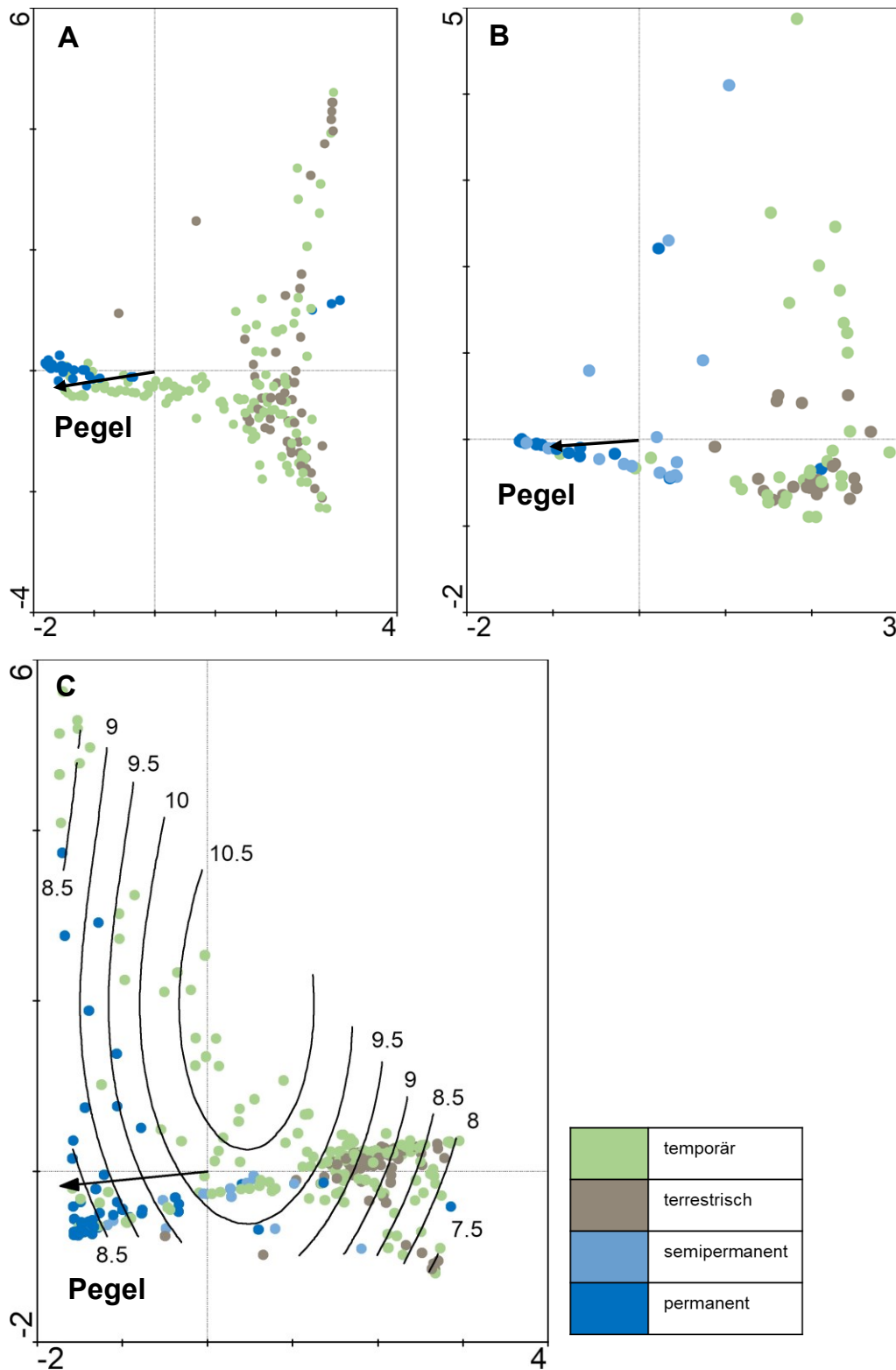


Abbildung 26: Ordinationsdiagramm der indirekten Gradientenanalyse der Dipterenzönose abhängig vom Gewässertyp. A) Daten 1995–1997, B) Daten 2019, C) Ordinationsdiagramm für alle Untersuchungsjahre, erweitert um einen Symbolplot. Die Isolinien im Symbolplot geben die jeweiligen Artzahlen und der Pfeil den Vektor des Umweltfaktors Pegelstand an. Eigenwerte der ersten Ordinationsachse: A) = 0,755, B) = 0,624 und C) = 0,707. Eigenwerte der zweiten Ordinationsachse: A) = 0,567, B) = 0,430 und C) = 0,566. Es zeigt sich, dass die Dipterenzönosen den semipermanenten und permanenten Gewässern in allen Untersuchungsjahren mit der Umweltvariablen Pegel korrelieren. Im Zeitraum 1995–1997 korrelierten zudem die Dipteren der temporären Gewässer mit der Zunahme des Pegels. Der Symbolplot C) zeigt, dass die temporären Gewässer unabhängig vom Pegel die höchste Diversität mit mehr als zehn Taxa pro Artaufnahme generieren.

4.5.5 Vergleich der Chironomidenzönose der Jahre 1995 bis 1997 und 2019

Zur Analyse der Zusammensetzung und Diversität der Chironomidenzönose über einen Zeitraum von 20 Jahren habe ich den Gesamtdatensatz der Jahre 1995 bis 1997 von Fillinger (1999) sowie die Daten aus dem Jahr 2019 als Berechnungsgrundlage herangezogen. Für jeden einzelnen Habitats-Bezugsrahmen (auf Ebene der Makro- und Mikrohabitate sowie des Gewässertyps) wurde jeweils eine MRRP und ISA berechnet (Kapitel 4.3.6). Zusätzlich wurde die Artzusammensetzung der Chironomiden jeweils per indirekter Gradientenanalyse (CA) dargestellt. Eine Einführung der dazugehörigen Ordinationsdiagramme findet sich in Kapitel 4.3.6.3.

Für die *Absence-Presence*-Analyse der Chironomidenarten habe ich insgesamt Daten von 166 Probenahmen aus den Jahren 1995 bis 1997 und 2019 ausgewertet. Aufgrund der nicht vorhandenen Abundanzdaten können nur die Nachweishäufigkeiten der einzelnen Chironomidenarten bestimmt werden. Insgesamt wurden in allen Proben 148 Arten nachgewiesen, verteilt auf 811 Einzelfunde. Zudem wurde berechnet, wie oft *Chironomidae* innerhalb der Proben gefunden wurden. In den Proben von 2019, 1995, 1996 und 1997 konnten 15 %, 45 %, 17 % und 22,5 % des insgesamt bestimmten Chironomiden-Artspektrums nachgewiesen werden. Eine ausführliche Darstellung der Daten kann dem Anhang 6 entnommen werden.

4.5.5.1 Makrohabitate

Beide Makrohabitate sind bezüglich ihrer *Chironomidae*-Artzusammensetzung höchst signifikant mit $p = < 0,001$ unterscheidbar. Für keins der Makrohabitate konnten Indikatorarten mit einem entsprechend hohen Indikatorwert ($IV \geq 50$) bestimmt werden.

Sowohl in der gemeinsamen Darstellung (Abbildung 27, C) als auch in der Einzeldarstellung (Abbildung 28) zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Makrohabitaten in den Untersuchungsjahren 1995 bis 1997 und 2019. Zudem zeigt der Vektor des Umweltgradienten Pegel ein klares Muster: Je höher der Pegelstand ausfällt, desto mehr Arten korrelieren positiv mit ihm (Abbildung 27, C). Es zeigt sich, dass sich die Artaufnahmen der 1990er-Jahren räumlich näher beieinander gruppieren, während sich die Artaufnahmen von 2019 im Ordinationsdiagramm viel stärker streuen. Auch die Umweltfaktoren Pegel und Monat sind im direkten Vergleich unterschiedlich ausgeprägt. Die höchste Artdiversität wurde im Makrohabitat Rußheimer Altrhein mit bis zu 16 Chironomidenarten pro Artaufnahme erfasst (Abbildung 28).

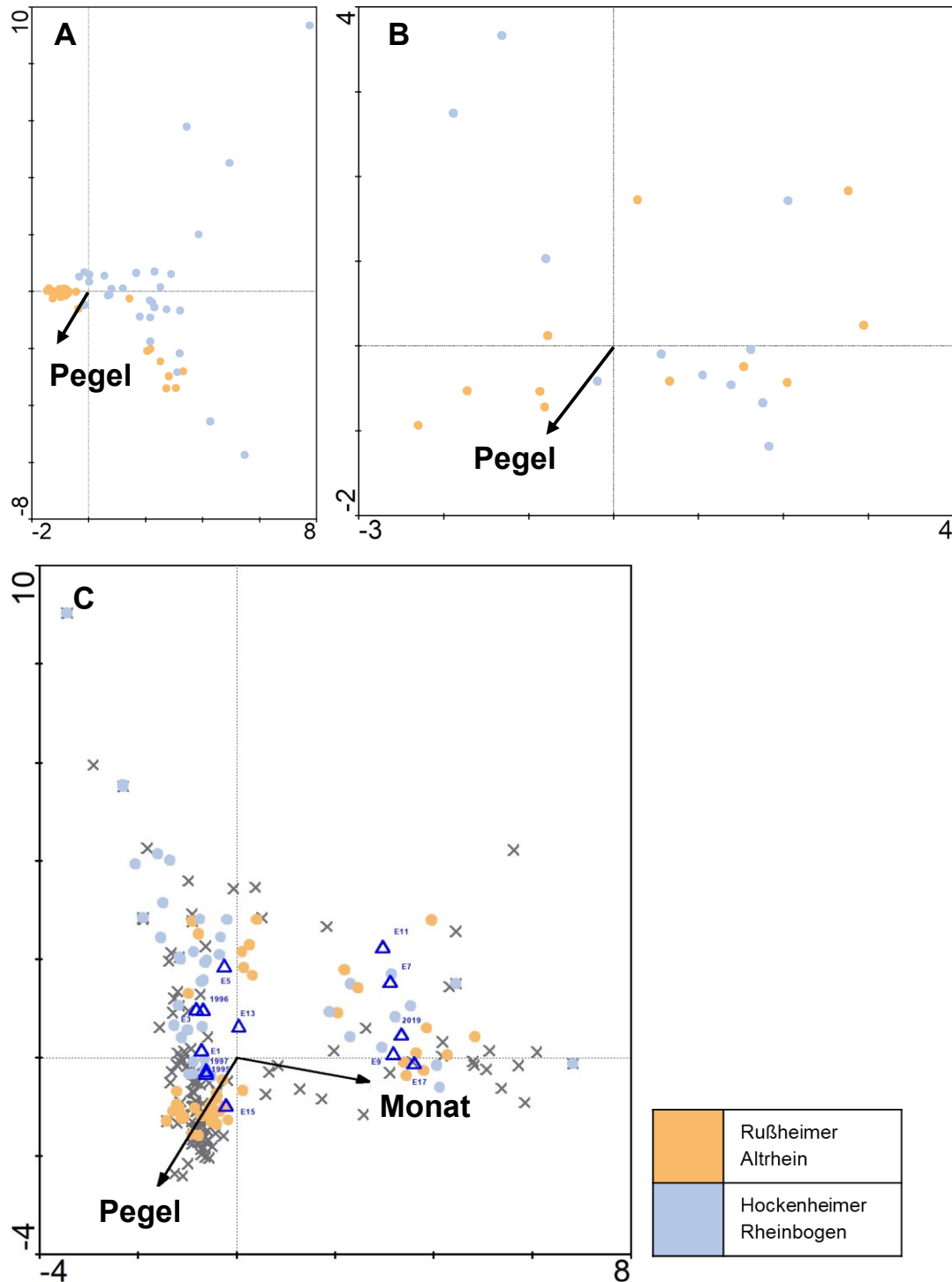


Abbildung 27: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Makrohabitat. A) Daten 1995–1997, B) Daten 2019, C) alle Untersuchungsjahre. Die blauen Dreiecke geben den gewichteten Mittelpunkt der nominalen Variablen der Eklektoren und der Untersuchungsjahre an. Die grauen Kreuze stehen für den gewichteten Mittelpunkt der einzelnen Arten. Die Pfeile stehen für die Vektoren der Umweltfaktoren Monat und Pegel. Eigenwerte der ersten Ordinationsachse: A) = 0,681, B) = 0,683 und C) = 0,706. Eigenwerte der zweiten Ordinationsachse: A) = 0,613, B) = 0,507 und C) = 0,663. Es zeigt sich, dass die Chironomidenzönose in beiden Makrohabitaten jeweils mit den Umweltvariablen Pegel und Monat korrelieren und sich an diesen Vektoren ausrichten. Das bedeutet, dass beide Umweltfaktoren einen Einfluss auf die Artzusammensetzung der Chironomiden nehmen. Dabei korrelieren die Artaufnahmen des Makrohabitats Rußheimer Altrhein deutlich mehr mit höheren Pegelständen als die Artaufnahme des Hockenheimer Rheinbogens.

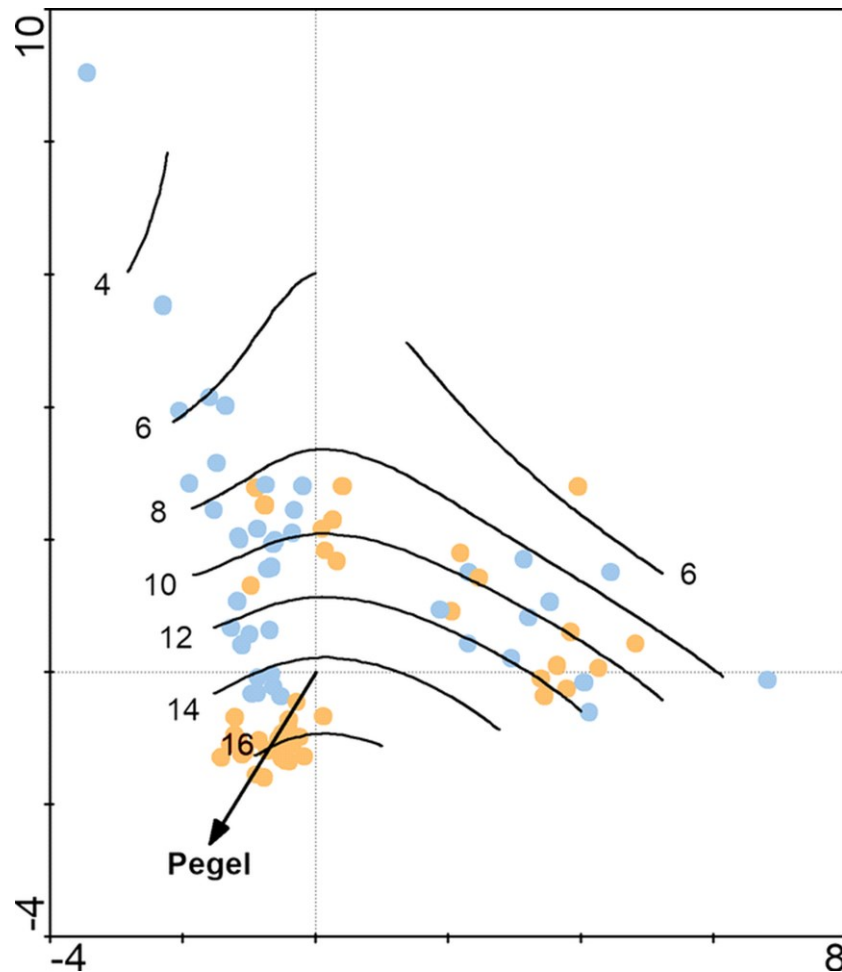


Abbildung 28: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Makrohabitat, erweitert um einen Symbolplot. Die Isolinien geben die jeweiligen Artzahlen und der Pfeil den Vektor des Umweltfaktors Pegel an. Der Eigenwert der ersten Ordinationsachse ist 0,706. Der Eigenwert der zweiten Ordinationsachse ist 0,663. Die Zunahme der Artzahlen korreliert in beiden Makrohabitaten mit dem Vektor Pegel. Die höchste Diversität wurde im Makrohabitat Rußheimer Altrhein mit bis zu 16 Arten pro Aufnahme erfasst.

4.5.5.2 Mikrohabitate

Die MRPP für den Umweltfaktor Mikrohabitat zeigt, dass alle Mikrohabitate, mit Ausnahme der Mikrohabitate Schlute und Wald, signifikant voneinander abgegrenzt werden können. Die Artzusammensetzungen dieser Mikrohabitate unterscheiden sich somit signifikant voneinander. Es konnten ausschließlich Indikatorarten für die Schilf- und Gewässerhabitate definiert werden. *Xenopelopia nigricans* konnte als einzige Indikatorart für die Schilfstandorte bestimmt werden. Für die Gewässerstandorte konnten 9 Indikatorarten bestimmt werden (Tabelle 10).

Tabelle 10: Per ISA ermittelte Chironomiden-Indikatorarten für die Mikrohabitate Schilf und Gewässer. IV = Indikatorwerte, $p < 0,05$. Die jeweiligen Indikatorentaxa weisen eine Affinität für das jeweilige Mikrohabitat auf.

Indikatorart	Mikro- habitat	IV	p
<i>Xenopelopia nigricans</i>	Schilf	28,0	0,003
<i>Glyptotendipes pallens</i>	Gewässer	45,5	< 0,001
<i>Procladius choreus</i>	Gewässer	41,4	0,001
<i>Endochironomus tendens</i>	Gewässer	27,8	0,001
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	Gewässer	32,6	0,002
<i>Cricotopus (I.) sylvestris</i>	Gewässer	34,1	0,003
<i>Tanytus punctipennis</i>	Gewässer	25,2	0,006
<i>Parachironomus arcuatus</i>	Gewässer	27,4	0,007
<i>Polypedilum sordens</i>	Gewässer	30,4	0,008
<i>Endochironomus albipennis</i>	Gewässer	26,6	0,012

Das Ordinationsdiagramm der CA (Abbildung 29, A) zeigt, dass sich im Untersuchungszeitraum 1995 bis 1997 die Artaufnahmen der Gewässerstandorte etwas nach links absetzen und dort gruppieren. Die Mikrohabitate Schlute und Schilf weisen kein konkretes Muster auf. Auch im Jahr 2019 korrelieren ausschließlich die Artaufnahmen der Gewässerstandorte mit dem Vektor des Pegels. Die gemeinsame Darstellung alle Untersuchungsjahre (Abbildung 29, C) zeigt, dass sowohl der Umweltfaktor Pegel als auch der Monat einen Einfluss auf die Chironomidenzönose hat. Der Symbolplot aller gemeinsamer Untersuchungsjahre (Abbildung 30) zeigt, dass die generelle Zunahme der Artzahlen in den Mikrohabitaten mit dem Vektor Pegel korreliert. Die höchste Diversität mit bis zu 16 Arten pro Artaufnahme wurde in den Habitaten Gewässer und Schilf detektiert. In den Schlutenstandorten konnten bis zu 14 Arten pro Artaufnahme detektiert werden.

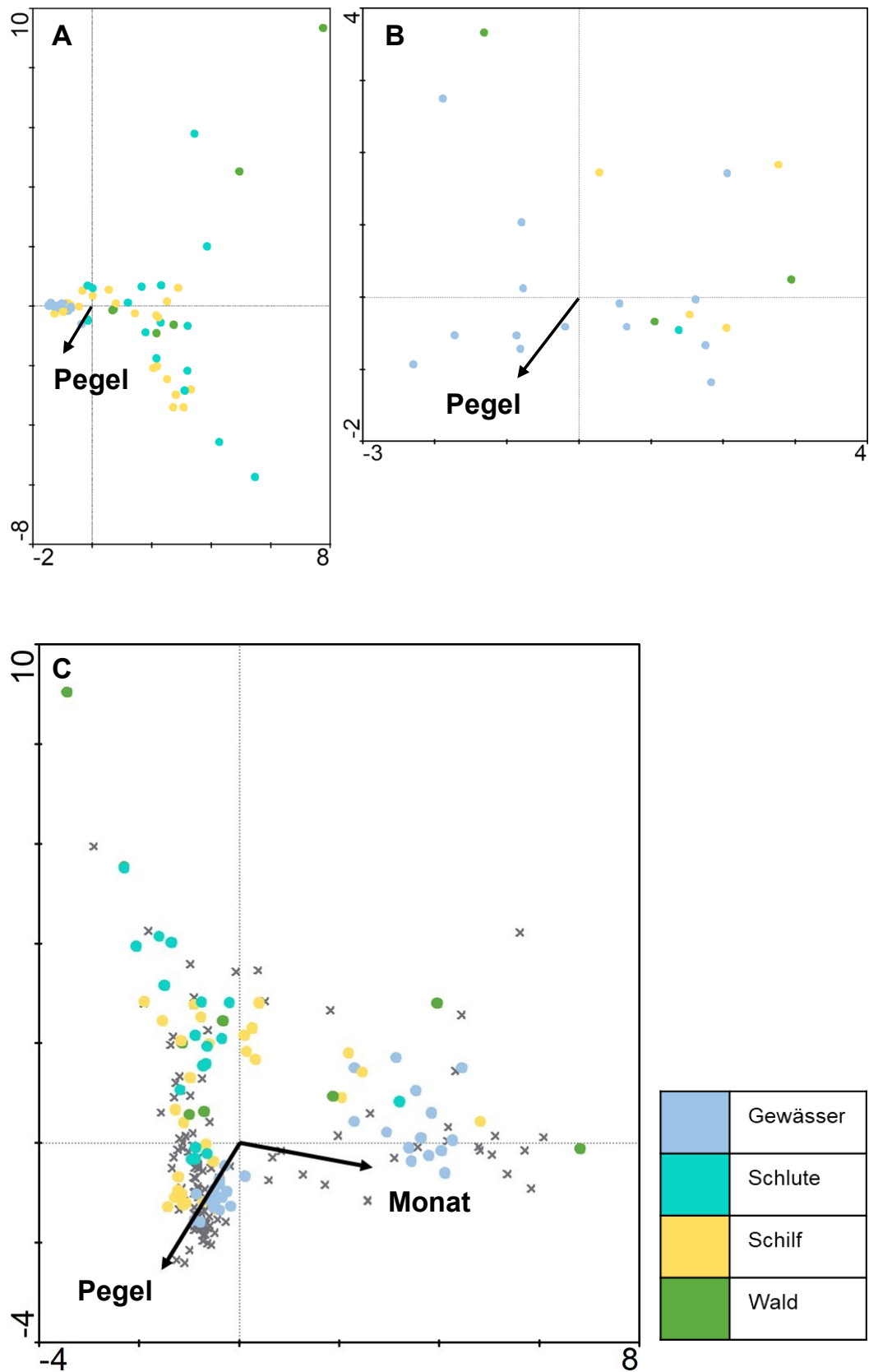


Abbildung 29: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Mikrohabitat. A) Daten 1995–1997, B) Daten 2019, C) alle Untersuchungsjahre. Die grauen Kreuze stehen für den gewichteten Mittelpunkt der einzelnen Arten. Die Pfeile stehen für die Vektoren des Umweltfaktoren Monat und Pegelstand an. Eigenwerte der ersten Ordinationsachse: A) = 0,681, B) = 0,683 und C) = 0,706. Eigenwerte der zweiten Ordinationsachse: A) = 0,613, B) = 0,507 und C) = 0,663. Es zeigt sich, dass beide Umweltfaktoren Pegel und Monat einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Chironomidenzönose nehmen.

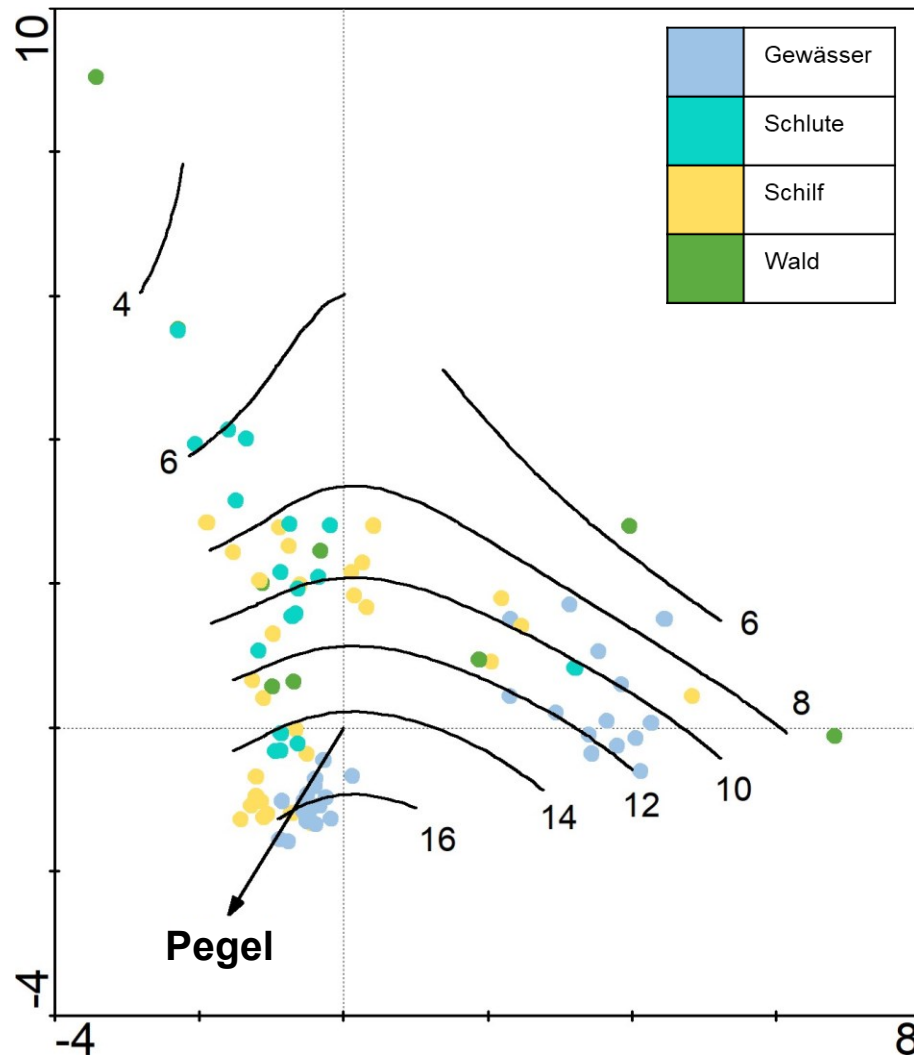


Abbildung 30: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose aller Untersuchungsjahre, abhängig vom Mikrohabitat, ergänzt um einen Symbol-Plot. Die Isolinien geben die jeweiligen Artzahlen und der Pfeil den Vektor des Umweltfaktors Pegel an. Der Eigenwert der ersten Ordinationsachse ist 0,706. Der Eigenwert der zweiten Ordinationsachse ist 0,663. Die generelle Zunahme der Artzahlen korreliert in den Mikrohabitaten mit dem Vektor Pegel. Die höchste Diversität wurde in den Habitaten Gewässer und Schlute mit bis zu 16 Chironomidenarten pro Artaufnahme detektiert.

4.5.5.3 Gewässertypen

Die Artzusammensetzungen aller Gewässertypen (terrestrisch, temporäre Tümpel, semipermanente Tümpel und permanente Gewässer) sind im paarweisen Vergleich der MRPP signifikant voneinander unterscheidbar. Es konnten keine Indikatorarten für temporäre Tümpel und terrestrische Standorte bestimmt werden (Tabelle 11). Für die semipermanenten Gewässer konnten fünf und für die permanenten Gewässer 12 Indikatorarten detektiert werden.

Tabelle 11: Ermittelte Chironomiden-Indikatorarten für die Gewässertypen der semipermanenten und permanenten Gewässer. IV = Indikatorwert, $p < 0,05$

Indikatorart	Mikrohabitat	IV	p
<i>Limnophyes sp.</i>	semipermanent	43,4	0,001
<i>Paratanytarsus dissimilis</i>	semipermanent	36,9	0,002
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	semipermanent	29,8	0,005
<i>Prodiamesa olivacea</i>	semipermanent	25,0	0,005
<i>Procladius choreus</i>	semipermanent	61,8	< 0,001
<i>Glyptotendipes pallens</i>	permanent	60,0	< 0,001
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	permanent	55,2	< 0,001
<i>Parachironomus arcuatus</i>	permanent	44,7	< 0,001
<i>Polypedilum sordens</i>	permanent	39,0	0,002
<i>Tanytarsus punctipennis</i>	permanent	38,1	0,003
<i>Chironomus sp.</i>	permanent	35,5	0,005
<i>Psectrotanytarsus varius</i>	permanent	30,4	0,004
<i>Cricotopus (L.) sylvestris</i>	permanent	30,2	0,020
<i>Cricotopus (L.) intersectus</i>	permanent	29,0	0,012
<i>Tanytarsus holochlorus</i>	permanent	27,6	0,008
<i>Endochironomus tendens</i>	permanent	25,8	0,014
<i>Natarsia punctata</i>	permanent	25,0	0,020

In den beiden Untersuchungsperioden 1995–1997 und 2019 setzt sich die Gruppe der permanenten Gewässer von den anderen Artaufnahmen ab und korreliert positiv mit dem zunehmenden Pegelstand (Abbildung 31). In der Untersuchungsperiode 1995–1997 korrelieren zusätzlich die temporären Gewässer stärker positiv mit dem Pegelstand und Untersuchungszeitpunkt 2019 auch die semipermanenten Gewässer. Die generelle Zunahme der Artzahlen korreliert in den unterschiedlichen Gewässerhabitaten mit dem Vektor Pegel. Die höchste Diversität wurde in den temporären und permanenten Gewässern mit 16 Arten detektiert (Abbildung 32).

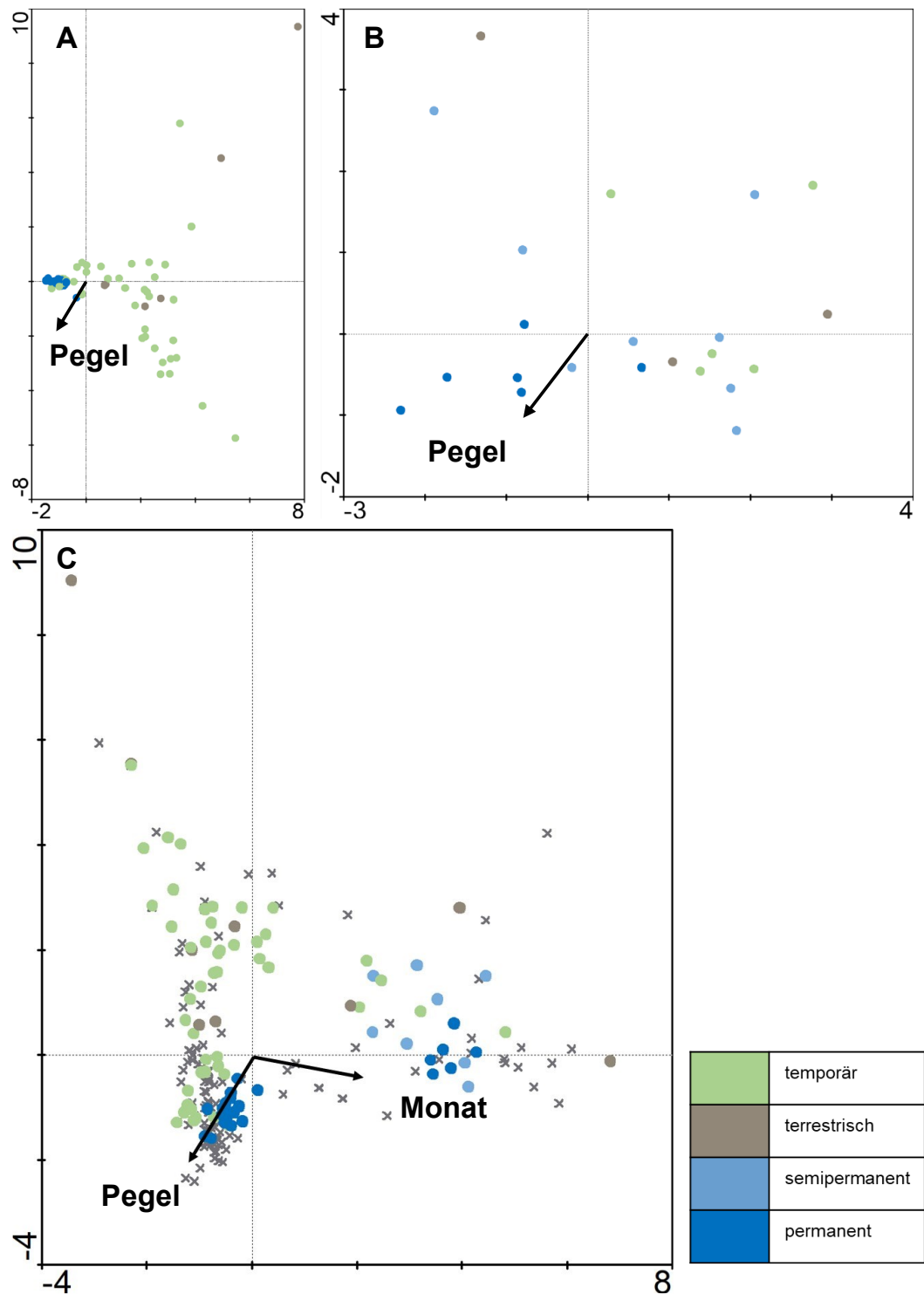


Abbildung 31: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose abhängig vom Gewässertyp. A) Daten 1995–1997, B) Daten 2019, C) alle Untersuchungsjahre. Die grauen Kreuze stehen für den gewichteten Mittelpunkt der einzelnen Arten. Die Pfeile stehen für die Vektoren des Umweltfaktoren Monat und Pegel an. Eigenwerte der ersten Ordinationsachse: A) = 0,681, B) = 0,683 und C) = 0,706. Eigenwerte der zweiten Ordinationsachse: A) = 0,613, B) = 0,507 und C) = 0,663. Es zeigt sich, dass insbesondere die Artaufnahmen der permanenten und temporären Gewässer mit dem Umweltfaktor Pegel korrelieren. Aber auch der Umweltfaktor Monat beeinflusst die Chironomidenzönose.

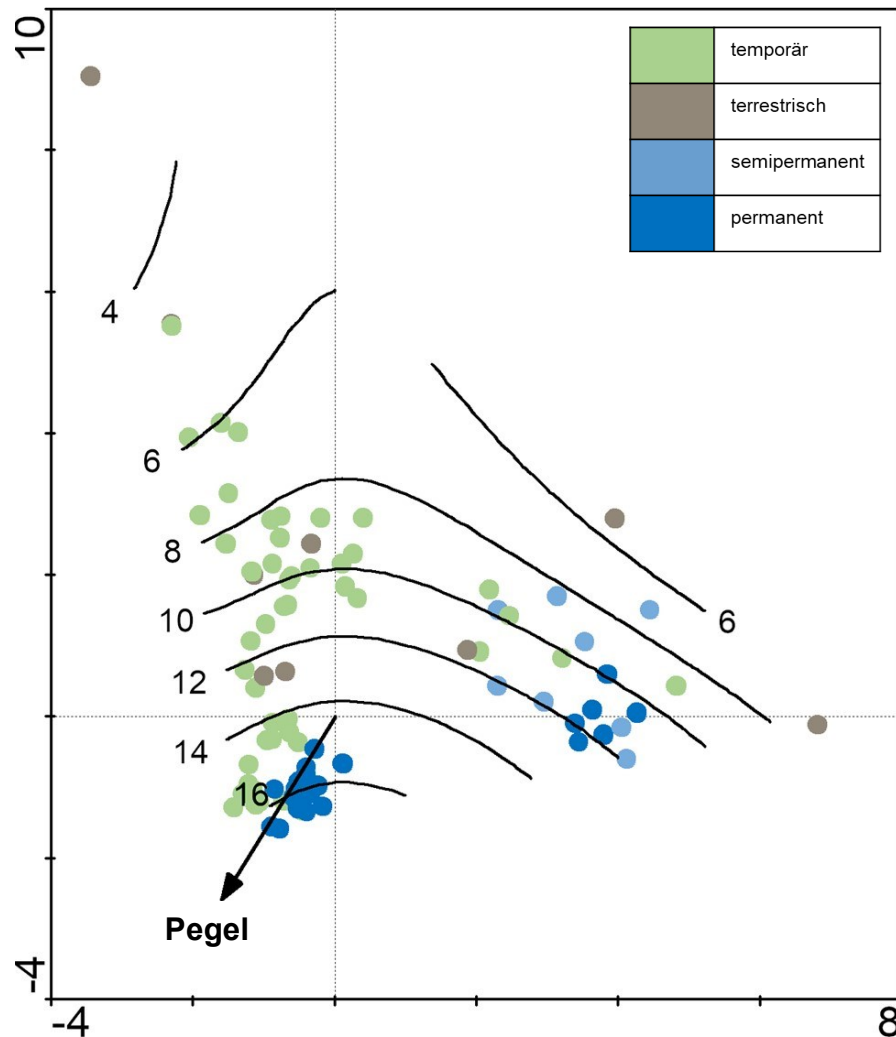


Abbildung 32: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (indirekte Gradientenanalyse) der Chironomidenzönose aller Untersuchungsjahre, abhängig vom Gewässertyp, ergänzt um einen Symbol-Plot. Die Isolinien geben die jeweiligen Artzahlen und der Pfeil den Vektor des Umweltfaktors Pegel an. Der Eigenwert der ersten Ordinationsachse ist 0,706. Der Eigenwert der zweiten Ordinationsachse ist 0,663. Die generelle Zunahme der Artzahlen korreliert in den unterschiedlichen Gewässerhabitaten mit dem Vektor Pegel. Die höchste Artendiversität wurde in den temporären und permanenten Gewässern mit bis zu 16 Arten pro Artaufnahme detektiert.

4.5.5.4 Auswirkungen des Pegelstands auf die Chironomidenentwicklung

Zur Bestimmung der Korrelation zwischen der Chironomidenentwicklung und dem Pegelstand wurde eine ANCOVA berechnet (Abbildung 33). Als Kovariante wurde der Pegel einbezogen. Hierbei zeigte sich, dass die Chironomidenentwicklung sowohl vom Pegel (t -Wert = 3,729; $p < 0,001$ ***) als auch vom Mikrohabitat (t -Wert = 4,407, $p < 0,001$ ***) abhängig ist. Es gibt jedoch auch eine Signifikanz, wenn der Pegel zusammen mit dem Mikrohabitat Gewässer (t -Wert = -3,371, $p < 0,001$ ***) und dem Mikrohabitat Schlute (t -Wert = 3,919, $p < 0,001$ ***) auftritt.

Es zeigt sich also, dass die Chironomidenabundanz vom Pegel als auch vom Mikrohabitat abhängig ist. In den Mikrohabitaten Schlute und Gewässer ist der Pegel systematisch erhöht, weswegen es nicht möglich ist, diese beiden Einflussfaktoren getrennt voneinander zu betrachten. Es ist daher davon auszugehen, dass eine Kombination aus Mikrohabitat als auch Pegelstand auf die Chironomidenzönose wirkt.

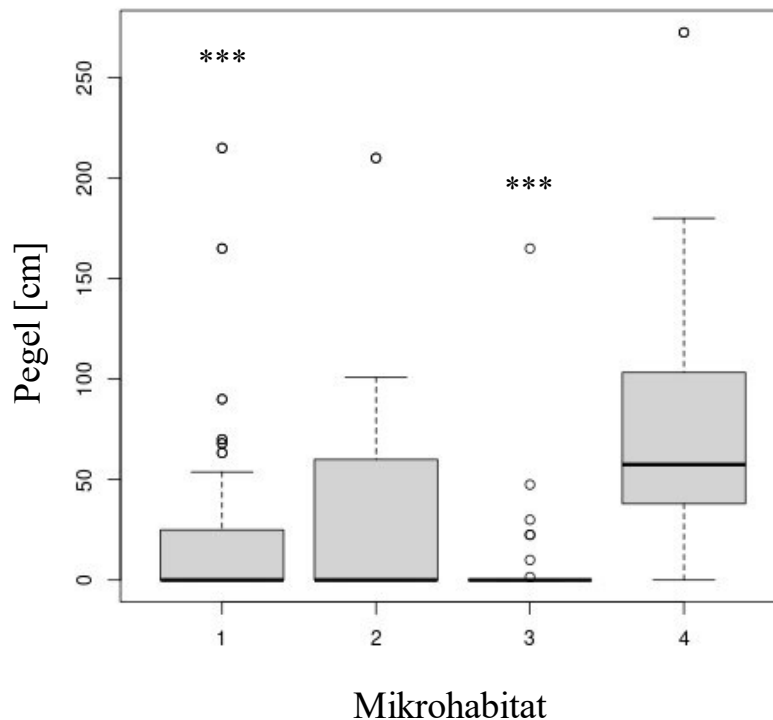


Abbildung 33: Abundanz der *Chironomidae* in den verschiedenen Mikrohabitaten. 1 = Schilf, 2 = Schlute, 3 = Wald, 4 = Gewässer (***) $\triangleq p \leq 0,001$). Der Pegelstand hat einen sehr signifikanten Einfluss auf die Chironomidenpopulation der Mikrohabitate Schilf und Schlute. Die Abundanz der Chironomiden ist im Mikrohabitat Gewässer (unabhängig vom Pegelstand) am höchsten.

4.6 Diskussion

4.6.1 Dipterenzönose

Im Folgenden diskutiere ich die einzelnen Untersuchungsergebnisse zur Betrachtung der Dipterenzönose in den verschiedenen Habitaten des Auwalds. Hierbei wird erneut einzeln Bezug auf die untersuchten Makro- und Mikrohabitate, als auch auf die Gewässertypen, genommen. Anschließend diskutiere ich in Kapitel 4.6.1.4 die Entwicklung der Dipteren zusammenfassend.

4.6.1.1 Makrohabitate

Beide untersuchten Makrohabitate (Hockenheimer Rheinbogen und Rußheimer Altrhein) ließen sich zwar per MRPP signifikant unterscheiden, jedoch ähneln sich die Zusammensetzungen ihrer Dipterenzönosen. Im Vergleich mit den Referenzdaten aus 1995–1997 von Fillinger (1999) zeigt sich, dass sich die Dipterenzönose über die letzten Jahrzehnte in ihrer Struktur, trotz verschiedener wirkender Umwelteinflüsse, kaum verändert hat.

4.6.1.2 Mikrohabitate

Alle untersuchten Mikrohabitate weisen eine individuelle und signifikant unterschiedliche Artenzusammensetzung auf. Gleichzeitig wird deutlich, dass der Großteil der detektierten Dipterenfamilien die meisten Mikrohabitate der Auen besiedeln kann; auch wenn die Dipterenfamilien jeweils Affinitäten zu bestimmten Mikrohabitaten aufweisen, in denen sie dann hohe Dichten entwickeln. Nur wenige Dipterenfamilien, wie beispielsweise die *Chaboridae* und *Simuliidae*, waren nicht in allen Mikrohabitaten vertreten. Ähnlich wie in den 1990er-Jahren dominierten auch 2019 die Nematocera in der Gesamtabundanz. Die Dominanz der Nematocera war 2019 jedoch nicht

ganz so deutlich ausgeprägt wie in den 1990er-Jahren. Damals dominierten die Nematocera in allen untersuchten Mikrohabitaten, während 2019 vor allem die aquatischen Standorte, aber auch die Schlutenstandorte von den Nematocera besiedelt wurden. Über den gesamten Untersuchungszeitraum lässt sich zudem die Gemeinsamkeit herausarbeiten, dass die Brachycerenabundanz mit zunehmendem Pegelstand zahlenmäßig abnimmt. Dieses Zusammenspiel konnte auch schon von Dister (1980) und Fillinger (1999) beobachtet werden.

Mikrohabitat Wald: Die Waldstandorte wiesen 2019 eine ausgeglichene Verteilung von Nematocera und Brachycera auf, was sich auch in den Untersuchungen von Fillinger (1999) wiederfindet. Dies wird auch von Fritz (1982) bestätigt, der die Nematoceren-Populationen in Überschwemmungsgebieten des nördlichen Oberrheins untersuchte. Auch in seiner Studie standen die untersuchten Auwaldstandorte kaum unter Hochwassereinfluss. Er beschreibt die Zusammensetzung der Auwaldstandorte als *Sciaridae-Cecidomyiidae-Mycetophilidae*-Zönose, betont aber die dort vorherrschenden Spezialisten aus den Familien *Tipulidae*, *Sciaridae* und *Mycetophilidae*.

Mikrohabitat Schlute: Die Schluten-Probestellen wiesen als Indikatortaxa Brachycera, *Sciaridae*, *Cecidomyiidae*, *Psychodidae* auf. Diese Indikatortaxa entsprechen alle den Charakteristika der Schluten, die als semiaquatische Standorte sowohl Einflüsse terrestrischer als auch aquatischer Standorte aufweisen. Denn sowohl die *Sciaridae*, *Psychodidae* als auch die *Cecidomyiidae* leben als Larven weitgehend terrestrisch, bevorzugen aber feuchte Habitate. Typische aquatische Vertreter sind nicht zu finden. Die Larven der *Psychodidae* weisen eine hohe Spezialisierung auf und können an rein terrestrischen Standorten, aber seltener auch in stehenden oder fließenden Gewässern gefunden werden. Ihre Imagines sind für Dipteren sehr klein, haben einen gedrungenen Habitus und gelten als schlechte Flieger. Sie sind daher vor allem in unmittelbarer Nähe ihrer Fortpflanzungsstätten zu finden (Werner, 1997).

Die Ergebnisse von 2019 stimmen sehr gut mit denen von Fillinger (1999) überein. Sie konnte im Untersuchungszeitraum von 1995–1997 für die Schlutenstandorte eine Biozönose der *Sciaridae-Psychodidae-Ceratopogonidae* nachweisen, die bei hoher Feuchtigkeit oder Überflutungsereignissen durch die Familie der *Chironomidae* ergänzt wurde. Die *Ceratopogonidae* konnten 2019 zwar formal nicht als Indikatortaxa für die Schlutenstandorte gewertet werden, da ihr Indikatorwert mit 22,2 knapp unter dem erforderlichen Wert von 25 lag, jedoch war diese Familie auch 2019 an den Schlutenstandorten vertreten.

Fillinger (1999) führte 1997 zusätzlich eine Untersuchung (März–Oktober) in der untersuchten Schlute des Hockenheimer Rheinbogens (entspricht in der vorliegenden Arbeit der Probestelle 03 und 04) durch, wobei sie sowohl die terrestrische als auch die aquatische Phase dieses Standortes untersuchte. Dabei betrug die längste Überflutungsdauer sechs Wochen. In der terrestrischen Phase dominierten *Sciaridae*, *Psychodidae*, *Chaoboridae* und *Chironomidae*, in der aquatischen Phase dagegen *Culicidae*, *Chaoboridae* und wiederum *Chironomidae*.

Mikrohabitat Gewässer: Für die aquatischen Standorte konnten drei Dipterenfamilien *Chironomidae*, *Chaoboridae* und *Simuliidae*, als Indikatorarten identifiziert werden. Diese Familien sind für aquatische Lebensräume typisch. Die Ergebnisse aus 2019 entsprechen exakt den Beobachtungen aus den 1990er-Jahren (Fillinger, 1999).

Mikrohabitat Schilf: Das Fehlen von Indikatortaxa für das Mikrohabitat Schilf kann dadurch erklärt werden, dass dieses Mikrohabitat je nach Ökophase von unterschiedlichen Nematocera-Familien dominiert wird. Dies wurde auch in der Korrespondenzanalyse der Jahre 1995 bis 2019 deutlich. Während lang anhaltender Überflutungsereignisse, wie sie zum Beispiel 1995 stark ausgeprägt waren, kam es zu einer fast reinen Chironomidenzönose, wie sie für permanente Gewässerstandorte typisch ist. Unter temporäreren Bedingungen wie in den Jahren 1996/97 bildeten sich

Mycetophilidae-Chironomidae-Ceratopogonidae-Gesellschaften oder unter sehr trockenen Bedingungen *Culicidae-Ceratopogonidae-Chironomidae*-Gesellschaften aus (Fillinger, 1999). Im Jahr 2019 ist die Dipterenzönose des Schilfs am ehesten als *Cecidomyiidae-Chironomidae-Sciaridae*-Gesellschaft zu beschreiben.

Dies wird auch durch die Daten von Fritz (1982) bestätigt. Er untersuchte über vier Jahre unterschiedlich feuchte Schilfstandorte und fand die höchsten Artenzahlen bei den *Sciaridae* und *Cecidomyiidae* mit jeweils 16 Arten, gefolgt von den *Chironomidae* mit elf Arten, wobei auffällig ist, dass die Artenzahlen in den kürzer überfluteten Schilfbeständen um 23 % höher waren als in den länger überfluteten Standorten. Die Abundanz aller Nematoceren mit 6350 Imagines war jedoch an den trockeneren Standorten weniger als halb so hoch wie an den feuchteren Standorten (Fritz, 1982).

4.6.1.3 Gewässertypen

Alle Gewässertypen weisen eine individuelle und signifikant unterschiedliche Artenzusammensetzung auf, allerdings konnten nur für die semipermanenten und permanenten Gewässer Indikatortaxa bestimmt werden.

Semipermanente Tümpel: Neben den Brachycera und *Psychodidae* wurden auch die *Culicidae* als Indikatortaxa für semipermanente Tümpel identifiziert.

Auffällig ist jedoch, dass die *Culicidae* nicht als Indikatortaxa für temporäre Gewässer, sondern lediglich für semipermanente Gewässer identifiziert wurden. Denn eigentlich haben die typischen Auwaldmücken wie *Aedes vexans* ihre Massenbrutstätten in ephemeren temporären Gewässern. Da *Aedes vexans* die dominante Stechmückenart in den Auen des Oberrheins ist, wäre eigentlich zu erwarten gewesen, dass sie als Massenvertreter der *Culicidae* in den Auen die temporären Gewässer dominiert; auch da sie perfekt an ephemer-temporäre Habitate angepasst ist, indem sie Trockenperioden in der Ei-Phase überdauert (Becker, 1984, 2010).

Eine Erklärung für das Ausbleiben der Klassifikation der *Culicidae* als Indikatorart der temporären Gewässer könnte sein, dass *Aedes vexans* in den Untersuchungsjahren 1995 bis 1997 während Hochwasserereignissen durch die KABS bekämpft und somit die Individuenzahl künstlich reduziert wurde. Außerhalb der Hochwasserereignisse fehlte der nötige Schlupfreiz, weswegen mit einem Auftreten von *Aedes vexans* nicht zu rechnen war. Im Jahr 2019 fand in den Untersuchungsflächen zwar keine Bti-Applikation statt, allerdings war das Jahr sehr trocken, sodass es zu keinem Massenaufreten von *Aedes vexans* kam.

Aedes vexans ist jedoch nicht der einzige Vertreter der *Culicidae*, der sich auf temporäre Gewässer spezialisiert hat. Insgesamt wurden bisher beispielsweise 18 Arten der Gattung *Aedes* beschrieben, die Spezialisten für temporäre Gewässer sind (Becker, 2003b). Andere Arten der Gattung *Aedes* sp., wie beispielsweise *Aedes cantans* und *Aedes rusticus*, die auch als „Sumpfwaldstechmücken“ bezeichnet werden, entwickeln sich dagegen in den semipermanenten bis permanenten Gewässern der Sumpfwälder. Die Weibchen legen ihre Eier in den feuchten Waldboden. Der Schlupf der Larven erfolgt bereits im Frühjahr, zum Beispiel nach der Schneeschmelze. Aufgrund der niedrigen Temperaturen und der langen Entwicklungszeit erfolgt die Emergenz jedoch erst von April bis Mai (Becker, 2003b). Anders sieht es bei den Gattungen *Culiseta* (7 Arten), *Culex* (6 Arten) und *Anopheles* (6 Arten) aus. Von diesen insgesamt 19 Arten sind nur acht typische Bewohner temporärer Gewässer, während neun Arten auch in permanenten Stillgewässern vorkommen können (Dettinger-Klemm, 2000). Von den sechs einheimischen *Culex*-Arten sind in den Oberrheinauen quantitativ vor allem *Culex pipiens* und *Culex torrentium* von Bedeutung. Beide *Culex*-Arten sind Imaginalüberwinterer und besitzen daher keine Austrocknungsadaptation

in Form einer Ei-Diapause (Dettinger-Klemm, 2000). Sie besiedeln ihre Fortpflanzungsgewässer jedes Jahr neu und sind daher in langlebigen Gewässern zu finden.

Die unterschiedlichen Habitatansprüche der Culiciden in Kombination mit der vorherrschenden Trockenheit in den temporären Gewässern könnte die Verschiebung der Culiciden als Indikatortaxon in Richtung der semipermanenten Gewässer erklären. In den Untersuchungen 2019 stellten sie die dritthäufigste Dipterenfamilie ($n = 154$) in den semipermanenten Gewässern dar, während die Chironomiden ($n = 5198$) die höchsten Abundanzen ausbildete.

Wissinger (1999) unterstützt die Klassifikation der Culiciden als nicht nur rein temporäre, sondern auch semipermanente Dipterenfamilie, da er bei seinen Untersuchungen der Entomofauna hochalpiner Feuchtgebiete Vertreter der Gattung *Aedes* sowohl in Gewässern mit einer Überflutungsdauer von 40 bis 64 Tagen als auch in Gewässern mit einer Überflutungsdauer von 71 bis 116 Tagen nachweisen konnte. Erst ab einer Überflutungsdauer von mehr als 130 Tagen fehlten *Aedes* sp. (Dudley Williams, 2005; Wissinger, 1999).

Permanente Gewässer: Die Indikatoren für die permanenten Gewässer waren die *Chironomidae* und die *Chaoboridae*, was den Habitatpräferenzen der meisten Vertreter dieser Familien entspricht. Diese Ergebnisse stimmen auch mit denen von Fillinger (1999) überein. Auch Fillinger (1999) beobachtete, dass die Gewässerstandorte ausschließlich durch *Chironomidae*, ggf. mit *Ceratopogonidae* oder *Chaoboridae* als Begleitfauna, charakterisiert sind. Fritz (1982) beschreibt die Vorliebe der Familie *Chaoboridae* für permanente Gewässer, obwohl die Art *Chaoborus flavicans* im Oberrheingebiet auch in temporären Überflutungsgebieten, zusammen mit Arten der *Aedes* sp., vorkommen kann. Er beschreibt die Art als in vielen Jahren dominant in den permanenten Altrheinarmen des Oberrheingebietes. *Chaoborus pallidus* erwies sich als Primärbesiedler nach Austrocknungsereignissen, welcher hohe Individuendichten ausbilden kann (Fritz, 1982).

4.6.1.4 Die Dipterenentwicklung in temporären Auenhabitaten

Vergleicht man die Anzahl der nachgewiesenen Dipterenfamilien, wird deutlich, dass temporäre, semipermanente und permanente Tümpel eine ähnlich hohe Diversität aufweisen. Der Wasserstand scheint daher für die Entwicklung der Diversität der Diptera keine entscheidende Rolle zu spielen.

Die vorliegenden Ergebnisse werden durch Cummis und Merrit (1996), Williams und Fellmat (1993) sowie Williams (1996) gestützt. Ihre Ergebnisse zeigen, dass die Gesamtordnung der Diptera sowohl in lotischen als auch in lenitischen temporären Gewässern über den gesamten Feuchtigkeitsgradienten vorkommen. Sie stellten für die Familien *Chironomidae*, *Ceratopogonidae* und *Culicidae* ein Auftreten in sowohl temporären als auch permanenten Gewässern fest. Dies gilt nach Ansicht der Autoren auch für die *Tipulidae*, die in der vorliegenden Studie auch in allen Gewässertypen, aber relativ dominant in den temporären bis terrestrischen Standorten nachgewiesen werden konnten.

Obgleich die meisten Dipterenfamilien das gesamte Feuchtigkeitsspektrum abdecken können, korreliert ihre Abundanz positiv mit längeren Wasserständen. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch Fritz (1982), der die Auswirkungen von Trockenheitsperioden auf die Dipteren der Altrheinarme untersuchte. Er konnte zeigen, dass, allgemein betrachtet, die *Chironomidae* in der aquatischen Ökophase sowohl die diverseste als auch die abundanteste Nematocerenfamilie der Auenhabitats darstellen. Bei frühen Austrocknungsereignissen dominierten jedoch die *Limoniidae* die Altrheinarme. Fielen die Altrheinarme stattdessen erst in den Herbstmonaten trocken, dominierten die *Sciaridae* sowie die terrestrischen *Chironomidae*.

Es lässt sich somit zusammenfassend feststellen, dass alle Auenhabitats und das gesamte Feuchtigkeitsspektrum für die Entwicklung einer hohen Diversität dieser Insektenordnung beitragen.

4.6.2 Chironomidenzönose

Im Folgenden diskutiere ich die einzelnen Untersuchungen zur Betrachtung der Chironomidenzönose in den verschiedenen Habitats des Auswaldes. Auch in diesem Kapitel nehme ich Bezug auf die untersuchten Makro- und Mikrohabitats, als auch auf die Gewässertypen. Anschließend fasse ich in Kapitel 4.6.3 die Entwicklung der Chironomiden über die letzten zwanzig Jahre zusammen.

4.6.2.1 Makrohabitats

Der Vergleich der Artenzusammensetzung der Chironomiden in den beiden Untersuchungsperioden 1995 bis 1997 und 2019 zeigt, dass sowohl das Arteninventar als auch die Korrelation mit dem Wasserstand zwischen den Makrohabitats sehr divers ist.

Die Chironomidenzönose im Makrohabitat Rußheimer Altrhein entwickelte sich in beiden Untersuchungsperioden in Abhängigkeit vom Wasserstand; auch wenn die positive Korrelation mit dem Umweltparameter Pegel im Untersuchungsjahr weniger stark ausgeprägt war wie 1995 bis 1997.

Anders sieht es dagegen im Makrohabitat Hockenheimer Rheinbogen aus. Hier korrelieren die Artenaufnahmen beider Untersuchungsperioden nicht sehr ausgeprägt mit einer Zunahme des Pegelstandes, was auf den eher temporären Charakter des Hockenheimer Rheinbogens hinweist. Beide Makrohabitats wiesen zwar ähnliche Artenzahlen aus, jedoch keine speziellen Indikatorarten. Daraus lässt sich ableiten, dass die Unterschiede in der Chironomidenzönose nicht spezifisch auf das Makrohabitat zurückzuführen sind, sondern eher auf kleinräumige Veränderungen innerhalb der Mikrohabitats beziehungsweise Gewässertypen.

4.6.2.2 Mikrohabitats

Beim Vergleich der Artenzusammensetzung der Chironomiden in den Mikrohabitats wird deutlich, dass vor allem Indikatorarten für die Gewässerstandorte nachweisbar sind. Die neun Zeigerarten der Gewässerstandorte sind typische Vertreter der lang bis permanent wasserführende Gewässer, weshalb ihre Indikatorfunktion hier sehr plausibel ist.

Für die Schilfstandorte konnte nur eine Indikatorart nachgewiesen werden: *Xenopelopia nigricans*. Larven dieser Chironomidenart wurden erstmals im Rahmen einer Begleituntersuchung zur Stechmückenbekämpfung im Oberrheingebiet beschrieben (Halvelka and Rieder, 1979). Nach Dettinger und Bohle (1996) kommt die Art auch in ausgetrockneten Tümpeln vor. Vallenduuk und Moller Pillot (2013) beschreiben, dass die Art nicht ausschließlich, aber häufig in temporären Gewässern auftritt. Kreuzer (1940) gibt an, dass die Eier dieser Art in trockenem Boden überdauern können. Die Vorliebe der Larven für bewachsene und trockenere Böden in Tümpeln, Seen und Sümpfen sowie für höhere Wassertemperaturen machen die Art als Indikatorart für Schilfstandorte sehr glaubwürdig (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013).

4.6.2.3 Gewässertypen

Obwohl alle einzelnen Gewässertypen per MRRP voneinander abgegrenzt werden konnten, war es nicht möglich, für alle Gewässertypen Indikatorarten zu bestimmen. Dies war nur für die semipermanenten und permanenten Gewässer möglich. Dies steht in starkem Kontrast zum Ergebnis der Korrespondenzanalyse. Diese konnte zeigen, dass sich nicht nur in den permanenten,

sondern auch in den temporären Gewässern eine hohe Artenzahl ausbildet. Diese ist in beiden Gewässertypen positiv mit dem Umweltfaktor Pegelstand korreliert.

Die positive Korrelation von Chironomiden der temporären Gewässer mit einer Pegelzunahme kann auch erklären, weswegen die Chironomidenpopulationen der temporären Gewässer 2019 weniger stark entwickelt waren als im Untersuchungszeitraum 1995 bis 1997. Denn das Jahr 2019 war sehr trocken, weshalb sich in diesem Jahr nur wenige Chironomidenarten in den temporären Gewässern ansiedeln konnten. In der relativ feuchten Untersuchungsperiode 1995 bis 1997 wurde dagegen ein Großteil der Chironomidenarten in den temporären Gewässern nachgewiesen. Dies dient gleichzeitig als Erklärung, weswegen keine Indikatorarten bestimmt werden konnten. Denn da für die Berechnung der Indikatoren beide Untersuchungsperioden einbezogen wurden, war der Kontrast zwischen den trockenen und feuchten Jahren vermutlich zu hoch, um aussagekräftige Indikatorwerte zu berechnen.

4.6.3 Zusammenfassung: Änderung und Diversität der Chironomidenzönose in (temporären) Auentümpeln der letzten zwanzig Jahre

Im Vergleich der letzten 20 Jahre lassen sich für die Chironomidenpopulation in den Auentümpeln des Oberrheingebietes ähnliche Muster ableiten. So ist die Verteilung der Chironomidenarten auf Makrohabitatebene ähnlich, verändert sich aber zunehmend, je kleiner der Bezugsrahmen wird. Dies ist auf die fluktuierenden multifaktoriellen Umwelteinflüsse, wie jahresabhängige Witterung und Hochwasserereignissen, zurückzuführen.

In allen Untersuchungsjahren dominieren die Arten der Unterfamilie *Chironominae* in den permanenten Gewässern, gefolgt von der Unterfamilie *Tanypodinae*. Allerdings sind bei der Betrachtung des exakten Artspektrums große Abweichungen zu den Referenzdaten von Fillinger (1999) festzustellen. So wurden im Untersuchungsjahr 2019 insgesamt 15 %, 1995 45 %, 1996 17 % und 1997 22,5 % des insgesamt bestimmten Artspektrums nachgewiesen. Dies verdeutlicht die zu Teilen großen Schwankungen innerhalb der Artzusammensetzung der Chironomidenzönose.

Die Abundanzwerte der *Chironomidae* korrelieren positiv mit einer längerfristigen Wasserführung. Dieser allgemeine Zusammenhang wird durch die ANCOVA (Kapitel 4.5.5.4) bestätigt. Übertragen von der Modellberechnung auf die Natur, bedeutet dies, dass sich Chironomiden in Auen immer dann sowohl in hoher Artendichte als auch Abundanz entwickeln können, wenn ein Gebiet ausreichend lange überflutet ist. Hierbei spielt der Gewässertyp an sich eine untergeordnete Rolle, da die Chironomiden die Habitate unter anderem als passive und aktive Primärbesiedler (Kolonisten) besiedeln oder die zwischenzeitlichen Trockenphasen im Habitat selbst überdauern konnten (Kapitel 2.1.2). Insbesondere in den temporären bis semipermanenten Auenhabitaten (wie beispielsweise den Schilf- und Schlutenstandorten) ist zu erkennen, dass eine längerfristige Flutung zur Entwicklung einer hohen Artdiversität führen kann. Zwar werden die stabilsten Chironomidenpopulationen innerhalb der permanenten Gewässer gefunden (Dettinger-Klemm, 2003; Dettinger-Klemm and Bohle, 1996; Fritz, 1982; Frouz et al., 2003), allerdings sollte die Diversität der Chironomiden in den länger Wasser führenden temporären bis semipermanenten Auenhabitaten nicht unterschätzt werden. So zeigen andere Autoren, wie Fritz (1982), Steinhart (1999) und Fillinger (1999), dass die Artdiversität insbesondere in den Grenzbereichen zwischen terrestrischen und aquatischen Mikrohabitaten äußerst hoch ausfallen kann. Schnabel (2000) untersuchte von Hochwasser geflutete Tümpel im Bereich der Lahnaue. Sie stellte eine Lebensraumspezifität von 22 % der dort angesiedelten Chironomidenarten für Habitate im semi-aquatischen Bereich (temporäre Tümpel und Wasser-Land-Übergangszonen) fest. In ihren Untersuchungen waren 52% aller Chironomidenarten passive Neubesiedler, die durch Hochwasserereignisse eingetragen wurden. 10 % zeichneten sich durch aktive Besiedelung der temporären

Gewässer aus und weitere 10 % überdauerten im Substrat. Bemerkenswert ist, dass selbst im frühzeitigen austrockneten Frühjahrstümpel, mit einer Trockenphase zwischen April und Januar, sich noch 25 % aller Chironomidenarten etablieren konnten. In kürzer austrocknenden Bereichen von maximal 5–8 Monaten konnten sich sogar über 60 % der eingewanderten Arten etablieren (Schnabel, 2000).

Der Vergleich langfristiger Datensätze zeigt, dass ein gewisser dominanter „Dauerbesiedelungsstock“ an Chironomidenarten immer wieder in denselben Gebieten nachweisbar ist, aber ein meist größerer Anteil der Artendiversität durch kurzzeitig auftretende und fluktuierende Chironomidenarten gestellt wird. Dieser Trend lässt sich regional für die Chironomidenzönose der Auengebiete des Oberrheins, aber auch für Untersuchungen über mehrere Jahre in anderen Feuchtgebieten beschreiben (Baloğlu et al., 2018; Dettinger-Klemm, 2003; Fillinger, 1999; Fritz, 1982; Schnabel, 2000; Steinhart, 1999; Steinhart, 2000; Wolfram et al., 2018).

5. Direkte (Bti-)Effekte auf die Chironomidenlarven und taxonomischer Methodenvergleich

Zur Überprüfung der Auswirkungen einer Bti-Ausbringung im Freiland auf Chironomidenlarven habe ich die Chironomidenzönose in den Jahren 2020 und 2022 in einem durch Rheinhochwasser geprägten Naturschutzgebiet untersucht. Um mögliche negative Effekte von Bti von dem Einfluss anderer natürlicher Umweltfaktoren, wie zum Beispiel Hochwasser- und Trockenperioden, zu trennen, wurde im Jahr 2020 zweimal Bti, im Rahmen einer routinemäßigen Stechmückenbehandlung der KABS, in dem Gebiet ausgebracht. Zusätzlich habe ich einen spezifischen Vergleich verschiedener taxonomischer Nachweismethoden für Chironomidenlarven durchgeführt. Ziel war der Vergleich der Effizienz und Nachweisgenauigkeit von morphologischer Bestimmung, Sanger-Sequenzierung und Metabarcoding.

5.1 Material und Methoden

Die Chironomidenpopulation im Untersuchungsgebiet Naturschutzgebiet Horreninsel wurde mithilfe eines Larvenmonitorings untersucht (Abbildung 34).

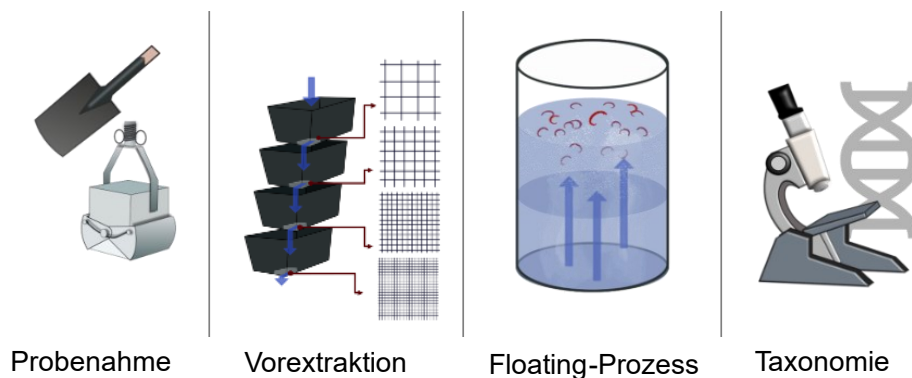


Abbildung 34: Schematischer Ablauf der Chironomidenlarven-Analyse

5.1.1 Probenahme

Ich habe an insgesamt neun Probestellen Bodenproben von 25 cm^3 (mit jeweils sechs Replikate pro Probenahme) entnommen. Bei $n = 6$ entspricht dies einer Fläche von $3,75 \text{ m}^2$ mit einer Tiefe von jeweils 25 cm . Bei trockenen Böden habe ich dazu einen Spaten verwendet, bei überfluteten Böden einen Ekman-Birge-Greifer mit gleichem Volumen. Die Probenahme erfolgte im Jahr 2020 an allen Probenahmestellen mindestens zweimal monatlich, im Jahr 2022 habe ich nur die Probenahmestellen U4/B4, U5/B5 und 11 monatlich beprobt (eine genaue Auflistung kann Anhang 14 entnommen werden). Obwohl ich im Jahr 2021 an allen Standorten mindestens monatlich Proben genommen habe, konnte ich diese aufgrund eines technischen Defektes an den zur Lagerung genutzten Gefrierschränken nicht mehr auswerten, weshalb diese in den Datensätzen fehlen.

5.1.2 Vorextraktion der Chironomidenlarven

Nach der Entnahme der Bodenproben habe ich die darin enthaltenen Larven in einer selbst entworfenen Siebkaskade vorextrahiert. Die Siebkaskade eignet sich am besten für Sedimente sowie für mit Humus und Pflanzen angereichertes Bodenmaterial. Sie bestand aus vier Kunststoffwannen mit einem Volumen von jeweils 90 Litern. Im Boden jeder Wanne war ein Siebrahmen eingelassen. Die Verwendung von Siebrahmen hatte gegenüber der direkten Befestigung von Sieben den Vorteil, dass die Siebkaskade mit Sieben unterschiedlicher Maschenweite modifiziert werden konnte. Die Kunststoffwannen waren stufenförmig angeordnet, sodass das Wasser durch das Sieb von einer Wanne in die darunter liegende Wanne floss. Auf diese Weise konnten vier Waschschritte in einem Arbeitsgang durchgeführt werden. Für diese Untersuchung wurden vier Siebe mit Maschenweiten von 2000 μm , 1300 μm , 1000 μm und 500 μm verwendet. Die größte Maschenweite fing gröberes Material wie Laubstreu, Makrophyten und kleine Äste auf. Diese Bestandteile mussten sorgfältig ausgewaschen werden, da sonst Chironomidenlarven daran haften bleiben könnten. Die beiden anschließend eingesetzten Maschenweiten (1300 μm und 1000 μm) enthielten die meisten Chironomidenlarven. Die feinste Maschenweite von 500 μm war die Sand- und Schlammstufe, in der nur kleinere Larven zu finden sind. In der vorliegenden Arbeit wurde als feinste Maschenweite 500 μm gewählt. Noch feinere Maschen wären aufgrund des hohen Schlamm- und Tongehaltes des zu bearbeitenden Bodens in kürzester Zeit verstopft und damit unbrauchbar geworden. Die Larven habe ich mit einem konstanten Wasserstrahl vorsichtig aus dem Boden und dem Pflanzenmaterial herausgespült. Das Restmaterial (einschließlich der Larven) aller Siebe habe ich am Ende des Siebkaskadenverfahrens in ein mit Frischwasser gefülltes Probengefäß (Volumen = 1 l) überführt. Die Proben wurden nach Vorgaben von Edwards und Fletcher (1970) bis zu 28 Tage bei 5 °C gelagert.

5.1.3 Selektive Extraktion der Chironomidenlarven

Im nächsten Schritt habe ich die Larven mithilfe der selbst entwickelten *Floating-Pipe*-Methode präzise aus dem Restmaterial der Siebkaskade extrahiert. Diese Methode ist eine mechanische Extraktionsmethode und ermöglicht die präzise Extraktion der Chironomidenlarven aus dem umgebenden Bodenmaterial. Sie ist eine Weiterentwicklung der *Ladell-Can*-Methode von Healey and Russell-Smith (1970). Die *Floating-Pipe*-Methode ermöglicht im Vergleich zu bestehenden Extraktionsmethoden die Bearbeitung größerer Probevolumina und ist daher für Monitoring-Projekte mit einem hohen Umsatz an Probenmaterial besser geeignet. Die Technik des *Floating-Pipes* beruht auf der spezifischen Dichte der zu extrahierenden Organismen und führt zu einer klaren Trennung von Ziel- und Restmaterial. Das Rohr selbst ist ein Polyethylen-Rohr mit einer Höhe von 50 cm und einem Durchmesser von 30 cm. Am Boden des Schwimmrohrs ist ein Sprudelsystem angebracht, das von einer Aquarienpumpe angetrieben wird, sodass eine starke Turbulenz im *Floating-Pipe* erzeugt werden kann.

Das Volumen des *Floating-Pipes* habe ich zu drei Vierteln mit einem Gemisch aus Glycerin und Wasser befüllt. Dies entspricht einem Mischungsverhältnis von 464 cm^3 Wasser mit 500 cm^3 Glycerin. Das Mischungsverhältnis wurde hierbei von Healy (1969) übernommen, welcher selbst mit Daten von Edwards (1967) arbeitete.

Das mithilfe der Siebkaskade grob vorextrahierte Bodenmaterial habe ich dem Wasser-Glycerin-Gemisch im *Floating-Pipe* zugesetzt. Danach habe ich mithilfe des Sprudelsystems eine Turbulenz erzeugt, welche für eine Separation der Larven aus dem restlichen Bodenmaterial sorgte. Nach Beendigung der Turbulenz sedimentierte das unerwünschte Boden- und Pflanzenmaterial auf den Boden des *Floating-Pipes* ab, während die Chironomidenlarven (aufgrund ihrer spezifischen Dichte) an der Oberfläche des Glycerin-Wassers-Gemisches trieben. Die Larven konnte ich

dann mithilfe einer Pinzette an der Oberfläche absammeln. Es empfiehlt sich, den Vorgang mehrere Male zu wiederholen, um sicherzustellen, dass alle Larven extrahiert wurden.

Nach der selektiven Extraktion wurden die Chironomidenlarven bis zur taxonomischen Analyse bei $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Hierfür wurden sie für die molekulare Analysen in Ethanol (85 %) und für ausschließlich morphologische Bestimmungen in Wasser gelagert, um eine Entfärbung zu verhindern.

5.1.4 Taxonomische Bestimmung

Nach der Extraktion habe ich die Chironomidenlarven morphologisch und molekular untersucht. Im ersten Bearbeitungsschritt der taxonomischen Bestimmung habe ich die extrahierten Larvenmischproben unter dem Binokular vorsortiert (*gepoolt*). Das bedeutet, dass alle Chironomidenlarven in morphologisch gleiche Einheiten gruppiert wurden. Hierfür habe ich makroskopisch erkennbare habituelle Merkmale wie beispielsweise die Anzahl an (Ventral-)Tubuli herangezogen. Im Zweifel habe ich mehrere Pools gebildet oder jede Larve einzeln präpariert. Dies war insbesondere für den Vergleich der verschiedenen Bestimmungsmethoden nötig (Kapitel 5.5). Für diesen wurden alle Larven einzeln analysiert, zu einem, um die Effektivität und Aussagekraft der einzelnen Methoden besser voneinander abgrenzen zu können, zum anderen, um molekulare Kreuzkontaminationen bei der Sanger-Sequenzierung zu verhindern.

Im nächsten Schritt habe ich eine fotografische Dokumentation der wichtigsten makroskopischen habituellen Merkmale der Chironomidenlarven vorgenommen. Hierzu wurden das *MikroLive-Imaging-Paket* und das Stereomikroskop Stemi 508 (Carl Zeiss, Oberkochen) verwendet.

5.1.5 Morphologische Bestimmung

Für die morphologische Artbestimmung habe ich die Präparationsmethode von Schiffels (LANUV, 2021) modifiziert, wobei auf eine Mazeration mit Kalilauge (10 %) verzichtet wurde. Die Präparation der Larven erfolgte durch einen Schnitt zwischen Kopfkapsel und erstem Larvenssegment. Bei kleineren Larven habe ich darauf verzichtet. Diese konnten direkt mazeriert werden. Anschließend wurden die Larven für mindestens fünf Minuten in Milchsäure (90 %) mazeriert. Nach der Mazeration wurde die Milchsäure vorsichtig mit einem Zellstofftuch entfernt. Die Larven habe ich dann mit der Kopfkapsel ventral auf einen Objektträger gelegt. Bei kleineren Larven wurde der gesamte Körper ventral orientiert. Anschließend habe ich die Larven mit Aquatex (Merck, Darmstadt), einem wasserlöslichen Einbettungsmittel, behandelt und mit einem Deckglas abgedeckt. Im letzten Präparationsschritt habe ich die Kopfkapseln der Larven mit dem stumpfen Ende einer Präpariernadel oder vorsichtig zwischen den Fingern zerdrückt (durch das Deckglas hindurch). Nach einer anschließenden Trocknungsphase habe ich das Präparat morphologisch bestimmt.

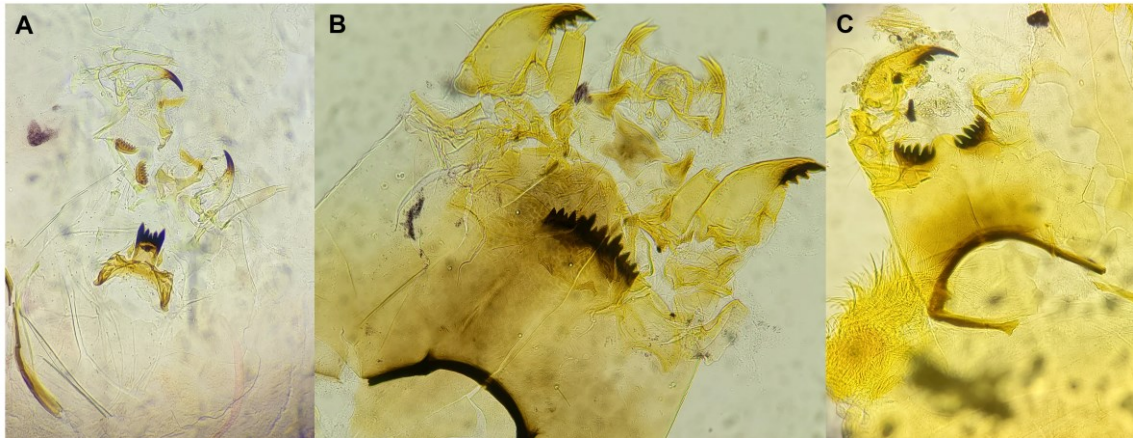


Abbildung 35: Beispiele für drei angerfertigte Präparate für die morphologische Bestimmung. Zu sehen sind drei verschiedene Gattungen. A) *Procladius* sp., aus der Unterfamilie der *Tanypodinae* mit typischer dunkler Ligula (im Zentrum des Bildes). Für die Bestimmung der Unterfamilie *Chironominae* ist die Struktur des Mentums entscheidend: B) *Chironomus* sp. und C) *Cryptochironomus* sp.

5.1.6 Statistik der morphologischen Bestimmung

Die statistischen Analysen der *Multiple response permutation procedure* (= MRPP) und der *Indicator Species Analysis* (= ISA) wurden jeweils mit der Software PC-ORD 6 auf Basis des Jaccard-Koeffizienten durchgeführt. Die Berechnung der direkten und indirekten Korrespondenzanalyse erfolgte mittels einer Form der multiplen Regression, nach dem Prinzip des gewichteten Mittels (*weighted average*), mithilfe der Software CANOCO. Als Distanzmaß wurden χ^2 -Distanzen benutzt (ter Braak und Beest, 2022). Als Voreinstellungen wurde jeweils eine logarithmische Transformation der Taxa, das Hill's-Scaling, Inter-Sample-Distance und *down-weighting of rare species* verwendet. Die Vorabselektion der Umweltmerkmale erfolgte mit Monte-Carlo-Permutationstests (199 Permutationsdurchläufe). Die Wahl der Tests erfolgte, da sich eine große Zahl der Taxa unimodal entlang der zu Grunde gelegten Umweltvariablen verhalten. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte über Ordinationsdiagramme. Weitere Details zur statistischen Methodik dieser Arbeit können Kapitel 4.3.6 entnommen werden. Alle im Rahmen dieser Untersuchung eingesetzten statistischen Methoden wurden in Kooperation mit Dr. Richard Ottermanns (SCIDAC, Raeren, RWTH Aachen) durchgeführt, der mich bei der bioinformatischen Analyse meiner (selbst erhobenen und aufbereiteten) Daten unterstützte.

5.1.7 Molekulare Artbestimmung zum Vergleich der Bestimmungsmethoden

Für den Vergleich der Bestimmungsmethoden habe ich die Chironomidenlarven einzeln nach dem in Kapitel 5.1.4 beschriebenen Verfahren vorpräpariert. Hierfür habe ich jede einzelne Larve nach der Fotodokumentation dreigeteilt: Die Kopfkapsel wurde mazeriert und präpariert (siehe Kapitel 5.1.5), die anderen zwei Drittel des Körpers wurden für die molekulare Analyse vorbereitet. Dazu habe ich das zweite Drittel des Larvenkörpers einzeln in ein Eppendorf-Tube (500 μ l) mit Ethanol (85 %) überführt. Aus dem letzten Drittel des Larvenkörpers habe ich Mischproben für das Metabarcoding hergestellt. Dazu habe ich die Gewebeprobe in ein Probenröhrchen (5 ml) mit Ethanol (80 %) überführt. Dabei habe ich die Probengefäße nach jedem Gebrauch mit Ethanol (100 %) und PCR-Clean gereinigt, um Kreuzkontaminationen so gering wie möglich zu halten. Um die Denaturierung der DNA zu reduzieren, habe ich die Proben für die molekularbiologische Analyse zusätzlich mit autoklavierten Pistillen für Zentrifugenröhrchen zerkleinert, um das Eindringen des Ethanols in die Gewebeproben zu gewährleisten.

5.1.7.1 Material und Reagenzien

Tabelle 12: Verwendete Chemikalien und Enzyme

Chemikalien und Enzyme	Summenformel	Hersteller
1,2,3-Propantriol	HOCH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	Th. Geyer, Renningen
2-Mercaptoethanol	C ₂ H ₆ SO	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
8-Hydroxychinolin	C ₉ H ₇ NO	Merck Schuchardt, Hohenbrunn
Agarose	C ₂₄ H ₃₈ O ₁₉	Carl Roth, Karlsruhe
Ammoniumacetat	C ₂ H ₇ NO ₂	Merck, Darmstadt
bovines Serumalbumin (BSA)	Protein	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
Bromphenolblau, Natriumsalz	C ₁₉ H ₁₀ Br ₄ O ₅ S, Na	Serva, Heidelberg
Chlorwasserstoff 32 %	HCl	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
Dichlormethan	CH ₂ Cl ₂	Honeywell, Seelze
EDTA-Dinatriumsalz	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ , 2H ₂ O	Bernd Kraft, Duisburg
Ethanol 70 %	C ₂ H ₅ OH	Universität Heidelberg
Ethanol 96 %	C ₂ H ₅ OH	Universität Heidelberg
Ethanol absolut 99,8 %	C ₂ H ₅ OH	Sigma-Aldrich, Steinheim
Ethidiumbromid	C ₂₁ H ₂₀ BrN ₃	Serva, Heidelberg
Essigsäure 96 %	CH ₃ COOH	Merck, Darmstadt
Guanidiniumthiocyanat	C ₂ H ₆ N ₄ S	Carl Roth, Karlsruhe
HighTaq DNA Polymerase	Protein	Bioron Diagnostics, Römerberg
Isoamylalkohol	C ₅ H ₁₂ O	Grüssing, Filsum
Isopropanol 99,9 %	C ₃ H ₈ O	Universität Heidelberg
Kaliumchlorid	KCl	Bioron Diagnostics, Römerberg
Lambda-DNA	DNA	Thermo Fischer Scientific, Karlsruhe
Magnesiumchlorid	MgCl ₂	Bioron Diagnostics, Römerberg
Natriumchlorid 0,9 %	NaCl	B. Braun, Melsungen
Natriumlaurylsulfat (SDS) 99,5 %	C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	AppliChem, Darmstadt
Natriumfluorid 99 %	NaF	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
Nucleotide (dNTPs; 100 mM):		Bioron Diagnostics, Römerberg
dATP: 2'-Deoxyadenosine 5'-triphosphate, Tetranatrium-EDTA	dATP: Na ₄ × 3 H ₂ O, MW 634,	
dCTP: 2'-Deoxycytidin 5'-triphosphate, Tetranatrium-EDTA	dCTP: Na ₄ × 3 H ₂ O, MW 609,	
dGTP: 2'-Deoxyguanosine 5'-triphosphate, Tetranatrium-EDTA	dGTP: Na ₄ × 3 H ₂ O, MW 649,	
dTTP 2'-Desoxythymidine 5'-triphosphate, Tetranatrium-EDTA	dTTP: Na ₄ × 3 H ₂ O, MW 624,	
PCR Clean	H ₃ PO ₄ , 2-(Dodecyloxy)ethanol, H ₂ O	Minerva Biolabs, Berlin
Phenol	C ₆ H ₆ O	Grüssing, Filsum
Primer	DNA-Fragmente	Eurofins Genomics, Ebersberg
Proteinase K	Protein	Qiagen, Hilden

Chemikalien und Enzyme	Summenformel	Hersteller
Pst I	Protein	Fermentas, St. Leon-Rot
Thymol	C ₁₀ H ₁₄ O	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	C ₄ H ₁₁ NO ₃	Carl Roth, Karlsruhe
Triton X-100	C ₁₄ H ₂₂ O(C ₂ H ₄ O) _{n(n=9-10)}	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim
Wasser, HPLC-Qualität	H ₂ O	AppliChem, Darmstadt

Tabelle 13: Verwendetes Labormaterial

Material	Hersteller
Einkanal-Pipette 2, 20, 200, 1000 µl	Gilson, Villiers-le-Bel, France
Gelkammer für Agarosegel-Elektrophorese	Universität Heidelberg
Handschuhe Latex Semperguard	Semperit, Austria
Handschuhe Nitril TouchNTuf	Ansell, Belgien
Microcomputer electrophorese power supply	Fröbel Labor Geräte, Lindau, Belgien
Mikrowelle Grill hot-air	Sharp, Japan
Mini Vortex Mixer	NeoLab, Deutschland
Pasteurpipetten 145 mm	Brand, Wertheim
PCR-Kappen	Kisker Biotech, Steinfurt / nerbe plus, Winsen an der Luhe
PCR-Mikroplatten 96 Well	nerbe plus, Winsen an der Luhe
PCR tubes	Kisker Biotech, Steinfurt
Pipettenspitzen 2 µl, 1 ml	Greiner Bio-One International, Fricken- hausen
Pipettenspitzen 200 µl	Sarstedt, Nümbrecht
Sequencer Applied Biosystems 3730 DNA Ana- lyzer	Thermo Fisher Scientific, Karlsruhe
Spectrophotometer Biowave II	Biochrom, Cambridge, United Kingdom
Syringe Sterilfilter 0,22 µm	Berrytec, Grünwald
Thermocycler LabCycler SensoQuest	SensoQuest, Göttingen
Thermocycler T-gradient Biometra	Biotron, Göttingen
UV Transilluminator Benchtop + Imaging Sys- tem BioDoc-It 8.0' LCD	Ultra-Violet Products, Cambridge, United Kingdom
Vortex Genie	Bender & Hobein, Switzerland, Bohe- mia, USA

Tabelle 14: Verwendete Lösungen und Puffer

Lösungen und Puffer	Zusammensetzung
Agarosegel	1,4 % Agarose, 1 µg/ml Ethidiumbromid in 1x TAE Puffer
Ammoniumacetat	4 M Ammoniumacetat in H ₂ O
Blaumarker (BLM)	50 ml Glycerin anhydrous, 50 ml H ₂ O, 0,25 g Bromophenolblau, Natriumsalz
B-Puffer (Lysis Puffer)	25 mM EDTA, 75 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl (pH = 8,5)
Dichlormethan-Isoamylalkohol	Dichlormethan und Isoamylalkohol im Verhältnis 24:1
Guanidiniumthiocyanat-Puffer	4 M Guanidiniumthiocyanat 0,1 M Tris-HCl, 1 % 2-mercaptoethanol (pH = 5.0)
NE Puffer	100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl ₂ , 100 g/ml BSA (pH = 7.9)
Nucleotid-Mix	2,5 mM dATP, 2,5 mM dCTP, 2,5 mM dGTP, 2,5 mM dTTP, jeweils mit Tetranatrium-EDTA
PCR-Puffer 10x	100 mM Tris, 500 mM KCl, 5 % Triton X-100, 15-20 mM MgCl ₂
Phenol-Dichlormethan	1000 g Phenol, 960 g Dichlormethan, 40 ml Isoamylalkohol, 1 g 8-Hydroxychinolin, 250 ml Tris (pH = 7.6)
Proteinase-K-Lösung	500 mg Proteinase K in 25 ml H ₂ O
SDS-Lösung	20%ige Lösung in H ₂ O
TAE-Puffer	40 mM Tris, 1 mM EDTA, Essigsäure (pH = 8.0)
TE-Puffer	10 mM Tris, 1 mM EDTA, Salzsäure (pH = 7-7,5)
λ-Pst I Größenstandard	20 µl NE buffer 3.1, 10 µl Wasser, 167 µl λ-DNA, 3 µl Pst I

5.1.7.2 Sanger-Sequenzierung

DNA-Isolierung

Die DNA-Isolierung habe ich weitgehend nach dem Standardprotokoll durchgeführt (Sambrook et al., 2001). Das Chironomidengewebe habe ich über Nacht bei 56 °C in Lysepuffer B, SDS (1 %) und Proteinase-K-Lösung (10 mg/ml) zu jeweils gleichen Anteilen aufgeschlossen. Zellfragmente und Proteine wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung (1/3 des Volumens der Verdauungslösung) gefällt. Die DNA aus der oberen Phase des Überstandes habe ich mit 0,8 Volumen eisgekühltem Isopropanol (99,9 %) gefällt. Die extrahierte DNA habe ich mit eisgekühltem Ethanol (70 %) gewaschen. Das gefällte Proteinpellet habe ich für 4 h mit 1 Volumen Guanidiniumthiocyanat bei 56 °C behandelt, gefolgt von einer Extraktion mit Phenol-Dichlormethan und 1 Volumen Dichlormethan-Isoamylalkohol (25:1). Ein weiterer Fällungsschritt erfolgte mit Isopropanol (99,9 %), gefolgt von einem weiteren Ethanol-Waschschritt. Die DNA wurde über Nacht bei 37 °C in sterilem TE-Puffer gelöst und anschließend bei -20 °C gelagert.

PCR

Mit der isolierten Chironomiden-DNA habe ich eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt. Die PCR-Amplifikationen habe ich in einer 96-Well-Titerplatte mit jeweils 50 µl Reaktionsvolumen durchgeführt, wobei jeweils 1 µl unverdünnte DNA, 4 µl Wasser und 45 µl Mastermix verwendet habe. Der Mastermix setzte sich für eine Einzelprobe wie folgt zusammen: 0,05 µl jedes Primers (10 pmol/ml), 0,5 µl BSA (10 mg/T), 5 µl 10x Puffer, 2 µl Nucleotid-Mix, 32,7 µl H₂O und 0,2 µl Hot Start Taq-DNA-Polymerase (HighTaq DNA Polymerase, Bioron). Das PCR-Protokoll beinhaltete folgende Schritte: Die Initialisierung erfolgte für 5 min bei 94 °C, die Denaturierung für 45 s bei 94 °C, die Primer-Hybridisierung für 1 min bei 48 °C und die Elongation

für 1 min bei 72 °C. Die Schritte 2–4 wurden in 38 Zyklen durchgeführt. Der letzte Schritt (*final extension step*) wurde für 10 min bei 72 °C durchgeführt.

Für die PCR habe ich die Primer von Folmer et al. (1994) und Simon et al. (1994) verwendet. Die Primer von Astrin et al. (2008) sowie Guryev et al. (2001) habe ich getestet; sie führten jedoch nicht zu höheren PCR-Amplifikationsraten und wurden von mir daher nicht weiter verfolgt.

Tabelle 15: Liste der für die PCR verwendeten Primer

Primer-Namen	Sequenz	3'-Region	Forward/ Reverse	Herkunft
LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	1514	F	Folmer et al. (1994)
HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCA- AAAAATCA	2173	R	Folmer et al. (1994)
TL2-N-3014 (Pat)	TCCATTGCACTAATCTGCCATATTA	3014	R	Simon et al. (1994)
C1-J-2183 (Jerry)	CAACATTTATTTGATTTTTTGG	2183	F	Simon et al. (1994)
911	TTCTACAAATCATAAAGATATTGG	1514	F	Guryev et al. (2001)
HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCA- AAAAATCA	2173	R	Folmer et al. (1994)
LCO1490-JJ	CHACWAAYCATAAAGATATYGG	1514	F	Astrin et al. (2008)
HCO2198-JJ	AWACTTCVGGRTGVCCAAAR- AATCA	2173	R	Astrin et al. (2008)

Gelelektrophorese

Der Erfolg der PCR-Amplifikation wurde von mir mittels Gelelektrophorese überprüft. Hierzu wurde 1 µl des PCR-Produktes auf ein Agarosegel (1,4 % Agarose, 1 µg/ml Ethidiumbromid in 1x TAE-Puffer) aufgetragen. Zusätzlich wurden der *Bluemarker-Ladepuffer* (Biozym Diagnostik) (50 ml Glycerin 99 %, 50 ml Wasser, 0,25 g Bromphenolblau, X Natriumsalz) und der *Phage-Lambda-DNA-Sizer (GeneOne)* verwendet. Nach der Gelelektrophorese habe ich das Gel mit einem UV-Transilluminator (UV Transilluminator Benchtop; Imaging System BioDoc, Biometra, Göttingen) untersucht, um die Fluoreszenzintensitäten der Probenbanden zu vergleichen.

Aufreinigung der DNA

Das PCR-Produkt wurde von mir durch Fällung in 4 M Ammoniumacetat und absolutem Ethanol im Verhältnis 1:1:10 gereinigt und im Anschluss mit Ethanol (70 %) gewaschen. Das gereinigte PCR-Produkt wurde in 25 µl sterilem H₂O gelöst.

Sequenzierung

Für die Sequenzierung der gereinigten PCR-Produkte wurde von mir eine Mischung mit einem Gesamtvolumen von 7 µl aus 0,5 µl Sequenzierungsprimer (10 pmol/µl), sterilem Wasser und den PCR-Produkten hergestellt. Das Verhältnis von sterilem Wasser und PCR-Produkt war dabei abhängig von der Fluoreszenzintensität der Probenbanden (siehe Abschnitt: Gelelektrophorese). Je schwächer diese war, desto mehr PCR-Produkt (bis zu 6,5 µl) habe ich in das Gemisch gegeben.

Die Sanger-Sequenzierung wurde von der Firma StarSEQ GmbH (Mainz) auf einem ABI 3730 Kapillarsequenzierer mit dem *ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 3.1* (ThermoFisher, Waltham) durchgeführt. Jedes PCR-Produkt wurde mit beiden individuellen Primern (*forward* und *reverse*) sequenziert, um die Länge der später zu vergleichenden Sequenz durch die Bildung einer Konsensus-Sequenz zu maximieren.

Datenaufbereitung

Die *forward*- und *reverse-trace-files* wurden von mir mithilfe der *Sequenzanalyse-Pipeline* (Abbildung 36) einander passend zugeordnet und in eine Konsensus-Sequenz transformiert. Hierfür übernahm das Skript der *Sequenzanalyse-Pipeline* Systemaufrufe zu externen Programmen, welche die folgenden Auswertungsverfahren bereitstellten:

- Konvertierung der Eingangsformates (Chromatogramm-Sequenzen/.ab1-Dateien) mithilfe des Python-Packets *BioPython* (Cock et al., 2009)
- Reverse Komplementierung der Umkehrsequenz sowie *quality trimming* (Parameter: threshold = 0,03) und *base masking* (Parameter: phredScore = 13) mittels des Programms *Seqtk* (Shen et al., 2016)
- Erstellung der Konsensussequenz über das *merger tool* von *European Molecular Biology Open Software Suite* (EMBOSS) (Rice et al., 2000)

Nach Erstellung der Konsensus-Sequenz (im FASTA-Format) habe ich diese mit der Software MEGA 11 (Tamura et al., 2021) per *Muscle* aligniert und den Leserahmen (ORF) so angepasst, dass keine Stopcodons mehr verblieben. Stopcodons, die auf Sequenzierungsfehler zurückzuführen waren, wurden meinerseits händisch korrigiert. Zur Identifikation der Arten wurden die FASTA-Sequenzen per *blastn* mit den Nukleotidsequenzen der NCBI-Nukleotidsequenzdatenbank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) verglichen. Verwendet wurden nur Ergebnisse, deren Übereinstimmung mit einer der gespeicherten Referenzsequenzen mindestens 97 % betrug (Hit-%-ID-Wert ≥ 97 %). Ergebnisse mit weniger als 97%iger Übereinstimmung habe ich zwar zur phylogenetischen Auswertung herangezogen, allerdings bei der taxonomischen Identifikation als nicht definiert, „nd“, bezeichnet. Sofern der Datenbanken-Vergleich mehrere Ergebnisse mit mindestens 97 % Übereinstimmung ergab, wurde von mir der „beste Hit“, sprich die von NCBI empfohlene Art angewendet. Von dieser Praxis bin ich nur dann abgewichen, wenn die Ergebnisse der Datenbank sehr uneindeutig waren und unter den besten Hits zugleich eine Vergleichssequenz auf Gattungsniveau angeboten wurde. In diesem Fall habe ich auf die Gattung zurückgegriffen, da es nicht möglich gewesen wäre, ohne weitere (morphologische) Informationen die richtige Art aus den angegebenen Optionen zu detektieren. Die sogenannte *Accession-Number* und das taxonomische Ergebnis habe ich zur weiteren phylogenetischen Analyse in MEGA 11 übertragen (Abbildung 37).

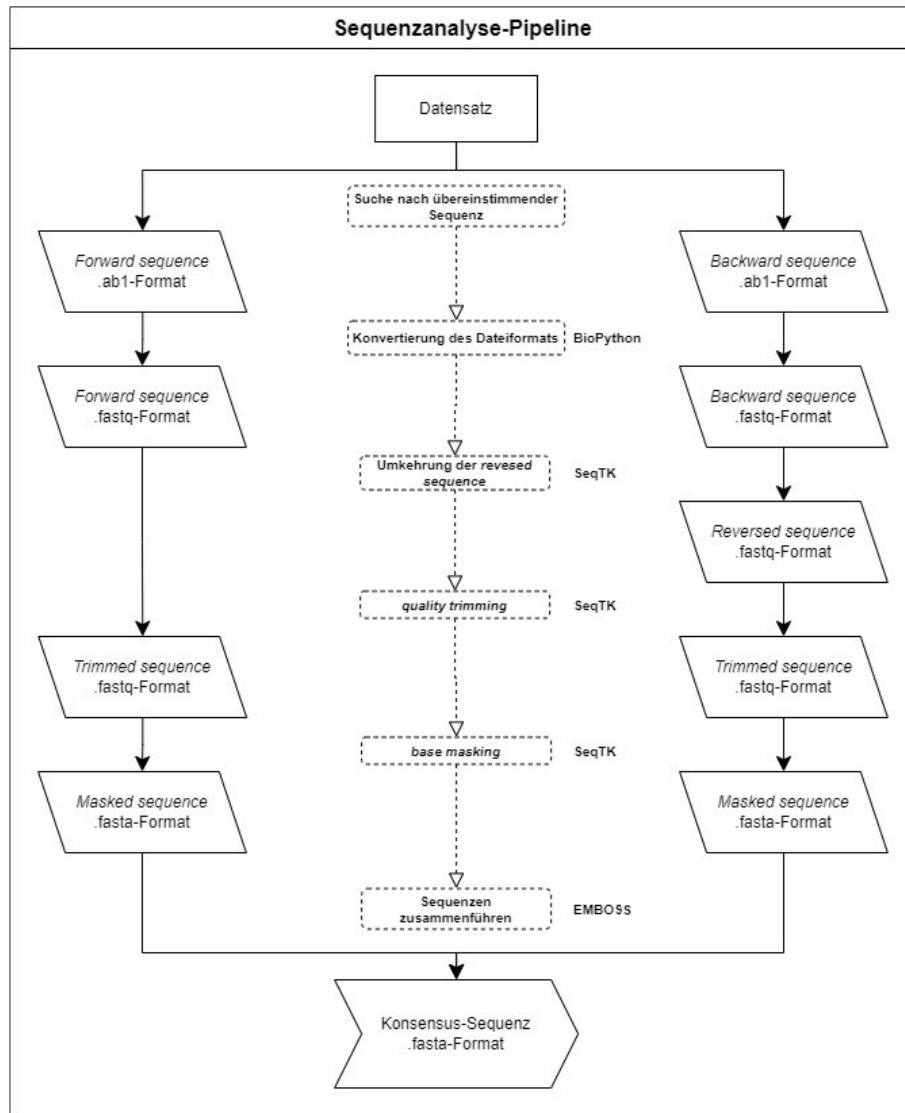


Abbildung 36: Schematische Darstellung der Sequenzanalyse-Pipeline. Die durchgeführten bioinformatischen Schritte sind von der Erstellung des Gesamtdatensatzes bis zur Generierung der Konsensussequenzen aufgelistet. Während die „Suche nach übereinstimmenden Sequenzen“ noch auf einem selbst geschriebenen Datenorganisationskript basiert, wurden die nächsten Schritte mit BioPhyton, SeqTK und EMBOSS durchgeführt (Cock et al., 2009; Rice et al., 2000 und Shen et al., 2016).

Accession-Nr.	Probennummer (Labor-ID)	Taxonomisches Ergebnis NCBI	morphologisches Ergebnis
---------------	----------------------------	--------------------------------	--------------------------

Abbildung 37: Bezeichnungsbeispiel für die phylogenetische Auswertung von Sanger-Sequenzierungsergebnissen. An erster Stelle steht die Accession-Nr. der NCBI GenBank, gefolgt von der Labor-ID, dem taxonomischen Ergebnis der NCBI GenBank (beste Übereinstimmung) und, falls dieses nicht mit dem morphologischen Ergebnis übereinstimmt, dem Ergebnis der morphologischen Analyse.

5.1.7.3 Metabarcoding

Next-Generation-Sequencing

Die Chironomidenlarven-Mischproben wurden zur DNA-Metabarcoding-Analyse mittels Next-Generation-Sequencing an AIM (Advanced Identification Methods GmbH, Leipzig) übergeben. Die Methode des Metabarcodings basiert auf Hochdurchsatz-Sequenzierungsdaten (HTS), die zu genetischen Clustern (OTUs) gruppiert, geblastet und somit taxonomischen Arten zugeordnet werden können. Die Laboranalyse der Chironomidenlarven erfolgte nach dem von Hausmann et al. (2020) publizierten Protokoll. Dazu wurde jede einzelne Mischprobe mindestens acht Stunden lang bei 60 °C im Trockenschrank getrocknet und anschließend in einem *FastPrep96*-Gerät (MP Biomedicals, Ort) mit sterilen Stahlkügelchen homogenisiert, um eine homogene Mischung der Gewebeproben zu erhalten. Vor der DNA-Extraktion wurde von jedem Homogenat eine Teilprobe in Probengefäße überführt und mit dem *DNeasy 96 Blood & Tissue Kit* (Qiagen, Venlo) nach Herstellerangaben aufgearbeitet. Für die Amplifikation der CO1-5P-Zielregion und die Generierung der *MiSeq*-Bibliotheken wurde eine 2-stufige PCR durchgeführt. Zunächst wurde eine 313 bp lange Mini-Barcode-Region mittels PCR unter Verwendung von forward- und reverse-HTS-Primern amplifiziert, die mit komplementären Stellen für die *Illumina-Sequencing-Tails* versehen waren. In einer anschließenden PCR-Reaktion wurden Index-Primer mit eindeutigen i5- und i7-Inline-Tags und *Sequencing-Tails* verwendet, um die Index-Amplikons zu amplifizieren. Anschließend wurden äquimolare Amplikon-Pools von jeweils 100 ng/µl hergestellt und die Größe durch eine präparative Gelelektrophorese überprüft. Die gepoolte DNA wurde mit *MagSi-NGSprep Plus Beads* (Steinbrenner Laborsysteme GmbH, Wiesenbach, Deutschland) gereinigt. Ein *Bioanalyzer* (High Sensitivity DNA Kit, Agilent Technologies) wurde zur abschließenden Überprüfung der bp-Verteilung und der Konzentration der Amplikons vor der Erstellung der endgültigen Bibliothek verwendet. Die HTS wurde auf einem *Illumina MiSeq* mit v2 (2*250 bp, 500 Zyklen, max. 20 Mio. Reads) (Illumina, San Diego) durchgeführt, wobei für jede Probe eine Quote von 250 000 *Raw Reads* angestrebt wurde.

Datenaufbereitung

Die bioinformatische Bearbeitung der FASTQ-Rohdaten von Illumina erfolgte mit *usearch* v11.0.667, *vsearch* 2.21.1, *Swarm* 3.1.3 und *cutadapt* 4.2 unter Python 3.10.9. Das *Paired-End-Merging* wurde mit *usearch* v11.0.667 durchgeführt (Parameter: *fastq_maxdiffs* 99, *fastq_pctid* 75 und *fastq_trunctail* 0). Im nächsten Schritt wurden die Sequenzen mit ≥ 300 bp und einem maximalen Fehler von 1 *expected error* für die weitere Analyse herausgefiltert. Die Qualitätsfilterung wurde mit *vsearch* 2.21.1 (Parameter: *fastq_minlen* 300, *fastq_maxee* 1) durchgeführt und eine De-Replikation der Daten wurde vorgenommen. Anschließend erfolgten das Clustering und die De-novo-Erkennung von Chimären. Das Clustering wurde mit *Swarm* 3.1.3 durchgeführt (Parameter: *d* 13). Die Vertreter der Cluster wurden sortiert und eine OTU-Tabelle mit *vsearch* (Parameter: *usearch_global*) erstellt. Anschließend wurden Chimären mit *vsearch* 2.21.1 erkannt und entfernt (Parameter: *uchime_denovo*, *nonchimeras*). Die OTUs wurden dann mit den Referenzdatenbanken verglichen. Die resultierende CSV-Datei enthielt sowohl die Blast-Ergebnisse von BOLD (Stand August 2022), NCBI GenBank (Stand Oktober 2022), die Ergebnisse des RDP Classifiers und die von AIM-Methods generierte Konsensus-Taxonomie mit entsprechendem Score. Die Endergebnisse wurden so gefiltert, dass sie mindestens einen Hit-%-ID-Wert ≥ 97 % im Vergleich zur Referenzdatenbank NCBI GenBank enthielten.

Für die vergleichende Taxonomie habe ich die Fasta-Sequenzen aller OTUs mit einem Hit-%-ID-Wert $\geq 97\%$ den einzelnen Beprobungen und Replikaten zugeordnet und in MEGA 11 übertragen. Dabei wurden sowohl das taxonomische Ergebnis des NCBI GenBank-Blasts als auch das der Consensus-Taxonomy namentlich angefügt, um einen Vergleich der verschiedenen Bestimmungsmethoden zu ermöglichen.

Accession-Nr.	OTU	Taxonomisches Ergebnis NCBI	Taxonomisches Ergebnis	Konsensus-Sequenz
---------------	-----	-----------------------------	------------------------	-------------------

Abbildung 38: Bezeichnungsbeispiel für phylogenetische Auswertung der Metabarcoding-Ergebnisse. An erster Stelle steht die Accession-Nr. aus NCBI GenBank, gefolgt von der OTU (AIM GmbH, Leipzig) und dem Ergebnis der Konsensus-Sequenz (AIM GmbH, Leipzig).

5.1.7.4 Phylogenetische Rekonstruktion

Entsprechend dieser Ergebnisse habe ich die Sequenzdivergenzen (mittlere und maximale intraspezifische Variation und minimale genetische Distanz zur nächsten Nachbarart) mithilfe von *Maximum-Likelihood*-Stammbäumen nach dem Kimura-2-Parameter-Distanzmodell berechnet (Kimura, 1980; Puillandre et al., 2012). Dazu habe ich die Software MEGA 11 eingesetzt (Tamura et al., 2021). Da in den meisten Fällen der phylogenetischen Rekonstruktion die Sequenz des letzten gemeinsamen Vorfahren nicht bekannt ist, kann keine Entscheidung darüber getroffen werden, welche Merkmale in der *Outgroup* basal sind. Daher habe ich eine *Outgroup* gewählt, die möglichst nahe mit den Taxa der *Ingroup* verwandt ist, aber nicht innerhalb dieser steht (Baverstock und Moritz, 1996). Für die *Outgroup* habe ich die Art *Drepanocentron fuxiensis* ausgewählt.

5.2 Untersuchungsgebiet und Probestellen

5.2.1 Das Naturschutzgebiet „Horreninsel“

Das Naturschutzgebiet „Horreninsel“ (NSG-7300-020) hat eine Größe von ca. 55 ha. Es liegt südlich der Ortsgemeinde Altrip im Südosten von Rheinland-Pfalz. Es erstreckt sich entlang des Rheins zwischen Rheinkilometer 412,0 und 413,6 (Rheinland Pfalz, 1978). Auf der gegenüberliegenden Rheinseite befindet sich ein Industriegebiet der Stadt Mannheim.

Das Naturschutzgebiet gliedert sich in die drei Lebensraumtypen Weichholzaue, Hartholzaue und Halbtrockenrasen (mit regelmäßiger Mahd). Das Naturschutzgebiet wird durch den Hauptrheinleuch vor Hochwasser geschützt. Im nordöstlichen Teil des Naturschutzgebietes befindet sich auf einer Höhe von 90 m ü. NN ein Zulauf, der bei Mittel- und Hochwasser den ansonsten abgeschnittenen Altrheinarm überflutet. Direkt an der Einlaufstelle befindet sich auch die tiefste Stelle des Altrheinarmes (Probestelle 11). Von diesem permanent überfluteten Gewässerabschnitt zweigen nach Süden mit zunehmender Höhenlage zwei „Flutrinnen“ ab, die als Untersuchungstransecte genutzt wurden. Der höchste Punkt der Untersuchungstransecte liegt bei ca. 105 m über Normalnull (hier befinden sich auch die Untersuchungsstellen U1/B1). Danach fällt das Gelände wieder ab. Es ist sehr gefällearm ($< 0,1\%$). Das rheinseitige Transect diente in dieser Studie als „Kontrolltransect“, d. h., diese Flutrinne wurde in den Jahren 2020 bis 2022 nicht mit Bti behandelt. Die rheinabgewandte Flutrinne diente als „Effekttransect“. In beiden Transecten wurden ökologisch vergleichbare Probestellen ausgewählt. Diese Probestellen zeichnen sich durch einen

identischen Wasserhaushalt aus. Neben den unterschiedlichen Gewässertypen (Abbildung 39) kommen im Untersuchungsgebiet auch vier verschiedene Bodentypen (Auenboden, Auenparendzina, Brauner Auenboden-Auengley und Nassgley) vor (Abbildung 40).

Eine Übersicht über die relevanten Arten in der Stechmückenbrutstätte 67-1002, auf die im Rahmen der Stechmückenbekämpfung besonders Rücksicht genommen werden muss (Becker et al., 1996b), kann dem Anhang 8 entnommen werden,

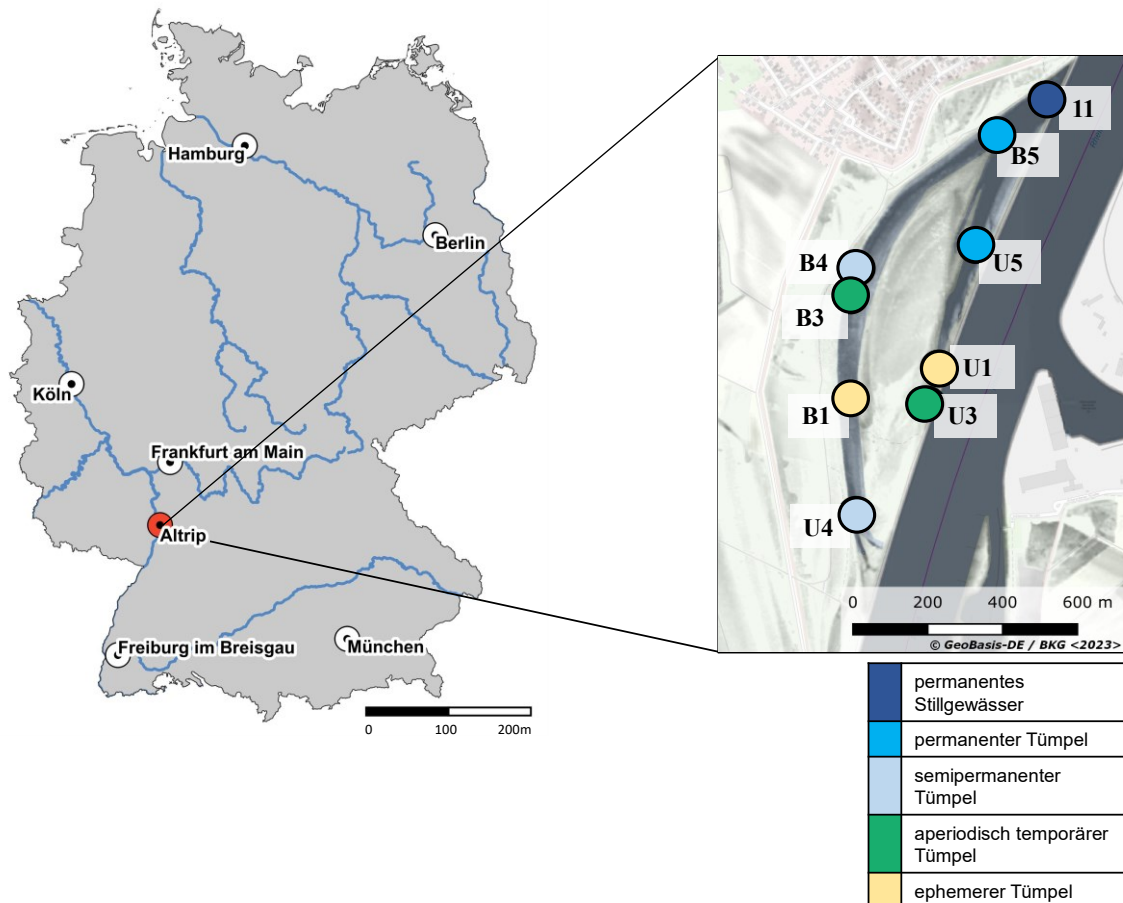


Abbildung 39: Übersichtskarte des Untersuchungsgebietes im Naturschutzgebiet „Horreninsel“ (NSG-7300-020) und der Probestellen. „B“ (= behandelt) bedeutet, dass die Probestelle im mit Bti behandelten Transekt des Untersuchungsgebietes liegt. „U“ (= unbehandelt) bezeichnet dagegen die entsprechenden Standorte im Kontrolltransekt. Der Standort „11“ bezeichnet den Standort am Überschneidungspunkt beider Transekte. Die Probestellen U2 und B2 wurden anfänglich im Jahr 2020 beprobt. Es stellte sich jedoch heraus, dass die ökologischen Bedingungen denen der Probestellen von U1 und B1 gleichen, sodass auf eine weitere Beprobung und Auswertung der Daten verzichtet wurde.

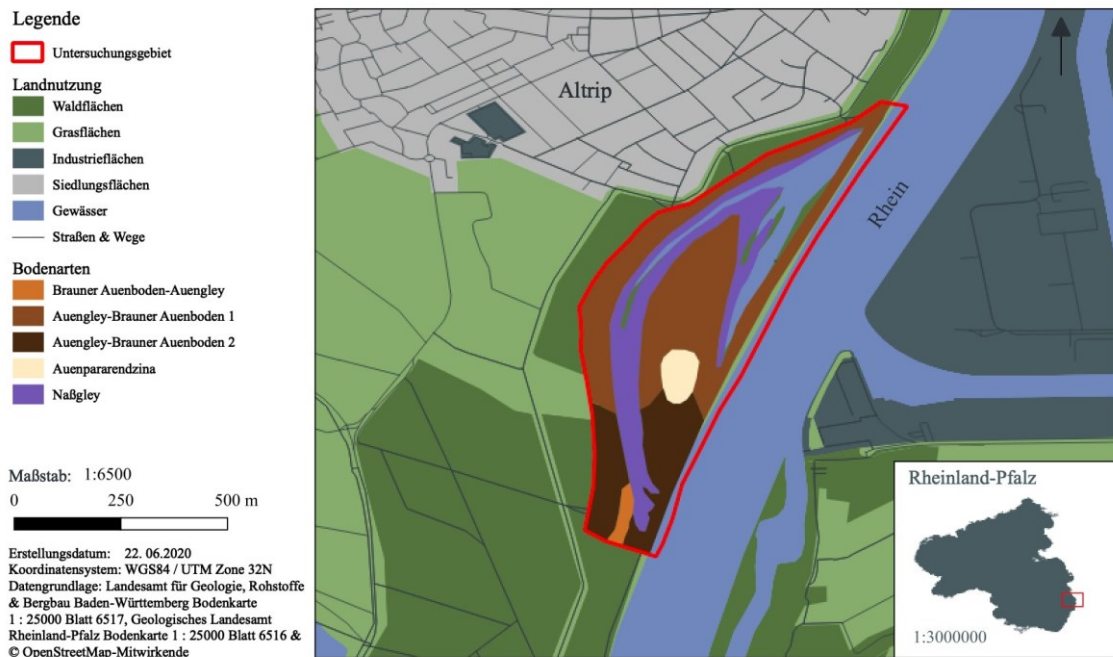


Abbildung 40: Bodentypen des Untersuchungsgebietes im Naturschutzgebiet „Horreninsel“ (NSG-7300-020). Karte entnommen aus Mollenhauer (2020)

Alle untersuchten Probeflächen liegen innerhalb der Brutflächennummer 67-1002 der KABS. Diese umfasst das Ostufer der Horreninsel und mehrere zungenförmige Senken und Schluten (Gesamtlänge 800 m, Breite 50 m). In der Verlandungszone befinden sich Totholz und dichte *Urtica-dioica*-Bestände. Entlang des Rheindeiches befindet sich ein schmaler Weidenbestand. Im nördlichen Teil des Brutgebietes befindet sich auf Höhe der mittleren Hartholzaue ein größerer Silberweidenbestand, südlich davon hat sich ein Hartholzauenwald entwickelt. Der am höchsten gelegene Teil des Brutgebietes befindet sich im südlichen Teil der Horreninsel. Hier befindet sich in Ufernähe ein Stromtal-Halbtrockenrasen (*Mesobrometum alluviale*), der einer starken Verbuchung unterliegt (Becker et al., 1996b).

5.2.2 Beschreibung der einzelnen Probestandorte

Die Gesamtfläche des untersuchten Naturschutzgebietes „Horreninsel“ beträgt 55 ha. Davon werden bis zu 17,5 ha routinemäßig von der KABS mit Bti behandelt, das entspricht maximal 31,8 % der Gesamtfläche. Knapp 60 % der Gesamtfläche des Naturschutzgebietes gelten somit als nicht mit Bti behandelt.

Betrachtet man die Flächenverteilung der einzelnen Gewässertypen (Abbildung 41), so wird deutlich, dass die ephemeren Tümpel mit 13,5 ha (\cong 24,6% der Gesamtfläche) die größte Fläche einnehmen, gefolgt von den permanenten Gewässern mit zusammen 3,8 ha (\cong 6,9% der Gesamtfläche des Naturschutzgebietes).

Die semipermanenten Tümpel weisen eine Fläche von 0,15, die temporären (aperiodischen) Tümpel jeweils unter 0,2 Hektar auf. Dies zeigt, dass die ephemeren Tümpel den mit Abstand größten Flächenanteil im Naturschutzgebiet einnehmen.

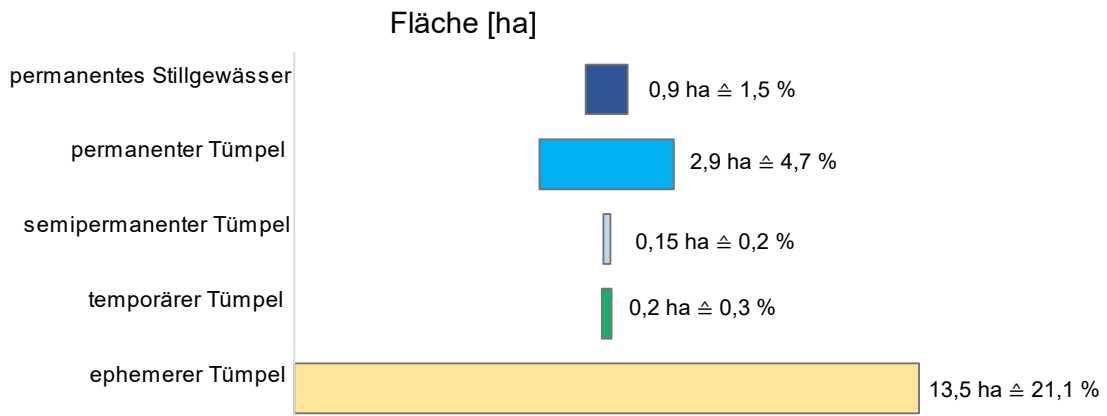


Abbildung 41: Flächengröße der Probestellen (in ha) sowie der dazugehörige prozentuale Anteil an der Gesamtfläche des Naturschutzgebiets

Die Probestellen der einzelnen Gewässertypen werden im Folgenden mit B1–B5, U1–U5 bzw. 11 bezeichnet. Der Buchstabe B (= behandelt) bedeutet, dass die Probestelle im mit Bti behandelten Transekt des Untersuchungsgebietes liegt. Der Buchstabe U (= unbehandelt) bezeichnet dagegen die entsprechenden Standorte im Kontrolltransekt. Der Standort 11 bezeichnet den Standort am Überschneidungspunkt beider Transekte.

Probestelle 11: Die Probestelle 11 ist ein permanentes Stillgewässer ohne Profundal. Der Wasserstand liegt in der Regel über 1 m. Nur in den Sommermonaten bei anhaltend hohen Temperaturen sinkt der Wasserstand auf unter 1 m. Hydrophytische Vegetation, wie zum Beispiel *Ceratophyllum demersum* (Raues Hornblatt), *Elodea canadensis* (Kanadische Wasserpest), *Myriophyllum spicatum* (Ähriges Tausendblatt) oder *Potamogeton trichoides* (Haarblättriges Laichkraut), ist auf der gesamten Fläche des Wasserkörpers zu finden. Der Altrheinarm ist durch ein Betonrohr mit dem Rhein verbunden. Bei Hochwasser fließt das Wasser durch dieses Rohr zu den Probestellen. Bei Normal- und Niedrigwasser ist die Verbindung unterbrochen. Der Gewässergrund ist durch grobkörnigen Kies mit Faulschlammauflage gekennzeichnet. Der Standort wurde in beiden Untersuchungsjahren beprobt.

Probestellen U5 und B5: Die Probestellen U5 und B5 befinden sich in der beginnenden Verlandungszone des permanenten Stillgewässers (siehe Fläche 11) und sind nach Dettinger-Klemm (2003) als permanente Tümpel klassifiziert. Beide Flächen waren im Jahr 2020 dauerhaft Wasser führend, im Jahr 2022 fielen sie teilweise im August trocken. An den trockengefallenen Bereichen konnte man an deutlichen Trockenrissen im Boden erkennen, dass beide Probestellen stellenweise völlig ausgetrocknet waren und auch zwischenzeitlich keine Kontaktfeuchte mehr vorhanden war. Der Wasserstand liegt in der Regel unter 1 m, nur bei Hochwasser steigt der Wasserstand über 1 m. Die Unterscheidung zwischen Probestelle 11 und den Probestellen U5 und B5 erfolgt, da in der Verlandungszone die Wasserführung stark schwankt und auch der Temperaturgradient steiler ist als im permanenten Teil des Wasserkörpers. In den Sommermonaten erwärmte sich das Wasser an der Probestelle U5/B5 stark ($> 25^{\circ}\text{C}$), sodass an diesen Stellen Hitzestress für die dort siedelnden Organismen nicht ausgeschlossen werden kann. Die Sedimente an den Probestellen U5 und B5 sind durch schluffiges, toniges und sandiges Substrat gekennzeichnet. An beiden Stellen wurden sowohl Helo- als auch Hydrophyten beobachtet, wobei *Lemna minor* (Kleine Wasserlinse) und *Spirodela polyrhiza* (Vielwurzelige Teichlinse) am häufigsten auftraten. Beide Standorte wurden in beiden Untersuchungsjahren beprobt.

Probestellen U4 und B4: Bei den Versuchsstandorten U4 und B4 handelt es sich um semipermanente Tümpel, deren Wasserkörper über mehrere Monate bestehen bleiben und nicht jedes Jahr austrocknen. Im Jahr 2020 fielen beide Standorte im September fast trocken, sodass nur noch Kontaktfeuchte beobachtet werden konnte. Im Jahr 2022 fiel der Wasserstand an beiden Standorten zwischen Juli und September deutlich ab, sodass maximal noch Kontaktfeuchte vorhanden war. Am einem Probenahmetag, dem 22.08.2022, war der Boden teilweise ausgetrocknet, sodass sich Trockenrisse bildeten. Beide Standorte weisen Auenlehmböden auf, wobei das Substrat von B4 sandiger und schluffiger ist. Im Gegensatz dazu ist das Substrat von U4 stellenweise mit einer Faulschlammsschicht (hoher Tanningehalt) bedeckt. Dies ist auf die umgebende Vegetation zurückzuführen: Während sich in ca. 5 m Entfernung ein Schilfgürtel anschließt, ist der Laubeintrag in U4 durch die umgebenden Laubbäume *Cornus sanguinea* (Roter Hartriegel), *Populus alba* (Silber-Pappel) und *Salix* sp. (Weide) höher. Dies führt zu einer höheren organischen Auflage als in B4. Durch die zusätzliche Trichterform der Probestelle U4 kann die eingetragene organische Auflage nicht durch Hochwasser oder Wind wieder ausgetragen werden, sondern sammelt sich am tiefsten Punkt. Beide Probestellen wurden in beiden Untersuchungsjahren beprobt.

Probestellen U3 und B3: Bei den Probestellen U3 und B3 handelt es sich um aperiodische temporäre Tümpel. Beide Standorte fielen sowohl 2020 als auch 2022 mehrmals trocken, ohne dass dies vorhersehbar war. Der Wasserstand in den beiden kleinen Tümpeln ist sowohl direkt oder indirekt (durch korrespondierendes Druckwasser) von Rheinhochwasser abhängig. Trotz mehrmaliger Austrocknung stand das Wasser in der Vegetationsperiode 2020 zweimal länger als einen Monat in den Tümpeln. Beide Standorte sind beschattet, wobei U3 etwas tiefer liegt und direkt von Hartholzauen (v. a. *Populus* sp.) umgeben ist, weshalb der Laubeintrag hier etwas höher ist als bei B3. Beide Böden bestehen aus Auenlehm und entsprechen in ihrem Charakter einem typischen Waldboden. U3 und B3 wurden nur im Jahr 2020 untersucht.

Probestellen U2 und B2: Die Probestellen U2 und B2 wurden anfänglich im Jahr 2020 beprobt. Es stellte sich jedoch heraus, dass die ökologischen Bedingungen denen der Probestellen von U1 und B1 glichen, sodass auf eine weitere Beprobung und Auswertung der Daten verzichtet wurde.

Probestellen U1 und B1: Bei den Probestellen U1 und B1 handelt es sich um ephemere aperiodische Tümpel, die unregelmäßig und nur für wenige Wochen überflutet werden. Im Jahr 2020 war die Fläche nur drei Wochen im Oktober überflutet, ansonsten herrschten in allen weiteren Untersuchungsmonaten der Jahre 2020 und 2022 terrestrische Bedingungen vor. Die Fläche B1 liegt in unmittelbarer Nähe eines Schilfgürtels und ist von Hartholzauen umgeben. Die Fläche U1 liegt beschattet im Auwald und ist überwiegend mit einer Laubschicht bedeckt. Die Böden bestehen aus braunem Auenlehm, der zum Zeitpunkt der Probenahme meist vollständig ausgetrocknet war und Konglomerate bildete. Beide Probestellen wurden in beiden Untersuchungsjahren beprobt.

5.2.3 Bekämpfungshistorie des Untersuchungsgebietes

Alle untersuchten Standorte liegen innerhalb der Brutstättennummer 67-1002 (Kartierung der KABS). Die im Brutgebiet vorhandenen Senken und Schluten werden je nach Wasserstand des Rheins überflutet. Dabei kann es zu sehr hohen Larvendichten von über 300 Culicidenlarven pro Liter kommen. Ab einem Wasserstand von mindestens 6,50 m (gemessen am Pegel Speyer) wird fast die gesamte Horreninsel überflutet, wobei es auch zu einer Verdriftung der Larvenpopulation in die benachbarte Brutstätte (67-1003) kommen kann. In der Brutstätte 67-1002 wird Bti ausschließlich per Hubschrauber ausgebracht. Hierfür spricht, dass sich die Brutstätte in unmittelbarer Nähe zur südlichen Bebauung der Gemeinde Altrip befindet und zudem eine großflächige Überflutung mit hohem Larvenbesatz vorliegt. Darüber hinaus handelt es sich bei der Horreninsel

um ein Vorbrut- und Rastgebiet für Vögel, weshalb die Ausbringung aus großer Höhe erfolgen sollte (Becker et al., 1996b).

In den Jahren 2013 bis 2019 wurde das Untersuchungsgebiet insgesamt 28-mal mit Bti behandelt (Tabelle 16). Keine der Versuchsflächen wurde mehr als 4-mal pro Jahr mit Bti behandelt.

Tabelle 16: Übersicht über die Bti-Anwendungen der Jahre 2013 bis 2023. „+“ = Bti-Applikation auf der Probefläche, „-“ = keine Bti-Applikation auf der Probefläche. Der Wert „beauftragte Applikationsfläche“ gibt die Gesamtfläche im Naturschutzgebiet an, die zum jeweiligen Bekämpfungszeitpunkt mit Bti behandelt wurde (auch außerhalb der Probestellen).

Jahr	Datum	Bti-Applikationen						Beauftragte Applikationsfläche
		B1	B3	B4	U1	U3	U4	
2013	18.04.2013	+	+	+	+	+	+	3,8 ha
	25.04.2013	+	+	+	+	+	+	6,6 ha
	11.06.2013	-	-	-	-	-	-	2,8 ha
	02.08.2013	-	+	+	+	+	-	3,9 ha
2014	17.07.2014	+	+	+	+	+	+	9,5 ha
	29.07.2014	+	+	+	+	+	+	13,8 ha
2015	20.06.2015	+	+	+	-	-	+	4,2 ha
2016	28.04.2016	+	+	+	+	+	+	7,9 ha
	02.05.2016	-	+	+	-	-	-	1 ha
	20.05.2016	+	+	+	+	+	+	10,7 ha
	23.06.2016	-	-	-	-	-	-	5,4 ha
	19.07.2016	+	+	+	-	-	+	4,2 ha
2017	15.05.2017	-	+	+	+	+	-	1,9 ha
	09.06.2017	-	+	+	+	+	-	2,0 ha
	30.07.2017	-	+	+	-	-	-	0,6 ha
	07.09.2017	-	+	+	-	-	-	0,8 ha
2018	23.05.2018	-	+	+	-	-	-	2,8 ha
	20.06.2018	+	+	+	+	+	+	3,9 ha
2019	25.08.2019	+	+	+	+	+	-	2,4 ha
2020	06.08.2020	-	+	+	-	-	-	0,7 ha
	02.09.2020	-	+	+	-	-	-	0,7 ha
2021	14.05.2021	+	+	+	-	-	-	1,8 ha
	24.05.2021	-	-	-	-	-	-	0,5 ha
	29.06.2021	+	+	+	-	-	-	3,4 ha
	06.07.2021	-	-	-	-	-	-	0,8 ha
2022	-	-	-	-	-	-	-	-
2023	05.05.2023	+	+	+	-	-	-	3,0 ha
	15.05.2023	-	-	-	+	+	+	4,2 ha

Die ephemeren Tümpel wurden im Zeitraum 2013 bis 2019 im späteren Kontrolltransekt (U1) 12-mal und im späteren Effekttransekt (B1) 11-mal mit Bti behandelt. Auch die mittlere Applikationsrate der Jahre 2013–2019 ist mit 1,6 und 1,7 sehr ähnlich. Etwas größer ist der Unterschied zwischen den Kontroll- und den Effekttransekten der aperiodisch temporären Tümpel (U3 und B3). U3 wurde insgesamt 12-mal und im Mittel 1,7-mal behandelt, B3 insgesamt 17-mal und im Mittel 2,4-mal. Die semipermanenten Tümpel (U4 und B4) weisen die größten Unterschiede hinsichtlich der Ausbringungsraten auf. U4 wurde insgesamt 9-mal und im Mittel 1,3-mal behandelt, B4 insgesamt 17-mal und im Mittel 2,3-mal. Die permanenten Tümpel (U5 und B5) sowie das Dauergewässer (11) wurden entsprechend der Bekämpfungsroutine der KABS in keinem der Jahre mit Bti behandelt. Da sie potenzielle Larven- bzw. Bti-Verdriftungsflächen darstellen können, wenn sich das Hochwasser nach erfolgter Bti-Anwendung aus den Transekten zurückzieht, wurden sie in den vorliegenden Untersuchungen berücksichtigt. Dabei ist zu beachten, dass B5 nie aktiv mit Bti behandelt wurde. Die Bezeichnung B5 beruht lediglich auf einem möglichen Verdriftungseffekt, der ebenfalls untersucht werden sollte.

Auffällig ist jedoch die häufige Anwendung von Bti auf den Probeflächen U3, B3, U4 und B4. Diese temporären bis semipermanenten Tümpel gehören eigentlich zu den Flächen, die nach dem KABS-Bekämpfungsprotokoll von der Bti-Applikation ausgeschlossen werden sollten, da sie als Brutstätte für Culiciden eigentlich eine untergeordnete Rolle spielen. Zudem existieren die Gewässer hier so lange, dass die Verweildauer ausreicht, damit sich neben den Culiciden auch Chironomiden entwickeln können. Im Durchschnitt wurden diese Probestandorte in den temporären Gewässern 1,96-mal pro Jahr behandelt, während die in den typischen ephemeren Massenbrutplätzen der Culiciden (U1/B1) nur 1,45-mal pro Jahr behandelt wurden. Hier ist jedoch zu beachten, dass die gewählten Probestandorte nur einen Ausschnitt der Gesamtflächen darstellen. So wurde bei allen Bti-Applikationen stets mindestens ein Teil des ephemeren Gebiets behandelt, selbst wenn diese nicht mit den gewählten Probestellen überlappten.

Für die Untersuchung der Wirkung von Bti auf Chironomidenpopulationen ist insbesondere die Bti-Anwendung im Zeitraum des Vorjahres vor Beginn der Versuche 2020 bis zum Ende der Versuche im Jahr 2022 entscheidend. Im Jahr 2019 fand eine einzige Bekämpfung am 25.08.2019 statt. Dabei wurden bis auf U4 alle Probeflächen behandelt. U4 wurde aufgrund der geringen Größe der Probestelle nicht behandelt, obwohl ein Druckwasseranstieg zu verzeichnen war und ein erster Schlupf von Culicidenlarven protokolliert werden konnte. Ab Anfang 2020 wurde das U-Transekt (rheinseitige Schlute) zur Kontrollfläche erklärt und somit nicht mehr mit Bti behandelt.

Die beiden auswertbaren Bti-Applikationen im Untersuchungszeitraum fanden am 06.08.2020 und am 02.09.2020 mit einer Konzentration von 1440 ITU/L Bti statt (Tabelle 16). Beide Anwendungen betrafen ausschließlich die Standorte B3 und B4 mit einer Gesamtfläche von 0,7 ha. Im Jahr 2021 fanden vier Behandlungen statt (14.05.2021, 24.05.2021, 29.06.2021 und 06.07.2021). Die zwei Bti-Applikationen (14.05.2021 und 29.06.2021) umfassten das gesamte Effekt-Transekt (B1–B4). Die beiden Bti-Applikationen (24.05.2021 und 06.07.2021) erfolgten außerhalb des Untersuchungsgebietes. Bei diesen Applikationen außerhalb des Untersuchungsgebiets handelte es sich um Nachbehandlungen der Bti-Applikation vom 14.05.2021 und 29.06.2021, da die Wasserstände nach der ursprünglichen Behandlung weiter anstiegen und somit kleinere Flächen außerhalb der Transekte nachbehandelt werden mussten. Ein Einfluss dieser Bti-Applikation auf die laufenden Untersuchungen konnte aufgrund der geomorphologischen Verhältnisse ausgeschlossen werden. Im Jahr 2022 gab es kein bekämpfungsrelevantes Hochwasser im Naturschutzgebiet Horren, sodass in diesem Jahr keine Bti-Applikation erfolgte.

5.3 Ergebnisteil I: Direkte Bti-Einflüsse auf die Chironomidenlarven

Insgesamt habe ich im Jahr 2020 7471 Chironomidenlarven untersucht, wobei auf Familienebene der Standort B4 mit 4511 Individuen die höchste Abundanz aufwies. Als grundsätzlich produktiver war das Effekt-Transekt anzusehen, in dem mit 5627 Individuen über 75 % der Gesamtindividuenzahl bestimmt wurden. In den semipermanenten Tümpeln (U4, B4) wurden über 68 % der Gesamtabundanz gefunden. Die permanenten Tümpel und das permanente Stillgewässer wiesen zusammen nur knapp 30 % auf. Die aperiodischen und ephemeren temporären Tümpel machten mit zusammen 94 Individuen nur einen marginalen Anteil von 1,25 % aller gefundenen Chironomiden aus. Im Jahr 2022 wurden insgesamt 3188 Chironomidenlarven untersucht. Die semipermanenten Tümpel wiesen mit über 52 % die höchste Abundanz auf. Insgesamt konnten in beiden Untersuchungsjahren 50 Chironomidenarten nachgewiesen werden.

5.3.1 Taxonomische Auswertung

5.3.1.1 Ephemere Tümpel (U1 und B1)

Die ephemeren Tümpel habe ich nur im Jahr 2020 beprobt. Dabei konnte ich nur eine taxonomische Einheit in Form einer rein terrestrischen Gattung der *Orthoclaadiinae*, *Smittia* sp. (n = 4) am 23.07.2020 nachweisen. Die Probestellen zeichneten sich durch eine extreme Trockenheit aus. Lediglich am 08. und 15.10. 2020 konnte eine Überflutung festgestellt werden.

5.3.1.2 Aperiodisch temporäre Tümpel (U3 und B3)

Die aperiodischen temporären Tümpel habe ich nur im Jahr 2020 beprobt. Chironomiden konnte ich hier nur an der Probestelle B3 nachweisen. Die nachgewiesenen taxonomischen Einheiten sind: *Chironomus plumosus* (Chironominae), *Cryptochironomus obreptans/supplicans* (Chironominae), *Procladius* sp. (Tanypodinae) und *Psectrotanypus varius* (Tanypodinae). Auffällig ist, dass alle Funde an nur drei Probenahmetagen erfolgten. Am 03.09.2020 wurden *Cryptochironomus obreptans/supplicans* (n = 1) und *Procladius* sp. (n = 4) nachgewiesen. Am 08.10.2020 wurde *Chironomus plumosus* (n = 84) nachgewiesen und am 15.10.2020 *Psectrotanypus varius* (n = 1). Der Standort war am 03.09.2020 seit vier Wochen, am 08.10.2020 seit drei Wochen und am 15.10.2020 seit vier Wochen geflutet.

5.3.1.3 Semipermanente Tümpel (U4 und B4)

Semipermanente Tümpel des Kontroll-Transekts (U4)

In beiden Jahren habe ich insgesamt 1712 Chironomidenlarven an der Probestelle im Kontroll-Transekt (U4) erfasst (Tabelle 17). Die höchsten Abundanzen wiesen die Arten *Psectrotanypus varius* (n = 788), *Chironomus annularis* (n = 422) und *Chironomus plumosus* (n = 318) auf, gefolgt von der Gattung *Procladius* sp. (n = 90). Die Arten *Chironomus nudiventris*, *Chironomus obtusidens*, *Chironomus riparius*, *Cricotopus (Isocladus) sylvestris*-Gruppe und *Dicrotendipes notatus* stellen dagegen Einzelfunde dar. Im Juni 2020 wurden mit Abstand die meisten Chironomidenlarven gefunden. Der Anteil an der Gesamtabundanz lag hier bei über 57 %. Auffällig ist, dass in den Monaten August und September 2022 keine Larven gefunden werden konnten. Die Gesamtartenzahl der Probestelle liegt bei 21.

Tabelle 17: Artenliste des semipermanenten Tümpels im Kontroll-Transekt, Probestelle U4, aufgeschlüsselt nach Monaten. Die Abkürzung des Artnamens dient der einfacheren Darstellung in den folgenden Grafiken (Abbildungen 44–53).

Art	Abk.	2020						2022				Σ Art		
		06	07	08	09	10	11	03	04	06	07		11	
<i>Chironomus acerbiphilus</i>	Chacerbi			2										2
<i>Chironomus annularius</i> -Aggregat	Channula	3	8	6	2			3	372	28				422
<i>Chironomus aprilius</i>	Chaprili		4											4
<i>Chironominae</i>	Chiminae			5	2						3			10
<i>Chironomus sp.</i>	Chiromsp										2			2
<i>Chironomus lacunarius</i>	Chlacuna									1				1
<i>Chironomus luridus</i>	Chluridu			9	4									13
<i>Chironomus nudiventris</i>	Chnudive									1				1
<i>Chironomus obtusidens</i>	Chobtusi						1							1
<i>Chironomus plumosus</i>	Chplumos	1	1	24	24		1	8	1	253	5			318
<i>Chironomus pseudothummi</i>	Chpseudo		8	11	1							7	1	28
<i>Chironomus riparius</i>	Chripari									1				1
<i>Chironomus tentans</i>	Chntentan									5				5
<i>Cricotopus (Isocladius) sylvestris</i> -Gruppe	CrIsoclg									1				1
<i>Cryptochironomus obreptans/supplicans</i>	Crypchos							8		1				9
<i>Dicrotendipes notatus</i>	Dicrotrno			1										1
<i>Krenopelopia sp.</i>	Krenolsp									3				3
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	Polynube			1				5	1		1			8
<i>Procladius sp.</i>	Proclmsp				3			3	84					90
<i>Psectrotanypus varius</i>	Psectrov	1	73	216	157	54		9	258	20				788
<i>Tanypus punctipennis</i>	Tanypunc			1		1	2							4
Σ Standort		5	94	276	193	56	3	36	2	980	66	1		1712

Semipermanente Tümpel des Effekt-Transekts (B4)

An der Probestelle im Effekt-Transekt (B4) habe ich in beiden Jahren insgesamt 5074 Chironomidenlarven gefunden (Tabelle 18). Den größten Anteil mit 59 % stellten Individuen der Art *Chironomus plumosus* (n = 2998), gefolgt von *Psectrotanypus varius* mit 20 % (n = 1050) und *Tanypus punctipennis* mit 10 % (n = 520). Weitere Tanypodinae (*Procladius sp.*, *Tanypus kraatzi* und *Tanypus villipennis*) machen zusammen weitere 6 % aus. Einzelfunde sind *Chironomus tentans* und *Microspectra sp.* Auch an dieser Probestelle konnten in den Monaten August und September 2022 keine Larven gefunden werden.

Tabelle 18: Artenliste des semipermanenten Tümpels im Effekt-Transekt, Probestelle B4, aufgeschlüsselt nach Monaten. Die Abkürzung des Artnamens dient der einfacheren Darstellung in den folgenden Grafiken (Abbildungen 44–53).

Art	Abk.	2020										2022					Σ Art
		05	06	07	08	09	10	11	12	03	04	06	07	11			
<i>Benthalia carbonaria</i>	Bentcabo						7										7
<i>Chironomus annularius</i>	Channula	7		3	3						2						15
<i>Chironominae</i>	Chiminae		1	16	4	62	4		4		1	2					94
<i>Chironomus plumosus</i>	Chplumos	45	46	181	385	1072	665	252	180	3	2	165	2				2998
<i>Chironomus pseudotummi</i>	Chpseudo				6												6
<i>Chironomus tentans</i>	Chtentan														1		1
<i>Cladopelma Gruppe-viridulum</i>	Cladopvi										4	1					5
<i>Clinotanypus nervosus</i>	Clinonerv										1			1			2
<i>Cryptochironomus obreptans/supplicans</i>	Crypchos			1			7					24					32
<i>Cryptotendipes holsatus</i>	Crypthol											2					2
<i>Cryptotendipes usmaensis</i>	Cryptusm						2										2
<i>Microspectra sp.</i>	Micrsp											1					1
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	Polynube										6		5				11
<i>Procladius sp.</i>	Proclmsp		3		2	6			1		1	8	57				78
<i>Psectrotanypus varius</i>	Psectrov	4	46	172	15	191	420	21	50	6		99	26				1050
<i>Tanypus kraatzi</i>	Tanykrat			5	11	44	88		1		3	11	8				171
<i>Tanypus punctipennis</i>	Tanypunc			4	31	91	183	21	41	1		133	15				520
<i>Tanypus villipennis</i>	Tanyvill			2			77										79
Σ Standort		56	96	384	457	1466	1453	295	276	20	19	499	52	1			5074

5.3.1.4 Permanente Tümpel (U5 und B5)

Permanenter Tümpel des Kontroll-Transekts (U5)

In beiden Jahren habe ich an der Probestelle im Kontroll-Transekt (U5) insgesamt 1142 Chironomidenlarven gefunden und morphologisch bestimmt (Tabelle 19). Den größten Anteil machten mit 46 % Individuen der Art *Procladius sp.* (n = 529) und mit 22 % Individuen der Art *Chironomus plumosus* (n = 252) aus. *Cryptochironomus obreptans/supplicans* (n = 79) und *Polypedilum nubeculosum* (n = 76) stellten jeweils etwas mehr als 6 % der Gesamtabundanz. Auffällig ist der November 2020, in diesem Monat konnte nur ein Einzelfund von *Anatopynia plumipes* gemacht werden. Im Jahr 2022 hingegen war er mit 154 gefundenen Larven ein sehr produktiver Monat.

Tabelle 19: Artenliste des permanenten Tümpels im Kontroll-Transekt, Probestelle U5, aufgeschlüsselt nach Monaten. Die Abkürzung des Artnamens dient der einfacheren Darstellung in den folgenden Grafiken (Abbildungen 44–53).

Art	Abk.	2020								2022					Σ Art
		05	06	07	08	09	10	11	03	04	06	07	09	11	
<i>Anatopymia plumipes</i>	Anatoplu							1							1
<i>Benthalia carbonaria</i>	Bentcabo								1						1
<i>Chironomus annularis</i>	Channula										2				2
<i>Chironominae</i>	Chiminae	2	1				1				4			8	
<i>Chironomus nudiventris</i>	Chnudive										1				1
<i>Chironomus plumosus</i>	Chplumos	65	8	47	3				4	1	4	4	116		252
<i>Cladotanytarsus sp.</i>	Cladomsp				2				4						6
<i>Clinotanytus nervosus</i>	Clinonerv						10				1			11	
<i>Cladopelma virescens</i>	Clvirese	3	2	1											6
<i>Cricotopus (Isocladius) sylvestris-Gruppe</i>	CrIsoclg			1					1				1		3
<i>Cryptochironomus obrepans/supplicans</i>	Crypchos	4		4	3		1		9	4	37	4	13	79	
<i>Cryptochironomus rostratus</i>	Cryptros												2		2
<i>Dicrotrotendipes lobiger</i>	Dictrotlo								5						5
<i>Endochironomus albipennis</i>	Endoalbi				1					2			1		4
<i>Kiefferulus tendipediformis</i>	Kifferte										1				1
<i>Lipiniella araeicola</i>	Lipinara	1													1
<i>Microchironomus tener</i>	Microcten								1						1
<i>Paratanytarsus sp.</i>	Paratasp										1				1
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	Polynube	6	12	2					8	3	43	1	1		76
<i>Polypedilum sordens</i>	Polysord		5												5
<i>Procladius sp.</i>	Proclmsp	68	43	96	33	16	3		31	3	198	17	21	529	
<i>Psectrotanytus varius</i>	Psectrov			2	8		1					3		14	
<i>Tanytus kraatzi</i>	Tanykrat	10	1	31	2	2	1				1	4		52	
<i>Tanytus punctipennis</i>	Tanypunc	4		19							7	4		34	
<i>Tanytarsini sp.</i>	Tanytasp								3		1			4	
<i>Tanytus villipennis</i>	Tanyvill	41		2										43	
Σ Standort		204	72	205	52	18	17	1	67	13	296	42	1	154	1142

Permanenter Tümpel des Effekt-Transekts (B5)

Insgesamt habe ich an der Probestelle im Effekt-Transekt (B5) 1390 Chironomidenlarven gefunden und morphologisch bestimmt (Tabelle 20). Mit 23 % stellten Individuen der Gattung *Procladius* sp. (n = 322) den größten Anteil, dicht gefolgt von *Tanypus kraatzi* (n = 249, 17 %) und *Chironomus plumosus* (n = 231, 16 %). *Cryptochironomus obreptans/supplicans* (n = 114), *Polypedilum nubeculosum* (n = 138) und *Tanypus punctipennis* (n = 145) weisen Anteile von jeweils 8 bis 10 % auf. Einzelfunde sind: *Tanytarsini* sp., *Polypedilum sordens*, *Parachironomus* sp., *Glyptotendipens* sp., *Cricotopus (Isocladius) sylvestris*-Gruppe und *Chironomus annularius*.

Tabelle 20: Artenliste des permanenten Tümpels im Effekt-Transekt, Probestelle B5, aufgeschlüsselt nach Monaten. Die Abkürzung des Artnamens dient der einfacheren Darstellung in den folgenden Grafiken (Abbildungen 44–53).

Art	Abk.	2020										2022					Σ Art
		05	06	07	08	09	10	11	12	03	04	06	07	09	11		
<i>Benthalia carbonaria</i>	Bentcabo		1									24		1	2		28
<i>Chironomus acerbiphilus</i>	Chacerbi				2												2
<i>Chironomus annularius</i>	Channula															1	1
<i>Chironominae</i>	Chiminae	1	1	1	1			1		19				3			27
<i>Chironomus</i> sp.	Chiromsp	5												1			6
<i>Chironomus luridus</i>	Chluridu															2	2
<i>Chironomus plumosus</i>	Chplumos	114	41	15	10	4	5	1	7	3	2	13	8		8		231
<i>Cladopelma viridulum</i> -Gruppe	Cladopvi											6		1			7
<i>Clinotanypus nervosus</i>	Clinonerv							2		1							3
<i>Cladopelma virescens</i>	Clviresc	29	3		2	2	1							2			39
<i>Clyptotendipens</i> sp.	Clyptdsp		1														1
<i>Cricotopus (Isocladius) sylvestris</i> -Gruppe	CrIsoclg			1													1
<i>Cryptochironomus obreptans/supplicans</i>	Crypchos	1		6	1	14	16	33		8	15	12	4	3	1		114
<i>Cryptochironomus psittacinus</i>	Cryptops								3			6					9
<i>Cryptochironomus rostratus</i>	Cryptros												1		2		3
<i>Demicryptochironomus vulneratis</i>	Demicrvu												5				5

Art	Abk.	2020										2022					Σ Art
		05	06	07	08	09	10	11	12	03	04	06	07	09	11		
<i>Dicrotendipes notatus</i>	Dicrotrno												2				2
<i>Endochironomus albipennis</i>	Endoalbi												3		1		4
<i>Glyptotendipes pallens</i>	Glyptopa														3		3
<i>Microtendipes chloris-Gruppe</i>	Microchl															3	3
<i>Parachironomus sp.</i>	Parachsp				1												1
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	Polynube	13	5	4			3	12		50	4	23	20	2	2		138
<i>Polypedilum sordens</i>	Polysord		1														1
<i>Procladius sp.</i>	Proclmsp	80	31	60	43	15	3	2	2	14	3	25	13	2	29		322
<i>Psectrotanypus varius</i>	Psectrov						4	4	1		1	6	1				17
<i>Tanypus kraatzi</i>	Tanykrat	29	16	29	159	12	3							1			249
<i>Tanypus punctipennis</i>	Tanypunc	42	15	24	39	14						11					145
<i>Tanytarsus sp.</i>	Tanytasp											7		2			9
<i>Tanytarsini sp.</i>	Tanytisp		1														1
<i>Tanypus villipennis</i>	Tanyvill	16															16
Σ Standort		330	116	141	257	61	38	55	30	99	40	105	55	15	48		1390

5.3.2 Multiple Reponse Permutation Procedure

Um abschätzen zu können, ob Umweltparameter oder Standortmerkmale die Entwicklung der Chironomidenpopulation beeinflusst haben, habe ich die von mir im Freiland erhobenen Umweltparameter den einzelnen Replikaten der Probenahme zugeordnet. Diese ausgewählten Gruppen von Umweltparametern (Anhang 9–12) wurden mithilfe der *Multiple Response Permutation Procedure* (MRPP) daraufhin geprüft, ob die Gruppen statistisch unterscheidbar sind.

5.3.2.1 Einflussfaktoren Boden und organische Auflage

In der Kategorie „Böden“ wurden die Gruppen „Sediment“, „Nassgley“ und „Auenboden“ miteinander verglichen, und alle Mittelwertunterschiede waren im paarweisen Vergleich signifikant (Anhang 9). Dies gilt auch für die Kategorie „Faulschlamm“. Die beiden Gruppen „mit Faulschlamm“ und „ohne Faulschlamm“ unterscheiden sich signifikant.

5.3.2.2 Einflussfaktor Überflutungsdauer

Die Überflutungsdauer habe ich in insgesamt zehn Untergruppen eingeteilt und paarweise miteinander verglichen (Anhang 10). Hierbei wurde deutlich, dass sich die Randbereiche zueinander (kurze bis lange Überflutungsdauer) in ihren mittleren Unterschieden signifikant unterscheiden. So unterscheidet sich die Gruppe, die mindestens 91 Tage überflutet war, signifikant von den Überflutungsdauern von null bis maximal 21 Tagen. Danach ist kein signifikanter Unterschied mehr nachweisbar. Die Gruppe, die 31 bis 60 Tage überflutet war, unterscheidet sich ebenfalls signifikant von der Gruppe null bis maximal 21 Tage. Im Bereich zwischen 22 und 30 Tagen ist der mittlere Unterschied nicht mehr signifikant. Im Bereich von 61 bis 90 Tagen ist der mittlere Unterschied noch ausweisbar, darüber hinaus ist aber kein statistisch signifikanter Unterschied mehr nachweisbar. Im Bereich der kürzeren Überflutungsdauern ist die Gruppe „keine Überflutung“, also der trockene Lebensraum, bis zur Gruppe „22 bis 30 Tage Überflutungsdauer“ jeweils signifikant unterschiedlich. Dies wird auch durch die Gruppe „kontaktfeucht“ bestätigt, die sich signifikant von den Gruppen im Zeitraum von acht bis 30 Tagen unterscheidet. Im Bereich der zeitlich kürzeren Flutungen kann die Kontaktfeuchte zwar von der Trockenheit (null Tage Flutung) unterschieden werden, nicht aber von der kurzen Flutung von maximal sieben Tagen. Die mittleren Zeiträume von acht bis 21 Tagen unterscheiden sich im paarweisen Vergleich untereinander nicht signifikant.

5.3.2.3 Einflussfaktor Gewässertyp

Für den paarweisen Vergleich der Gewässertypen konnten vier Gruppen gebildet werden, wobei die ephemeren Tümpel aufgrund der geringen Individuenzahl ausgeschlossen wurden. Die permanenten Stillgewässer ohne Profundal unterscheiden sich signifikant von den anderen drei definierten Gruppen, den permanenten Tümpeln, den semipermanenten Tümpeln und den aperiodisch temporären Tümpeln. Auch die Mittelwerte der permanenten und semipermanenten Tümpel unterscheiden sich signifikant. Zwischen den semipermanenten und den aperiodisch temporären Tümpeln sowie zwischen den permanenten und den aperiodisch temporären Tümpeln konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

5.3.2.4 Einflussfaktor Vegetation

Hier wurden sowohl Untergruppen des Hydrophyten- als auch des Helophytenbewuchses miteinander verglichen (Anhang 9). Beim Helophytenbewuchs konnten alle drei Gruppen – „kein Bewuchs“, „teilweiser Bewuchs vorhanden“ und „flächiger Bewuchs“ – jeweils signifikant voneinander unterschieden werden. Beim Hydrophytenbewuchs war die Gruppe „flächiger Bewuchs“

von allen anderen Gruppen signifikant unterscheidbar. Auch die Gruppen „teilweiser Bewuchs“ und „seltener Bewuchs“ unterschieden sich signifikant voneinander. Zwischen den Gruppen „teilweiser Bewuchs“ und „kein Bewuchs“ konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

5.3.2.5 Einflussfaktor organische Substanz

Beim Vergleich der drei Untergruppen „kein“, „teilweise“ und „viel organisches Material“ konnte eine signifikante Abgrenzung aller drei Gruppen festgestellt werden (Anhang 9).

5.3.2.6 Einflussfaktor Wasserstand im Untersuchungsgebiet

Um nachvollziehen zu können, ob der aktuelle Pegelstand einen Einfluss auf die Chironomidenpopulation hat, wurden die gemessenen Pegelstände in 20 Untergruppen eingeteilt (Anhang 12). Davon konnten 13 Gruppen mittels MRPP berechnet und paarweise verglichen werden. Dabei war ein Wasserstand von mindestens 100 cm der höchste, der niedrigste Wasserstand war „kontaktfeucht“. Die Wasserstände von 5 cm bis 80 cm wurden in 5-Zentimeter-Schritten gruppiert. Danach erfolgte eine Unterteilung in 10-Zentimeter-Schritten. Aus den Berechnungen wurden folgende Gruppen aufgrund von mangelnder Individuenstärke ausgeschlossen: „75 cm“ und die doppelnden Gruppen „null cm“, und „trocken“.

Alle Gruppen mit Ausnahme der folgenden Vergleichspaare waren unterscheidbar:

- 10 cm im Vergleich zu 35 cm
- kontaktfeucht im Vergleich zu 35 cm
- 45 cm im Vergleich zu 5 cm
- 50 cm im Vergleich zu 40 cm
- 50 cm im Vergleich zu 60 cm
- 20 cm im Vergleich zu 5 cm
- 20 cm im Vergleich zu 45 cm
- 15 cm im Vergleich zu 5 cm

5.3.2.7 Einflussfaktor Kontroll- und Effekt-Transekt

Dieser Gruppenvergleich konnte zeigen, dass das Effekt- und Kontroll-Transekt sowie die potenzielle Verdriftungsfläche signifikant voneinander unterscheidbar sind.

5.3.2.8 Einflussfaktor Substrat

Im Untersuchungsgebiet wurden vier verschiedene Substrattypen ermittelt und miteinander verglichen (Anhang 9). Dabei konnte der Substrattyp „Kies/Sand“ signifikant von den anderen drei Substraten „Schluff/Ton“, „Tonschluff“ und „terrestrischer Boden“ unterschieden werden. Dies gilt auch für den Vergleich zwischen „Schluff/Ton“ und „Tonschluff“, jedoch nicht für die Vergleiche zwischen „terrestrischer Boden“ und „Schluff/Ton“ sowie „Tonschluff“.

5.3.2.9 Einflussfaktor Trockenheit

Um den Einfluss unterschiedlich langer Trockenperioden auf die Entwicklung der Chironomiden vergleichen zu können, wurden diese in sieben Kategorien eingeteilt, von denen fünf Gruppen paarweise verglichen werden konnten (Anhang 10). Als Ergebnis konnten alle Vergleichsgruppen „kontaktfeucht“, „0 Trockenheit = geflutet“, „ ≤ 7 Tage Trockenheit“, „ ≤ 14 Tage“ und „ ≤ 21 Tage“ – signifikant voneinander unterschieden werden.

5.3.3 Indicator Species Analysis

Mithilfe der Indikatorartenanalyse (ISA) wurden Indikatorarten gesucht, die zuverlässig definierte Umweltbedingungen anzeigen. Dazu wurden nominal skalierte Umweltfaktoren verwendet. Die ISA konnte für 18 Umweltparameter signifikante Indikatorarten ermitteln (Anhang 9–10). Nur eine Art konnte als Indikator für einen bestimmten Gewässertyp identifiziert werden: *Psectrotanypus varius* steht mit einem Indikatorwert von 65,8 ($p = 0,0054$) signifikant für die semipermanenten Tümpel. Für die Frage, ob eine Faulschlammschicht einen Einfluss auf die Chironomidenpopulation hat oder nicht, konnte keine Indikatorart ermittelt werden.

Betrachtet man alle Umweltfaktoren, die dem Bereich der Bodenpräferenzen zugeordnet werden können, so zeigt sich, dass *Chironomus plumosus* im vorliegenden Untersuchungsgebiet eine Indikatorart für Auengley-Böden ist, während *Smittia sp.* terrestrische Böden anzeigt. Die Gattung *Procladius* zeigt schluffige und tonige Böden mit mäßiger organischer Substanz an. *Psectrotanypus varius* hingegen ist typisch für Standorte mit hoher organischer Substanz und für schlammige Böden.

Indikatorarten für das Vorkommen von Helophyten sind *Chironomus plumosus* und *Psectrotanypus varius*. Letztere sind auch Indikatorarten für das seltene Vorkommen von Hydrophyten. *Smittia sp.* zeigt das Fehlen von Hydrophyten an.

Sowohl *Benthalia carbonaria* als auch *Glyptoptenidpes pallens*, *Polypedilum nubeculosum* und *Tanytarsus sp.* sind Indikatorarten für die Umweltfaktoren „keine Überflutung des Gebietes“ und „Trockenheit bis max. 7 Tage“. *Cryptotentipes sp.* zeigt Überflutungen von bis zu 14 Tagen an. *Cryptochironomus rostratus*, *Microtendipes chloris*-Gruppe und *Procladius sp.* stehen für eine Trockenheit bis maximal 14 Tage. *Chironomus annularis* ist typisch für einen Wasserstand von 15 cm. *Psectrotanypus varius* zeigt sowohl Überschwemmungen bis maximal sieben Tage als auch kontaktfeuchte Böden an.

5.3.4 Multifaktorielle Korrespondenzanalyse der Chironomidenzönose

Zur Beschreibung der Chironomidenzönose im Naturschutzgebiet Horren habe ich direkte (CA) und indirekte (CCA) Korrespondenzanalysen berechnet. Dabei wurden dieselben Umweltfaktoren wie für die MRPP und ISA verwendet. Ergänzt wurden diese um den Einflussfaktor Bti. Für weitere methodische Erläuterungen siehe Kapitel 4.3.6.3.

5.3.4.1 Allgemeine Betrachtung der multivariaten Korrespondenzanalysen

Das Ordinationsdiagramm des Korrelations-Triplot berücksichtigt alle Taxa, die an der jeweiligen Probestelle gefunden wurden und ordnet sie farblich dem vorliegenden Gewässertyp zu. Die Abbildung 42 zeigt die Ähnlichkeitsmuster der Zusammensetzung der Zönosen der einzelnen Gewässertypen. Hierfür wurden die Mittelwerte der Taxaabundanzen und sowohl die biotischen als auch die abiotischen Umweltparameter gemeinsam analysiert, um anhand der Ordination strukturelle Zusammenhänge ableiten zu können. Es zeigte sich, dass die Chironomidenzönose der semipermanenten Gewässer mit dem Anteil an organischem Material im Gewässer, mit der Menge an Helophyten und auch zu einem gewissen Anteil mit der vorliegenden Tagestemperatur korreliert. Die Zönosen der permanenten Gewässer dagegen korrelieren mit langen Überflutungsphasen und einem möglichst hohen Anteil an Hydrophyten. Hohe Faulschlammanteile korrelieren mit einzelnen Artaufnahmen der semipermanenten wie auch der permanenten Gewässer. Da sowohl die Ordination für den Hydrophytenanteil als auch für die Flut übereinanderliegen, orientiert sich die Chironomidenzönose der aperiodischen Tümpel an beiden Vektoren. Da an den

aperiodischen Tümpeln jedoch keine Hydrophyten vorlagen, ist die Korrespondenz vor allem dem Umweltfaktor Überflutungsdauer zuzuordnen.

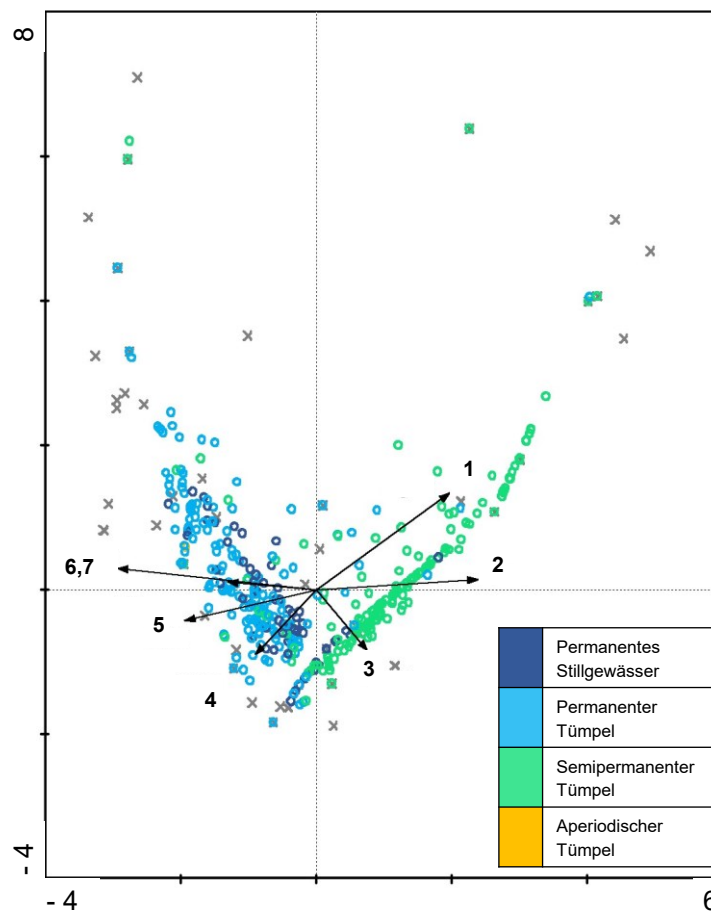


Abbildung 42: Ordinationsdiagramm der indirekten Gradientenanalyse (Korrelations-Triplot) mit den sieben ordinalen Merkmalen. Die Vektoren der Umweltgradienten werden per Pfeile dargestellt: Anteil an organischem Material (1), Anteil an Helophyten (2), Tagestemperatur (3), Faulschlamm (4), Pegelstand (5), Anteil an Hydrophyten (langer Pfeil = 6) und Überflutungsdauer (kurzer Pfeil = 7). Als Datengrundlage wurden die Replikate der einzelnen Artaufnahmen den jeweiligen Gewässertypen zugeordnet. Der Gewässertyp ephemere Tümpel wurde als Ausreißer entfernt, da hier nur ein einziges Replikat vorlag. Die grauen Kreuze stellen die gewichteten Mittelwerte der detektierten Chironomidenarten dar. Der Eigenwert der ersten Ordinationsachse ist 0,329, der der zweiten Ordinationsachse 0,439. Es zeigt sich, dass die Chironomiden der semipermanenten Gewässer (= grün) sowohl positiv mit einer Zunahme an organischem Material (1) als auch mit einem zunehmenden Helophytenewuchs (2) korrelieren. Zudem korrelieren die semipermanenten Tümpel teilweise mit der Temperatur (3). Die Chironomiden der permanenten Gewässer dagegen (= hell- und dunkelblau) korrelieren mit einem höheren Anteil an Hydrophyten (6), höheren Pegelständen (5) längeren Überflutungsdauern (7). Die Faulschlamm (4) ist dagegen nicht eindeutig den Chironomiden eines Gewässertyps zuzuordnen. Die Chironomiden der aperiodischen Tümpel (= gelb) korrelieren positiv mit der Überflutungsdauer (7).

Der Korrelations-Triplot (Abbildung 43) zeigt, dass die gewichteten Mittelwerte der permanenten Tümpel (U5 und B5) sehr eng beieinander liegen. Sie unterscheiden sich somit deutlich weniger voneinander als die der semipermanenten Tümpel (U4 und B4). Der gewichtete Mittelwert von U4 (Kontroll-Transsekt) orientiert sich stärker am Vektor des Umweltparameters Anteil an organischem Material, während sich der gewichtete Mittelwert von B4 (Effekt-Transsekt) am Vektor des Umweltparameters Tagestemperatur orientiert. Zudem wird deutlich, dass sich die semipermanenten Gewässer in ihrer Zönosen-Zusammensetzung deutlich nach rechts absetzen, während die gewichteten Schwerpunkte der anderen drei Gewässertypen näher zusammenliegen und stärker mit allen feuchtigkeitsassoziierten Umweltgradienten (Überflutungsdauer bzw. Dauer des

Trockenfallens, Pegelstand und Anteil der Hydrophyten) korrelieren. Der CA-Biplot (Abbildung 44) zeigt die Anordnung der einzelnen Chironomidenarten im Ordinationsdiagramm der Chironomidenzönose, abhängig vom vorliegenden Gewässertyp. Hier zeigt sich, dass sich gewichteten Mittelpunkte zahlreicher Chironomidenarten (als graue Kreuze dargestellt) um den Schnittpunkt der Ordinationsachsen herum orientieren und somit weniger stark durch die wirkenden Umweltfaktoren beeinflusst wird. Allerdings lässt sich eine Korrelation zwischen den Chironomidenarten und den Gewässertypen feststellen. So sind beispielsweise *Chironomus tentans* (Chtentan) oder *Psectrotanypus varius* (Psectrov) eindeutig mit den semipermanenten Tümpeln assoziiert, während *Clinotanypus nervosus* (Clinoner) mit den permanenten Tümpeln korreliert.

Der Attributplot (Abbildung 45) zeigt, dass die mittleren Artzahlen der jeweiligen Artaufnahmen der verschiedenen Gewässertypen relativ gleich verteilt sind. Die semipermanenten bis permanenten Gewässer weisen mittlere Artzahlen von weniger als eins bis über 2,8 auf. Die aperiodischen Tümpel weisen eine Artzahl von 2,6 auf. Der Großteil der semipermanenten Tümpel weist eine mittlere Artzahl von 2,2 auf, die der permanenten Gewässer liegt mit 2,4 bis 2,6 marginal höher. Dies deckt sich mit den absoluten Zahlen. Hier konnten die semipermanenten Tümpel im Schnitt 19,5 und die permanenten Standorte 22 Arten aufweisen.

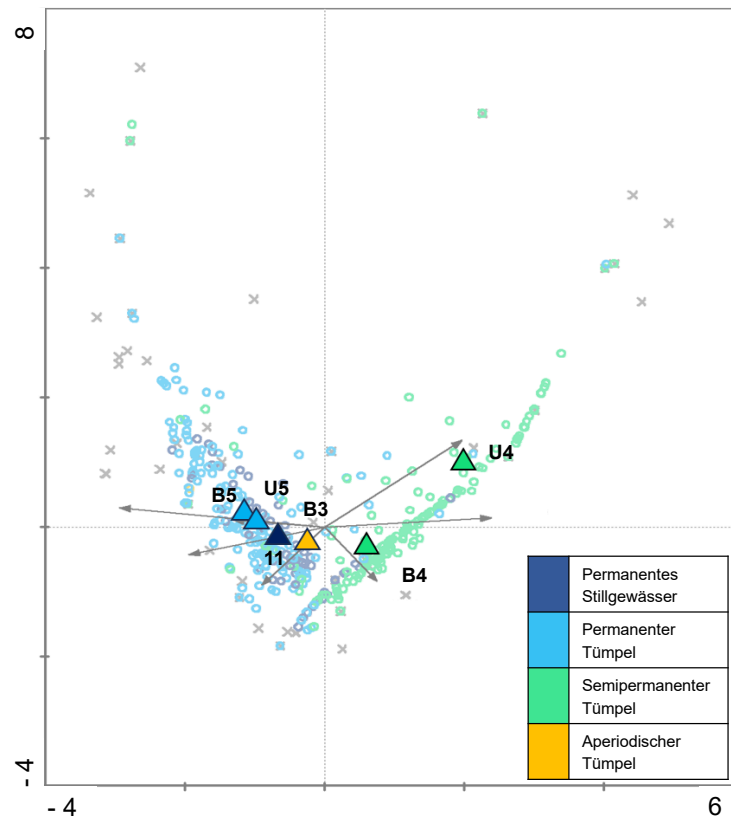


Abbildung 43: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Korrelations-Triplot der indirekten Gradientenanalyse) mit gewichteten Mittelwerten der Gewässertypen. Datengrundlage entspricht Abbildung 42. Gewichteter Mittelwert von U3 fehlt, da im Untersuchungsraum keine Chironomiden detektiert werden konnten. Es zeigt sich, dass sich die Zusammensetzung der Chironomidenzönosen sich innerhalb der permanenten Gewässer (= hell- und dunkelblau) mehr ähneln als die beiden Probestelle der semipermanenten Gewässer (= grün) U4 und B4.

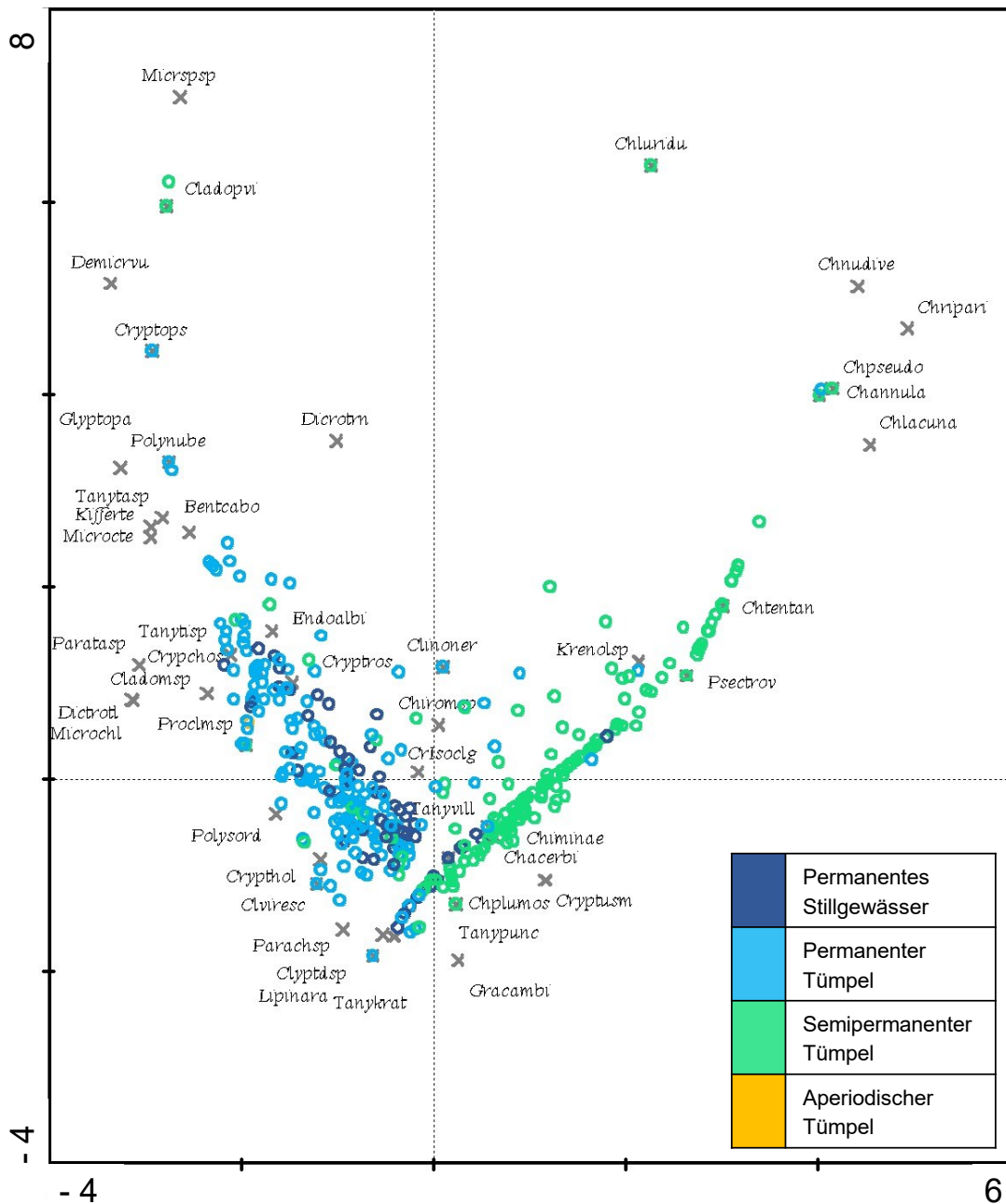


Abbildung 44: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen-Biplot (indirekte Gradientenanalyse) mit den einzelnen Artaufnahmen. Diese sind eingeteilt nach Gewässertypen sowie den damit korrelierenden gewichteten Mittelpunkten der Chironomiden-Taxa (= graue Kreuze). Der Eigenwert der ersten Ordinationsachse ist 0,329, der der zweiten Ordinationsachse 0,439. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden.

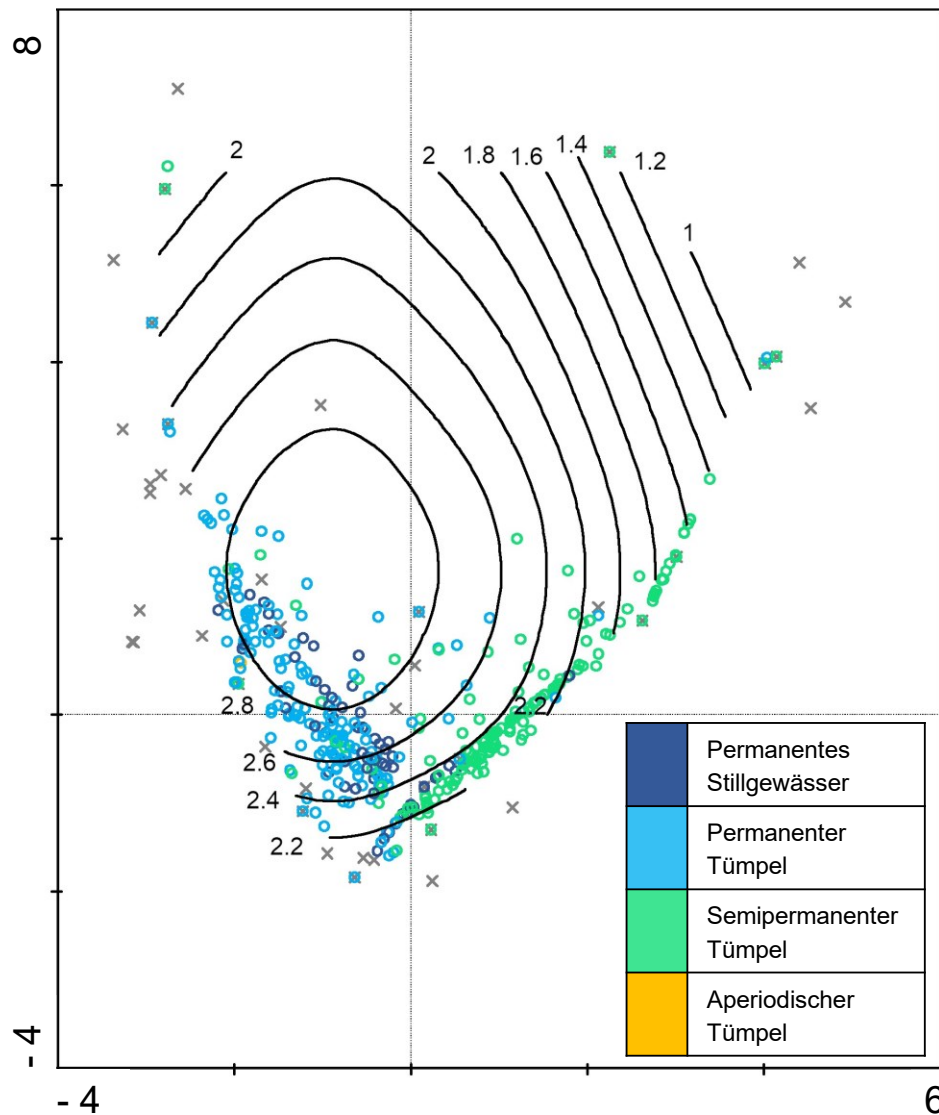


Abbildung 45: Korrespondenzanalysen-Attributplot (indirekte Gradientenanalyse) der Artaufnahmen, kombiniert mit den eingeblendeten Isolinien der jeweiligen Artenzahl. Der Eigenwert der ersten Ordinationsachse ist 0,329, der der zweiten Ordinationsachse 0,439. Die mittleren Artzahlen der jeweiligen Artaufnahmen der verschiedenen Gewässertypen liegen hauptsächlich in einem Bereich von 2,2–2,8 und sind damit sehr eng gefasst.

Das Ordinationsmuster der direkten Gradientenanalyse (Abbildung 46) aller vorliegenden Datenpunkte zeigt, dass die detektierten Chironomidentaxa stark mit den Umweltgradienten Jahr und dem Tag seit der letzten Bti-Applikation korrelieren. Die teilweise großen Unterschiede zwischen den jahreszeitlichen Aufnahmen überlagern hierbei den Einfluss der letzten Bti-Applikation. Eine weitere Gruppe der Chironomidentaxa korreliert mit der Zunahme an organischem Material. Diese Taxa ordnen sich im Ordinationsdiagramm gemeinsam mit Artaufnahmen des humusreichen Standorts U4 an. Die Artaufnahmen der aperiodischen Tümpel korrelieren stark mit dem Anteil der Helophyten, die der permanenten Tümpel dagegen mit den Hydrophyten. Die Artaufnahmen der permanenten Tümpel korrelieren zudem mit den Umweltfaktoren Flut und Trockenheit. Die Artaufnahmen des semipermanenten Tümpels aus dem Effekt-Transsekt (B4) korrelieren mehrheitlich mit dem jahreszeitlichen Verlauf, was auch für die Überlappung der Umweltgradienten Monat und Tagestemperatur spricht. Die Artaufnahmen der permanenten Stillgewässer (11) setzen sich im Ordinationsmuster ab und nehmen eine Verbindung zu den Artaufnahmen der permanenten Tümpel auf. Zudem wird deutlich, dass zwar die Artaufnahmen der aperiodisch temporären Standorte stark positiv mit dem Vektor der Zunahme an Helophyten korrelieren, aber sich

auch einige Arten an diesem Vektor orientieren. Hierzu zählen aus der Unterfamilie der *Tanyptodinae* *Krenopelopia* sp. und *Psectrotanypus varius*. Zudem korrelieren einige Arten aus der *Chironomus*-Gattung mit diesem Vektor: *Chironomus riparius*, *Ch. lacunarius*, *Ch. tentans*, *Ch. annularis*, *Ch. obtusidens*, *Ch. pseudothummi*, *Ch. acerbiphilus* und *Ch. luridus*. Dies wird dadurch bestätigt, dass *Psectrotanypus varius* auch Indikatorart für das Vorhandensein von Helophyten ist. Zudem finden sich sehr viele Arten, die längerfristige Wasserkörper und somit auch die Ausbildung von (submersen) Hydrophyten bevorzugen und mit dem dazugehörigen Vektor korrelieren. Die typische pflanzenassoziierte Chironomiden *Anatopymia plumipes*, *Cricotopus (Isocladius) sylvestris*-Gruppe, *Endochironomus albipennis*, *Parachironomus* sp., *Glyptotendipes pal lens* bilden einen Cluster mit dem stärksten positiven Zusammenhang mit dem Vektor der Umweltvariable Hydrophyten.

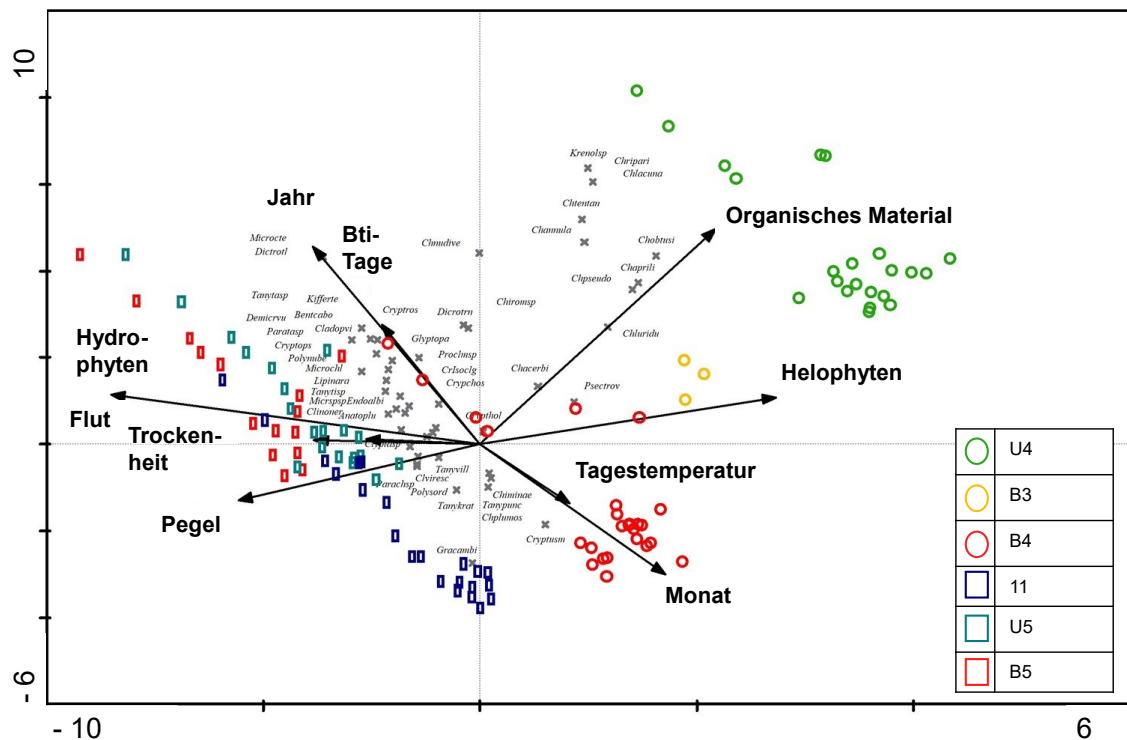


Abbildung 46: Korrespondenzanalysen-Triplot (direkte Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Chironomidtaxa der beiden Untersuchungsjahre 2020 und 2022. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Es erfolgte eine Ausreißer-Reduktion um die Artaufnahme 00723U13, die ausschließlich *Smittia* sp. [$n = 4$] enthielt. Die Artaufnahmen der jeweiligen Probestelle korrelieren zum Teil sehr deutlich positiv mit den jeweiligen Umweltfaktoren. Die Artaufnahmen von U4 korrelieren positiv mit dem Einflussfaktor Organisches Material, die von B3 mit den Helophyten, die von B4 sowohl mit der Tagestemperatur als auch dem Monat. Auch das Untersuchungsjahr und die Tage seit der letzten Bti-Applikation haben einen Einfluss auf die Chironomiden des B4-Standorts. Die Chironomidtaxa der permanenten Gewässer (B5, U5, 11) korrelieren mit den zunehmenden Einflussfaktoren Hydrophyten, Flut, Trockenheit und Pegel. Alle zehn Umweltfaktoren sind mindestens auf dem 5-Prozent-Niveau signifikant. Die Summe aller Eigenwerte beläuft sich auf 0,624, die der kanonischen Eigenwerte auf 0,019. Somit können die getesteten Umweltfaktoren 3 % der Gesamtvarianz erklären.

Das Ordinationsdiagramm (Abbildung 47) aller Gewässertypen und aller Chironomidentaxa aus dem Jahr 2020 zeigt eine ähnliche Musterverteilung wie die Gesamtbetrachtung beider Jahre. Die einzelnen Clusterbildungen an Artaufnahmen der einzelnen Gewässertypen sind jedoch noch eindeutiger ausgeprägt. In der Gesamt-Zönosen-Berechnung sowohl beider Jahre (2020 und 2022) gemeinsam als auch in der Einzelberechnung für 2020 hatte die Bti-Applikation jeweils einen höchst signifikanten Einfluss (p-Wert in beiden Berechnungen: $p = 0,0020$). Um die Darstellung falschpositiver Ergebnisse aufgrund einer Korrelation zwischen der Bti-Applikation und dem Jahresverlauf zu verhindern, wurde als zusätzliche Umweltvariable der Vektor Monat in die Berechnungen inkludiert. Auch dieser ist in beiden Berechnungen hoch signifikant mit jeweils $p = 0,0020$. Um den Einfluss der Bti-Applikation deutlicher abgrenzen zu können, war es notwendig, immer nur die beiden Vergleichsstandorte (aus dem Effekt- und Kontroll-Transekt) pro Gewässertyp miteinander zu vergleichen.

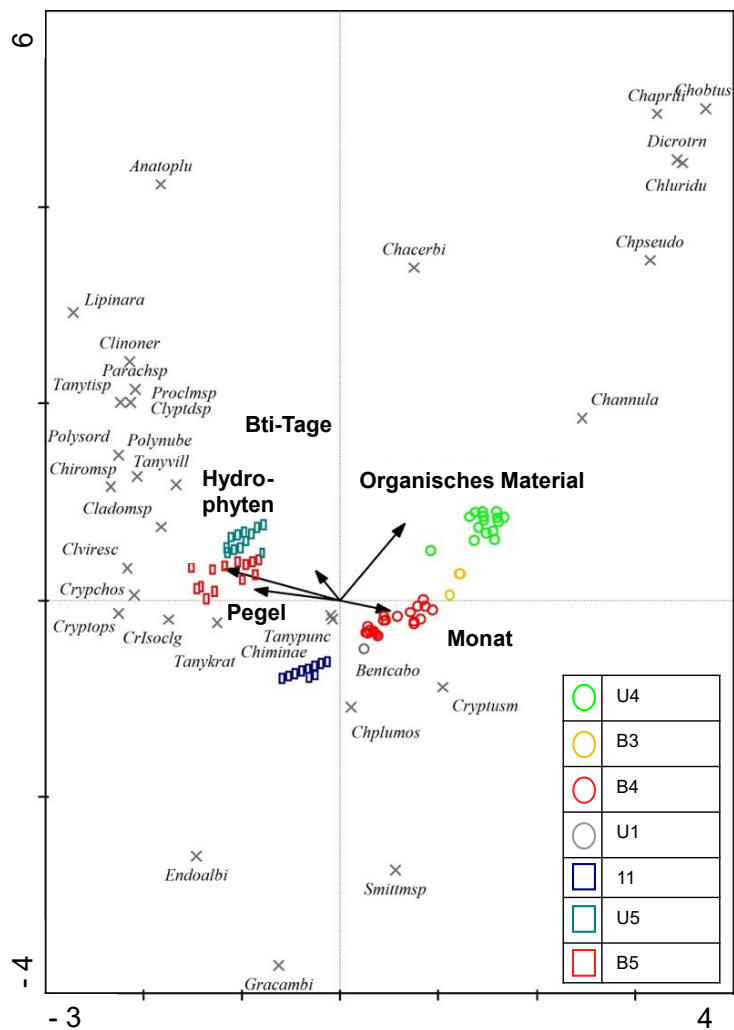


Abbildung 47: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten aus 2020. B5 wird hier als mögliche mit Bti behandelte Verdriftungsfläche berechnet. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Die Chironomiden der jeweiligen Probestellen korrelieren dann mit den Umweltfaktoren positiv, wenn sie sich an der entsprechenden Vektorenrichtung rechtwinklig anordnen. Alle eingeblendeten Umweltfaktoren (Pfeile) sind mindestens auf dem 5-Prozent-Niveau signifikant. Auf nicht signifikante Umweltfaktoren wurde bei der Darstellung verzichtet. Die Summe aller Eigenwert beläuft sich auf 9,032, die der kanonischen Eigenwerte auf 1,859. Somit können die gewählten Faktoren 20,6 % der Gesamtvarianz erklären.

5.3.4.2 Korrespondenzanalysen mit besonderem Fokus auf die Verdriftung von Bti in permanenten Tümpeln

Der CCA-Triplot (Abbildung 48) beider Probestellen der permanenten Tümpel (B5 und U5) zeigt eine relativ homogene Verteilung der Artaufnahmen des Kontroll- sowie des Effekt-Transekts. Keine der beiden Gruppen setzt sich deutlich ab. Zieht man ausschließlich die Auswertung des B5-Standortes heran, ergibt sich ein ähnliches Bild (Abbildung 49). Zwar zeigt sich, dass der Abstand zwischen der letzten Bti-Behandlung des Gebiets, sofern man von einer Verdriftung ausgehen würde, einen statistisch signifikanten Effekt hätte, jedoch weist die Musterverteilung der Zönose keinen eindeutigen Trend auf. Folgende Taxa orientieren sich verstärkt am Umweltfaktor Tage seit letzter Bti-Applikation: *Tanytus villipennis*, *Polypedilum sordens*, *Clyptotendipens* sp., *Benthalia carbonaria*, *Tanytarsini* sp., *Chironomus plumosus*, *Tanytus punctipennis* und *Procladius* sp.. Allerdings sind bis auf *Chironomus plumosus* alle Einzelfunde und gelten somit als *rare species*. Zieht man die Phänologiekurve von *Chironomus plumosus* (Abbildung 51) heran, so zeigt sich, dass die höchsten Abundanzen zwischen Mai und Juli detektiert werden konnten. Der Verlauf der Phänologiekurven im B5- und im U5-Transekt sind ähnlich, sodass ein kurzfristiger Effekt von Bti in der Einzelartbetrachtung für *Chironomus plumosus* ausgeschlossen werden kann.

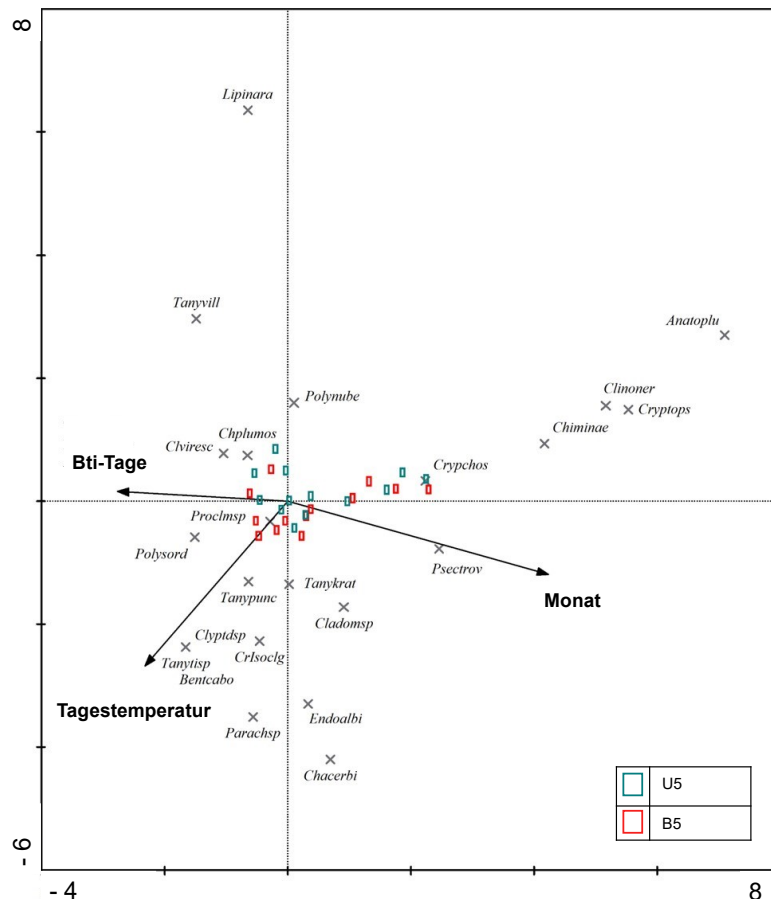


Abbildung 48: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten der permanenten Tümpel des Jahres 2020. B5 wird hier als mögliche mit Bti behandelte Verdriftungsfläche berechnet. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Die Chironomiden der jeweiligen Probestellen korrelieren mit den Umweltfaktoren positiv, wenn sie sich rechtwinkelig an dem entsprechenden Vektor anordnen. Alle abgebildeten Vektoren der Umweltvariablen (Pfeile) sind mindestens auf dem 5-Prozent-Niveau signifikant. Auf nicht signifikante Umweltfaktoren wurde bei der Darstellung verzichtet. Die Summe aller Eigenwert beläuft sich auf 6,144, die der kanonischen Eigenwerte auf 0,281. Somit können die gewählten Faktoren 4,6 % der Gesamtvarianz erklären.

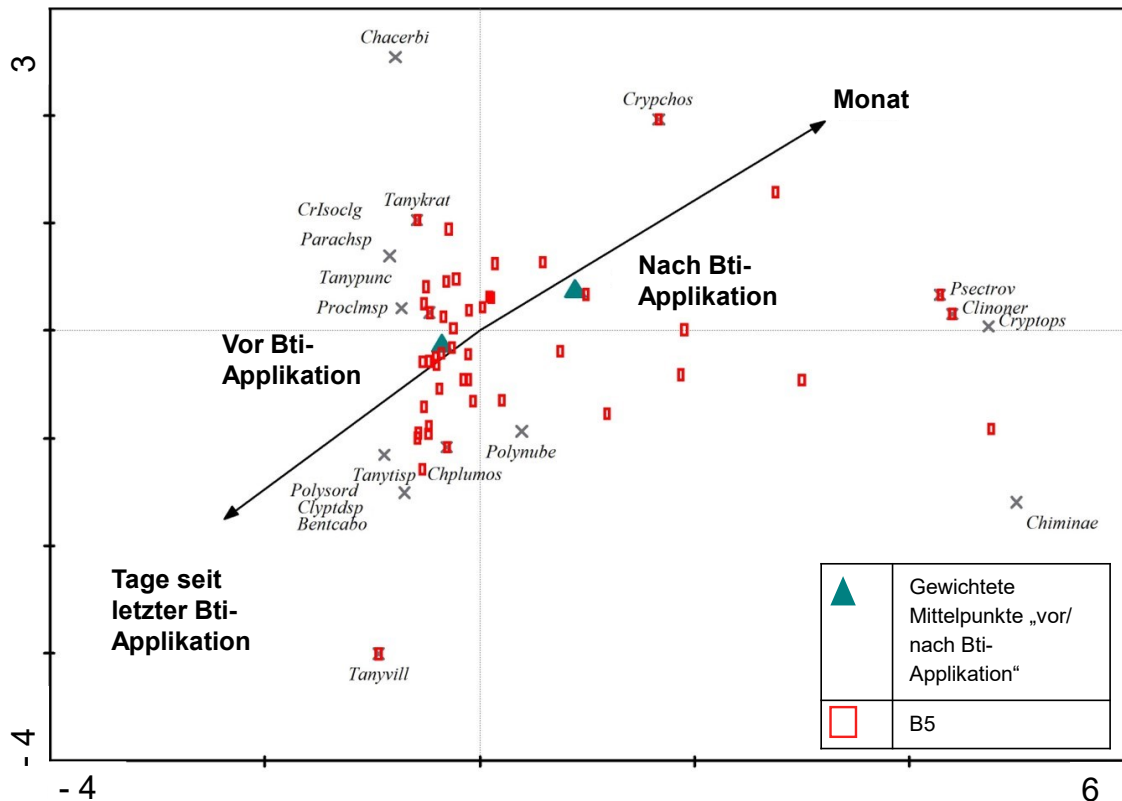


Abbildung 49: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten der Effekt-Transekts der permanenten Tümpel (B5) des Jahres 2020. B5 wird hier als mögliche mit Bti behandelte Verdriftungsfläche betrachtet. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Anhand der grauen Kreuze lässt sich ablesen, ob sich die dazugehörige Art rechtwinkelig an einem der Vektoren ausrichtet und somit positiv mit ihm korreliert. Dies ist beispielsweise für *Benthalia carbonaria* (Bentcabo) der Fall. Das Auftreten dieser Art korreliert mit der zunehmenden Dauer seit der letzten Bti-Applikation. Die grünen Dreiecke zeigen die gewichteten Mittelpunkte der nominalen Umweltvariable „Vor- bzw. nach Bti-Behandlung“ an. Alle abgebildeten Vektoren der Umweltvariablen (Pfeile) sind mindestens auf dem 5-Prozent-Niveau signifikant. Auf nicht signifikante Umweltfaktoren wurde bei der Darstellung verzichtet. Die Summe aller Eigenwerte beläuft sich auf 6,144, die der kanonischen Eigenwerte auf 0,281. Somit können die gewählten Faktoren 4,6 % der Gesamtvarianz erklären.

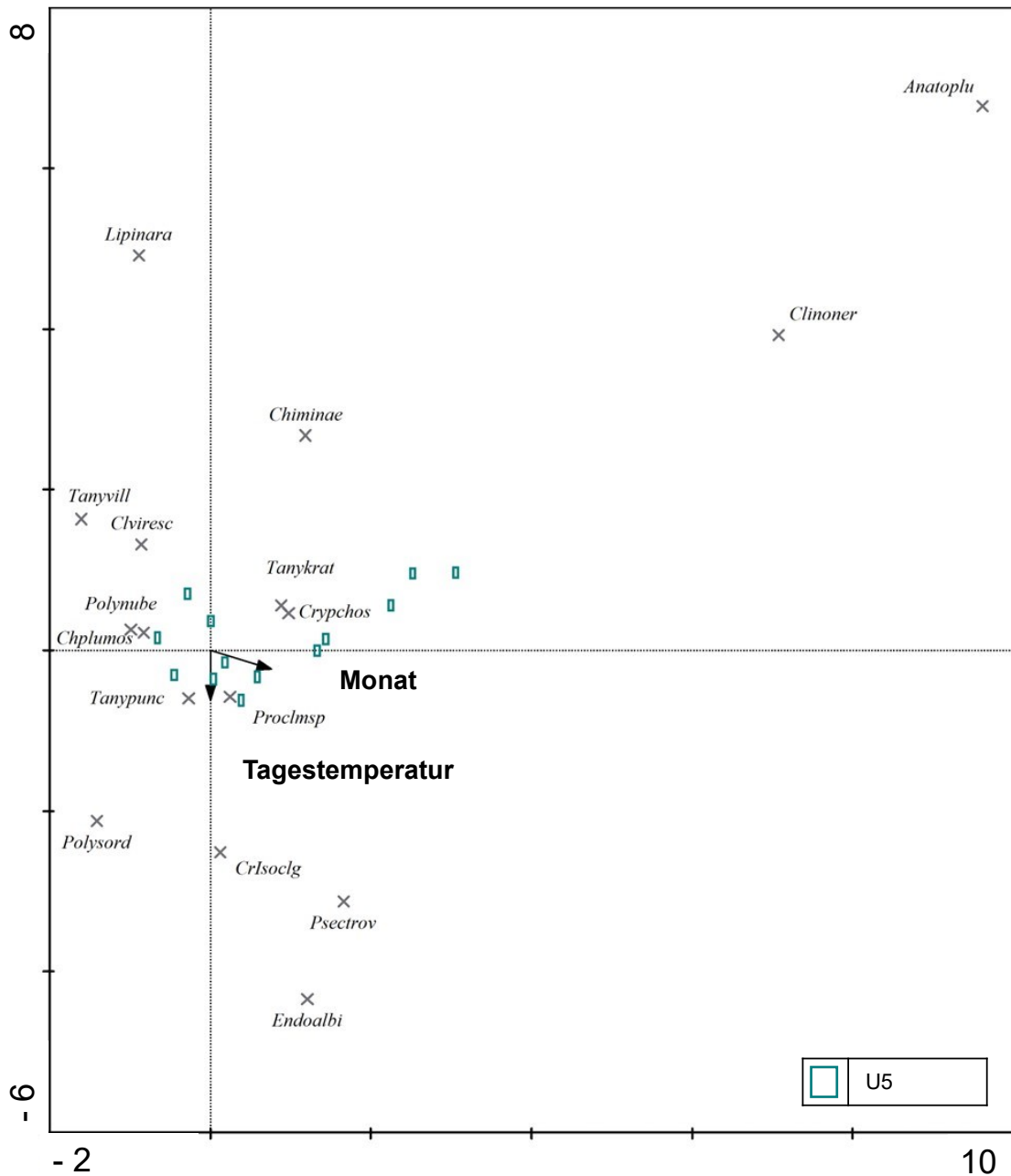
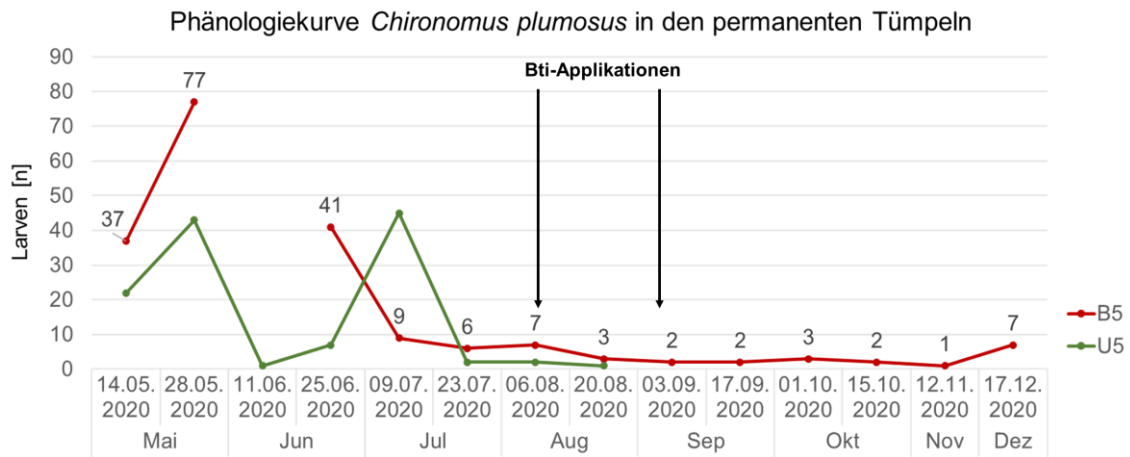


Abbildung 50: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalysen (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten des Kontroll-Transektivs der permanenten Tümpel (U5) des Jahres 2020. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Alle abgebildeten Vektoren der Umweltvariablen (Pfeile) sind mindestens auf dem 5-Prozent-Niveau signifikant. Auf nicht signifikante Umweltfaktoren wurde bei der Darstellung verzichtet. Innerhalb der Probestelle U5 lässt sich ausschließlich eine Korrelation der Chironomiden-Taxa mit den Umweltvariablen Monat und Tagestemperatur erkennen, die anderen Umweltfaktoren waren nicht signifikant. Die Summe aller Eigenwerte beläuft sich auf 6,144, die der kanonischen Eigenwerte auf 0,281. Somit können die gewählten Faktoren 4,6 % der Gesamtvarianz erklären.

Abbildung 51: Phänologiekurve von *Chironomus plumosus* in den permanenten Tümpeln 2020

5.3.4.3 Korrespondenzanalysen mit besonderem Fokus auf den Effekt von Bti in semipermanenten Tümpeln

Für die CCA des Standortes U4, der Probestelle des Kontroll-Transekts der semipermanenten Gewässer, konnten keine signifikanten Umweltvariable mit $p \leq 0,05$ herangezogen werden, so dass hier auch kein Ordinationsdiagramm erstellt wurde.

Der CCA-Triplot (Abbildung 52) für die semipermanenten Standorte im Jahr 2020 zeigt, dass sich unabhängig vom Jahresverlauf (Vektor Monat) eine Gruppe von B4-Standorten ähnlich der U4-Standorte in Richtung der Umweltvariable Tage seit letzter Bti-Applikation absetzt. Diese Standorte sind alle im Jahr 2020 vor dem 06.08.2020 (Tag der ersten Bti-Applikation) beprobt worden. Es zeigt sich jedoch, dass sich an diesem Gradienten auch die Chironomidenarten *Chironomus pseudothummi*, *Dicrotendipes notatus*, *Polypedilum nubeculosum*, *Chironomus luridus*, *Chironomus aprillinus*, *Chironomus annularius*, *Chironomus aprillinus* und *Psectrotanypus varius* orientiert sind. *Dicrotendipes notatus*, *Chironomus aprillinus*, *Chironomus luridus*, *Polypedilum nubeculosum* treten 2020 jedoch ausschließlich in U4 auf, weswegen ein Zusammenhang mit der Bti-Applikation ausgeschlossen werden kann. *Chironomus pseudothummi* trat nur am 06.08.2020 in B4, und zwar direkt vor der ersten Bti-Applikation als Einzelfund, auf.

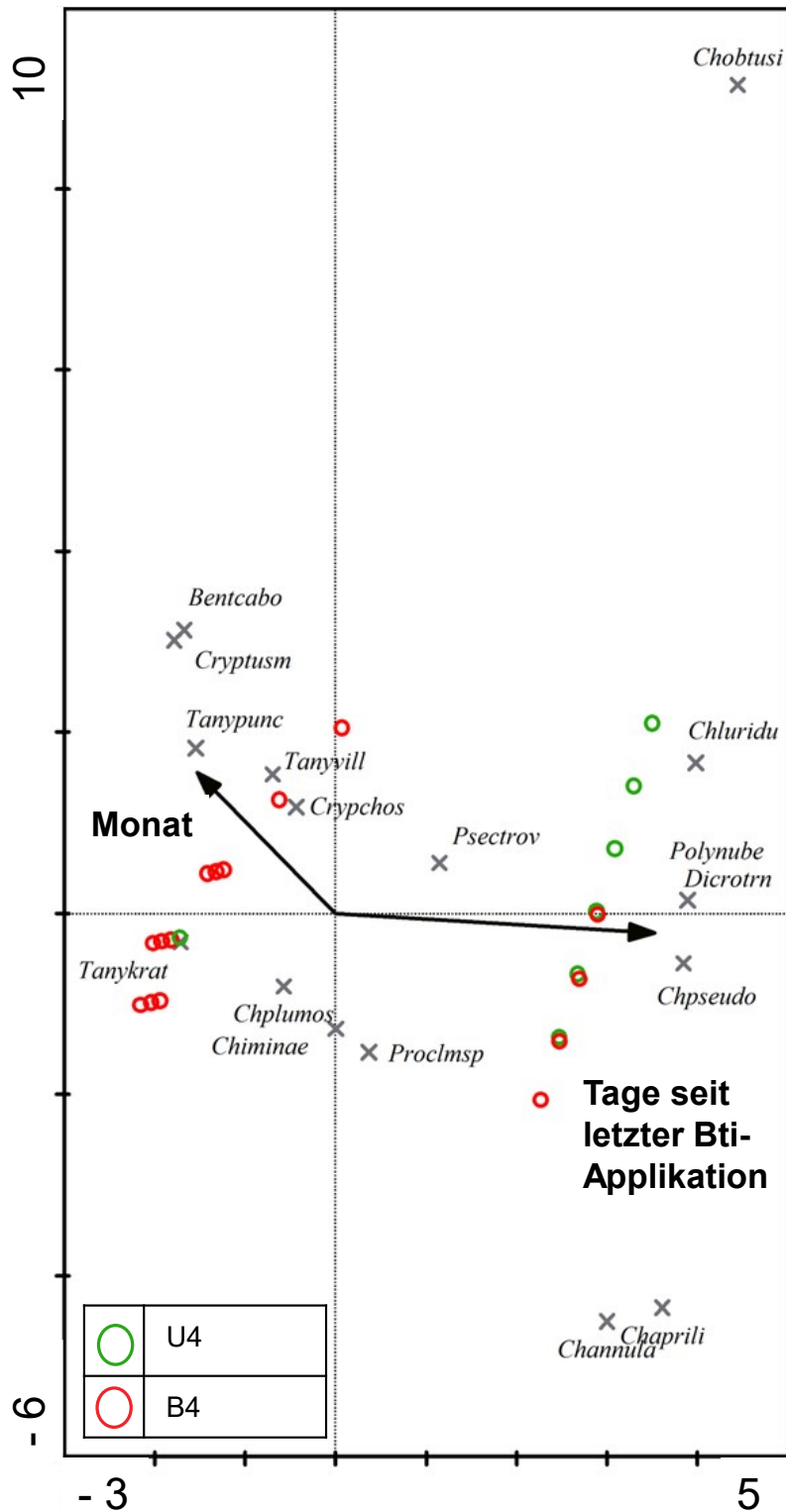


Abbildung 52: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Triplot der direkten Gradientenanalyse) anhand aller Artaufnahmen und Arten der semipermanenten Standorte aus 2020. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Anhand der grauen Kreuze lässt sich ablesen, ob sich die dazugehörige Art an einem der Vektoren rechtwinkelig ausrichtet und somit positiv mit ihm korreliert. So zeigt sich, dass bspw. *Chironomus pseudothummi* (Chpseudo) positiv mit einer Zunahme der Tage seit der letzten Bti-Applikation korreliert. Der Umweltfaktor Monat weist einen p-Wert von 0,046 und die Tage seit der letzten Bti-Applikation weisen einen p-Wert von 0,002 auf. Auf nicht signifikante Umweltfaktoren wurde bei der Darstellung verzichtet. Die Summe aller Eigenwerte beläuft sich auf 4,214, die der kanonischen Eigenwerte auf 0,269. Somit können die gewählten Faktoren 6,4 % der Gesamtvarianz erklären.

Die Phänologiekurve von *Psectrotanypus varius* (Abbildung 54) weist an den beiden Standorten B4 und U4 einen ähnlichen Verlauf auf. Beide Populationen haben einen zeitversetzten Peak mit darauffolgenden Einbrüchen. Ab dem 03.09.2020 laufen beide Kurven fast parallel, im Oktober erreicht die Population in B5 ihren Höchststand, während U5 schon wieder abnimmt.

Der CCA-Triplot des semipermanenten Gewässers im Effekt-Transekt (B4) (Abbildung 53) zeigt eine Aufspaltung der Artaufnahmen in drei Gruppen. Die meisten Artaufnahmen korrelieren mit dem gewichteten Mittelpunkt der nominalen Variable nach der Bti-Applikation, allerdings setzen sich auch zwei unabhängige Gruppen entlang der Vektoren der Variablen Monat und Tage seit letzter Bti-Applikation ab. Insbesondere die Art *Chironomus annularis* korreliert mit den beiden Umweltfaktoren Tage seit letzter Bti-Applikation und Monat. Auch *Psectrotanypus varius* und *Chironomus plumosus*, *Procladius* sp. und *Cryptochironomus* sp. korrelieren im Ordinationsdiagramm mit der seit der letzten Bti-Applikation vergangenen Zeit. Die gemessenen monatlichen Abundanzen von *Procladius* sp. und *Cryptochironomus* sp. sind so gering, dass der Zusammenhang zwischen Bti-Applikation und Abundanzveränderungen nicht abgeleitet werden kann. Die Phänologiekurven von *Chironomus plumosus*, *Chironomus annularis* und *Psectrotanypus varius* lassen sich nicht mit den Bti-Applikationen am 06.08. und 02.09.2020 korrelieren, auch weil im Kontroll-Transekt (U4) nicht genügend detektierte Individuen für einen Direktvergleich vorliegen. Zwar liegen Schwankungen in der Phänologiekurven vor, diese lassen sich jedoch nicht mit den Bti-Applikationen korrelieren (Abbildung 54).

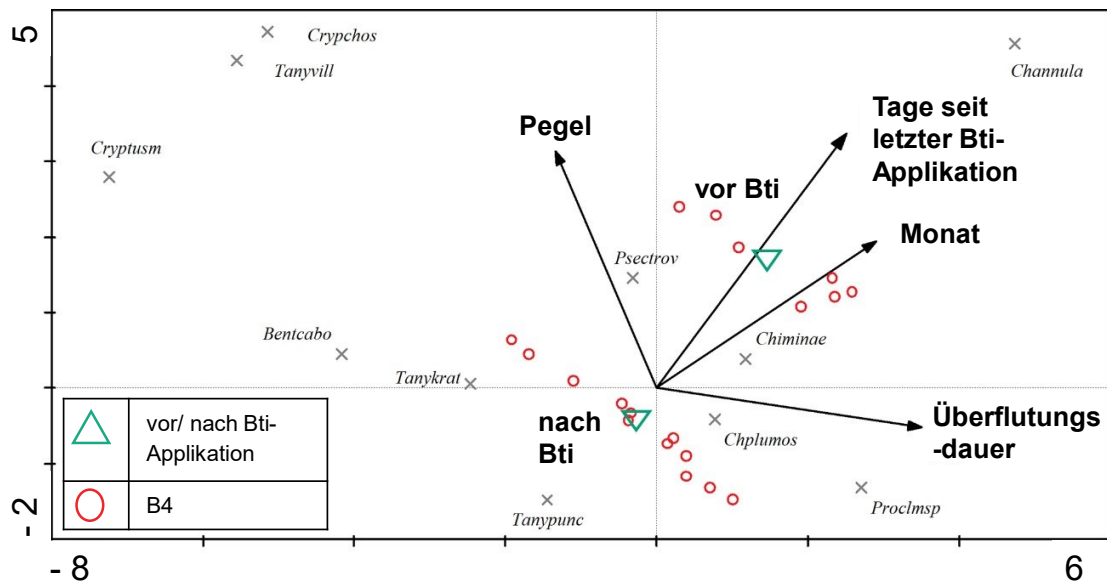


Abbildung 53: Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Triplot der direkten Gradientenanalyse) des Effekttransekts B4 im Jahr 2020. Die grauen Kreuze stellen die Schwerpunkte der jeweiligen Arten dar. Die Chironomiden-Taxa sind zu Gunsten einer übersichtlichen Darstellung abgekürzt. Die vollständige taxonomische Bezeichnung kann den Tabellen 17–20 entnommen werden. Anhand der grauen Kreuze lässt sich ablesen, ob sich die dazugehörige Art an einem der Vektoren rechtwinkelig ausrichtet und somit positiv mit ihm korreliert. So zeigt sich, dass bspw. *Chironomus annularis* (*Channula*) positiv mit dem Vektor Tage seit letzter Bti-Applikation korreliert. Der Umweltfaktor Monat weist einen p-Wert von 0,046 und die Tage seit der letzten Bti-Applikation weisen einen p-Wert von 0,002 auf. Auf nicht signifikante Umweltfaktoren wurde bei der Darstellung verzichtet. Die Summe aller Eigenwerte beläuft sich auf 4,214, die der kanonischen Eigenwerte auf 0,269. Somit können die gewählten Faktoren 6,4 % der Gesamtvarianz erklären.

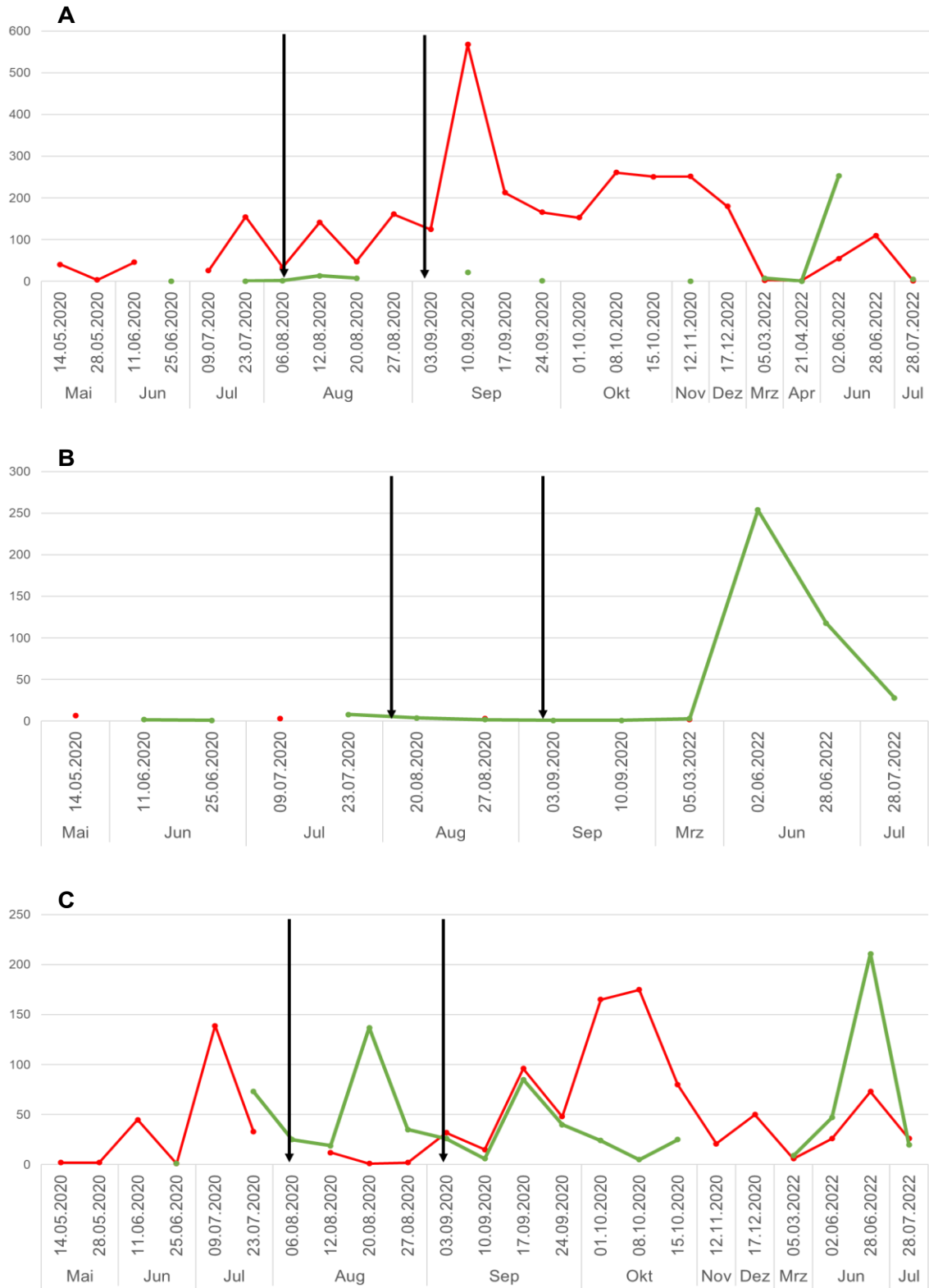


Abbildung 54: Phänologiekurven verschiedener Chironomidenarten im semipermanenten Tümpel 2020. A) *Chironomus plumosus*, B) *Chironomus annularius*, C) *Psectrotanypus varius*. Rot = Effekttransekt (B4), grün = Kontrolltransekt (U4). Die schwarzen Pfeile symbolisieren die jeweilige Bti-Applikation.

5.4 Diskussionsteil I: Direkte (Bti-)Einflüsse auf die Chironomidenlarven

Zusammenfassung: Der potenzielle ökotoxikologische Einfluss von Bti

Die vorliegende Untersuchung weist mittels multivariater kanonischer Korrespondenzanalyse zwar einen statistisch hochsignifikanten Effekt des Umweltfaktors Bti auf die Zusammensetzung der Chironomidengemeinschaft nach, es konnte **jedoch keine (akute) ökologische Schädigung in Form einer Reduktion der Abundanz oder Diversität** anhand der einzelnen Phänologiekurven nachgewiesen werden. Aussagen zu (sub-)letalen Langzeiteffekten der Bti-Applikation können in der vorliegenden Studie nicht getroffen werden. Es wird jedoch deutlich, dass die zweimalige Bti-Applikation bei keiner der nachgewiesenen Chironomidenarten zu einem (nachhaltigen) Populationseinbruch führte.

Sollte es zu subletalen Schädigungen gekommen sein, war die Population in der Lage, diese zu kompensieren und sich zu erholen. Es ist jedoch anzumerken, dass in dieser *In-situ*-Studie zwar eine Einteilung in einen Kontroll- und einen Effekt-Transekt vorgenommen wurde, die Artenzusammensetzung der Kontroll- und Effektflächen der semipermanenten Gewässer aufgrund der vorherrschenden zahlreichen und komplexen Einflussfaktoren auf die Chironomidengemeinschaft in sich aber sehr unterschiedlich war. Zudem ist eine zweimalige Biozidapplikation, wie sie hier unter den realen Überflutungsbedingungen der Rheinauen vorgenommen wurde, kaum ausreichend, um längerfristige Effekte in der Artendiversität und Gesamtabundanz nachzuweisen.

In Jahren mit mehreren aufeinander folgenden Hochwasserereignissen und länger anhaltenden hohen Wasserständen ist eine Chironomidenbesiedlung und -etablierung auch in temporären Gewässern möglich. Dabei werden auch Trockenheitsperioden von vier bis zu sechs Wochen zwischen den Überflutungsereignissen von den Chironomiden toleriert. Sie überdauern die Trockenheitsphase meist im Boden und sind bei einer Wiederfüllung des Gewässers erneut und direkt im Wasserkörper aufzufinden. In diesen feuchten Jahren sind selbst die ephemeren Gewässer und somit auch die typischen Massenbrutstätten von *Aedes vexans* mehrere Wochen überflutet, sodass die schnell kolonisierenden Arten wie *Chironomus pseudothummi* oder *Chironomus plumosus* diese Gewässer in kurzer Zeit besiedeln können und es zur Konnexion der unterschiedlichen Gewässertypen kommt. In solchen Situationen kommt es zur Überlappung typischer Stechmücken- und Zuckmückenhabitats. Treten in solch feuchten Jahren mehrere und nachfolgend immer höhere Hochwasserpegel auf, sodass immer höher gelegene Eiablagehorizonte von *Aedes vexans* überflutet werden, so können in diesen Jahren auch mehrere Bti-Applikationen auf denselben Flächen erfolgen. Solche Mehrfachapplikationen können dann auch zu einer Erhöhung der Bti-Konzentration in den behandelten Gewässern und damit zu einem steigenden Risiko für Chironomidenlarven führen.

Auch wenn in der vorliegenden Studie keine *In-situ*-Schädigung der Chironomidenzönose durch eine zweimalige Bti-Applikation nachgewiesen wurde, wird daher empfohlen, **selbst kleinräumige aperiodisch temporäre oder semipermanente Gewässer aus den bisher kartierten Bti-Applikationsflächen präventiv auszuschließen.**

Im Folgenden diskutiere ich die multivariaten Umweltvariablen, die Einfluss auf die Chironomidenzönose des Auwaldes nehmen. Hierbei unterscheide ich zwischen den abiotischen und den biotischen Umweltvariablen sowie dem ökotoxikologischen Einflussfaktor Bti.

5.4.1 Hydrologische Einflussfaktoren der unterschiedlichen Gewässertypen

Die verschiedenen Gewässertypen (Kapitel 2.4.1) des Naturschutzgebietes Horreninsel weisen einen Feuchtegradienten auf, der über direkte und indirekte Effekte einen entscheidenden Einfluss auf die Chironomidenzönose ausübt.

5.4.1.1 Ephemere Tümpel (U1 und B1)

Aufgrund der starken Trockenheit in den Untersuchungsjahren 2020 und 2022 waren die ephemeren Tümpel im Naturschutzgebiet nur kurzzeitig überflutet. Die untersuchten Probestellen führten nur am 08. und 15.10.2020 Wasser. Es ist daher nicht verwunderlich, dass sich im Jahr 2020 in diesen Bereichen keine semiaquatische bis aquatische Chironomidenzönose entwickeln konnte. In anderen, deutlich feuchteren Jahren wie zum Beispiel 2016 waren die ephemeren Standorte von Ende April bis Mitte Juli überflutet. In solchen Jahren besteht die Chance, dass die ephemeren Tümpel von Kolonisten besiedelt werden (Kapitel 2.1.2.2). 2020 konnte daher nur die rein terrestrische Gattung *Smittia* nachgewiesen werden. Die rein terrestrischen Chironomiden gelten bisher als wenig erforscht, weshalb nur wenige Informationen über ihre ökologischen Ansprüche bekannt sind. Die geringe Häufigkeit der Larven kann sowohl methodisch als auch ökologisch erklärt werden. Zum einen sind die Larven von *Smittia* sehr klein (die durchschnittliche Kopfkapselgröße beträgt 0,2 bis 0,3 mm (Moller Pillot, 2008)), sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass Larven im wahrsten Sinne des Wortes durch die Maschen gefallen sind. Dies gilt insbesondere für die frühen Larvenstadien. Allerdings werden auch in der wenigen vorhandenen Literatur immer wieder sehr geringe Larvendichten beschrieben. Selbst bei der gezielten Suche nach kleinen Larven wurden im Grünland meist nur fünf bis zehn Larven pro dm² (oder noch geringere Dichten) gefunden (Delettre, 1994; Frouz, 1994; Moller Pillot, 2008; Weber, 1992). Emergenzfänge von Imagines bestätigen diese geringen rein terrestrischen Funde von *Smittia* sp., da auch hier die Dichten kaum höher sind. Zudem konnte in anderen Untersuchungen beobachtet werden, dass die Anzahl der Larven und Imagines zwischen den verschiedenen Jahren, aber auch innerhalb eines Jahres oft stark schwankt (Delettre, 1994; Frouz, 1994; Moller Pillot, 2008). Die meisten *Smittia*-Larven werden in den obersten Zentimetern der Bodenschichten gefunden (Weber, 1992). Delettre (1985) beschreibt, dass die meisten Larven von *Smittia celtica* in den Monaten Juni bis Juli in der Streu und in den obersten Bodenschichten gefunden wurden, während ab September die Larven zur Überwinterung in tiefere Bodenschichten wanderten. Auch eine Notwanderung in tiefere Bodenschichten bei Überschwemmungen oder Frostereignissen wird vermutet. Die Gattung *Smittia* kann kurze Überschwemmungen überleben, meidet aber nach Möglichkeit zu nasse oder zu trockene Böden (Moller Pillot, 2008).

5.4.1.2 Aperiodische temporäre Tümpel (U3 und B3)

Die Artenzusammensetzung der aperiodischen temporären Tümpel zeigt, dass diese mittels MRPP nur von den permanenten Tümpeln unterschieden werden konnten. Dies könnte daran liegen, dass die dort nachgewiesenen Arten *Chironomus plumosus* (*Chironominae*), *Cryptochironomus obreptans/supplicans* (*Chironominae*), *Procladius* sp. (*Tanypodinae*) und *Psectrotanypus varius* (*Tanypodinae*) auch in allen anderen Gewässertypen (mit Ausnahme der ephemeren Tümpel) vorkamen. Die Probestelle B3 führte am 03.09.2020 zum letzten Mal Wasser und fiel danach trocken. Bis zum 01.10.2020 blieb der Boden feucht, d. h., es war zwar Restfeuchte, aber kein Wasserkörper vorhanden. Die nächste Überflutung erfolgte ab dem 01.10.2020. Das bedeutet,

dass *Chironomus plumosus* sich entweder innerhalb von zwei Wochen entwickelt hat oder während der vorhergehenden Überflutung den Standort besiedelt und dann die Trockenphase überstanden haben muss. Betrachtet man die Entwicklungszeiten von *Chironomus plumosus* mit einem Übergang vom zweiten zum dritten Larvenstadium am sechsten Tag und einem Übergang vom dritten zum vierten Larvenstadium am zwölften Tag nach dem Schlupf (Matêna, 1989), so sind beide Möglichkeiten denkbar. *Chironomus plumosus* gilt als typische Pionierart mit hoher Ausbreitungsfähigkeit (Brown und Oldham, 1984). Gersbacher (1937) beschreibt, dass *Chironomus plumosus* neue Gewässer zu einem sehr frühzeitig besiedelt, aber auch bei länger stehenden Gewässern zunächst die Flachwasserzonen kolonisiert und erst allmählich in tiefere Bereiche vordringt. Außerdem benötigt *Chironomus plumosus* im Vergleich zu anderen Chironomiden weniger Nahrung und ist daher als Pionierart sehr gut angepasst. Hier kommt ihr zugute, dass sie sowohl mit niedrigen Sauerstoffgehalten als auch mit Brackwasser sehr gut zurechtkommt. Sie kann Trockenperioden von bis zu sechs Wochen überstehen, wobei ihre Abundanz bei dauerhaftem Wasserstand deutlich höher ist (Moller Pillot, 2013). Es ist daher davon auszugehen, dass die Chironomiden der aperiodischen temporären Tümpel als Kolonisten aus den umliegenden semipermanenten und permanenten Gewässern eingewandert sind. Leider ist die Datenlage für diese aperiodischen temporären Tümpel aufgrund des Wegfallens der Daten aus 2021 nicht ausreichend, um abschließende Aussagen treffen zu können.

5.4.1.3 Semipermanente Tümpel (U4 und B4)

Die semipermanenten Tümpel weisen vor allem Arten der Gattung *Chironomus* sowie Arten der Unterfamilie *Tanypodinae* auf. Sowohl die hohen Artenzahlen der *Chironomus*-Gattung als auch der *Tanypodinae* stimmen mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen überein. So konnten sowohl Steinhart (1999) als auch Metzger (1991) eine hohe Artendichte für die Gattung *Chironomus* in semipermanenten und permanenten Probestellen feststellen. Fritz (1982) beschreibt dagegen die Art *Tanypus punctipennis* als zeitweise dominant in verlandeten Altrheinarmen mit schwankenden Wasserständen. Die dominanten Arten (mind. 5 % der Gesamtabundanz) zeigen alle eine Anpassung an temporäre Gewässer:

- *Chironomus annularis*-Aggregat: Die Larve lebt in schlammreichen Habitaten. Sie legt ihre Eier sowohl auf die Wasseroberfläche als auch in den Wasser-Land-Übergang ab und gilt als schnelle Pionierart, die frühzeitig neu entstandene permanente Gewässer besiedelt (Dettinger-Klemm, 2003; Matêna, 1990).
- *Chironomus aprilius*: Die Larve dieser Art lebt sowohl in kleinen Gräben und Tümpeln als auch in mittelgroßen Gewässern (Moller Pillot, 2013; Steenbergern, 1993). Tourenq (1976) fand die Art auch häufig in temporären Gewässern.
- *Chironomus pseudothummi*: Diese Art ist ein typischer Bewohner von temporären und permanenten Tümpeln und kann in temporären Gewässern Massenvermehrungen vornehmen (Moller Pillot, 2013; Schleuter, 1989).
- *Chironomus plumosus*: Die Larve kommt in fast allen Gewässertypen vor, wurde aber bisher nur selten in temporären Gewässern gefunden (Moller Pillot, 2009) und gilt als typische Pionierart mit hoher Ausbreitungsfähigkeit (Brown und Oldham, 1984). Sie kann mit Austrocknungsperioden von bis zu sechs Wochen zurechtkommen, wobei ihre Abundanz bei permanenten Wasserständen deutlich höher ist (Moller Pillot, 2009). Durch ihre hohe Entwicklungsgeschwindigkeit (bei 25 °C < 32 Tage für den gesamten Entwicklungszyklus (Dettinger-Klemm, 2003) und relativ geringen Nahrungsbedarf agiert sie als Pionierart, die zunächst flachere Gewässer besiedelt, bevor sie in tiefere Zonen einwandert (Gersbacher, 1937).

- *Tanytus kraatzi*: Die Imagines besiedeln kleine Gräben (2–10 cm Tiefe) aber auch große Seen (Steenbergern, 1993). Sie werden auch in temporären Gewässern gefunden, die hauptsächlich zur Eiablage genutzt werden. Besonders nach Überschwemmungen sind sie in temporären Gewässern zu finden. Die Larven vertragen jedoch kein vollständiges Austrocknen (Steenbergern, 1993; Vallenduuk, 2009).
- *Tanytus punctipennis*: Die Larven leben in großen Gräben und Seen, wobei sie in Letzteren seltener vorkommen als *Tanytus kraatzi* (Steenbergern, 1993).
- *Psectrotanytus varius*: Die Larven leben am Grund stehender und langsam fließender Gewässer, oft auf und zwischen verrottetem und abgestorbenem organischem Material. Auf Pflanzen, Steinen und Holz sind die Larven meist in Bodennähe zu finden (Moller Pillot, 2013). Die Larven leben vor allem in Wasserkörpern unter 4 m Durchmesser und einer Tiefe mit weniger als 30 cm (Steenbergern, 1993). Mit zunehmender Größe und Tiefe nimmt die Häufigkeit ab. Die Larven werden auch in sehr kleinen Pfützen gefunden (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Die Larven sind nicht vor dem vollständigen Austrocknen des Bodens geschützt, kommen aber dennoch häufig in temporären Gewässern vor. Das häufige Vorkommen der Art und ihre gute Flugfähigkeit begünstigen eine rasche Ansiedlung nach Überschwemmungen. Zudem suchen die Weibchen gezielt Kleingewässer zur Eiablage auf, um eine rasche Vermehrung zu ermöglichen (Dettinger-Klemm, 2003).

Die Anpassung der Chironomiden, um in den semipermanenten Tümpeln Trockenperioden überdauern zu können, konnte im Untersuchungszeitraum überprüft werden. Im gesamten Untersuchungszeitraum fielen die semipermanenten Tümpel zweimal trocken. Im Jahr 2020 fielen sie zwischen dem 17.09.2020 und dem 01.10.2020 kurzzeitig trocken. Teilweise war noch eine Restfeuchte im Boden, aber keine Wasserfläche mehr vorhanden. Während die erste Trockenperiode von ca. zwei Wochen keine negativen Auswirkungen auf die dominanten Arten *Chironomus plumosus*, *Psectrotanytus varius*, *Tanytus kraatzi* und *Tanytus punctipennis* zu haben schien, führte die zweite, deutlich längere Trockenperiode von ca. acht Wochen (zwischen 28.07.2022 und 27.09.2022) zu einem katastrophalen Zusammenbruch der Chironomidenpopulation. Die ersten Arten, die nach der langen Trockenperiode nachgewiesen wurden, waren *Chironomus pseudothummi* und *Chironomus tentans*.

- *Chironomus tentans*: Die Larven sind eigentlich typische Besiedler stehender Gewässer, insbesondere der Uferzone (Moller Pillot, 2009; Saether und Spies, 2004). Allerdings konnte Tourenq (1976) die Art regelmäßig in sommertrockenen Sümpfen finden, wo sie eine lange Zeit im trockenen Boden überdauern konnte.
- *Chironomus pseudothummi*: Hierbei handelt es sich um einen typischen Bewohner temporärer und permanenter Tümpel (Moller Pillot, 2009; Schleuter, 1989). Schleuter (1989) beschreibt die Art in bis zu 16 Wochen lang trockenfallenden Tümpeln, wobei sie dort Massenentwicklungen vornehmen.

5.4.1.4 Permanente Tümpel (U5 und B5)

Die beiden permanenten Tümpel wiesen eine homogene Artenzusammensetzung auf, da von insgesamt 36 Chironomidenarten 17 Arten an beiden Probestellen gefunden wurden. Das Verhältnis zwischen Arten der Unterfamilie *Chironominae* und *Tanypodinae* ist ausgeglichen. Folgende Arten dominieren die Chironomidenzusammensetzung ($\geq 5\%$ der Gesamtabundanz) der permanenten Tümpel:

- *Cryptochironomus obreptans/supplicans*: Die Larven leben sowohl in fließenden als auch in stehenden Gewässern, wobei die verschiedenen Arten unterschiedliche Präferenzen aufweisen. In großen Flüssen sind die Larven nie zahlreich (Becker, 1995). Sie bevorzugen größere Stillgewässer. Hier sind sie typische *bottom dwellers*, die nur selten Makrophyten oder Totholz besiedeln (Brodersen et al., 1998). Teilweise leben sie als Räuber und fressen Oligochaeten (Titmus und Badcock, 2006). *Cryptochironomus obreptans* wurde von Moller Pillot (2009) für temporäre Gewässer beschrieben.
- *Polypedilum nubeculosum*: Die Larven leben sowohl in fließenden als auch in stehenden Gewässern (Langton et al., 1991). Sie können sowohl in kleinen Gräben von weniger als 4 m Durchmesser als auch in größeren Stillgewässern vorkommen (Steenbergern, 1993). Je größer das Gewässer, desto höher ist die Abundanz (Moller Pillot, 2009). Die Larven wurden bisher nur selten in temporären Gewässern gefunden (Moller Pillot, 2009; Schleuter, 1989; Steenbergern, 1993; Verdonschot et al., 1992).
- *Procladius* sp.: Die Larven der Gattung *Procladius* sp. leben in Gewässern unterschiedlicher Größe, wobei Verdonschot et al. (1992) darauf hinweisen, dass Larven in kleinen Stillgewässern selten sind. Außerdem meiden sie Waldtümpel, da die Weibchen nur selten oder gar nicht in den Wald fliegen (Verdonschot et al., 1992). Bezüglich der Dauerhaftigkeit der Gewässer zeigen sie keine ausgeprägten Ansprüche: Sie kommen sowohl in permanenten als auch in temporären Gewässern vor. Die Larven tolerieren jedoch kein vollständiges Austrocknen ihres Habitats. Sie gelten als Kolonisten (Dettinger-Klemm, 2003), wobei die schnelle Besiedlung isolierter Gewässer auf die weite Verbreitung der Art und die hohe Flugfähigkeit der Weibchen zurückzuführen ist (Moller Pillot, 2003; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Sie gehören somit zu den zirkulierenden Taxa, die verschiedene Gewässertypen in dynamischer Abfolge besiedeln (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013).
- *Tanypus kraatzi*: siehe oben
- *Tanypus punctipennis*: siehe oben
- *Chironomus plumosus*: siehe oben

Aufgrund der extrem langanhaltenden Hitzewelle im Sommer 2022 fielen die Randbereiche der semipermanenten Tümpel zwischen den beiden Probenahmen am 28.07. und 27.09. für mindestens vier Wochen (wahrscheinlich sogar länger) trocken. Die Kontrollen am 22.08.22 und 25.08.22 zeigten ausgetrocknete Bereiche mit Trockenrissen am Boden. Dieses Trockenheitsereignis und die hohen Wassertemperaturen im verbleibenden Wasserkörper führten zu einem Zusammenbruch der Chironomidenpopulation in dem permanenten Tümpel. Als erste Arten siedelten sich Ende September *Polypedilum nubeculosum*, *Benthalia carbonaria*, *Cryptochironomus* sp., *Polypedilum nubeculosum*, *Procladius* sp. und *Tanytarsus* sp. wieder an.

- *Benthalia carbonaria*: Sowohl der Gattungs- als auch der Artnamen von *Benthalia carbonaria* sind unter Taxonomen stark umstritten. So wird die Gattung unter anderem von Moller Pillot (2009) als *Einfeldia* (Kieffer, 1924) geführt, welche jedoch auch von Martin et al. (2007) als *Benthalia sp.* (Lipina 1939) bezeichnet wird (Vallenduuk, 2019). Die Umbenennung in *Benthalia* wird auch von Epler et al. (2013) unterstützt, obwohl die Gattung hier noch als *Benthalia carbonaria/dissidens*-Group geführt wird. Neben dem Gattungsnamen wird jedoch auch die Zugehörigkeit der einzelnen Arten diskutiert. So gehen Orendt und Spiess (2012) von einer Zusammenfassung von *Benthalia carbonaria* und *Benthalia dissidens* als gemeinsamen Ökovarianten aus. Aufgrund der bestehenden Unsicherheit bezüglich der korrekten Benennung sind auch die bisher publizierten Artinformationen nicht eindeutig. Im Allgemeinen sind die Larven auf schlammigen Sedimenten mit kleineren Korngrößen zu finden. Makrophyten werden gemieden. Die Larven kommen sowohl in nährstoffreichen Gewässern als auch im Brackwasser vor (Smit et al., 1994; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). *Benthalia carbonaria* kann Austrocknungsperioden von bis zu sechs Wochen ertragen, wobei die Abundanz bei permanenten Wasserständen deutlich höher ist (Moller Pillot, 2009). Da *Benthalia carbonaria* in keiner der Proben aus den permanenten Stillgewässern gefunden wurde, ist eine Wiederbesiedlung nach der Austrocknung aus diesem Gebiet unwahrscheinlich. Aufgrund ihrer langen Trockenheitstoleranz ist es jedoch auch denkbar, dass die Larven die Trockenperiode direkt im permanenten Stillgewässer überlebt haben.

5.4.1.5 Permanente Stillgewässer ohne Profundal (11)

Obwohl das permanente Stillgewässer mit mehr als einem Meter Wassertiefe und zusätzlichem Makrophytenbewuchs die stabilsten Umweltfaktoren aufwies, dominierten hier die gleichen Arten wie in den permanenten Tümpeln: *Chironomus plumosus*, *Cryptochironomus sp.*, *Polypedilum nubeculosum*, *Procladius sp.* und *Tanytus kraatzi*. Dies ist wenig verwunderlich, da die permanenten Stillgewässer in der Regel mit den permanenten Tümpeln verbunden sind. Da die Probestellen im permanenten Stillgewässer während des gesamten Untersuchungszeitraums nicht ansatzweise austrockneten, sind die Bedingungen dort als stabil einzustufen. Dennoch nahm die Abundanz der nachgewiesenen Chironomiden in den Monaten August und September 2022 deutlich ab. Am 27.09.2022 konnten nur noch eine Larve von *Polypedilum nubeculosum* und eine Larve von *Chironomus plumosus* gefunden werden. Anfang November stabilisierte sich die *Chironomus-plumosus*-Population ($n = 41$), sodass der spätsommerliche Rückgang der Art mit einer „Stress-Emergenz“ aufgrund steigender Wassertemperaturen oder einem Rückzug der Larven in sehr tiefe Bodenschichten begründet werden kann.

5.4.1.6 Zusammenfassung der hydrologischen Einflussfaktoren in den unterschiedlichen Gewässertypen

Betrachtet man alle Gewässertypen und die damit verbundenen hydrologischen Verhältnisse, so zeigt sich, dass es große Überschneidungen in der Artenzusammensetzung der einzelnen Gewässer gibt. So ist *Chironomus plumosus* als typischer Ubiquist in allen Überflutungsgewässern zu finden und kann dort auch längere Trockenphasen bis zur nächsten Überflutung überdauern. Auffallend ist auch, dass alle dominanten Arten des Untersuchungsgebietes an temporäre Gewässer angepasst sind und längere Trockenperioden von bis zu sechs Wochen tolerieren können. Für *Chironomus aprilius* liegen diesbezüglich keine Daten vor; da diese Art jedoch häufiger in temporären Gewässern gefunden wird, ist eine Anpassung an diese Habitate wahrscheinlich. Dies zeigt sich auch im Ordinationsdiagramm der Korrespondenzanalyse (Abbildung 46). Hier korrelieren (mit Ausnahme von *Chironomus nudiventris*) alle nicht trockenheitstoleranten Arten

positiv mit den Vektoren der Umweltgradienten Überflutungsdauer und Wasserstand, während die trockenheitstoleranten Arten davon abweichen. *Chironomus nudiventris* wurde am 02.06.2022 nur an den Standorten U4 und U5 gefunden, weshalb der Anordnung im Ordinationsdiagramm in diesem Fall keine allzu große Bedeutung beigemessen werden sollte. Aus der Hochrechnung der Gesamtabundanz der Chironomiden auf die Gesamtfläche des NSG Horreninsel lässt sich zudem ableiten, dass die permanenten Tümpel zusammen mit 78,5 % der Abundanzen die zahlenmäßig höchste Produktivität an Chironomiden aufweisen. Die permanenten Stillgewässer haben einen Anteil von 10,8 %, gefolgt von den semipermanenten Tümpeln mit 8,6 %. Dies ist umso erstaunlicher, als diese Flächen nur 0,2 % der Gesamtfläche des Schutzgebietes ausmachen (Tabelle 21). Dies verdeutlicht die enorme Produktivität dieser kleinen semipermanenten Flächen. Auch hinsichtlich der Artenvielfalt stehen die semipermanenten Gewässer den permanent Wasser führenden Gewässern in nichts nach und können einen Großteil der vorkommenden Artenzusammensetzung abdecken. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass sich in den aperiodisch temporären und semipermanenten Tümpeln bei länger anhaltenden Überflutungssituationen eine ähnlich hohe Artendichte entwickeln kann wie in den Gewässertypen mit dauerhafter Wasserführung. Daraus kann geschlossen werden, dass diese flächenmäßig kleinen Gewässer wichtige Massenentwicklungsflächen im Verbreitungsmuster der Chironomidenzönose darstellen. Diese nicht permanent Wasser führenden Gewässer weisen in der Regel eine höhere Wassertemperatur als die tieferen Stillgewässer auf und sind nahezu frei von Prädatoren. Sie können daher für die Entwicklung der Chironomiden eine katalytische Rolle spielen und werden von den Chironomidenweibchen zum Teil aktiv angefliegen. Dieses Verhalten ist beispielsweise für die in dieser Studie detektierten Arten *Chironomus annularis*, *Chironomus dorsalis*, *Chironomus pseudothummi*, *Tanytus kraatzi* und *Psectortanytus varius* belegt (Dettinger-Klemm, 2003; Matêna, 1990; Matêna und Frouz, 2000; Moller Pillot, 2009; Schleuter, 1989; Steenbergen, 1993; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013). Nach der Eiablage können sich die Larven hier nahezu ungestört und schneller als in den kühleren Stillgewässern entwickeln (Kapitel 2.1.2). Nach der Massenentwicklung schlüpfen die Imagines und können weitere Gewässer besiedeln. Längere Trockenperioden (> 4–12 Wochen) können zu einem völligen Zusammenbruch der Chironomidenzönose führen, obwohl die meisten der im Schutzgebiet nachgewiesenen Arten Anpassungen an astatische Lebensbedingungen aufweisen. Eine rasche Wiederbesiedlung erfolgt jedoch aufgrund des gut verzahnten Mosaiks verschiedener Gewässertypen (Kapitel 2.1.2).

Tabelle 21: Hochrechnung der Chironomidenproduktivität der einzelnen Gewässertypen im NSG Horreninsel

Gewässertyp	Chironomiden/m ²	Fläche [in ha]	Gesamtabundanz	Gesamtabundanz [in %]
Ephemere Tümpel	0,067	13,5	8999	0,8
Aperiodische Tümpel	6,4	0,2	12800	1,1
Semipermanente Tümpel	62,5	0,15	93750	8,7
Permanente Tümpel	29,35	2,9	851150	78,5
Permanentes Stillgewässer	13,04	0,9	117360	10,8

5.4.2 Einfluss der Temperatur und der Jahreszeiten

Die Larven der Chironomiden werden sowohl direkt als auch indirekt von den Jahreszeiten beeinflusst. Aktiv zeigen alle Chironomiden einen spezifischen Lebenszyklus mit art- oder gattungsspezifischen Generationsabfolgen. Hierbei sind häufig die Herbstgenerationen individuenreicher (Kapitel 2.1.1). Daher korrelieren bei vielen Arten der Jahresgang der Temperatur und die Verteilung im Untersuchungsmonat automatisch miteinander. Ein grundsätzlicher Zusammenhang besteht zwischen der Zunahme von Wachstum und Entwicklung und steigenden Temperaturen (Dettinger-Klemm, 2003; Pinder, 1986; Williams, 2005). Die meisten Chironomiden stehender und vor allem temporärer Gewässer sind eurytherm, das heißt, sie tolerieren größere Temperaturschwankungen. Dies ist auch wichtig, da die Temperatur nicht nur einen direkten Effekt auf die Larven hat, sondern auch die Wasserchemie verändert (zum Beispiel verminderte Löslichkeit von Sauerstoff in wärmeren Gewässern). Bei allen untersuchten Gewässern handelt es sich um flache, nicht geschichtete Gewässer, in denen die täglichen Temperaturschwankungen sehr hoch sind, die aber auch von der Beschattung abhängen. Hier verlaufen die Jahresgänge der Wassertemperatur parallel zu denen der Lufttemperatur (Heitkamp, 1989). So können in beschatteten, flachen, aperiodischen bis semipermanenten Stillgewässern in den Sommermonaten Maximaltemperaturen von $> 30\text{ °C}$ erreicht werden. Außerdem treten zwischen Tag und Nacht Temperaturgradienten von $\Delta 10\text{ °C}$ auf. In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich, dass der Jahresverlauf stark mit den Tagestemperaturen korreliert. Die meisten Artaufnahmen fanden zwischen Mai und November statt und beide Untersuchungsjahre waren an sich sehr warm. Mit Ausnahme der Artaufnahme im März 2022 mit -5 °C lag die minimale Tagestemperatur an keinem anderen Tag im Minusbereich, der Maximalwert betrug 31 °C . Damit lagen die Tagestemperaturen alle in einem Bereich, der keinen besonderen Stress durch Minimal- oder Maximaltemperaturen (Wassertemperaturen ab 40 °C werden für aquatische Insekten als sehr kritisch angesehen) bei Chironomiden auslöst (Collinson et al., 1995; Dettinger-Klemm, 2003; Williams, 2005). Die Korrelation der Gruppe von Artaufnahmen des semipermanenten Tümpels im Effekt-Transsekt (B4) (in Abbildung 46), mit den beiden Umweltfaktoren beiden Temperatur und Monat, ist daher vermutlich eher auf den natürlichen Jahreszyklus der Chironomiden mit stärker ausgeprägten Populationsdichten in den Herbstmonaten als auf die tatsächlich vorherrschende Tagestemperatur zurückzuführen.

5.4.3 Einfluss des Pflanzenbewuchs

Die Chironomidenzönose wird sowohl durch das Vorhandensein oder Fehlen von Pflanzen beeinflusst. Hohe Abundanzen von Chironomiden konnten bisher in Mikrohabitaten mit einem hohen Anteil an abgestorbenem oder zerstörtem Pflanzenmaterial gefunden werden, das als Nahrungsquelle oder Habitatsubstrat genutzt werden kann (Langdon et al., 2010; Oertli und Lachvanne, 1995; Smock und Stoneburner, 1980). Aber nicht nur totes Pflanzenmaterial, sondern auch insbesondere lebende Pflanzen beeinflussen die Chironomidenpopulation, da ein nicht unerheblicher Teil der pflanzenassoziierten Chironomiden (vor allem aus der Unterfamilie *Chironominae*) direkt in den Pflanzenteilen lebt (Brodersen et al., 2001). Einige dieser Arten sind sogar fakultative Minierer, die nur in Ausnahmefällen auf Hartsubstraten zu finden sind. Dazu gehört zum Beispiel *Glyptotendipens pallens*. Bei der Beeinflussung der Chironomidenpopulation durch Pflanzenmaterial spielt vor allem die Dichte des vorhandenen Pflanzenmaterials eine größere Rolle als der Artenreichtum (Langdon et al., 2010; Oertli und Lachvanne, 1995; Smock und Stoneburner, 1980). So konnten Toth et al. (2012) zeigen, dass pflanzenassoziierte Chironomiden sehr opportunistisch sind und die Pflanzenstruktur (d. h. Position, Populationsgröße, Gesamtdichte) sowie die umgebenden Umweltparameter der Mikrohabitate einen größeren Einfluss auf die Entwicklung pflanzenassoziiierter Chironomiden haben als die taxonomische Zusammensetzung der Vegetation. Antczak und Beaudry (2018) konnten zudem eine starke Korrelation

zwischen *Urtica dioica* und der Chironomidengemeinschaft nachweisen. Diese Art gilt nicht nur als Stickstoffzeiger, sondern auch als Besiedler semiaquatischer bis nasser Auenböden (Olsen, 1921) und stellt damit eine typische Helophytenart der Auwälder dar (LANUV, 2020).

Erstaunlicherweise korrelierte *Glyptotendipes pallens* als blattminierende Art bei den vorliegenden Untersuchungen nicht so eindeutig mit den Hydrophyten, wie zu erwarten gewesen wäre. Da die Art aber auch Trockenperioden von bis zu sechs Wochen toleriert und zudem eine Indikatorart für fehlende Überflutung des Mikrohabitats sowie für eine vorherrschende Trockenphase von sieben Tagen ist, kann davon ausgegangen werden, dass diese Korrelation mit dem Vektor Trockenheit in der gesamten Analyse der Zönosenzusammensetzung den größeren Einfluss auf die Art hatte. Eigentlich wäre eine starke Assoziation mit dem Vektor Hydrophyten zu erwarten gewesen, da sich die Larven von *Glyptotendipes pallens*-Aggregats als Filtrierer und Weidegänger ernähren. Sie ernähren sich hauptsächlich von Detritus, Bakterien, Algen und Kieselalgen. Dazu besiedeln sie als phytophile Larven in den Sommermonaten in ihren Wohnröhren vor allem Wasserpflanzen (wie *Stratiotes*, *Potamogeton*, *Typha*, *Phragmites*, *Nymphaea*) (Burt, 1940; Moller Pillot, 2009; Walshe, 1948), sie können aber auch Steine oder Gehölze besiedeln (LANUV, 2021). Hier wurden sie bereits in erstaunlich hohen Dichten von bis zu 13.220 Larven pro m² gezählt (Izekova, 2000). In den Wintermonaten verlassen sie die Pflanzen und konnten in organischen Sedimenten in einer Tiefe von 3 bis 8 cm beobachtet werden (Koskeniemi, 1989). Auch Čerba et al. (2022) sowie Antczak und Beaudry (2018) beschreiben die Art als typisch makrophytenassoziiert.

Es ist jedoch zu beachten, dass makrophytenassoziiert nicht unbedingt bedeutet, dass die Larven aktiv als Weidegänger auf den Blättern nach Nahrung suchen. So konnten Grzybkowska et al. (2020) zeigen, dass sich die Arten *Chironomus riparius* und *Glyptotendipes cauliginellus* auch stark an den Wurzeln von Makrophyten orientieren, um dort feinkörniges organisches Material, Algen und Bakterien zu konsumieren. Da *Chironomus riparius* in der vorliegenden Studie vor allem mit dem Vorkommen von Helophyten korreliert, könnte dies bedeuten, dass auch die benthischen, pflanzenassoziierten Chironomidenarten eher als Opportunisten anzusehen sind und somit der Faktor Pflanzendichte stärker zu bewerten ist als die tatsächliche Artenzusammensetzung.

Wrubleski (1987) beschreibt einen Entwicklungsgradienten der Chironomiden von offenen Wasserflächen und aquatischen Makrophyten zu semiaquatischen Röhrichten. Er zeigt auf, dass die jährliche Gesamtemergenz von Chironomiden in offenen Gewässern etwas höher ausfällt als in Röhrichten. Sie war jedoch mehr als dreimal so hoch in den Gebieten, in denen sich eine Wasservegetation in Form von Laichkräutern etabliert hatte. Während die *Chironominae* sowohl die vegetationsfreien als auch die Laichkraut- und Schwimmblattgesellschaften besiedelten, besiedelten die *Tanypodinae* hauptsächlich die Laichkrautgesellschaften. Die *Orthocladiinae* bevorzugten dagegen die Röhrichtzonen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen. So waren in den permanenten Stillgewässern vor allem submerse Makrophyten (*Myriophyllum* sp. etc.) ausgebildet, in den permanenten Tümpeln sowohl submerse Makrophyten als auch Laichkraut- und Schwimmblattgesellschaften (*Elodea* sp., *Lemna minor* etc.). Die Schwimmblattgesellschaften waren häufig im Randbereich mit den Helophyten vergesellschaftet. In den semipermanenten Gewässern befand sich eine gemeinsame Vergesellschaftung von Laichkräutern und klassischer Wiesenvegetation, die je nach Wasserstand unterschiedlich ausgeprägt war. Das Fehlen von Röhrichten in der vorliegenden Untersuchung könnte den geringen Anteil an *Orthocladiinae* erklären.

5.4.4 Einfluss des externen organischen (Pflanzen-)Materials

Der Eintrag von externem organischem (Pflanzen-)Material hat einen erheblichen Effekt auf die Entwicklung der Chironomidenzönose, insbesondere in kleinräumigen Habitaten. Denn durch den Eintrag von Laub, abgestorbenem Pflanzenmaterial oder Detritus wird der Gesamtphosphor- und Chlorophyll-a-Gehalt der Mikrohabitate erhöht, was wiederum eine höhere Produktivität und damit eine bessere Nahrungsverfügbarkeit für die Chironomidenarten bedeutet (Langdon et al., 2010; Oertli und Lachvanne, 1995; Smock und Stoneburner, 1980). Allerdings bedeutet ein hoher externer Eintrag von organischem Material auch eine erhöhte Sauerstoffzehrung in den Mikrohabitaten (zum Teil mit Faulschlamm-Bildung), sodass die dort siedelnden Organismen an anoxische Bedingungen angepasst sein müssen (Schleuter, 1989). Dies ist insbesondere in flachen, temporären Habitaten von Bedeutung. Für die *Chironomus*-Arten *Chironomus annularius*, *Chironomus aprilius*, *Chironomus riparius*, *Chironomus tentans*, *Chironomus pseudothummi* und *Chironomus obtusidens* ist bekannt, dass sie mit hohen Saprobienwerten und eutrophen bis polytrophen Bedingungen zurechtkommen (Moller Pillot, 2009; Orendt, 2012; Schleuter, 1989). *Chironomus acerbiphilus* ist nicht tolerant gegenüber hohen Saprobienwerten, kann aber mit hohen Säurekonzentrationen umgehen (Moller Pillot, 2009; Orendt, 2012). Dies kann ansonsten nur für *Chironomus pseudothummi* beschrieben werden, da sich die meisten *Chironomus*-Arten im neutralen bis leicht basischen Milieu am wohlsten fühlen (Moller Pillot, 2009; Orendt, 2012).

Die säuretoleranten Arten waren vor allem an der Probestelle U4 zu erwarten, da hier durch den autochthonen Eintrag von Koniferennadeln eine Versauerung des Wasserkörpers zu erwarten ist. Dies trifft auch für die beiden nachgewiesenen *Tanypodinae*-Arten zu, die positiv mit dem Eintrag von organischem Material korrelieren: *Krenolopia* sp. und *Psectrotanypus varius* (Abbildung 46). Letztere ist sogar die berechnete Indikatorart für viel organisches Material und kann auch pH-Werte unter 4,5 tolerieren, während *Krenolopia* sp. mindestens einen pH-Wert von 5 benötigt (Moller Pillot, 2009).

Dieser Trend ist auch bei den tolerierten Saprobie- und Sauerstoffwerten zu beobachten: Während *Psectrotanypus varius* polysaprobe Werte und Sauerstoffgehalte unter 5 % toleriert, benötigt *Krenolopia* sp. eine Sauerstoffsättigung von mindestens 50 % und fühlt sich in mesosaprobien Habitaten am wohlsten. Da es sich bei dem Nachweis von *Krenolopia* sp. um einen einmaligen Fund im Juni 2022 mit nur drei Individuen an der Probestelle U4 handelt, ist davon auszugehen, dass diese Larven aus einem Gelege (abgelegt in feuchtem Boden oder Moosen (Moller Pillot, 2009)) stammten und die Habitatansprüche so ungeeignet waren, dass sich aus diesem abgelegten Gelege keine stabile Population entwickeln konnte. Dies wird auch von Moller Pillot (2013) bestätigt, der die Larven von *Krenolopia* sp. sowohl in Quellen als auch in Uferbereichen größerer Seen beschreibt. Er bestätigt seltene Einzelfunde dieser eigentlich alkalische Bedingungen bevorzugenden Art bei pH-Werten unter 5.

Psectrotanypus varius hingegen ist optimal an diese Habitate angepasst: Die Art bevorzugt organisch belastete Gewässer (Fittkau, 1962; Moller Pillot, 2009) und kann mit sehr niedrigen Sauerstoffwerten zurechtkommen (Pillot und Buskens, 1990). Es scheint, dass die Art sehr stark von sich zersetzendem organischem Material profitiert, auch weil es eine optimale Nahrungsquelle für alle Larvenstadien dieser Art darstellt. Während die ersten Larvenstadien ausschließlich Kieselalgen und Grünalgen fressen, ernähren sich die älteren Larvenstadien zusätzlich von anderen Chironomiden (Vallenduuk und Moller Pillot, 2013).

5.4.5 Einfluss der Substrate und Bodeneigenschaften

Die untersuchten Habitate weisen unterschiedliche Substrate auf. Während die Stillgewässer ohne Profundal in der vorliegenden Untersuchung Sand und Kies als Hauptsubstrat aufwiesen, bestand das Benthos der permanenten Stillgewässer aus schluffig-tonigem Material. Die semipermanenten Stillgewässer bestanden aus Tonschluff und die aperiodischen und ephemeren Stillgewässer aus terrestrischen Böden. Sand- und Kiessubstrate gelten in der Literatur als wenig produktive Standorte für Chironomiden (Gersbacher, 1937; Gerstle et al., 2023; Stehr und Branson, 1938), was vermutlich mit dem geringeren Gehalt an organischem Material und damit der schlechteren Nahrungsverfügbarkeit zusammenhängt.

Allerdings hatten in der vorliegenden Studie die unterschiedlichen Substrattypen keinen entscheidenden Einfluss auf die Chironomidenzönose und werden in der Korrespondenzanalyse durch den Vegetationsvektor überlagert.

5.4.6 Ökotoxikologischer Einflussfaktor Bti

Die beiden Ordinationsdiagramme der indirekten Korrespondenzanalyse der gemeinsamen Berechnung der Jahre 2020 und 2022 sowie der getrennten Berechnung von 2020 weisen jeweils eine hochsignifikante Korrelation mit der Umweltvariable Bti-Applikation mit $p = 0,002$ auf Abbildung 46 und 47. Eine Korrelation mit dem zunehmenden Vektor der Tage seit der letzten Bti-Applikation konnte sowohl im Ordinationsdiagramm der beiden Untersuchungsjahre als auch insbesondere für wenige Artaufnahmen des semipermanenten Standorts B4 (Effektfläche) beobachtet werden (Abbildung 52).

Um falsch-positive Ergebnisse auszuschließen, wurde zusätzlich die Variable Monat in die Korrespondenzanalysen mit einbezogen. Hier zeigt sich, dass die meisten Artaufnahmen des Standortes dem Jahresverlauf entsprechen. Das zeigt, dass die Anordnung der Daten eine grundsätzliche zeitliche Komponente aufweisen. Diese zeitliche Komponente wird auch dadurch verstärkt, dass im gesamten Untersuchungszeitraum nur zwei Bti-Applikationen in relativ engem zeitlichem Abstand (06.08. und 02.09.2020) stattfanden, was zu einer Verzerrung der Ergebnisse führen könnte.

Daraus schließe ich, dass es deutlich mehr Arten gibt, die ausschließlich aufgrund des zeitlichen Einflussfaktors weiter von der letzten Bti-Applikation entfernt liegen. Dass die zeitliche Komponente jedoch nicht die endgültige Erklärung sein kann, zeigt sich daran, dass Probestellen, die noch nie mit Bti behandelt wurden und somit automatisch eine hohe Anzahl von Tagen seit der letzten Bti-Applikation aufweisen, wie zum Beispiel die Artaufnahmen des Stillgewässers (11) oder des semipermanenten Tümpels im Kontroll-Transsekt (U4), nicht eindeutig auf dem zeitlichen Gradienten liegen, sondern jeweils abgesetzt sind (Abbildung 46). Daraus lässt sich ableiten, dass die ökologischen Zusammenhänge der Chironomidenzusammensetzung im Untersuchungsgebiet multivariat und nicht auf einzelne, einfache Erklärungsmuster zurückzuführen sind. Umso wichtiger erschien es, mögliche Faktoren ohne direkten ökotoxikologischen Erklärungsgehalt aus der Gesamtbetrachtung auszuschließen, um die Fülle der Faktoren zu verringern.

5.4.6.1 Mögliche Verdriftung des Biozids

Eine mögliche Verdriftung des Bti ist dann möglich, wenn es aufgrund der hochdynamischen Auenstrukturen bei Hochwasserereignissen zur Konnektivität zwischen permanenten Gewässern und ephemeren Tümpelflächen kommt. Aufgrund dieser Verbindung der ansonsten getrennten Gewässerkörper kann eine Verdriftung des ausgebrachten Bti-Materials (spätestens beim Rückzug des Hochwassers in Richtung der permanenten Wasserflächen) nicht ausgeschlossen werden. Dadurch könnten die Chironomidenlarven in den permanenten Gewässern geschädigt werden, obwohl dort keine direkte Biozid-Applikation stattgefunden hat.

Zur Überprüfung eines solchen möglichen Verdriftungseffekts wurden die beiden Probenahmestellen der Dauergewässer (U5 und B5) in der indirekten Korrespondenzanalyse im Ordinationsdiagramm der Kontroll- und Effektlflächen getrennt angeordnet (Abbildung 49).

Zwar waren die Umweltvariablen Tagesmitteltemperatur, Monat der Artaufnahme und Tage seit der letzten Bti-Applikation jeweils mit $p \leq 0,05$ signifikant, biologische Aussagen lassen sich aus den vorliegenden Daten jedoch nicht ableiten. Das Ordinationsdiagramm, das ausschließlich die Chironomidenzusammensetzung des Effekttransekts der permanenten Tümpel (B5) abbildet, zeigt eine zentrale Anordnung der Artaufnahmen mit einer leichten Orientierung zum gewichteten Zentrum der nominalen Variable vor Bti-Applikation. Arten, die sich auf den zunehmenden Vektor der Tage seit der letzten Bti-Applikation projizieren lassen, sind folgende: *Polypedilum nubeculosum*, *Chironomus plumosus*, *Tanytarsini* sp., *Polypedilum sordens*, *Clyptotendipens pallens*, *Benthalia carbonaria*, *Tanytus villipennis*, *Procladius* sp. und *Tanytus punctipennis*. Die Abundanz von *Polypedilum nubeculosum* und *Chironomus plumosus* reduziert sich in den Sommermonaten etwas, dieses Phänomen tritt jedoch sowohl im Kontroll- als auch im Effekttransekt auf. Die Abundanzzahlen von *Tanytus punctipennis* und *Procladius* sp. entwickeln sich unabhängig von den Bti-Applikationen. Bei den anderen Arten handelt es sich um Einzelfunde. Sowohl *Tanytarsini* als auch *Polypedilum sordens* und *Tanytus villipennis* wurden als Einzelfunde unabhängig von der Bti-Anwendung gefunden. *Glyptotendipens pallens* ist ein Einzelfund nach der Bti-Anwendung. *Benthalia carbonaria* wurde konstant mit ein bis zwei Individuen pro Beprobung in den Sommermonaten 2020 nachgewiesen. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass nach der zweimaligen Bti-Applikation (in Kombination mit allgemein geringen Abundanzen) sowohl in der Kontroll- als auch in der Effektlfläche kein biologischer Einfluss der Bti-Applikation in den vorgelagerten ephemeren Tümpeln auf die Chironomidenzusammensetzung in den permanenten Gewässern nachgewiesen werden konnte.

5.4.6.2 Mögliche akute Schädigung der Chironomiden durch Bti-Applikation

Ein direkter Einfluss von Bti auf die Chironomidengemeinschaft ließ sich im Rahmen der vorliegenden Studie am ehesten an den Standorten der semipermanenten Tümpel untersuchen. Hier wurden im Kontroll- und im Effekt-Transekt je eine Probenahmestelle U4 und B4 angelegt. B4 wurde im Jahr 2020 zweimal routinemäßig am 06.08. und 02.09. mit Bti behandelt. Beide Probestellen führten seit Mitte Mai Wasser, sodass sich die Chironomidenpopulation unbeeinflusst entwickeln konnte. Erst Mitte September fielen die semipermanenten Tümpel kurzzeitig trocken, wobei eine Restfeuchte im Boden verblieb. In der direkten Korrespondenzanalyse der beiden Standorte (U4 und B4) im Jahr 2020 waren nur die beiden Umweltparameter des Monats und der Tage seit der letzten Bti-Applikation signifikant. Im Ordinationsdiagramm (Abbildung 52) zeigt sich, dass eine Gruppe von Artaufnahmen des Effekttransekts sowohl mit dem Vektor der Tage seit letzter Bti-Applikation als auch mit dem des Monats positiv korreliert war. Dies deutet darauf hin, dass beide Faktoren tatsächlich einen separaten Einfluss auf die Chironomidengemeinschaft hatten. Arten, die positiv mit einer länger zurückliegenden Bti-Anwendung korrelieren, waren:

Chironomus luridus, *Polypedilum nubeculosum*, *Dicrotentipes notatus*, *Chironomus pseudothummi*, *Chironomus annularis*, *Chironomus aprilius*, *Procladius* sp. und *Psectrotanypus varius*. Betrachtet man nur die Daten des Effekttransekts B4 (Abbildung 53), so zeigt sich ebenfalls, dass sich eine Gruppe von Artaufnahmen absetzt. Auch hier korrelieren *Procladius* sp., *Psectrotanypus varius* und *Chironomus annularis* positiv mit dem Vektor Tage seit letzter Bti-Applikation. Zusätzlich korreliert hier *Chironomus plumosus* positiv mit dem demselben Vektor. Aus den phänologischen Kurven lässt sich in diesem Transekt jedoch kein eindeutiger Bti-Effekt ableiten. Denn sowohl *Chironomus luridus* als auch *Chironomus aprilius* und *Chironomus pseudothummi* waren nur im Kontroll-Transekt vertreten und daher für den Vergleich nicht relevant. Bei *Dicrotentipes notatus* und *Chironomus annularis* sowie *Polypedilum nubeculosum* handelte es sich um Einzelfunde, deren Artendichte keine biologische Aussage zulässt. Höhere Abundanzen wiesen *Procladius* sp., *Psectrotanypus varius* und *Chironomus plumosus* im Effekttransekt auf. Bei *Procladius* sp. ist eine Abundanzlücke zwischen dem 20.08.2020 und dem 10.09.2020 (und damit im Anwendungszeitraum des Biozids) zu beobachten. Die Anzahl der nachgewiesenen Arten schwankt hier jedoch nur im Bereich zwischen lediglich drei und sechs Individuen und sind somit vernachlässigbar. Auch bei *Psectrotanypus varius* ist in den Sommermonaten nach den beiden Applikationen (09.07.2020, n = 139; 20.08.2020, n = 1) und (03.09.2020, n = 32; 10.09.2020, n = 15) eine leichte Reduktion der Larvenhäufigkeit zu erkennen. Die Phänologiekurve des Kontroll-Transekts zeigt jedoch einen ähnlichen, wenn auch zeitlich leicht verschobenen Verlauf, sodass die Abweichungen auf natürliche Ursachen wie beispielsweise Emergenzergebnisse zurückgeführt werden können. Auch bei *Chironomus plumosus* lässt sich aus der Phänologiekurve keine Korrelation mit der Bti-Applikation ableiten. Die hier beobachteten Schwankungen der Abundanzen ziehen sich durch die gesamte Vegetationsperiode und die Art erreichte am 10.09.2020 (also acht Tage nach der zweiten und letzten Bti-Applikation des Jahres) mit 568 Individuen sogar ihr Maximum. Daraus kann geschlossen werden, dass die zweimalige Bti-Applikation auch auf die zu diesem Zeitpunkt eventuell vorhandenen jüngeren und sensibleren Larvenstadien keinen katastrophalen Effekt gehabt haben kann, da trotz ihrer schnellen Entwicklungszeit von ca. zwölf Tagen (Matêna, 1989) kurz nach den Applikationen ein Peak der Entwicklung beobachtet werden konnte.

5.4.7 Perspektiven zur Wirkung von Bti auf Chironomiden im Freiland

Aufgrund der komplexen multifaktoriellen Einflüsse auf die Chironomidenzönose der Rheinauen, sollten die Experimente über mehrere Jahre mit unterschiedlichen hydrologischen Bedingungen wiederholt werden, möglichst auch in einem *Enclosure*-Design (Crossland et al., 1991; Gunkel, 2000; Lundgren, 1985; Ravera, 2018), um die Vergleichbarkeit zwischen Kontroll- und Effektflächen weiter zu optimieren. Darüber hinaus sollten *In-situ*-Studien auch auf Flächen durchgeführt werden, die bis dato noch nie mit Bti behandelt wurden, um langfristige Veränderungen bezüglich der Artenvielfalt zu erfassen.

Darüber hinaus sollte perspektivisch und präventiv der Einfluss von Bti auf die Bekämpfung der sogenannten „Sumpfwaldstechmücken“, d. h. der *Aedes*-Arten, die sich insbesondere im Frühjahr nach der Schneeschmelze oder nach starken Niederschlägen entwickeln (Becker, 2003b), überprüft werden. Denn diese Stechmückenarten entwickeln sich in semipermanenten Gewässern, in denen auch Chironomidenlarven siedeln. Dabei handelt es sich meist um kälteadaptierte Frühjahrsarten der Chironomiden. Aber auch die zahlreichen sich in der winterlichen Diapause befindlichen Chironomidenlarven befinden sich bei Bekämpfungen der „Sumpfwaldstechmücken“ in den Applikationsgewässern, sodass es hier zur Überlappung der Stechmücken- und Zuckmückenhabitate kommt (Dettinger-Klemm, 2003; Fillinger, 1999; Ohliger, 1994; Wiggins et al., 1980; Williams, 2005).

5.5 Ergebnissteil II: Taxonomischer Methodenvergleich

Im Rahmen der Erfassung der Chironomidenzönose in einem durch Rheinhochwasser geprägten Naturschutzgebiet (Kapitel 5.2) wurde von mir parallel ein spezifischer Vergleich verschiedener taxonomischer Nachweismethoden für Chironomidenlarven durchgeführt. Ziel war es, die Effizienz und Nachweisgenauigkeit der morphologischen Bestimmung, der Sanger-Sequenzierung und des Metabarcodings zu vergleichen.

Hierfür habe ich zwei Methodenvergleiche vorgenommen und insgesamt 742 Chironomidenlarven (Methodenvergleich 1, kurz: MVI, mit $n = 490$ und Methodenvergleich 2, kurz: MVII, mit $n = 252$) untersucht. Die zwei Methodenvergleiche (MVI im Dezember 2021 und MVII im Juli 2022) habe ich getrennt durchgeführt, um aufgrund der unterschiedlichen Saisonalität eine möglichst hohe Artenvielfalt zu erreichen. Zusätzlich erfolgte eine Unterteilung der Ergebnisse der beiden Methodenvergleiche in unterschiedliche Replikatgrößen. Während im MVI pro Untersuchungsstandort sechs Replikate einzeln untersucht wurden, wurden diese einzelne Replikate eines Untersuchungsstandortes für den MVII zu einer gemeinsamen Mischprobe vereinigt.

5.5.1 Vergleich zwischen morphologischer Bestimmung und Sanger-Sequenzierung

Durch den Vergleich der traditionellen morphologischen Artbestimmung und der Artbestimmung mittels Sanger-Sequenzierung habe ich überprüft, ob die genetische Artbestimmung Vorteile gegenüber der morphologischen Artbestimmung hat und welche der Methoden ein genaueres Bild der vorhandenen Chironomidenzönose abbilden kann.

Für den MVI konnte ich 197 Sequenzen mittels Folmer-Primer und 141 Sequenzen mittels Simon-Primer per Sanger-Sequenzierung generieren (Folmer et al., 1994; Simon et al., 1994) (Tabelle 22). Für den Methodenvergleich mittels Simon-Primer bestätigten sich nur die taxonomischen Einheiten *Procladius* sp. und *Psectrotanypus varius* durch Abgleich mit der NCBI GenBank.

Für den MVII konnte ich 89 Sequenzen mittels Folmer-Primer und 118 Sequenzen mittels Simon-Primer generieren. Dabei bestätigten sich für den Methodenvergleich mittels Simon-Primer nur die drei taxonomischen Einheiten *Procladius* sp., *Psectrotanypus varius* und *Chironomus plumosus* durch einen Abgleich mit der NCBI GenBank. Für die anderen Sequenzen waren keine Referenzsequenzen verfügbar.

Tabelle 22: Allgemeine Übersicht über die Ergebnisse zwischen morphologischer Bestimmung und Bestimmung per Sanger-Sequenzierung (MVI = Methodenvergleich 1, MVII = Methodenvergleich 2). Auch wenn ein Individuum mithilfe beider Primer (Folmer et al., 1994; Simon et al., 1994) bestimmt werden konnte, wurde es nur einfach gewertet.

Bestimmte Larven	MVI	MVII
Anzahl analysierter Larven	490	252
Morphologisch bestimmte Individuen	488	252
Bestätigte Anzahl der per Folmer-Primer analysierter Larven	190	89
Bestätigte Anzahl der per Simon-Primer analysierter Larven	12	19
Individuen stimmen sowohl morphologisch als auch molekular überein	89	68

5.5.1.1 Methodenvergleich I

Die phylogenetische Auswertung des *Maximum-Likelihood*-Baumes des MVI zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen der morphologischen Bestimmung und den Ergebnissen der Sanger-Sequenzierung mit dem Folmer-Primer (Abbildung 56). Umfangreichere Darstellungen der Ergebnisse des Folmer-Primers sowie die phylogenetischen Bäume mit den Ergebnissen des Simon-Primers sind zusätzlich im Anhang 15–18 dargestellt.

Der MVI ergab trotz der großflächigen Übereinstimmung fünf Diskrepanzen bezüglich morphologischer Bestimmung und der Sanger-Sequenzierung (rot gefärbte Kästen in Abbildung 56):

- **Diskrepanz 1:** Die morphologisch identifizierten Arten *Chironomus* sp., *Chironomus nudatarsis* und *Chironomus plumosus* stimmen nicht mit dem molekular nachgewiesenen Ergebnis überein. Es handelt sich hierbei um die Probennummern: LH MVI 272, 251, 255, 145, 184, 155, 490, welche in Abbildung 56 unter „Diskrepanz 1“ wiederzufinden sind. Die Abkürzung LH MVI steht hierbei für die eingesetzten Folmer-Primer (LCO1490, HCO2198) sowie die verwendeten Labor-ID des MVI (Abbildung 37).
- **Diskrepanz 2:** Der *Chironomus riparius/pseudothummi*-Komplex ergab mittels Sanger-Sequenzierung ausschließlich die Art *Chironomus riparius*, während die morphologische Bestimmung *Chironomus pseudothummi* ergab. Die Arten lassen sich morphologisch durch das Vorhandensein (bei *Chironomus pseudothummi*) bzw. Fehlen (bei *Chironomus riparius*) von Lateraltubuli gut unterscheiden. Da Lateraltubuli bei den ausgewerteten Individuen vorhanden waren, spricht dies für die Richtigkeit des morphologischen Ergebnisses.
- **Diskrepanz 3:** Die Art *Cryptochironomus pscittacinus* konnte morphologisch nicht richtig zugeordnet werden und wurde daher nur als die Gattung *Cryptochironomus* sp. bestimmt. Zudem wurde der morphologisch bestimmte Komplex *Cryptochironomus obrepans/supplicans* wurde molekular als *Cryptochironomus supplicans* bestimmt.
- **Diskrepanz 4:** Die beiden Proben LH MVI 12 und 310 gehören phylogenetisch zu den *Tanypodinae*, wurden morphologisch aber als *Polypedilum nubeculosum* bzw. *Chironomus annularius*-Aggregat bestimmt.

- **Diskrepanz 5:** Eine *Chironomus cingulatus*-Probe (LH MVI 245) wurde unerwarteterweise in den *Polypedilum nubeculosum*-Cluster eingeordnet.

5.5.1.2 Methodenvergleich II

Der direkte Vergleich der morphologischen Bestimmungsergebnissen mit den Ergebnissen der Sanger-Sequenzierung des MVII zeigt, dass die Ergebnisse beider Methoden sehr gut übereinstimmen (Abbildung 57). Umfangreichere Darstellungen der Ergebnisse des Folmer-Primers sowie die phylogenetischen Bäume mit den Ergebnissen des Simon-Primers sind zusätzlich im Anhang 15–18 dargestellt.

Bei vier taxonomischen Einheiten traten allerdings drei Diskrepanzen (rote gefärbte Kästen in Abbildung 57) auf:

- **Diskrepanz 1:** *Chironomus cingulatus* wurde einmal in diesem Methodenvergleich nicht korrekt identifiziert, sondern fälschlicherweise entweder als *Chironomus plumosus* oder dem *Chironomus annularius*-Aggregat bestimmt (LH MV II 113 unter Diskrepanz 1 Abbildung 57).
- **Diskrepanz 2:** Außerdem wurde die Probe LH MVII 137 molekular als *Chironomus* sp. und morphologisch als *Chironomus annularius*-Aggregat bestimmt. Im phylogenetischen Baum gehört dieses Individuum dem *Chironomus pseudothummi*-Cluster an.
- **Diskrepanz 3:** Eine weitere Unstimmigkeit betrifft die Proben LH MVII 49 und 51, die beide molekular als *Tanypus punctipennis*, morphologisch aber als *Tanypus kraatzi*, bestimmt wurden. Da sich *Tanypus kraatzi* und *Tanypus punctipennis* morphologisch gut anhand der Form des Submentums unterscheiden lassen ist die morphologische Bestimmung von *Tanypus kraatzi* als korrekt zu betrachten (Abbildung 55).

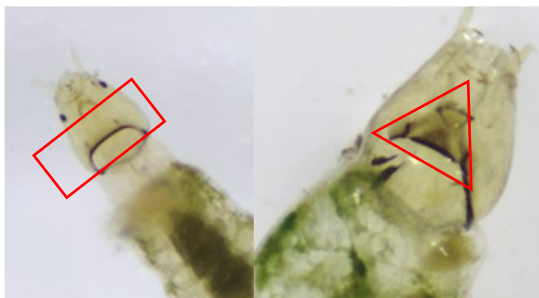


Abbildung 55: Vergleich der Submenten von *Tanypus kraatzi* (links) und *Tanypus punctipennis* (rechts). *Tanypus punctipennis* verfügt über ein Submentum mit dreieckiger Zeichnung, während dieses Dreieck bei *Tanypus kraatzi* fehlt.

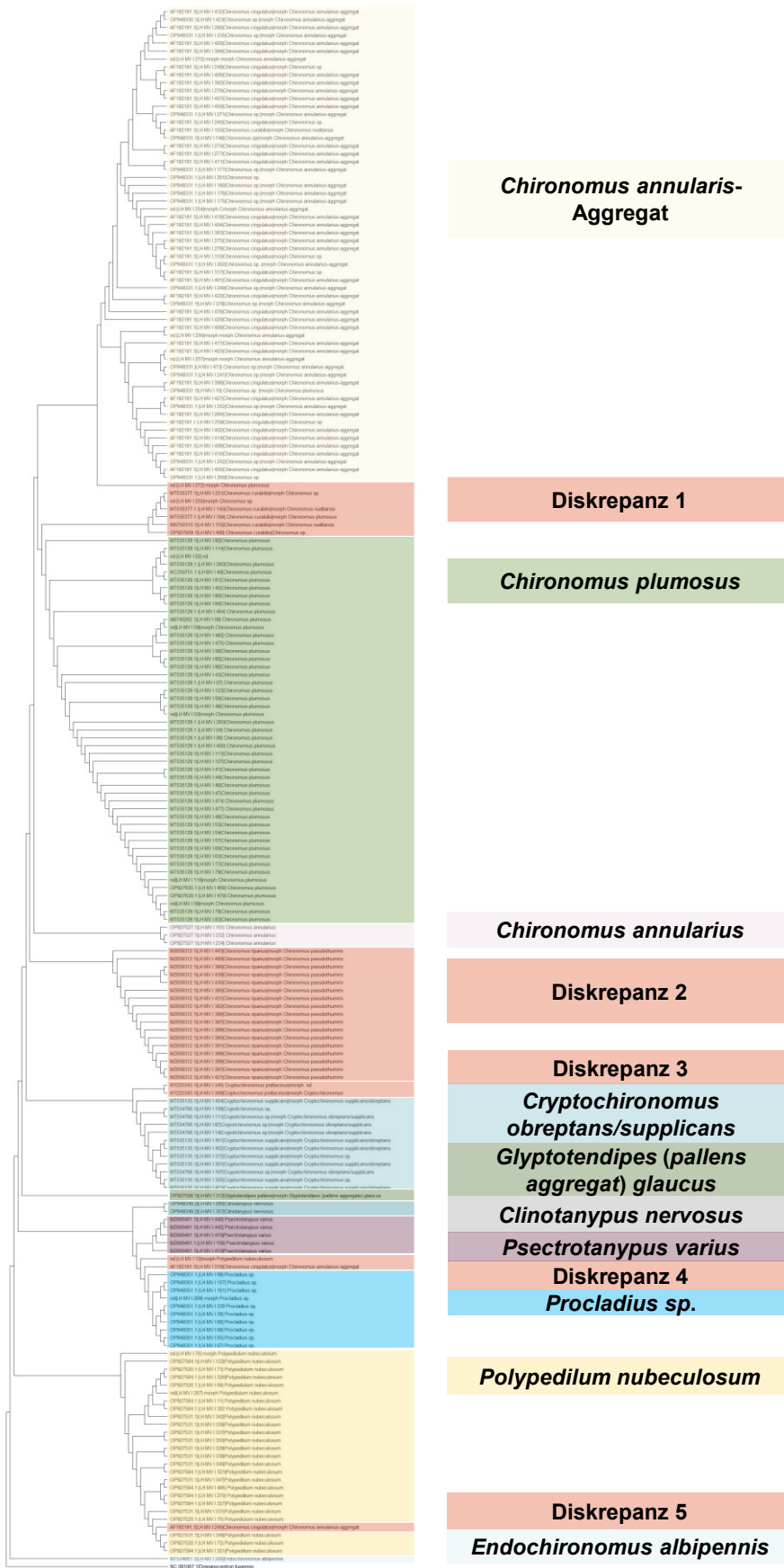


Abbildung 56: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs I mit den Primern von Folmer et al. (1994). Als *Out-group* wurde *Drepanocentron fujiensis* gewählt. Diese findet sich in der Darstellung als unterster und nicht eingefärbter Ast. Die Evolutionsgeschichte wurde mit der *Maximum-Likelihood-Methode* und dem 2-Parameter-Modell von Kimura (1980) abgeleitet. Dargestellt ist der Baum mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit (-7357.13). Die Ausgangsbäume für die heuristische Suche wurden automatisch ermittelt, indem der *Neighbor-Join-Algorithmus* und der *BioNJ-Algorithmus* auf eine Matrix paarweiser Abstände angewendet wurden, die mit dem *Maximum Composite Likelihood-Ansatz* geschätzt wurden. Danach wurde die Topologie mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit ausgewählt. Diese Analyse bezog sich auf 198 Nukleotidsequenzen. Der endgültige Datensatz umfasste insgesamt 613 Positionen. Die evolutionären Analysen wurden in MEGA11 durchgeführt (Kimura, 1980; Tamura et al., 2021). Die einzeln bestimmten Individuen wurden phylogenetisch geclustert. Die dazugehörigen Arten sind den zusätzlichen Farbkästen zu entnehmen. Die roten Kästen geben Diskrepanzen zwischen den Bestimmungsmethoden an. Eine detaillierte Darstellung des phylogenetischen Baums in Form von Phylogrammen befindet sich im Anhang 15.

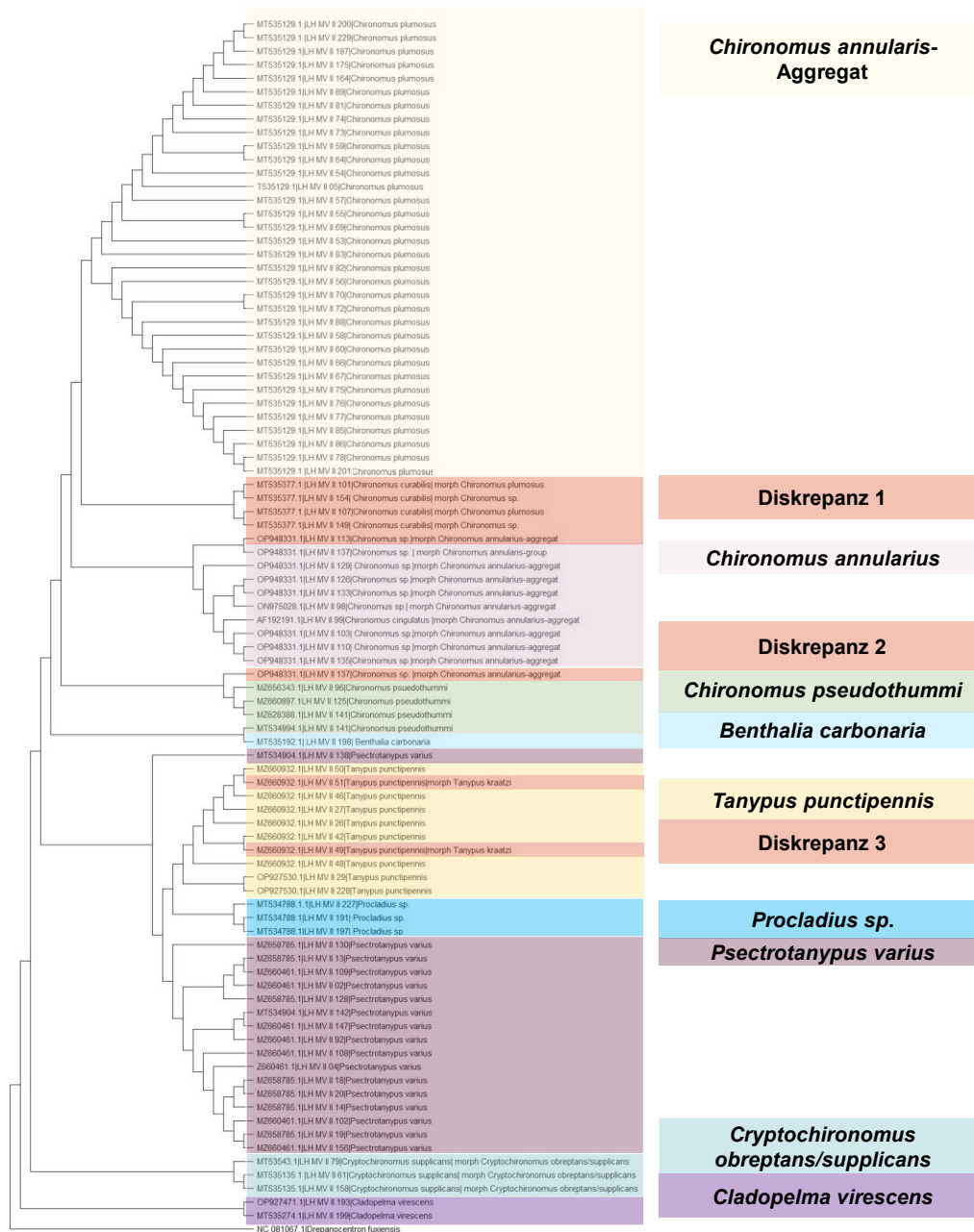


Abbildung 57: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs II mit den Primern von Folmer et al. (1994). Als *Outgroup* wurde *Drepanocentron fuxiensis* gewählt. Diese findet sich in der Darstellung als unterer und nicht eingefärbter Ast. Die Evolutionsgeschichte wurde mit der *Maximum-Likelihood*-Methode und dem 2-Parameter-Modell von Kimura (1980) abgeleitet. Dargestellt ist der Baum mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit (-5899.30). Die Ausgangsbäume für die heuristische Suche wurden automatisch ermittelt, indem der *Neighbor-Join*-Algorithmus und der *BioNJ*-Algorithmus auf eine Matrix paarweiser Abstände angewendet wurden, die mit dem *Maximum Composite Likelihood*-Ansatz geschätzt wurden. Danach wurde die Topologie mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit ausgewählt. Diese Analyse bezog sich auf 90 Nukleotidsequenzen. Der endgültige Datensatz umfasste insgesamt 645 Positionen. Die evolutionären Analysen wurden in MEGA 11 durchgeführt (Kimura, 1980; Tamura et al., 2021). Die einzelnen bestimmten Individuen wurden phylogenetisch geclustert. Die dazugehörigen Arten sind den zusätzlichen Farbkästen entnehmen. Die roten Kästen geben Diskrepanzen zwischen den Bestimmungsmethoden an. Eine detaillierte Darstellung des phylogenetischen Baums in Form von Phylogrammen befindet sich im Anhang 16.

5.5.2 Methodenvergleich mit Einbeziehung der Metabarcoding-Ergebnisse

Durch den Vergleich der Metabarcoding-Methode mit den beiden anderen Bestimmungsmethoden habe ich überprüft, ob die zeitsparende und mittlerweile in zahlreichen Studien eingesetzte Methode des Metabarcodings dazu geeignet ist, die Chironomidenzönose zuverlässig abzubilden. Um zu untersuchen, ob die Mischprobengröße beim Metabarcoding einen Einfluss auf die Abbildungsgenauigkeit der Artenzusammensetzung hat, habe ich die Metabarcoding-Analysen des Methodenvergleichs MVI mit jeweils 6 Replikaten und die des Methodenvergleichs MVII mit einer großen Mischprobe (1 Replik pro Untersuchungsstandort) durchgeführt (Abbildung 58 und Abbildung 59).

5.5.2.1 Vergleichende Ergebnisse des Methodenvergleich I

Eine graphische Zusammenfassung der vergleichenden Ergebnisse des MVI kann auch der Abbildung 58 entnommen werden.

- **Probestelle MVI 11:** In den Replikaten des Standortes 11 des MVI ist der Artennachweis größtenteils homogen. Eine Diskrepanz besteht zwischen den Arten *Chironomus plumosus* und *Cladotanytarsus atridorsum*. Erstere wurde morphologisch und durch die Sanger-Sequenzierung bestimmt, letztere durch das Metabarcoding. Die Gattung *Cryptochironomus* sp. wurde sowohl morphologisch als auch mittels der Sanger-Sequenzierung und der Metabarcoding-Analyse nachgewiesen. *Polypedilum nubeculosum* wurde morphologisch in allen Replikaten, jedoch mit molekularen Methoden nur in der Hälfte der Replikate nachgewiesen. Auch die Gattung *Procladius* wurde nicht einheitlich in allen Replikaten bestimmt, die höchste Nachweisdichte zeigt hier die morphologische Methode. *Kiefferulus tendipediformis* wurde ausschließlich in Replikat 11_I mittels Metabarcoding nachgewiesen.
- **Probestelle MVI B4:** Die Auswertung der Replikate von B4 zeigt eine große Diskrepanz zwischen den verschiedenen taxonomischen Methoden. *Chironomus annularis* wurde durch die Morphologie und die Sanger-Sequenzierung, aber nicht durch das Metabarcoding, identifiziert. *Chironomus nuditaris* und die beiden Taxa *Cladopelma viridulum*-Gruppe und *Cladopelma goetghbueri* wurden ausschließlich morphologisch nachgewiesen. *Psectrotanypus varius* fehlt im Metabarcoding. *Chironomus curabilis* und *Chironomus cingulatus* wurden ausschließlich per Sanger-Sequenzierung mittels Folmer-Primer detektiert. Die Gattung *Cryptochironomus* wurde dagegen nur durch das Metabarcoding nachgewiesen. Die Gattung *Procladius* wurde in allen Replikaten mit unterschiedlicher Detektionstiefe nachgewiesen. Zehn Taxa wurden ausschließlich durch das Metabarcoding nachgewiesen: *Cryptochironomus albofasciatus*, *Procladius pectinatus*, *Cladotanytarsus atridorsum*, *Procladius culciformis*, *Cryptochironomus psittacinus*, *Tanypus kraatzi*, *Benthalia carbonaria*, *Cricotopus sylvestris*, *Orthocladius decoratus*, *Tanypus punctipennis*.
- **Probestelle MVI B5:** Auch an diesem Standort bestand die *Chironomus plumosus*-*Cladotanytarsus atridorsum*-Diskrepanz. *Polypedilum nubeculosum* wurde durch die morphologische Bestimmung in allen sechs Replikaten nachgewiesen, aber durch das Metabarcoding in nur vier Replikaten. *Procladius* wurde als Gattung mit unterschiedlicher Detektionstiefe in den Replikaten sowohl morphologisch als auch mittels Sanger-Sequenzierung und Metabarcoding bestimmt. Dies gilt auch für die Gattung *Cryptochironomus* sp. *Chironomus annularis* wurde ausschließlich morphologisch und *Chironomus cingulatus* nur mittels Sanger-Sequenzierung nachgewiesen. *Psectrotanypus varius*

wurde ausschließlich durch das Metabarcoding detektiert. *Clinotanypus nervosus* und *Glyptotendipes pallens* wurden nicht durch das Metabarcoding bestätigt.

- **Probestelle MVI U4:** Auch an diesem Standort gab es größere Unterschiede in der Artbestimmung zwischen den verschiedenen Methoden. So wurde *Chironomus pseudothummi* morphologisch und mittels Metabarcoding bestimmt. *Chironomus riparius* wurde hingegen durch die Sanger-Sequenzierung und das Metabarcoding, jedoch nicht morphologisch nachgewiesen. *Psectrotanypus varius* wurde mit beiden Primern der Sanger-Sequenzierung nachgewiesen, fehlte aber im Metabarcoding. *Chironomus annularius* wurde in allen Replikaten morphologisch nachgewiesen und im Replikat U4_III durch Metabarcoding bestätigt. Auch an diesem Standort wurden zehn exklusive Arten mittels Metabarcoding nachgewiesen: *Endochironomus albipennis*, *Tanytarsus mendax*, *Tanytarsus pallidicornis*, *Cryptochironomus albofasciatus*, *Dicrotendipes nervosus*, *Procladius pectinatus*, *Cladopelma virescens*, *Endochironomus tendens*, *Procladius rufovittatus*, *Parachironomus gracilior*.
- **Probestelle MVI U5:** *Chironomus plumosus* wurde durch morphologische Taxonomie und durch Sanger-Sequenzierung bestätigt. Die Gattung *Procladius* wurde sowohl morphologisch als auch molekular durch die Sanger-Sequenzierung und das Metabarcoding bestimmt. *Polypedilum nubeculosum* wurde nur morphologisch nachgewiesen, *Chironomus nuditarsis* hingegen nur durch das Metabarcoding. Die Gattung *Cryptochironomus* wurde, in unterschiedlicher Nachweishäufigkeit, sowohl durch morphologische Bestimmung als auch durch Metabarcoding detektiert. Die drei Arten der Gattung *Chironomus* *Chironomus pseudothummi*, *Chironomus curabilis* und *Chironomus riparius* wurden ausschließlich über Folmer-Primer der Sanger-Sequenzierung bestimmt.

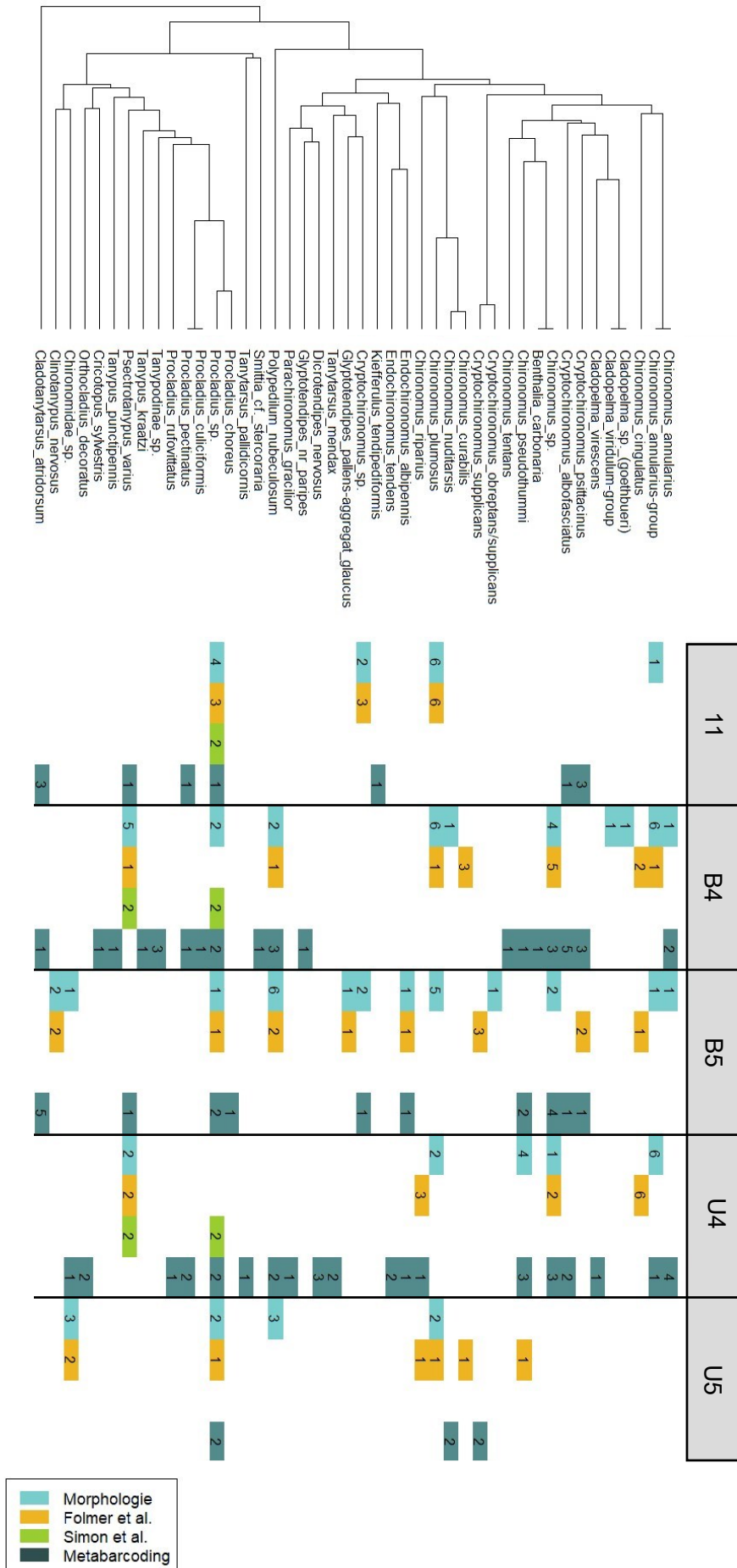


Abbildung 58: Übersicht der detektierten Arten des MVI mit der jeweiligen Bestimmungsmethode: morphologische Bestimmung, Sanger-Sequenzierung (mit Primern von Folmer et al. (1994) und Simon et al. (1994)) sowie Metabarcoding. Die farbliche Markierung steht für eine erfolgreiche Detektion der Art mit der jeweiligen Methode. Da pro Standort jeweils sechs Replikate (n = 6) angefertigt wurden, gibt die, in die farbcodierten Kästen eingetragene Zahl, die Häufigkeit der Detektion (1 bis 6) an.

5.5.2.2 Vergleichende Ergebnisse des Methodenvergleich II

Eine graphische Zusammenfassung der vergleichenden Ergebnisse des MVII kann auch der Abbildung 59 entnommen werden.

- **Probestelle MVII 11:** Es bestand eine *Chironomus-plumosus-Cladotanytarsus-atridorsum*-Diskrepanz. Die Gattung *Cryptochironomus* wurde trotz unterschiedlicher Artzuordnung mit allen Nachweismethoden bestimmt. Exklusiv per morphologischer Bestimmung wurden *Tanytus kraatzi* und *Glyptotendipes paripes* bestimmt. Ausschließlich per Metabarcoding wurden *Chironomus pseudothummi* und *Polypedilum nubeculosum* detektiert.
- **Probestelle MVII B4:** Obwohl *Chironomus plumosus* per morphologischer Bestimmung nachgewiesen und per Folmer-Primer bestätigt wurde, fehlte im Metabarcoding die korrespondierende Art *Cladotanytarsus atridorsum*. Auch *Clinotanytus nervosus* wurde ausschließlich morphologisch bestimmt. Dafür wurde die Art *Cryptochironomus albofasciatus* nicht morphologisch, dafür über beide molekularen Methoden nachgewiesen. Große Übereinstimmungen ergaben sich in den Arten *Tanytus punctipennis* und *Psectrotanytus varius*, die beide mit allen Nachweismethoden und letztere sogar mit beiden Sanger-Sequenzierungsprimern, detektiert wurde.
- **Probestelle MVII B5:** Im Vergleich der Artbestimmungen zeigte sich eine hohe Übereinstimmung bei der Art *Benthalia carbonaria*, welche mit allen Nachweismethoden bestimmt wurde. *Chironomus plumosus* wurde morphologisch und über beide Primer der Sanger-Sequenzierung detektiert, die korrespondierende Art *Cladotanytarsus atridorsum* wurde per Metabarcoding nachgewiesen. Auch in der Gattung *Cladopelma* gibt es große Übereinstimmungen: So wurde die Art *Cladopelma virescens* mithilfe aller Nachweismethoden bestimmt. *Cladopelma viridulum* dagegen ist, ebenso wie *Tanytus kraatzi*, ein Einzelnachweis der morphologischen Bestimmung. *Procladius* sp. und *Psectrotanytus varius* wurden sowohl morphologisch als auch per Sanger-Sequenzierung nachgewiesen. Korrespondierend wurde nur die Unterfamilie *Tanypodinae* per Metabarcoding nachgewiesen. Exklusiv per Metabarcoding wurden *Cryptochironomus psittacinus* und *Procladius pectinatus* detektiert.
- **Probestelle MVII U4:** Morphologisch gab es hier eine hohe Nachweisdichte von *Chironomus*-Arten: *Chironomus annularius*-Gruppe, *Chironomus cingulatus*, *Chironomus plumosus* und *Chironomus pseudothummi*. *Chironomus cingulatus* wurde per Folmer-Primer und *Chironomus pseudothummi* per Folmer-Primer und Metabarcoding, bestätigt. Per Metabarcoding wurden nur *Polypedilum nubeculosum*, *Chironomus pseudothummi* und *Psectrotanytus varius* bestimmt. Letztere wurden mithilfe aller Methoden nachgewiesen.
- **Probestelle MVII U5:** Auch an dieser Probestelle bestand eine *Chironomus plumosus-Cladotanytarsus atridorsum*-Diskrepanz. Exklusiv morphologisch wurden *Clinotanytus nervosus* und die Gattung *Cryptochironomus* sp. nachgewiesen. *Procladius* sp. wurde in unterschiedlicher Nachweistiefe mit allen Methoden detektiert. *Glyptotendipes paripes* wurde sowohl per Sanger-Sequenzierung als auch durch das Metabarcoding bestimmt. *Endochironomus albipennis* wurde exklusiv per Metabarcoding nachgewiesen.

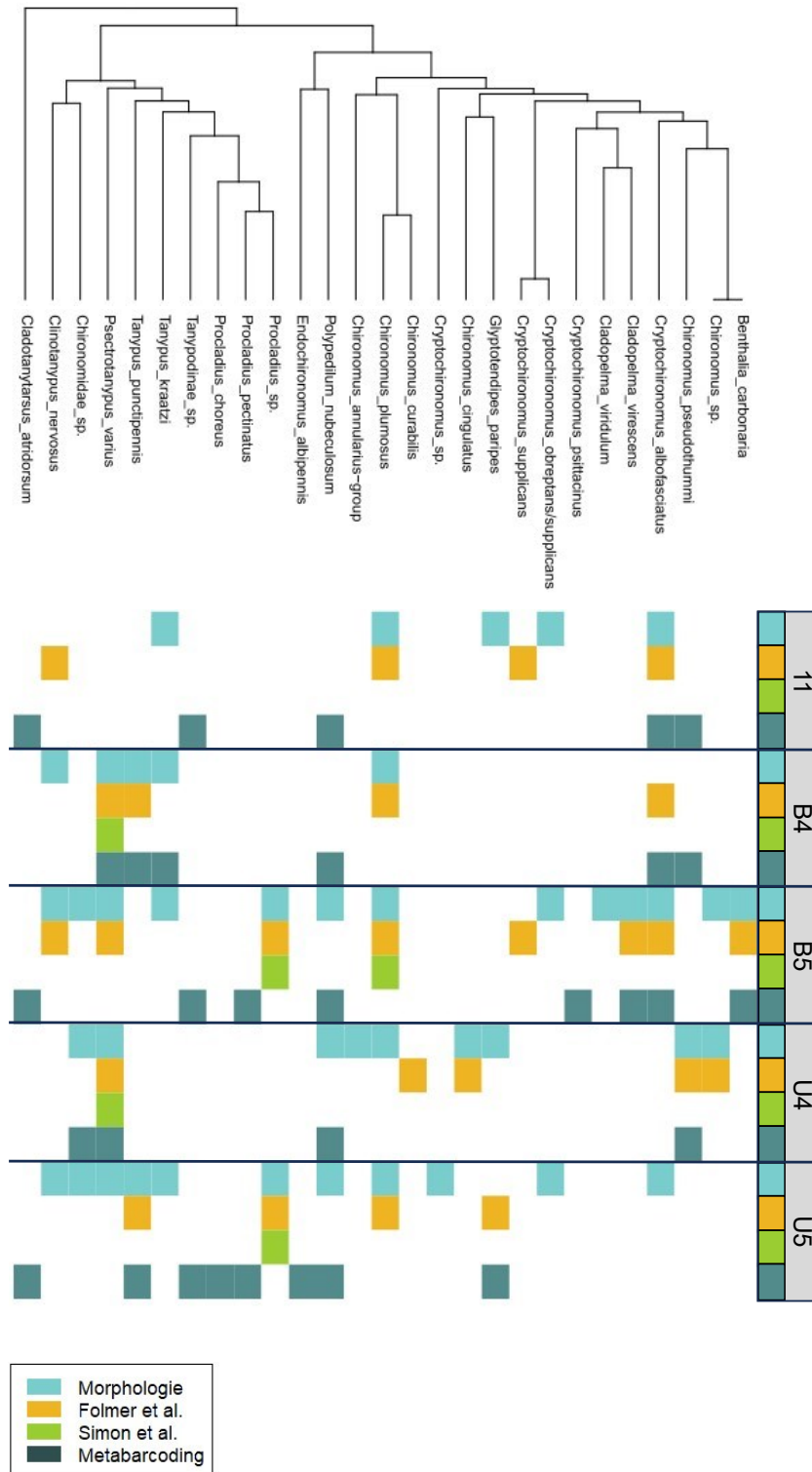


Abbildung 59: Übersicht der detektierten Arten des MVII mit der jeweiligen Bestimmungsmethode: morphologische Bestimmung, Sanger-Sequenzierung (mit Primern von Folmer et al. (1994) und Simon et al. (1994)) sowie Metabarcoding. Die farbliche Markierung steht für eine erfolgreiche Detektion der Art mit der jeweiligen Methode.

5.6 Diskussionsteil II: Taxonomischer Methodenvergleich

Zusammenfassung: Taxonomischer Methodenvergleich

Ziel des taxonomischen Methodenvergleichs war es, die Effizienz und Genauigkeit der morphologischen und molekularen Bestimmungsmethoden zu überprüfen und zu klären, welche der Methoden am besten geeignet ist, um die Chironomidenzönosen im Rahmen von großflächigen Monitoringprojekten abzubilden.

Dabei zeigte sich, dass trotz molekularer Methoden derzeit auf den Einsatz geschulter taxonomischer Experten nicht verzichtet werden kann, weshalb ein integrativer Ansatz aus morphologischen und molekularen Methoden empfohlen wird.

Die einzelnen Bestimmungsmethoden unterscheiden sich in ihrer Nachweistiefe und Replikatkonsistenz. Bei den molekularen Methoden besteht die Gefahr, dass aufgrund mangelnder DNA-Qualität oder systematischer Fehler im PCR-Protokoll vorhandene Taxa nicht bestimmt werden können. **Zudem fehlen für viele Arten noch korrekt hinterlegte Referenzsequenzen in den Datenbanken.** Auch die Interpretation molekularer Daten, insbesondere von Metabarcoding-Ergebnissen, kann bei fehlendem taxonomischem und ökologischem Hintergrundwissen zu Verzerrungen des abzubildenden Artenspektrums führen.

Die molekularen Methoden ermöglichen jedoch im Vergleich zur morphologischen Identifikation die Unterscheidung habituell identischer Morphotypen. Zudem erlaubt das Metabarcoding die Bearbeitung von (großen) Mischproben, ohne jedoch exakte Aussagen über die Quantität der vorkommenden Arten treffen zu können.

5.6.1 Bewertung der Genauigkeit und Präzision von Artenzuordnungen

Das Ziel des taxonomischen Methodenvergleichs war es, die Effizienz und Genauigkeit morphologischer und molekularer Bestimmungsmethoden zu überprüfen und herauszufinden, welche der Methoden am besten geeignet ist, um Chironomidenzönosen in großflächigen Monitoringprojekten abzubilden. Dazu habe ich im vorangegangenen Kapitel die morphologische Bestimmung mit der Sanger-Sequenzierung verglichen und anschließend in den Kontext der Ergebnisse des Metabarcodings gestellt.

In diesem Kapitel möchte ich nun sowohl die Effizienz der Methoden hinsichtlich ihrer Nachweissensitivität als auch der benötigten Materialmenge diskutieren. Darüber hinaus werde ich auf die Fehleranfälligkeit der jeweiligen Methoden eingehen und abschließend ein Ausblick auf den zukünftigen Einsatz der Methoden gegeben.

5.6.1.1 Nachweishäufigkeit der Chironomidenarten

Der direkte Vergleich der verschiedenen Bestimmungsmethoden zeigt, dass nicht alle taxonomischen Einheiten der Chironomidenlarven mit den verschiedenen Methoden gleich gut erfasst werden konnten. Generell fällt eine unterschiedliche Nachweistiefe (Bestimmung teilweise nur auf Familien- oder Gattungsniveau) und eine unterschiedliche Nachweishäufigkeit in den verschiedenen Replikaten auf.

Dazu kommt, dass trotz aktiver Forschung zu diesem Thema, die Ergebnisse des Metabarcodings bisher nicht die konkrete Abundanz der nachgewiesenen Individuen angeben, sondern nur *Absence-Presence*-Daten ermöglichen (Sickel et al., 2023). Es ist daher nicht möglich, die exakte Quantität von Individuen in den Metabarcoding-Mischproben zu bestimmen. Auch kann nicht von der Häufigkeit der *reads* einer Sequenz auf die tatsächliche Menge an Larvengewebe oder

die Individuenzahl geschlossen werden (Amend et al., 2010; Röder und Schwenk, 2023; Sun et al., 2019). Dies erschwert Aussagen über die ökologische Zusammensetzung eines Habitats, da nicht zwischen seltenen und häufigen Arten unterschieden werden kann (Röder und Schwenk, 2023).

5.6.1.2 Die Frage der Replikatkonsistenz

Während für den Vergleich der morphologischen Bestimmung und der Sanger-Sequenzierung jede Chironomidenlarve einzeln analysiert wurde, wurden für das Metabarcoding Mischproben gebildet. Es zeigte sich, dass im Methodenvergleich I, bei dem kleinere Mischprobengrößen gewählt wurden, die Abweichung auf Replikatebene zwischen den Methoden größer war als in den komplexeren Mischproben des Methodenvergleichs II. Dies lässt darauf schließen, dass nicht alle einzelnen Chironomidenlarven molekular nachweisbar waren und bei nur einer oder wenigen Larven einer Art pro Mischprobe diese entsprechenden Arten nicht nachgewiesen werden konnten. Bei größeren Mischproben mit mehr Gewebeanteilen steigt dagegen die Wahrscheinlichkeit, dass die vorhandene DNA-Qualität ausreicht, um zumindest ein Individuum pro Art korrekt analysieren zu können.

Diese bestehende Problematik der mangelnden Replikatkonsistenz in Metabarcoding-Proben wurde auch in anderen Studien aufgezeigt (Buchner et al., 2021; Förster et al., 2023; Röder und Schwenk, 2023). So ermittelten Buchner et al. (2021) in ihren Metabarcoding-Experimenten eine Replikatkonsistenz von durchschnittlich 80 %. Förster et al. (2023) zeigten, dass bei der Beauftragung von zwei unabhängigen Dienstleistern für Metabarcoding-Analysen insgesamt nur 62 % aller Arten in künstlichen Insektenmischproben (mit definiertem und bekanntem Arteninventar) nachgewiesen werden konnten.

Das Problem der mangelnden Replikatkonsistenz besteht jedoch nicht nur bei der Methode des Metabarcodings, sondern kann auch bei der Sanger-Sequenzierung auftreten. So konnten im Rahmen der vorliegenden Studie von insgesamt 742 untersuchten Larven nur 259 qualitativ hochwertige DNA-Sequenzen mittels Simon-Primer und 286 DNA-Sequenzen mittels Folmer-Primer generiert werden.

Diese Ergebnisse liegen trotz PCR-Optimierungsverfahren unter den üblichen Nachweisgrenzen der Sanger-Sequenzierung und deuten auf eine hohe Denaturierungsrate des verwendeten DNA-Materials hin. Gründe hierfür können eine zu lange Lagerung der Gewebeproben, zu hohe Temperaturen oder ein zu starker Einfluss von UV-Licht sein. Diese Denaturierungsursachen wurden auch in anderen Studien mit Chironomidenlarven beobachtet (Baloğlu et al., 2018; Brodin et al., 2013; Chimeno et al., 2023; Ekrem et al., 2010; Ekrem et al., 2007).

Dies bedeutet, dass die Qualität der molekularen Bestimmungsmethoden durch externe Einflüsse stark verfälscht werden kann, während die morphologische Methodik davon weniger betroffen ist. Tatsächlich wurde die beste Materialausbeute bei der morphologischen Bestimmung erzielt. Bis auf wenige zerstörte Larven, die keine Bestimmung mehr zuließen, konnten alle Individuen bestimmt werden.

5.6.2 Fehleranfälligkeit der untersuchten Bestimmungsmethoden

Um die Genauigkeit und Präzision der gewählten Bestimmungsmethoden zu überprüfen, wurden die detektierten Taxa in folgende Kategorien unterteilt:

- Korrekt bestimmte Taxa (= konnten mithilfe aller Bestimmungsmethoden konsistent nachgewiesen werden),
- Falsch-positive Taxa (= wurden fälschlicherweise als vorhanden bestimmt) und
- Falsch-negative Taxa (= waren zwar vorhanden, konnten jedoch aber nicht bestimmt werden).

5.6.2.1 Korrekt bestimmte Taxa

Im vorliegenden Methodenvergleich wurde kein Taxon mit allen Methoden konsistent nachgewiesen.

Die Art *Cladopelma virescens* wurde mit allen Methoden nur in einem Replikat nachgewiesen, in anderen Replikaten fehlte ein konsistenter Nachweis. Die Arten *Psectrotanypus varius* und *Polypedilum nubeculosum* wurden zwar mit allen Methoden, aber ebenfalls in unterschiedlichen Replikaten nachgewiesen. Ähnliches gilt für die Gattungen *Cryptochironomus* sp. und *Procladius* sp. Bei beiden Gattungen ist die morphologische Bestimmung der Imagines, Exuvien und Larven einiger Arten nach wie vor problematisch und es ist in vielen Fällen nicht sicher, ob die Arten korrekt bestimmt wurden (Brundin, 1949; Langton et al., 1991; LANUV, 2022; Moller Pillot, 2009; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013; Vodopich und Cowell, 1984).

Dies führt häufig, wie im Fall der Gattung *Cryptochironomus* sp., zu Gruppierungen der Einzelarten. Ein Beispiel hierfür ist der im Methodenvergleich vorliegende *Cryptochironomus obrepans/supplicans*-Komplex (Brundin, 1949).

5.6.2.2 Falsch-positiv bestimmte Taxa

Falsch-positiv identifizierte Taxa sind Arten, deren taxonomische Zugehörigkeit falsch zugeordnet wurde, das heißt das methodisch nachgewiesene Taxon kommt in der (Misch-)Probe wahrscheinlich überhaupt nicht vor. Dies ist auf mehrere möglichen Fehlerquellen zurückzuführen. Während falsch-positive Taxa bei der morphologischen Bestimmung meist durch eine Fehleinschätzung des Taxonomen kommt, sind bei den molekularen Methoden meist systematische Fehler, wie PCR- oder Datenaufbereitungsfehler ursächlich (Bourret et al., 2023; Buchner et al., 2021; Chimeno et al., 2023; Drake et al., 2022; Rodriguez-Martinez et al., 2023; Schnell et al., 2015). Einige dieser möglichen Fehler werden nun folgend dargestellt.

Mehrfachnennung einer Sequenz innerhalb von molekularen Referenzdatenbanken

Eines dieser systematischen Probleme ist die Überlappung oder Mehrfachnennung einer Sequenz innerhalb von Referenzdatenbanken; in der BOLD-Datenbank auch als BIN-Sharing bezeichnet. Diese tritt zum Beispiel aufgrund zu geringer interspezifischer Variation der DNA-Sequenz auf. Ein BIN-Cluster kann mehreren Arten zugeordnet werden, wenn es eine mindestens 97-prozentige Übereinstimmung der DNA-Barcodes aufweist, die gemeinsam in einer Referenzbibliothek hinterlegt sind. In Tabelle 23 sind die Arten aufgeführt, die im vorliegenden Metabarcoding-Datensatz vom BIN-Sharing betroffen waren. Dies bedeutet, dass bei Proben dieser Arten nicht mit Sicherheit gesagt werden konnte, um welche Art es sich genau handelt. Dieses Problem betraf auch die Referenzabgleiche der Sanger-Sequenzierung. Ein besonders auffälliges Beispiel ist hier die Diskrepanz zwischen *Chironomus plumosus* und *Cladotanytarsus atridorsum*. Während es sich bei *Cladotanytarsus* um eine Gattung mit neun Arten in Deutschland handelt, die im

Larvenstadium morphologisch nicht unterscheidbar sind, ist *Chironomus plumosus* eine Art der Gattung *Chironomus*. Beide Gattungen gehören zu den unterschiedlichen Triben (*Tanytarsini* bzw. *Chironomini*) und weisen daher sehr unterschiedliche habituelle Merkmale (Antennenlänge, Form der Ventromentalplatten) auf, so dass bei einer morphologischen Bestimmung keine Verwechslung möglich ist (LANUV, 2022). Es ist daher davon auszugehen, dass es sich bei der Bestimmung von *Cladotanytarsus atridorsum* mittels Metabarcoding (und Referenzabgleich mit NCBI GenBank und BOLD) tatsächlich um die morphologisch bestimmte *Chironomus plumosus* handelt. Weitere Verwechslungen durch BIN-Sharing wurden im Datensatz gefunden, jedoch nicht mehr auf der Ebene der Gattung, sondern nur noch auf der Ebene der Art.

Tabelle 23: Vergleichende Ergebnisse der Datenbanken NCBI GenBank und BOLD. Bei letzterer trat bei den unten aufgeführten Arten das BIN-Sharing auf, sprich die Proben konnte mehreren Arten zugeordnet werden (BIN-Cluster). Es ist daher nicht mit Sicherheit zu bestimmen, welcher Art die untersuchten Taxa tatsächlich zugehörten.

NCBI GenBank	BOLD: BIN-Sharing
<i>Cladotanytarsus atridorsum</i>	<i>Chironomus plumosus</i> , <i>Chironomus tentans</i>
<i>Cryptochironomus albofasciatus</i>	<i>Cryptochironomus obreptans</i> , <i>Cryptochironomus supplicans</i>
<i>Procladius pectinatus</i>	<i>Procladius culiciformis</i> , <i>Procladius sagittalis</i>
<i>Glyptotendipes nr. paripes</i>	<i>Glyptotendipes nr. paripes</i> , <i>Glyptotendipes_pallens</i>
<i>Endochironomus albipennis</i>	<i>Endochironomus albipennis</i> , <i>Endochironomus tendens</i>
<i>Cricotopus sylvestris</i>	<i>Cricotopus glacialis</i> , <i>Cricotopus sylvestris</i>
<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Benthalia carbonaria</i> , <i>Benthalia dissidens</i>

Falsche Tag-Kombinationen beim Metabarcoding

Chimärenbildung (Buchner et al., 2021; Giebner et al., 2020; Nagai et al., 2022) oder sogenanntes Tag-Jumping können ebenfalls zu falsch-positiven Ergebnissen beim Metabarcoding führen (Buchner et al., 2021; Röder und Schwenk, 2023; Rodriguez-Martinez et al., 2023; Schnell et al., 2015). Sie entstehen, wenn beim Metabarcoding Sequenzen mit falschen Kombinationen der verwendeten Tags nicht eliminiert werden. Dadurch können falsche Tag-Kombinationen entstehen, die die Artendiversität von Mischproben künstlich erhöhen und zu falsch-positiven Ergebnissen führen können (Schnell et al., 2015).

Sensitive Nachweisrate beim Metabarcoding

Eine weitere mögliche Fehlerquelle beim Metabarcoding liegt in der eigentlichen Stärke der Methode, nämlich der Fähigkeit, auch kleinste Mengen vorhandener DNA zu identifizieren (Wilcox et al., 2013). Durch den möglichen Nachweis (fragmentierter) DNA-Sequenzen kann es zu einem falsch-positiven Artnachweis kommen, wenn diese falsch-positive Art zum Beispiel noch als Fragment im Magen-Darm-Trakt ihres Prädatoren vorhanden war, selbst aber nicht zur eigentlichen Mischprobe gehört (Cuff et al., 2023; Förster et al., 2023; Pires Paula et al., 2016), oder das DNA-Fragment zu wenige Basenpaare für eine sichere Artbestimmung aufweist und daher falsch zugeordnet wird.

Solche Restproben können immer dann vermutet werden, wenn nur wenige *reads* in der Metabarcoding-Probe vorhanden waren. In diesem Fall gelten sie formal als nachgewiesen, müssen aber auf Plausibilität überprüft werden. Dies traf in der vorliegenden Untersuchung auf die Arten *Tanytarsus mendax*, *Orthocladius decoratus*, *Chironomus tentans*, *Cladopelma virescens*, *Smittia cf. stercoraria*, *Tanytarsus pallidicornis*, *Benthalia carbonaria*, *Endochironomus tendens*, *Parachironomus gracilior* und *Procladius rufovittatus* zu, die ausschließlich durch Metabarcoding nachgewiesen wurden. Sie wiesen jeweils *reads* ≤ 10 auf, so dass es auch vom Dienstleistungslabor als unwahrscheinlich angesehen wurde, dass diese Arten tatsächlich in den Proben vorkommen.

Kreuzkontamination

Proben mit einer geringen Anzahl von *reads* können aber auch durch Kreuzkontaminationen verursacht werden. Dieses Risiko besteht nur bei molekularen Methoden und kann von der Probenahme im Feld bis zum Labor auftreten (Furlan et al., 2020; Goldberg, 2016; Leonard et al., 2007; Liu et al., 2020; Sepulveda et al., 2020). Kreuzkontaminationen können sowohl bei der Extraktion als auch bei der Präparation der Larven oder der Homogenisierung von Metabarcoding-Mischproben auftreten. Das Risiko kann jedoch durch das Einfügen von Negativkontrollen reduziert werden (Buchner et al., 2021; Furlan et al., 2020; Röder und Schwenk, 2023).

Fehler in den Datenbanken

Eine weitere Fehlerquelle liegt in der Qualität von Referenzdatenbanken wie der NCBI GenBank oder BOLD. Letztere wird zwar gepflegt, ist aber nicht so umfangreich wie die NCBI GenBank (Bourret et al., 2023; Ekrem et al., 2007; Förster et al., 2023; Magoga et al., 2022; Morinière et al., 2019; Shen et al., 2013). Datenbanken können Artefakte und fehlerhafte Informationen enthalten. Dies kann dazu führen, dass Sequenzen dem falschen Taxon zugeordnet werden (Förster et al., 2023; Furlan et al., 2020; Rulik et al., 2017; Taberlet et al., 2018). Aufgrund der recht komplizierten morphologischen Chironomiden-Taxonomie ist zudem von einer besonders hohen Fehlerquote in den Datenbanken für diese Familie auszugehen.

5.6.2.3 Falsch-negativ bestimmte Taxa

Falsch negative Ergebnisse können immer auftreten, wenn die Art zwar vorhanden ist, aber mit der jeweiligen Methode nicht nachgewiesen werden kann.

Bei beiden molekularen Methoden besteht die Gefahr, dass eigentlich vorhandene Arten deswegen nicht bestimmt werden können, da die DNA-Qualität nicht ausreichend ist, fehlender Primer-Bindung durch *primer-bias* (oder andere systematische Probleme der PCR vorliegen), oder keine Referenzen in den Datenbanken vorhanden sind (Drake et al., 2022; Ekrem et al., 2007; Failla et al., 2016; Förster et al., 2023; Magoga et al., 2022; Morinière et al., 2019; Piñol et al., 2015).

Bei der der morphologischen Bestimmung kommt es dagegen zu falsch-negativ bestimmten Taxa, wenn Zwillingsarten oder auch Kryptospezies vorliegen. Das sind Arten, die zwar morphologisch identisch erscheinen, genetisch aber eine höhere Variation aufweisen und daher als getrennte Arten betrachtet werden sollten. Dies ist unter bei der Gattung *Chironomus* der Fall, bei der es zahlreiche Zwillingsarten wie *Chironomus plumosus*, *Chironomus usenicus* und *Chironomus curabilis* gibt (Kiknadze et al., 2005; Lindeberg, 1967; Markiyanova, 2016; Michailova und Petrova, 1994; Polukonova, 2005; Polukonova et al., 2009). Da diese Larven in der Regel morphologisch nicht unterscheidbar sind, können morphologische Taxonomen diese auch nur als eine Art behandeln. Ein vorliegendes Beispiel für eine solche Zwillingsart ist *Chironomus curabilis*, die durch Sanger-Sequenzierung, nicht aber durch Metabarcoding nachgewiesen wurde (Polukonova, 2005). Morphologisch wurde diese Art ihrer Zwillingsart *Chironomus plumosus* zugewiesen.

Ein weiterer Grund für falsch-negative Taxa bei der morphologischen Bestimmung ist, dass die Larve entweder selbst stark zerstört oder das Hauptbestimmungsmerkmal, das Mentum, stark abgenutzt ist. Selbst wenn ein entsprechender Bestimmungsschlüssel für die Art vorliegt, ist es dann nicht mehr möglich, dieses Individuum morphologisch zu bestimmen. Insbesondere seltene Arten können so durch das Bestimmungsraster fallen (Ekrem et al., 2010; Failla et al., 2016; Kang et al., 2022; LANUV, 2021; LANUV, 2022; Moller Pillot, 2009; Moller Pillot, 2014; Orendt und Spiess, 2012; Orendt, 2012; Vallenduuk und Moller Pillot, 2013).

5.6.3 Abschlussdiskussion des taxonomischen Methodenvergleichs

Der Methodenvergleich zur Bestimmung von Chironomiden zeigt, dass trotz molekularer Methodik auf den Einsatz geschulter taxonomischer Experten derzeit nicht verzichtet werden kann.

Faktor Fehleranfälligkeit

Natürlich ist auch bei der morphologischen Bestimmung eine gewisse Fehlerquote nicht auszuschließen. So gehen beispielsweise Förster et al. (2023) von einer durchschnittlichen Fehlbestimmungsrate von <1 % bei geübten Insekten-Taxonomen und Chimeno et al. (2023) von 9 % bei einem sehr geübten Chironomidenexperten aus. Diese Fehlbestimmungen lassen sich auf Qualitätsmängel des Probenmaterials, der Bestimmungsliteratur und gegebenenfalls auch die Erfahrung des Taxonomen zurückführen.

Sowohl von mir als auch in ähnlichen Methodenvergleichen wurden falsche morphologische Zuordnungen am häufigsten innerhalb der Gattung vorgenommen. Die Gattung selbst wurde meist noch richtig zugeordnet, während die artspezifische Zuordnung der Larven die Taxonomen vor Herausforderung stellte (Chimeno et al., 2023; Failla et al., 2016).

Morphologische Fehlbestimmungen können zu einer regelrechten Fehler-Kaskade führen, da sie auch zusätzlich die Grundlage der Artnachweise in den Referenzdatenbanken bietet und deswegen morphologische Fehlbestimmungen auch zu molekularen Fehlbestimmungen führen können (Chimeno et al., 2023; Ekrem et al., 2010; Failla et al., 2016).

Metabarcoding: Eine Bestimmungsmethode für Jedermann?

Es ist daher besonders kritisch zu werten, wenn Autoren, die selbst kein taxonomisches Hintergrundwissen der hochkomplexen Chironomidentaxonomie haben, ausschließlich mithilfe von molekularen Methoden versuchen, ökologische Aussagen auf Artniveau zu treffen. Insbesondere beim Metabarcoding können auf diese Weise fehlerhafte Datensätze entstehen.

Die neuen Metabarcoding-Dienstleistungen suggerieren, dass auch Laien ohne Vorkenntnisse in der Lage wären, anhand des gelieferten Datenoutputs zuverlässige Artbestimmungen vorzunehmen. Allerdings ist die Gefahr einer Fehlinterpretation der Ergebnisse groß, auch wenn von Dienstleistern inzwischen häufig zusätzliche Vergleichstabellen bzw. Plausibilitätsprüfungen angeboten werden. Bei diesen werden die Ergebnisse verschiedener Datenbanken miteinander verglichen und nur überlappende Ergebnisse als glaubwürdig ausgewiesen. Dieses Vorgehen führt zwar zu einer möglichen Reduzierung von Fehlbestimmungen, entzieht den Datenmengen aber auch Informationsgehalt (Förster et al., 2023).

Die Schwierigkeiten der molekularen Chironomiden-Taxonomie wurden auch schon von anderen Autoren diskutiert. So konnten bei Baloğlu et al. (2018) nur etwa 61 % der untersuchten Chironomidenlarven mit Barcodes versehen werden. Brodin et al. (2013) erstellten zwar für 90 % der von ihnen untersuchten Chironomiden-Imagines Barcodes, jedoch wurden nur für 10 von 42 Arten Sequenzübereinstimmungen in den Referenzdatenbanken gefunden. Theissinger et al. (2020) generierten in ihren Experimenten 442 OTUs aus Chironomiden-Imagines, von denen aber nur

54 als Chironomiden-Proben weiterverarbeitet wurden. Von diesen wurden wiederum über 30 % nicht auf Artniveau bestimmt. Letztendlich wurden den Proben 30 Arten zugeordnet, von denen 11 Arten mehreren Artnamen entsprachen und daher nur anhand externer biogeographischer Hinweise einem Taxon zugeordnet wurden. Dabei konnten beispielsweise die Arten *Chironomus riparius* und *Chironomus luridus* nicht per Metabarcoding unterschieden werden, obwohl sie morphologisch leicht zu differenzieren gewesen wären. Failla et al. (2016) konnten bei ihrem vorgenommenen Methodenvergleich zwischen der morphologischen Bestimmung und der Sanger-Sequenzierung für Chironomidenlarven nur 3 % aller Larven morphologisch aber auch nur 11,6 % mittels Sanger-Sequenzierung auf Artniveau bestimmen.

Faktor Zeit

Chimeno et al. (2023) konnten dagegen bei ihrem Methodenvergleich zwischen molekularer und morphologischer Bestimmung von Chironomiden-Imagines mit den molekularen Methoden deutlich bessere Ergebnisse erzielen. Die morphologische Bestimmung dauerte in ihrer Studie zehnmal länger als der molekulare Ansatz und wies eine höhere Fehlerquote auf. Diese hohe Fehlerquote ist allerdings auf die Verwendung von Imagines zurückzuführen. Für Chironomiden-Imagines gibt es derzeit nur wenige Bestimmungsschlüssel und die notwendigen Präparationsverfahren sind sehr zeitaufwendig. Dies ist bei den Chironomidenlarven nicht der Fall. Hier ist nicht nur die Fachliteratur mittlerweile sehr umfangreich, sondern auch die Präparationsschritte sind wesentlich einfacher und zeitsparender.

Dies wird auch von Baloğlu et al. (2018) bestätigt, die 15 bis 20 Minuten für das Sezieren und Einbetten der Larvenproben auf mikroskopischen Objektträgern kalkulieren.

Ich selbst schätze den persönlichen Arbeitsaufwand für einen erfahrenen Taxonom bei der Präparation von Chironomidenlarven auf maximal zehn Minuten pro Larve. Berücksichtigt man zusätzlich den Zeitaufwand für die Bestimmung des Präparats, so ist immer zwischen bekannteren und selteneren Arten zu unterscheiden. Während sehr gängige Arten von taxonomischen Experten in weniger als einer Minute bestimmt werden können, benötigt man für seltenere oder schwierigere Morphotypen mehr Zeit. Die zu kalkulierende Zeit hängt also immer von den taxonomischen Kenntnissen, der Erfahrung und dem Arteninventar der Gesamtproben ab. Bei meinen eigenen Versuchen stellte ich jedoch fest, dass die Sanger-Sequenzierung deutlich mehr Zeit beanspruchte als die morphologische Analyse. Vor allem die DNA-Extraktion nahm im Vergleich zu den morphologischen Präparationsschritten deutlich mehr Zeit in Anspruch. Auch die Interpretation der molekularen Daten ist selbst mit Hilfe von (selbst entwickelten) Software-Pipelines sehr zeitintensiv. Insgesamt musste ich mindestens das Fünffache an Zeit für die Analysen mittels Sanger-Sequenzierung-Methodik im Vergleich zur morphologischen Taxonomie aufwenden.

Faktor Kosten

Ein großer Vorteil des Metabarcoding liegt in den geringen Kosten von weniger als 0,4 Euro pro Probe (bei hohen Probendichten in den Mischproben), während die Kosten der Sanger-Sequenzierung 8–17 Euro pro Probe betragen (Baloğlu et al., 2018). Auch Brodin et al. (2013) beschreibt drei- bis viermal höhere Kosten für die Analyse von Chironomiden mittels Sanger-Sequenzierung im Vergleich zur morphologischen Analyse. In der vorliegenden Studie erscheint der Einsatz der Metabarcoding-Kosten vergleichsweise hoch, da pro Replikat Kosten von etwa 90 € bei externen Dienstleistern anfielen und zum Teil hierfür nur eine bis elf Arten pro Replikat bestimmt wurden. Dieser Betrag relativiert sich beim Einsatz von großen Mischproben. Für eine Sanger-Sequenzierungs-Probe fielen ohne Personalkosten zwischen 5 und 10 Euro an, die Materialkosten für morphologische Bestimmung lag pro Präparat unter 0,5 Euro.

5.6.4 Ausblick und Anregungen zur Taxonomie der Chironomidenlarven

Aufgrund der zahlreichen Stärken und Schwächen der einzelnen Methoden, empfehle ich einen integrativen Ansatz für die taxonomische Bestimmung von Chironomidenlarven. Dabei sollte bereits bei der Probenahme darauf geachtet werden, dass die entnommenen Bodenproben auf Eis und ohne UV-Bestrahlung gelagert werden, um die höhere DNA-Denaturierung der Larven im Vergleich zu den Imagines zu reduzieren (Brodin et al., 2013). Die Extraktion der Larven aus dem umgebenden Medium und die anschließende Präparation sollten ebenfalls zügig und ohne lange Lagerzeiten erfolgen. Anschließend empfiehlt sich eine Vorsortierung nach morphologischen Merkmalen, wobei im Zweifelsfall konservative Morphotypen gewählt werden sollten. Sofern eine morphologische Identifizierung möglich ist, kann auf einen weiteren molekularen Vergleich verzichtet werden. Aus Zeit- und Kostengründen sollte die molekulare Identifikation nur für Larven erfolgen, die morphologisch nicht eindeutig auf Artniveau bestimmt werden können, wie beispielsweise schwierig zu bestimmende Arten der *Chironomus*-Gattung. Es wird empfohlen, jeden kritischen Morphotyp mittels Sanger-Sequenzierung zu überprüfen, wobei ein möglichst hoher Anteil an Gewebematerial verwendet werden sollte (Elbrecht und Leese, 2015). Zusätzlich könnte überlegt werden, die direkte PCR-Methodik nach Röder und Schwenk (2023) zu verwenden, um den zeitaufwändigen Schritt der DNA-Extraktion zu umgehen. Ein solches Protokoll muss jedoch erst in Folgeexperimenten überprüft werden. Zusätzlich ist es empfehlenswert, eine Gesamtmischprobe aller Individuen mittels Metabarcoding zu analysieren, um sicherzustellen, dass keine kryptischen oder sogenannte *Dark-Taxa* in den Proben enthalten waren und die Morphotypen nicht falsch sortiert wurden.

Bei der Interpretation der Daten sollte man sich nicht allein auf die molekularen Ergebnisse der Referenzdatenbanken verlassen, sondern diese mithilfe taxonomischer und ökologischer Expertise auf Plausibilität überprüfen. Ein solches integratives Vorgehen kann ein leistungsfähiges Werkzeug für die Chironomidenlarven-Taxonomie darstellen, da es nicht nur die Stärken der einzelnen Methoden kombiniert, sondern auch mögliche Fehlbestimmung durch Quervergleiche reduziert.

6. Bioassay-Experimente zur Bestimmung der artspezifischen Empfindlichkeit von Chironomiden gegenüber Bti

Zusammenfassung: Empfindlichkeit von *Chironomus*-Arten gegenüber Bti

Anhand von akuten Toxizitätstests, welche mithilfe der **optimierten OECD TG 235**-Methode durchgeführt wurden, wurde gezeigt, dass das Erstlarvenstadium der untersuchten Arten *Chironomus riparius*, *Chironomus aprilius* und *Chironomus dorsalis* sehr empfindlich auf Bti reagiert.

Fasst man alle bekannten Informationen zu einer Risikoabschätzung für Chironomiden der **Gattung *Chironomus*** zusammen, so zeigt sich, dass deren **pelagische Erstlarven durch eine Bti-Applikation in freilandüblichen Konzentrationen geschädigt werden können**.

Aber auch ältere **pelagische Larvenstadien unterliegen dem Risiko einer (sub)letalen Schädigung durch Bti**. Für die benthische Lebensphase der *Chironomus*-Larven kann eine Schädigung dagegen derzeit nur vermutet werden.

6.1 Einleitung

Um das Risiko für die *Chironomidae* durch die Anwendung von Bti in der Praxis abschätzen zu können, habe ich für die drei Arten *Chironomus riparius*, *Chironomus aprilius* und *Chironomus dorsalis* die akute Toxizität bestimmt und darauf aufbauend ihre *Risk Characterisation Ratio* (RCR) berechnet. Die RCR gibt das Verhältnis zwischen der *Predicted Environmental Concentration* (PEC) und der *Predicted No Effect Concentration* (PNEC) an ($RCR = PEC/PNEC$). Bei einem RCR größer als 1 wird davon ausgegangen, dass der Wirkstoff ein Risiko für den betreffenden Organismus darstellt. Zur Bestimmung der PNEC kann zum Beispiel ein Extrapolationsverfahren auf Basis einer Empfindlichkeitsverteilung der Spezies verwendet werden oder diese direkt mithilfe eines Unsicherheitsfaktors (*assessment factor*, AF) aus Parametern zur Toxizität einer Substanz abgeschätzt werden (ECHA, 2017).

6.2 Material und Methoden

Die akute Toxizität von Bti auf ausgewählte Chironomidenarten habe ich nach den Vorgaben der OECD TG 235 („*Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test“; OECD, 2011) bestimmt. Ich habe hierfür jedoch geringfügige Modifikationen an den Expositionsgefäßen vorgenommen, um eine bessere und weniger fehleranfällige Auswertung der Bioassays zu ermöglichen. Die Modifikationen lagen innerhalb der vorgegebenen Rahmenbedingungen der Richtlinie (Abbildung 60).

Alle in der vorliegenden Studie untersuchten Chironomidenarten wurden vor den Bioassay-Untersuchungen mindestens über drei Generation in eigener Zucht gehalten, bevor deren Eigelege in Versuchen verwendet wurden. Ziel war es, unbekannte Umwelteinflüsse, die sich auf die Embryonalentwicklung der Chironomiden auswirken könnten, zu reduzieren und kontrollierte Ausgangsbedingungen zu schaffen. Dabei wurde für die Art *Chironomus riparius* auf vorhandene Zuchtstämme von der Arbeitsgruppe „*Morphogenesis and the evolution of form*“ (Prof. Dr. Stefan Lemke, Centre for Organismal Studies, COS, Universität Heidelberg) bzw. der Arbeitsgruppe „*Molekulargenetik und Genomanalyse*“ (Prof. Dr. Thomas Hankeln, Institut für Organismische und Molekulare Evolutionsbiologie, Universität Mainz) zurückgegriffen. Zur Erhöhung der intraspezifischen Variabilität des Zuchtstamm-Genpools habe ich die Individuen beider Arbeitsgruppen miteinander gekreuzt.

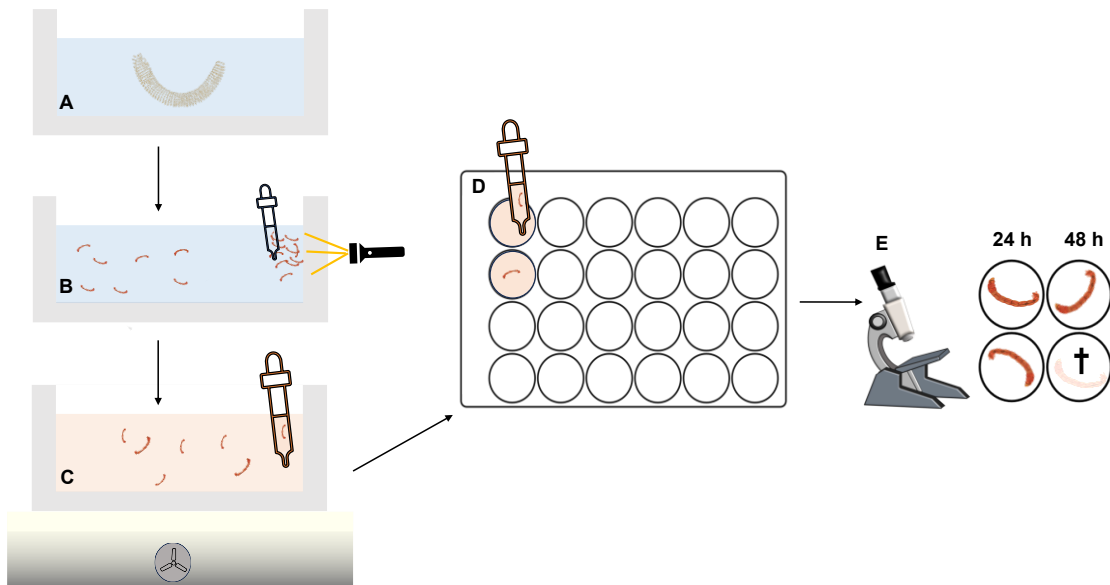


Abbildung 60: Schematische Darstellung der modifizierten OECD TG 235-Methodik für die Experimente zur Bestimmung der akuten Toxizität von Bti: A) Belüftete Schlüpfbecken für die Eigelege der Chironomiden, gefüllt mit entgastem Leitungswasser. B) Lichtfalle zur Verdichtung der geschlüpften Erstlarven im Schlüpfbecken. C) Angleichbecken mit Testkonzentration gefüllt, um eine unerwünschte Verdünnung der Testkonzentration im Expositionsgefäß zu minimieren; Transfer der Larven auf eine belüftete Lichtplatte. D) 24-Well-Titerplatte als Expositionsgefäß. Die Larven werden einzeln in die Wellplatte eingesetzt. Die Testkonzentration wird vor dem Einsetzen der Larven vorgelegt. E) Endpunktkontrolle nach 24 und 48 h mit dem Stereomikroskop

Zusätzlich habe ich Eigelege von *Chironomus dorsalis* aus dem Freiland entnommen, um weitere Zuchtstämme aufzubauen: Insgesamt wurden fünf Eigelege von *Chironomus dorsalis* aus einem Wasserbecken des Speyerer Friedhofs entnommen und im Labor in ein Zuchtbecken überführt. Mehr als 50 weitere Eigelege von *Chironomus dorsalis* habe ich in Regentonnen in Edingen-Neckarhausen gesammelt. Zusätzlich habe ich eine Zucht der Art *Chironomus aprilius* auf der Basis von käuflichem Lebendfutter für Zierfische (ZooSchatz/ IT-Ichthyo Trophic, Stare Polichno, Polen) etabliert. Die Artbestimmung aller Zuchttiere erfolgte mit morphologischen und molekularen Methoden (Kapitel 5.1.4). Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde zudem eine Masterarbeit von Blank (2023) in Kooperation mit der RWTH Aachen durchgeführt, bei der allerdings auf die Modifikationen der OECD-Richtlinien verzichtet wurde. Hierfür wurden Eigelege der Art *Psectrotanypus varius* im Naturschutzgebiet Horreninsel abgesammelt und in Zucht überführt. Zudem wurden Eigelege der Art *Chironomus tentans* auf einer Teichfolie in Edingen-Neckarhausen gefunden und ebenfalls in einen Zuchtstamm überführt.

6.2.1 Experimentaufbau

6.2.1.1 Schlupf der Erstlarven

Um eine ausreichende genetische Variabilität der für die Bioassays verwendeten Larven zu gewährleisten, wurden von mir mindestens 15, in der Regel jedoch mehr als 30 Eigelege pro Bioassay-Experiment aus den Zuchtstämmen entnommen (Tabelle 24) und in Schlüpfbecken mit ca. 300 ml Leitungswasser überführt. Die Werte zur Wasserchemie des verwendeten Trinkwassers können Anhang 22 entnommen werden. Diese Schlüpfwannen wurden ständig mit einem schwachen Luftstrom belüftet, sodass dauerhaft eine ausreichende Sauerstoffversorgung gewährleistet war. Nach dem Schlupf, der meist nach 48 bis 72 h erfolgte, habe ich die Larven für 12 bis 24 h *ad libitum* mit gemahlenem Fischfutter (TetraMin Baby; Tetra GmbH, Melle) gefüttert. Dieses Aufzuchtfutter für Zierfischbrut eignet sich aufgrund seines feinen Mahlgrades besonders gut für

die Aufzucht der Erstlarven. Dazu habe ich das Fischfutter mit Wasser homogenisiert und durch feine Lacksiebe mit einer Maschenweite von 190 μm tropfenweise in das Schlüpfbecken gegeben. Die Larven wurden mit dem Fischfutter gefüttert, um eine ausreichende Nährstoffversorgung zu gewährleisten und das Mortalitätsrisiko durch Nahrungsmangel für die Dauer der Expositionsversuche (48 h) zu minimieren (OECD, 2011).

6.2.1.2 Vorbereitung zur Exposition

Vierundzwanzig Stunden nach dem Schlupf habe ich die Larven in die Versuchsgefäße überführt. Dazu habe ich eine externe Lichtquelle (Taschenlampe) am Rand des Schlüpfbeckens installiert und andere Lichtquellen in der Umgebung ausgeschaltet. Aufgrund der positiven Phototaxis der Erstlarven wandern diese zu diesem Zeitpunkt pelagischen Larven aus dem gesamten Wasserkörper in Richtung der künstlichen Lichtquelle, sodass hier eine besonders hohe Larvendichte entsteht. Mit einer 3 ml Transferpipette aus Kunststoff, deren Spitze großzügig abgeschnitten wurde, konnte ich einen Teil der Gesamtmenge der Larven in das Angleichbecken überführen. Das Abschneiden der Pipettenspitze dient dem Schutz der Larven während des Transfers.

Das Angleichbecken bestand aus einer 250 ml Glasschale, die mit der im Versuchsansatz zu untersuchenden Bti-Konzentration gefüllt war. Das Angleichbecken sorgt dafür, dass die im Schlüpfbecken mit in reinem Leitungswasser aufgezogenen Larven an die spätere Expositionsflüssigkeit angeglichen wurden und eine unerwünschte Verdünnung der Testkonzentration minimiert wird.

Mit einer 3 ml Transferpipette aus Borosilikatglas wurden die Larven von mir anschließend in die 24-Well-Titerplatten (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen), die als Expositionsgefäße dienen, überführt. Dazu habe ich eine umgebaute Lichtplatte verwendet. In diese wurde ein kleiner Ventilator eingebaut, um zu verhindern, dass sich die Flüssigkeiten in den Schalen trotz der Verwendung von LED-Lampen auf der Lichtplatte erwärmen und die Larven thermischen Stress erleiden. Das durch die Lichtplatte von unten erzeugte Licht ermöglichte eine optische Kontrolle beim Umsetzen der Larven. Auch hafteten die Larven in der Glaspipette weniger an als in den Plastikpipetten, wodurch eine mechanische Schädigung der Larven reduziert werden konnte. Außerdem sollte beim Umsetzen darauf geachtet werden, dass der mit der Pipette erzeugte Sog möglichst gering ist. Die Expositionsgefäße bestanden aus 24-Well-Titerplatten aus Polystyrol mit einem Gesamtvolumen von 3,5 ml. Vor dem Überführen der Larven habe ich jeweils 2,5 ml der gewünschten Testkonzentration in die 24-Well-Titerplatten vorgelegt. Dies entsprach den Vorgaben der OECD-Richtlinie, die ein Mindestvolumen von 2 ml Testflüssigkeit pro Larve fordert (OECD, 2011). Der korrekte Transfer wurde meinerseits zweifach überprüft. Im ersten Schritt habe ich hierfür bereits auf der Lichtplatte das Einsetzen der Larve in die entsprechende Vertiefung der Expositionsgefäße überprüft. Im nächsten Schritt habe ich die Beweglichkeit der Larven mithilfe eines Stereomikroskops (Stemi 508, Carl Zeiss, Oberkochen) nach wenigen Minuten erneut überprüft. Nur eindeutig vitale Larven wurden für die Versuchsauswertung verwendet. Die 24-Well-Titerplatten wurden bis zur Endpunktbestimmung bei ausreichender Feuchtigkeit und bei $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

6.2.1.3 Exposition

Zur Durchführung der Expositionsversuche habe ich die Testlarven den folgenden Bti-Konzentrationen ausgesetzt: 0, 4, 8, 16, 32, 64, 128 und 256 ITU/L Bti. Solange mir keine Informationen zur Empfindlichkeit der untersuchten *Chironomus*-Arten gegenüber Bti aus früheren Versuchen oder der Literatur vorlagen, habe ich die Konzentrationsreihe um die Konzentrationen 512 ITU/L und 1.024 ITU/L erweitert. Der Abstand zwischen den Konzentrationen betrug jeweils Faktor 2 und lag damit innerhalb der OECD-Standards mit einem Faktor von maximal 2,2. Pro Konzentration habe ich mindestens drei technische Wiederholungen à 12 Individuen untersucht. Wenn es entsprechend der geschlüpften Erstlarvenzahl möglich war, habe ich vier technische Wiederholungen à 24 Individuen untersucht (Tabelle 24). Damit wurden die Vorgaben des OECD-Tests 235 mit einer Mindestanzahl von 20 Larven pro Konzentration erfüllt (OECD, 2011).

Tabelle 24: Eingesetzte Erstlarven und technische Wiederholungen der einzelnen Versuchsreplikate, Durchführung per modifizierter OECD TG 235-Methodik

Art	Versuchsreihen (Datum)	Technische Wiederholungen	Erstlarven (n)	Gesamtanzahl Erstlarven (n)
<i>Chironomus riparius</i>	1 (23.06.2023)	4	24	96
<i>Chironomus riparius</i>	2 (29.07.2023)	3	24	72
<i>Chironomus riparius</i>	3 (31.07.2023)	4	24	96
<i>Chironomus aprilius</i>	1 (23.07.2023)	4	24	96
<i>Chironomus aprilius</i>	2 (28.07.2023)	4	24	96
<i>Chironomus aprilius</i>	3 (02.08.2023)	4	12	48
<i>Chironomus dorsalis</i>	1 (31.07.2023)	4	12	48
<i>Chironomus dorsalis</i>	2 (14.09.2023)	3	24	72

6.2.1.4 Messung abiotischer Faktoren

Zur Überprüfung der abiotischen Bedingungen des Testsystems habe ich am Anfang und am Ende der Versuche die Raumtemperatur, den pH-Wert und den Sauerstoffgehalt in den Expositionsgefäßen bestimmt. Sowohl bei der Kontrolle als auch bei der höchsten Konzentration wurde der pH-Wert gemessen (Kompaktphotometer PF-3 Fish; Machery-Nagel, Düren). Die Sauerstoffmessung erfolgte mit einem SDR SensorDish Reader (PreSens, Regensburg) bei der Negativkontrolle sowie bei den Konzentrationen von 16, 64 und 256 ITU/L.

6.2.2 Formulierung und Konzentration des Bti

Die Larven wurden mit dem Biozid Bti (Valent BioSciences – VectoBac WG; Stamm: AM65-52, 3000 ITU/mg, Libertyville, USA) exponiert. Ausgehend von der durch Gammastrahlung reduzierten Potenz des Biozids um 20 % (2400 ITU/mg) habe ich eine Stammlösung mit 1000 ITU/L hergestellt und auf die gewünschten Versuchskonzentrationen verdünnt (Becker, 2003a). Um eine optimale Sauerstoffversorgung der Larven zu gewährleisten, habe ich als Medium entgastetes Leitungswasser verwendet (Anhang 22), das mindestens 24 h vor Ansetzen der Konzentrationen künstlich belüftet wurde. Damit sollte sichergestellt werden, dass eventuell vorhandenes Chlor und CO₂ ausreichend entgast wird und sich eine Sauerstoffsättigung einstellt.

6.2.3 Endpunktbestimmung

Die Endpunktbestimmung erfolgte nach 24 und 48 h Exposition der Larven. Dazu habe ich die Mortalität bzw. Immobilität der Larven untersucht. Jede einzelne Larve wurde von mir unter dem Stereomikroskop darauf untersucht, ob sie Vitalzeichen (wie Bewegung des gesamten Körpers, Bewegung des Kopfes, Fressen etc.) zeigte. War keine selbständige Bewegung erkennbar, wurden die Larven durch vorsichtiges Anspritzen mit umgebendem Medium stimuliert. Zeigte die Larve nach einer Minute trotz Stimulation keine selbständige Bewegung, habe ich sie erneut dem Flüssigkeitsstrom ausgesetzt. Konnte auch bei der zweiten Stimulation keine selbständige Bewegung der Larve provoziert werden, habe ich die Larve als tot eingestuft.

6.2.4 Testvalidierung

Als Validitätskriterien gibt die OECD TG 235 folgende Kriterien vor:

- Nicht mehr als 15 % der Individuen der Kontrollgruppe dürfen die folgenden Anzeichen aufweisen: Immobilisierung, andere Anzeichen von Krankheit oder Stress (zum Beispiel abnormes Aussehen) oder im Oberflächenfilm gefangen sein (OECD, 2011).
- Die Konzentration an gelöstem Sauerstoff in den Kontroll- und Testgefäßen sollte am Ende der Prüfung mehr als 3 mg/l betragen, und der pH-Wert sollte in einem Bereich zwischen 6 und 9 liegen (OECD, 2011).

6.2.5 Statistische Auswertung der Daten

Die Dosis-Wirkungs-Beziehung und die damit verbundene Interpolation der mittleren Effektkonzentrationen habe ich mittels Probit-Regression mit dem Programm ToxRat ausgewertet (Ratte et al., 2015). Die verwendeten Grafiken habe ich mithilfe des Moduls „matplotlib“ in Python (Hunter, 2007) erstellt.

6.2.5.1 Dosis-Wirkung-Beziehung

Die in den Konzentrationsreihen ermittelten prozentualen Mortalitätswerte habe ich mithilfe der Abbott-Formel auf die Kontrollgruppen normiert (Abbott, 1925). Die Berechnung der Konfidenzintervalle erfolgte mithilfe des Fieller-Theorems. Mithilfe des Fisher-Freeman-Halton-Tests habe ich getestet, ob die gemessenen Mortalitäten der verschiedenen technischen Wiederholungen einer Konzentration innerhalb einer Versuchsdurchführung (Replik) gleich sind (Freeman und Halton, 1951).

6.2.5.2 Risk Characterisation Ratio

Die Berechnung der Risk Characterisation Ratios (RCR) erfolgte nach der Formel:

$$\text{RCR} = \frac{\text{PEC}}{\text{PNEC}}, \text{ mit } \text{PNEC} = \frac{\text{EC}_{50}}{\text{AF}}.$$

Für die Extrapolation der PNEC (*predicted no-effect concentration*), also der vorhergesagten Konzentration von Bti ohne Effekt, wurde ein Extrapolationsfaktor (*assessment factor*, AF) von 100 gewählt (ECHA, 2017).

Die Bestimmung des Risikoverhältnisses wurde von mir für die höchsten und niedrigsten $\text{EC}_{50, 48\text{h}}$ -Werte der untersuchten Spezies nach 48 h Exposition sowie für das geometrische Mittel aus den Versuchsreihen durchgeführt. Anschließend habe ich die einzelnen Quotienten (= RCR) unter der Annahme von vier verschiedenen PEC-Werten von 1920 ITU/L (PEC-Wert ersten

Grades bei maximaler Ausbringkonzentration), 142 ITU/L (PEC-Wert zweiten Grades bei maximaler Ausbringkonzentration), 1225 ITU/L (PEC-Wert ersten Grades durch die KABS berechneten durchschnittlichen Ausbringkonzentration) und 90 ITU/L (PEC-Wert zweiten Grades der seiten der KABS berechneten durchschnittlichen Ausbringkonzentration), ermittelt. Die PEC-Werte zweiten Grades habe ich hierfür nach Vorgaben der Europäischen Union (2010) berechnet.

6.3 Ergebnisse

Ich habe für die vorliegende Studie insgesamt acht Bioassays mit drei *Chironomus*-Arten (*Chironomus riparius*, *Chironomus aprilius* und *Chironomus dorsalis*) nach der modifizierten OECD TG 235 durchgeführt (OECD, 2011).

6.3.1 Akute Toxizität von Bti auf Chironomus-Arten

6.3.1.1 *Chironomus riparius*

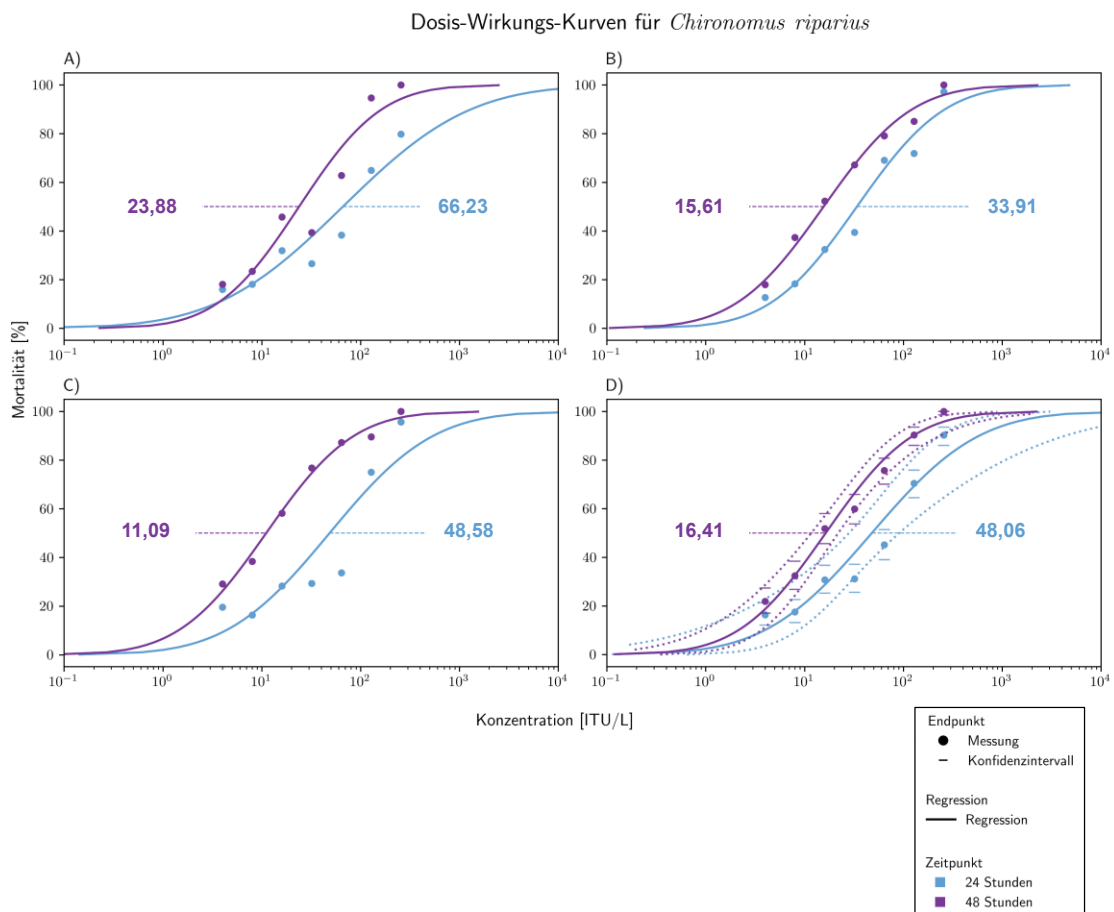


Abbildung 61: Mittels Probit-Regression berechnete Dosis-Wirkungs-Beziehung aller Versuchsreihen für die Art *Chironomus riparius*, nach 24 h und 48 h der Exposition mit Bti. A) Versuchsreihe 1, B) Versuchsreihe 2, C) Versuchsreihe 3, D) gepoolter Datensatz der Versuchsreihe 1 bis 3 mit eingezeichneten Konfidenzintervallen

Insgesamt habe ich drei Versuchsreihen (Abbildung 61) mit zusammen acht technischen Wiederholungen pro Konzentration durchgeführt. Die Mortalität aller Kontrollgruppen lag jeweils unter 15 %, und alle abiotischen Werte lagen innerhalb der OECD-Vorgaben, sodass alle Versuche als valide eingestuft werden konnten. Der Fisher-Freeman-Halton-Test ergab, dass die gemessenen Mortalitäten der technischen Wiederholungen einer Konzentration innerhalb der Replikate gleich waren (Freeman und Halton, 1951). Für *Chironomus riparius* wurde für die gepoolten Daten eine mittlere akute Effektkonzentration $LC_{50, 48h}$ von 16,4 ITU/L ermittelt. Die einzelnen Versuchsreihen 1 bis 3 wiesen mittlere Effektkonzentrationen $LC_{50, 48h}$ im Bereich von 15,6 ITU/L Bti bis 23,9 ITU/L Bti auf. Der $LC_{90, 48h}$ -Wert des gepoolten Datensatz lag bei 125,7 ITU/L Bti. Weitere Details können der Tabelle im Anhang 19 entnommen werden.

6.3.1.2 *Chironomus dorsalis*

Mit *Chironomus dorsalis* habe ich zwei Versuchsreihen (Abbildung 62) mit insgesamt sieben technischen Wiederholungen pro Konzentration durchgeführt. Die Mortalität aller Kontrollgruppen lag jeweils unter 15 % und alle abiotischen Werte lagen innerhalb der OECD-Vorgaben, sodass alle Versuche als valide eingestuft wurden. Der Fisher-Freeman-Halton-Test ergab, dass die gemessenen Mortalitäten der technischen Wiederholungen einer Konzentration innerhalb der Replikate gleich waren (Freeman und Halton, 1951). Für *Chironomus dorsalis* wurde für die gepoolten Daten eine mittlere akute Effektkonzentration von 8,7 ITU/L ermittelt. Für die einzelne Versuchsreihe 1 ergab sich eine mittlere Effektkonzentration $LC_{50, 48h}$ von 12 und für die Versuchsreihe 2 eine mittlere Effektkonzentration $LC_{50, 48h}$ von 7,47 ITU/L Bti. Der $LC_{90, 48h}$ -Wert des gepoolten Datensatz lag bei 72,1 ITU/L Bti (Anhang 20).

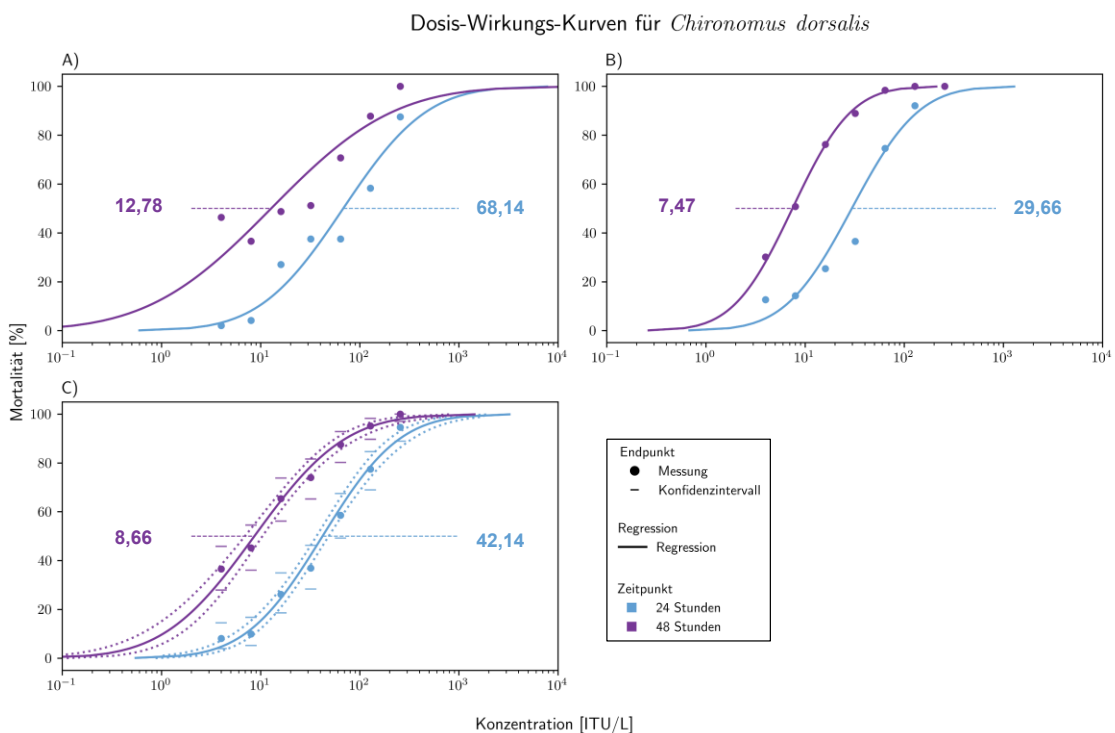


Abbildung 62: Mittels Probit-Regression berechnete Dosis-Wirkungs-Beziehung aller Versuchsreihen für die Art *Chironomus dorsalis*, nach 24 h und 48 h der Exposition mit Bti. A) Versuchsreihe 1, B) Versuchsreihe 2, C) gepoolter Datensatz beider Versuchsreihen mit eingezeichneten Konfidenzintervallen

6.3.1.3 *Chironomus aprilius*

Mit *Chironomus aprilius* habe ich drei Versuchsreihen (Abbildung 63) mit insgesamt 12 technischen Wiederholungen pro Konzentration durchgeführt. Die Mortalität aller Kontrollgruppen lag jeweils unter 15 % und alle abiotischen Werte lagen innerhalb der OECD-Vorgaben, sodass alle Versuche als valide eingestuft wurden. Der Fisher-Freeman-Halton-Test ergab, dass die gemessenen Mortalitäten der technischen Wiederholungen einer Konzentration innerhalb der Replikate mit der Ausnahme der Konzentration von 128 ITU/L in der Versuchsreihe 1 gleich waren (Freeman und Halton, 1951). Für *Chironomus aprilius* wurde für die gepoolten Daten eine mittlere akute Wirkungskonzentration $LC_{50, 48h}$ von 18,36 ITU/L ermittelt. Die einzelnen Versuchsreihen 1 bis 3 wiesen mittlere Effektkonzentrationen im Bereich von 15,4 ITU/L Bti bis 23,6 ITU/L Bti auf. Der $LC_{90, 48h}$ -Wert des gepoolten Datensatz lag bei 136,2 ITU/L Bti (Anhang 21).

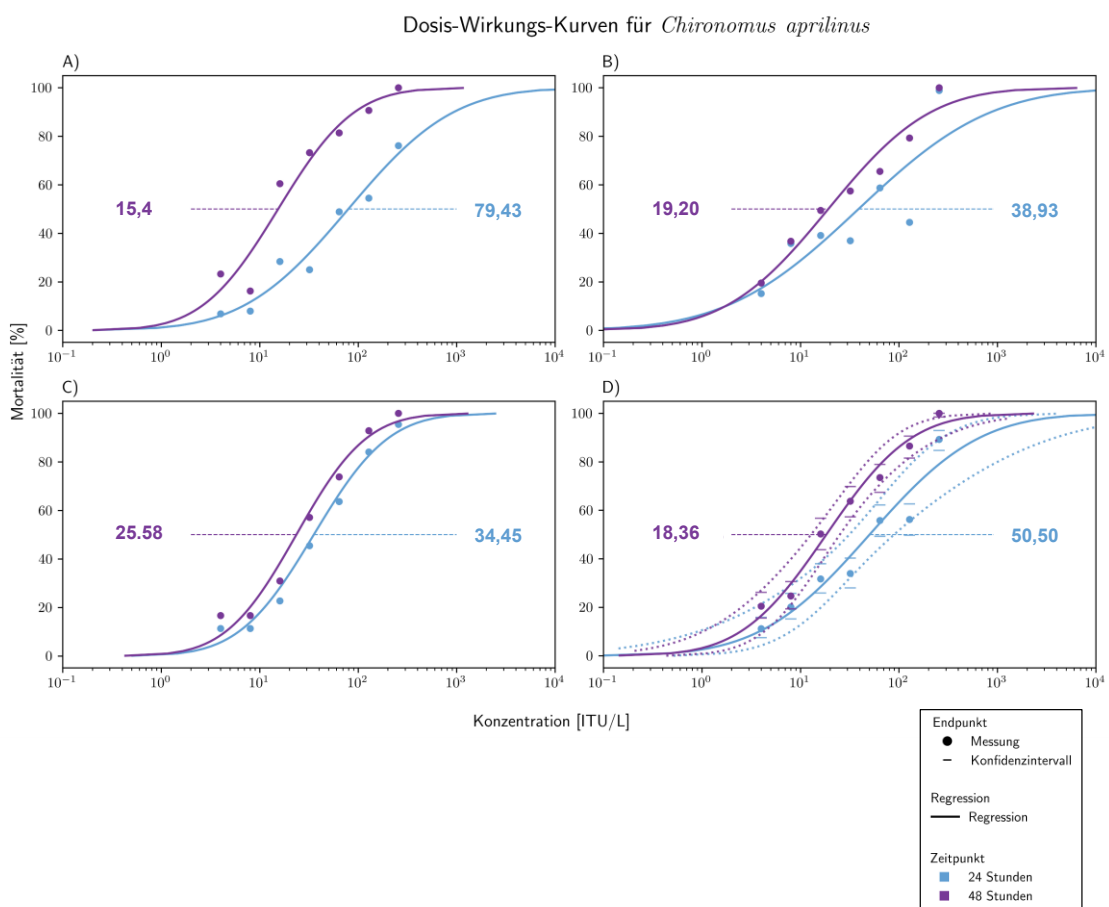


Abbildung 63: Mittels Probit-Regression berechnete Dosis-Wirkungs-Beziehung aller Versuchsreihen für die Art *Chironomus aprilius*, nach 24 h und 48 h der Exposition mit Bti. A) Versuchsreihe 1, B) Versuchsreihe 2, C) Versuchsreihe 3, D) gepoolter Datensatz beider Versuchsreihen mit eingezeichneten Konfidenzintervallen

6.3.2 Risk Characterisation Ratios

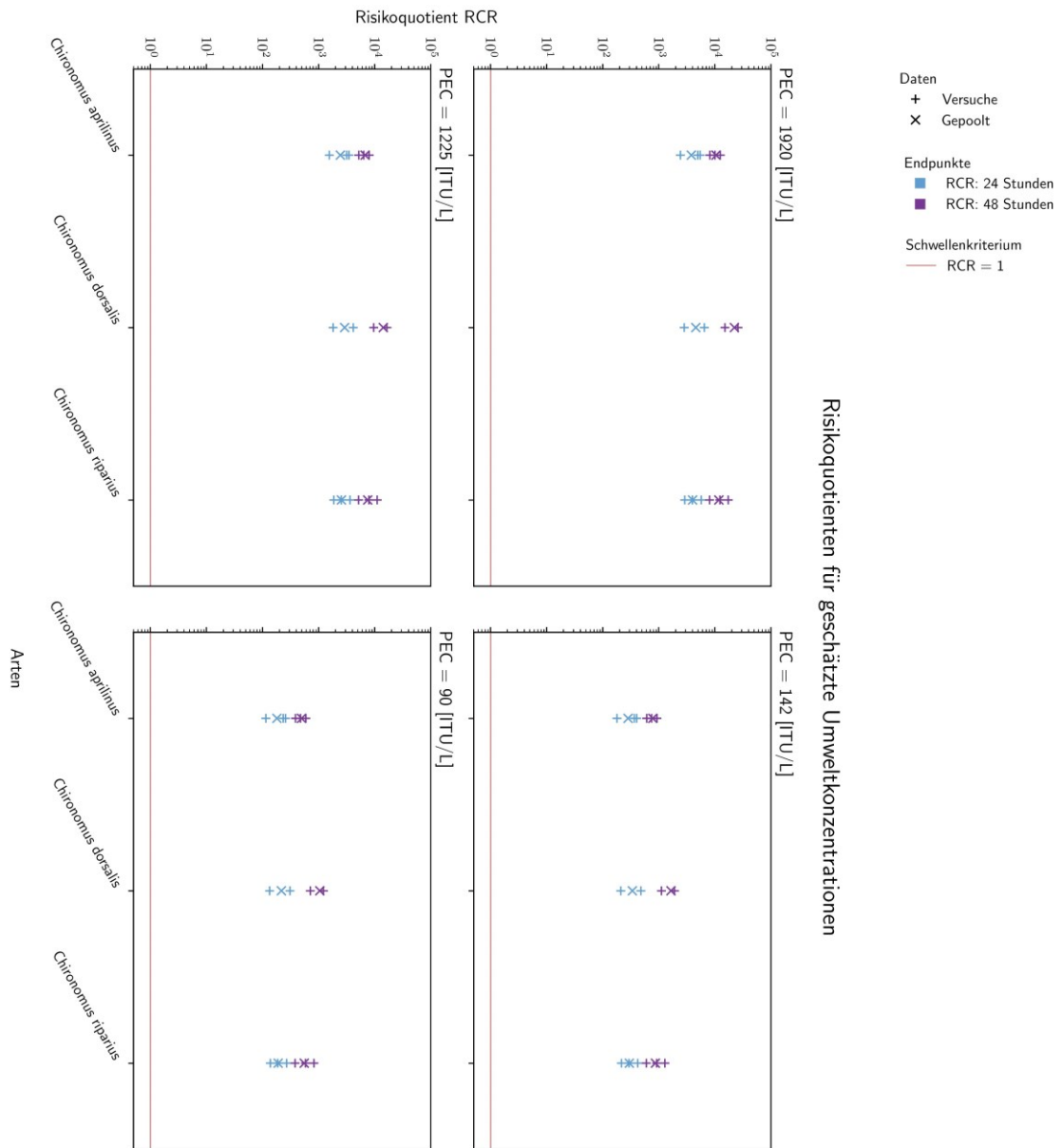


Abbildung 64: Spanne der *Risk Characterisation Ratios* (RCR) der untersuchten Arten basierend auf ermittelten $LC_{50,48h}$ -Werten für eine *Predicted Environment Concentration* (PEC) von 1920 ITU/L (aktuell höchste Applikationsrate der KABS), 142 ITU/L (PEC 2. Grades von 1920 ITU/L, Europäische Union (2010)), 1225 ITU/L (Eigenberechnung der KABS) und 90 ITU/L (PEC 2. Grades von 1225 ITU/L, Europäische Union, (2010)). Die rote Linie (auf der Y-Achse auf Höhe des Wertes 10⁰ eingezeichnet) zeigt den Risikoquotienten von $PEC/PNEC = 1$. Die LC_{50} -Werte der Chironomidenlarven sind als ITU/L Bti angegeben (logarithmische Skala, Y-Achse). Das geometrische Mittel der LC_{50} -Werte, gepoolt aus den verschiedenen Versuchsreihen, ist mit einem „x“, die Ergebnisse der einzelnen Versuchsdurchführungen mit „+“ markiert. Der Zeitpunkt der Mortalitätsbestimmung ist über die Farbe (blau = 24 h, lila = 48 h) codiert.

6.4 Diskussion

Im folgenden Kapitel möchte ich nicht nur die vorgenommenen Modifikationen der OECD TG 235 (Abbildung 60) begründen, sondern auch die Ergebnisse zur Bestimmung der artspezifischen Empfindlichkeit von Chironomiden gegenüber Bti diskutieren. Dazu werde ich zum einen die von mir ermittelten akuten Toxizitätswerte mit anderen Studienergebnissen vergleichen und zum anderen die Bedeutung der ermittelten Toxizitätswerte für eine Bti-Applikation im Freiland diskutieren. Dazu werde ich die Frage nach der zu erwartenden Wirkkonzentration von Bti im Freiland vertiefen und das Risiko für pelagische und benthische Chironomiden bewerten.

6.4.1 Begründung der vorgenommenen Modifikation der OECD TG 235

Für die Durchführung der Bioassays an verschiedenen Chironomidenarten habe ich eine Modifikation der OECD TG 235 (OECD, 2011) vorgenommen. Dies war nötig, da die Chironomidenlarven, die im ersten Larvenstadium pelagisch sind, im Laufe der Expositionszeit (meist im Zeitraum von 24 h bis 48 h) beginnen sessil zu werden und sich je nach artspezifischem Verhalten teilweise an die Expositionsgefäße zu heften (Kapitel 2.1.1). Dies hatte in bisherigen Voruntersuchungen dazu geführt, dass sich die Larven weniger intensiv bewegten und somit lebende Larven als fälschlicherweise immobil eingestuft wurden (Blank, 2023). Aufgrund der in der OECD TG 235 empfohlenen Bechergläser oder Petrischalen als Expositionsgefäße ($v = 50$ ml bis 100 ml) kann es außerdem zu falsch negativen (d. h. immobilen) Diagnosen kommen, da die Larven im dreidimensionalen Raum des Bechers weder mit bloßem Auge noch mithilfe eines Stereomikroskops eindeutig als beweglich oder immobil klassifiziert werden können. Bei einem Transfer oder mechanischen Reizung der Larven zur Endpunktbestimmung, kann es zur Schädigung der Larven und somit zu verfälschten Ergebnissen kommen.

Diese Fehlerquelle wurde bereits von anderen Autoren diskutiert: So beschreibt Treverrow (1985), dass seine Bioassays mit Erstlarven der Art *Chironomus tepperi* daran scheiterten, dass die Mortalität der Kontrollgruppen zu hoch war, um die Tests als valide einstufen zu können. Als möglichen Grund nannte er physiologische Beeinträchtigungen durch mechanische Verletzungen der Larven bei der Endpunktbestimmung. Hohe Mortalitätsraten in den Kontrollgruppen wurden auch in anderen Studien beobachtet. So wurden über 13 % aller Versuchsreihen von Kästel et al. (2017) aufgrund zu hoher Mortalitätsraten in der Kontrollgruppe als ungültig eingestuft. Blank (2023) musste in der vorliegenden Vorstudie sogar 24 % seiner Versuchsreihen wegen zu hoher Mortalität in der Kontrollgruppe verwerfen.

Eine weitere Schwierigkeit der OECD TG 235 liegt in der subjektiven Interpretation der Endpunktbestimmung und der vorgegeben Richtlinie. So interpretierten beispielsweise Kästel et al. (2017) und Bordalo et al. (2020) die Vorgaben der OECD TG 235 zur Endpunktbestimmung unterschiedlich. Während Kästel et al. (2017) immobile Larven als Individuen interpretierten, die sich (trotz aktiver Stimulation) nicht bewegten („*did not move*“), galten bei Bordalo et al. (2020) Larven erst dann als immobil, wenn sie trotz aktiver Stimulation keine Reaktion zeigten („*failed to show any response*“).

6.4.2 Vorteile der Modifikation der OECD TG 235

Ziel der durchgeführten Modifizierung der OECD TG 235 war es daher, ein einheitlicheres, einfacheres und transparenteres Versuchsdesign für die aktuelle Mortalitätsbestimmung von verschiedenen Chironomidenarten zu schaffen. Die modifizierte Methode hat mehrere Vorteile: Durch die Einbeziehung der positiven Phototaxis ermöglicht sie einen einfacheren Transfer der Larven in das spätere Expositionsgefäß, wodurch mechanische Schäden reduziert werden können. Die Verwendung der modifizierten Lichtplatte ermöglicht eine direkte Kontrolle, ob die Larve während des Transfers noch am Leben ist. Dadurch werden falsch negative Ergebnisse reduziert. Außerdem ist die Transfermethode zeitsparend, sodass in den Tests mit höheren Individuenzahlen gearbeitet werden kann, was wiederum die Aussagekraft der Tests erhöht. Der Faktor Zeitersparnis zeigt sich bei der Endpunktbestimmung, die zudem als objektiver und transparenter anzusehen ist als die Verwendung von Expositionsgefäßen mit mehreren Larven (Ibarra und Federici, 1987). Dies liegt daran, dass einzelne Larven in der Well-Titerplatte leicht wiederzufinden sind und ihre Endpunktbestimmung somit einfacher durchzuführen ist. Ist zur Verifizierung der Endpunktbestimmung eine Stimulation der Larven mit einem Wasserstrom erforderlich, so können auch feinste Bewegungen der Larven mit dem Stereomikroskop erkannt werden. Dies ist im größeren Volumen der Bechergläser nicht in gleicher Qualität möglich. Darüber hinaus ist eine Dokumentation der Ergebnisse durch eine Filmaufnahme mithilfe einer am Stereomikroskop angebrachten Kamera ohne größeren Aufwand möglich. Dies hat den positiven Effekt, dass eine mögliche „subjektive Interpretation“ der Endpunkte reduziert werden kann. Das kann insbesondere dann erforderlich sein, wenn nach den Standards der *good-lab-practice* gearbeitet werden soll, die eine Nachvollziehbarkeit der Untersuchungen durch eine lückenlose Dokumentation verlangt (Oliveira et al., 2004).

Ein weiterer Vorteil der Modifikation ist, dass auch karnivore Chironomidenarten, wie sie in der Unterfamilie *Tanypodinae* vorkommen, untersucht werden können, ohne dass Schäden durch Kannibalismus befürchtet werden müssen. Dazu genügt bereits eine minimale Beschädigung der Larven, um die Testergebnisse zu verfälschen (Blank, 1993).

Hinsichtlich der abiotischen Parameter (Sauerstoff, pH-Wert) wurde kein Nachteil durch die Verwendung von 24-Well-Titerplatten, im Vergleich zu Bechergläsern, festgestellt. Stattdessen könnte es von Vorteil sein den Larven ein kleines, aber ausreichendes Volumen zur Verfügung zu stellen: Denn bei den Bechergläsern besteht hypothetisch die Gefahr der Sedimentation von Bti (Kapitel 2.3.3). Dies hätte zur Folge, dass Larven, die sich nahe der Wassergrenze befinden, geringeren Konzentrationen, während Larven, die sich am Boden des Bechers befinden, jedoch höheren Konzentrationen des Biozids ausgesetzt wären. Es ist davon auszugehen, dass dieser unerwünschte Effekt bei dem in der Modifikation verwendeten Gesamtvolumen von 3,5 ml Testkonzentration weniger stark auftritt.

6.4.3 Akute Toxizität von Bti auf Chironomiden im Vergleich mit anderen Studien

Die von mir vorgenommenen akuten Toxizitätstests zeigen, dass die Erstlarvenstadien aller drei untersuchten Arten (*Chironomus riparius*, *Ch. aprilinus* und *Ch. dorsalis*) sehr empfindlich auf Bti reagieren.

Laut anderen Autoren liegt die akute Toxizität von Bti bei den Erstlarven von *Chironomus riparius* in einem Bereich von $LC_{50, 48h}$ -Werten von 2–21 ITU/L (Bordalo et al., 2020; Blank, 2023; Kästel et al., 2017). In diesen Wertebereich ordnet sich der im Rahmen dieser Studie erhobene, $LC_{50, 48h}$ -Wert von 16,41 ITU/L ideal ein.

Für die Erstlarven der Art *Chironomus dorsalis* ermittelte Blank (2023) einen $LC_{50, 48h}$ -Wert von 69 ITU/L.

Für *Chironomus apralinus* wurden in der Literatur keine Vergleichsdaten gefunden. Daher können hier zum ersten Mal valide Messwerte für diese Vertreter der Chironomiden präsentiert werden.

Es zeigt sich, dass die Arten innerhalb der Gattung *Chironomus* ähnlich empfindlich auf Bti reagieren, was vermutlich an der engen phylogenetischen Verwandtschaft zueinander liegt.

6.4.4 Bedeutung der Bioassay-Ergebnisse für die Bti-Applikation im Freiland

Zusammenfassend liegen die $LC_{50, 48h}$ -Werte der drei untersuchten *Chironomus*-Arten unter den verschiedenen PEC-Werten, die von verschiedenen Bekämpfungsprojekten für die Feldanwendung zur Bekämpfung von Stechmücken eingesetzt werden (Tabelle 25). Es liegt somit eine Gefährdung von *Chironomus*-Arten durch die Bti-Applikation innerhalb von Stechmückenbekämpfungen vor.

Bei den PEC-Werten handelt es sich um die vorhergesagte wahrscheinliche Konzentration des applizierten Btis. Dabei können Faktoren wie Mobilität, Abbau, Persistenz oder auch Bioakkumulation von Bti unter Berücksichtigung des abiotischen und biotischen Abbaus einbezogen und mit standardisierten Modellannahmen berechnet werden (Europäische Union, 2010).

Wird auf eine Modellierung zur Bestimmung des PEC-Wertes verzichtet und ausschließlich die per Hubschrauber applizierte Bti-Menge zur Berechnung des PEC-Wertes zugrunde gelegt, so ergibt sich eine Korrelation der Biozidkonzentration in Abhängigkeit von der Wassertiefe, die mit folgender Formel berechnet werden kann:

$$\text{Konzentration des Biozids [ITU/l]} = \frac{\text{Menge des Biozids ITU/10 dm}^2}{\text{Wassertiefe [cm]} \cdot 0,1}$$

Daraus lässt sich ableiten, dass der PEC-Wert in ITU/L für die von der KABS angenommene Wassertiefe von 10 cm identisch ist mit der ausgebrachten Menge in ITU pro Quadratdezimeter. Diese Wassertiefe wird von den KABS zur Berechnung der Ausbringungsmenge pro Flächeneinheit verwendet, da davon ausgegangen wird, dass sich in den obersten 10 cm der Wasseroberfläche die meisten Zielorganismen in Form von Culicidenlarven befinden (Becker, 2003a).

6.4.4.1 Eingesetzte Bti-Konzentration im Freiland

Wie Tabelle 25 zeigt, variieren die ausgebrachten Bti-Mengen in den verschiedenen Stechmücken-Bekämpfungsprojekten zwischen 600 ITU/L und 9900 ITU/L. Nach Becker (2003a) beträgt die Standarddosierung von Bti $0,75 \cdot 10^9$ ITU/ha, was bei der Verwendung von VectoBac WG 750 ITU/L entspricht. Becker (2003) gibt auch an, dass eine Dosierung von $0,5 \cdot 10^9$ ITU/ha, entsprechend 500 ITU/L, ausreichend ist, um Stechmücken in unbelasteten Gewässern wie Überschwemmungsgebieten zu behandeln. In verschmutzten oder dicht bewachsenen Gebieten könnten jedoch höhere Dosierungen erforderlich sein. Umso erstaunlicher erscheint die Diskrepanz zwischen dieser als ausreichend deklarierten Konzentration und den ausgebrachten Konzentrationen der Granulatformulierung mit max. 9900 ITU/L (Fillinger, 1999), die fast einen Faktor von 20 aufweist. Als Gründe für höhere Dosierungen werden ein höheres Larvenalter der Culiciden, die Wasserqualität und ein möglicher Pflanzenbewuchs genannt (Becker, 1997; 2003). Um Aufschluss über die aktuell ausgebrachten Bti-Konzentrationen im KABS-Gebiet zu erhalten, rekonstruierte die KABS für die Jahre 2016, 2019 und 2021 die ausgebrachten Bti-Mengen anhand der

für die Hubschrauberapplikation beauftragten Flächen, der verwendeten Eisgranulatmenge sowie der tatsächlichen Flugbahnen des Hubschraubers des Bekämpfungsgebiet in Südbaden (persönliche Kommunikation KABS). Dabei wurde eine durchschnittliche Ausbringung von 12,76 kg/ha Eisgranulat errechnet, was einer Konzentration von 1225 ITU/L entspricht. Wenn stattdessen als Bezugsgröße für die Berechnung eines Worst-Case-Szenarios die seitens der Naturschutzbehörden maximal genehmigten 20 kg Eisgranulat pro Hektar genommen werden, so ergibt sich eine Konzentration von 1920 ITU/L.

6.4.4.2 Modellierung der erwarteten Wirkkonzentration im Freiland

Bisher ist noch nicht geklärt, welche Menge des applizierten Bti tatsächlich seine Wirkung entfaltet und wie hoch die schlussendliche Konzentration im Freiland ist (Kapitel 2.3). Um diese Wissenslücke zu schließen, hat die Europäische Union (2010) eine Modellierung des PEC-Wertes zweiten Grades im freien Wasserkörper durchgeführt. Hierfür wurde im ersten Schritt die Ausbringungskonzentration in einen Wasserkörper mit Abbaubedingungen ersten Grades, also ohne Berücksichtigung von Adsorptionseffekten, berechnet. Im nächsten Schritt wurden zusätzliche Annahmen getroffen, wie eine Adsorption an einer nicht näher definierten Sedimentschicht mit einer Schüttdichte von 1,5 g/cm³ und einer Schichtdicke von 5 cm (mit dem Adsorptionskoeffizienten $K_{OC} = 1000$). Übernimmt man die dort angeführten Modellannahmen zur Berechnung der seitens der KABS durchschnittlich applizierten Bti-Konzentration, ergibt sich hier ein PEC-Wert ersten Grades von 1920 ITU/L und ein PEC-Wert zweiten Grades von 90 ITU/L für eine einmalige Applikation. Bei mehreren Applikationen im Abstand von 10 Tagen erhöhen sich die PEC-Werte, entsprechend der Häufigkeit und Frequenz der Applikationen.

Für die drei hier untersuchten Chironomidenarten erscheint es irrelevant, welcher der berechneten PEC-Werte für die *Risk Characterisation Ratio* (RCR) verwendet wird, da alle drei Arten selbst beim niedrigsten PEC-Wert von 90 ITU/L in der Wassersäule ein RCR-Ergebnis von mehr als 1 aufweisen. Dies verändert sich auch nicht, wenn der *Assesment Factor* zur PNEC-Modellierung von 100 auf 1000 erhöht wird. Dies bedeutet, dass Bti für alle untersuchten Arten ein Risiko darstellt (ECHA, 2017).

Werden die berechneten RCR-Ergebnisse mit Ergebnissen weiterer Studien verglichen (Abbildung 65), so fügen sich die vorliegenden Bioassay-Ergebnisse in die Gesamtdatenlage ein. Denn hier liegen alle Chironomiden der Gattung *Chironomus* bei einem PEC-Wert von 1225 ITU/L bei der $RCR \geq 1$ und gelten daher als gefährdet. Wird dagegen der anhand des Modells der Europäischen Union (2010) modellierte PEC-Wert von 90 ITU/L als Vergleichsgrundlage herangezogen, wird deutlich, dass weiterhin alle getesteten Erstlarven der Gattung *Chironomus* im Risikobereich liegen. Ältere, weniger empfindlichere, Larvenstadien weisen dagegen ein RCR-Ergebnis von weniger als 1 auf. Ein ähnliches Muster lässt sich auch bei Chironomiden anderer Gattungen, wie den nahe verwandten *Chironominae* (*Tanytarsini* und *Chironomini*), und bei Arten der weiter entfernten Unterfamilien *Orthocladiinae* und *Tanypodinae* erkennen. Es ist jedoch zu beachten, dass das verwendete Testsystem ein *Worst-Case-Szenario* für Chironomidenlarven darstellt und die Ergebnisse von Bioassays nicht direkt auf Freilandbedingungen übertragen werden können (Cao et al., 2012; Charbonneau et al., 1994; Kästel et al., 2017; Niemi et al., 1999).

Tabelle 25: Aufstellung der angegebenen applizierten Bti-Konzentrationen in diversen Stechmückenbekämpfungsprojekten

Autoren	Einsatzort	Formulierung	Potenz Formulierung [ITU/mg]	Ausgebrachte Menge	Ausgebrachte Konzentration (ITU/L)
Becker (1997)	Deutschland	Eisformulierung für Applikation per Hubschrauber (nicht näher bezeichnet)	7000 bis 11000	250 g/ha	1750 bis 2750
Becker (1997)	Deutschland	Puderformulierung (nicht näher bezeichnet)	10000	250 g/ha	2500
Becker (1997)	Deutschland	flüssige Formulierung (nicht näher bezeichnet)	1200	1 L/ha	1200
Becker (1997)	Deutschland	Puderformulierung (nicht näher bezeichnet)	10000	500 g/ha	5000
Becker (1997)	Deutschland	flüssige Formulierung (nicht näher bezeichnet)	1200	2 L/ha	2400
Becker (2003a)	Deutschland	Vectobac WG	3000	0,2 kg/ha	600
Becker (2003a)	Deutschland	12 AS	1200	0,5 bis 1 L	600 bis 1200
Becker (2003a)	Deutschland	Vectobac WG	3000	0,4 kg/ha	1200
Becker (2003a)	Deutschland	12 AS	1200	1 bis 2 L	2400
Becker (2003a)	Deutschland	Technical powder (nicht näher bezeichnet)	8000	0,8 bis 1,65 kg für 2 bis 3 ha $\hat{=}$ 0,26 bis 0,55 kg/ha, bzw. 0,4 bis 0,825 kg/ha	2133 bis 3200, bzw. 4266 bis 6400
Becker (2003a)	Deutschland	IcyPearls, Vectobac WD	2400	$0,75 \cdot 10^9$ ITU/ha	750
Fillinger (1999)	Deutschland	Flüssig, 12AS	1200	2 L/ha	2400
Fillinger (1999)	Deutschland	Puder (nicht näher bezeichnet)	7000 bis 11000	250 g/ha	1750 bis 2750
Fillinger (1999)	Deutschland	Granulat für Applikation per Hubschrauber (nicht näher bezeichnet)	7000 bis 11000	900 g/ha	6300 bis 9900

Autoren	Einsatzort	Formulierung	Potenz Formulierung [ITU/mg]	Ausgebrachte Menge	Ausgebrachte Konzentration (ITU/L)
Fillinger (1999)	Deutschland	Granulat für Handabwurf (nicht näher bezeichnet)	7000 bis 11000	450 g/ha	3150 bis 4950
Hershey et al. (1998)	USA	Vectobac G	200	11,72 kg/ha	2344
Jakob und Poulin (2016)	Frankreich	12 AS	1200	1,2 L/ha	3000
KABS (2020)	Deutschland	Vectobac WG - Eisgranulat	n. d.	10 bis 20 kg/ha	960 bis 1 920
KABS Eigenberechnung (2023)	Deutschland	Vectobac WG - Eisgranulat	n. d.	12,76 kg/ha	1225
Lundström et al. (2010b)	Schweden	Vectobac G	200	13 bis 15 kg/ha	2600 bis 3000
Eingesetzte Bti-Dosierung im <i>In-situ</i> - Versuch „NSG Horren“ (2020 bis 2022)	Deutschland	Vectobac WG	2400	0,6 kg/ha	1440

6.4.4.3 Vergleich von Labor- und Freilanddaten

Um ein besseres Bild der möglichen Umweltauswirkungen von Bti auf Chironomidenlarven zu entwickeln, habe ich die $LC_{50, 48h}$ -Werte des akuten Immobilitätstests mit den Ergebnissen verschiedener Freilandstudien verglichen. Ali et al. (2005) haben für Individuen der Gattung *Chironomus* eine Reduktion von bis zu 80 % bei 6000 ITU/L auch für gemischte Larvenstadien nachgewiesen. Für *Chironomus stigmaterus* (gemischtes Larvenstadium) beobachteten Miura et al. (1980) bereits bei 375 ITU/L eine absolute Mortalität. Rodcharoen et al. (1991) beschreiben eine Reduktion von 32 % für *Chironomus decorus* bei 4400 ITU/L. Ali (1981) fand im Labor für dieselbe Art (drittes und viertes Larvenstadium) einen $LC_{50, 48h}$ von 7659 ITU/L. Stevens et al. (2013) zeigten eine Reduktion von 75 % bei *Chironomus tepperi* bei 1500 ITU/L. Im Labor betrug die $LC_{50, 48h}$ -Werte von Viertlarven der gleichen Art 1794 ITU/L (Stevens et al., 2004) bzw. 1380 ITU/L (Treverrow, 1985). Eine graphische Darstellung aller Literaturergebnisse kann auch dem Kapitel 3 entnommen werden.

Dies verdeutlicht, dass Chironomiden der Gattung *Chironomus* bei den derzeit üblichen Anwendungskonzentrationen im Bereich von 1225 ITU/L bis 1920 ITU/L in allen Larvenstadien von einem Bti-Effekt betroffen sein können. Dies wird besonders deutlich, wenn berücksichtigt wird, dass in den meisten Labor- und Freilandstudien ausschließlich die dritten und vierten Larvenstadien untersucht wurden, die 4- bis 100-mal weniger empfindlicher auf Bti reagieren als die Erstlarven (Fillinger, 1999; Kästel et al., 2017; Morawski, 1983).

Berücksichtigt man, dass die PEC-Werte in der Modellrechnung der Europäischen Union (2010) bei einer achtmaligen Applikation innerhalb von zwei Monaten um mehr als das 32-fache ansteigen, muss davon ausgegangen werden, dass es bei mehreren aufeinander folgenden Applikationen zu einer Schädigung der *Chironomus*-Gattung im Freiwasser kommt. Dies ist auch deshalb hervorzuheben, da die *Chironominae* (mit der Gattung *Chironomus*) als artenreichste Unterfamilie der *Chironomidae* in den Auen gelten (Metzger, 1991; Steinhart, 1999). Metzger (1991)

beschreibt, dass die *Chironominae* in den Auengewässern des Oberrheins mindestens 50 %, zum Teil sogar über 70 % der absoluten Chironomidenzönose stellen.

6.4.4.4 Risiko für benthische Chironomiden

Die Studie der Europäischen Union (2010) berechnete im Sediment bei einmaliger Bti-Applikation von 3000 ITU/L PEC-Werte von 3,7 ITU/g und nach acht Anwendungen (im Abstand von jeweils sieben Tagen) PEC-Werte von 12 ITU/g. Die meisten Chironomidenlarven leben spätestens ab dem dritten Larvenstadium sessil, die Arten der Gattung *Chironomus* benthisch im Sediment. Inwieweit appliziertes Bti auch im Sediment eine Wirkung auf die Larven hat, konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Jedoch liegt eine potenzielle Schädigung nahe und sollte daher in Folgestudien überprüft werden. Damit es zu einer Schädigung kommt, ist die erste Voraussetzung, dass Bti in Bereiche ausgebracht wird, die von benthischen Organismen besiedelt werden, d. h. Bti müsste in temporäre, semipermanente oder permanente Gewässer ausgebracht werden. In rein ephemeren Standorten, die die typischen Massenbrutstätten von multivoltinen Auwaldstechmücken darstellen, scheint dieser Effekt vernachlässigbar zu sein, da sich maximal nur wenige terrestrische Chironomidenarten ansiedeln können. Werden diese ephemeren Standorte von Hochwassern überflutet, so dass eine Stechmückenbekämpfung notwendig wird, ist die Gefahr des Ertrinkens für diese terrestrischen *Orthocladinae* im Gegensatz zur Bti-Applikation das primäre Risiko (Fillinger, 1999).

Die modellierten Daten der Europäischen Union (2010) können auf die benthische Chironomidenpopulation übertragen werden. Die meisten Chironomidenlarven leben in den obersten 5 cm des Benthos (Olafsson, 1992), also genau in der Sedimenttiefe, für die PEC-Werte berechnet wurden (Kapitel 2.3). Schickt man voraus, dass einer einzelnen *Chironomus plumosus*-Larve bis zu 20 cm³ Sedimentvolumen zur Verfügung stehen (Nogeitzig et al., 2007) und sie täglich etwa das Tausendfache ihres Wohnröhrenvolumens an Wasser durch das Sediment pumpen kann (Baranov et al., 2016; Biswas et al., 2009; Nogeitzig et al., 2007; Roskosch et al., 2009; Roskosch et al., 2010; Seibt et al., 2009), könnte dies bedeuten, dass die benthischen Larven zwar nicht akut, aber ggf. trotzdem (sub-)letal geschädigt würden. Diese Annahme wird auch dadurch gestützt, dass bereits in der Studie der Europäischen Union (2010) darauf hingewiesen wurde, dass das schon adsorbierte Bti durch mechanisches Rühren wieder verfügbar gemacht kann. Das bedeutet, dass benthische Organismen dieses Bti durch Bioirritation wieder in der Wassersäule verfügbar machen können, um es dann zu filtrieren (Kapitel 2.3.6). Roskosch et al. (2009) untersuchten die Filtrationsleistung von *Chironomus plumosus* im Müggelsee und konnten für einzelne Larven Durchflussraten von 40 ml/s bestimmen. Hochgerechnet auf den gesamten See konnte dessen gesamtes Wasservolumen innerhalb von 4,6 Tagen einmal von den röhrenbewohnenden Chironomiden filtriert werden, was das Risiko der Bti-Aufnahme auch durch benthische Chironomiden verdeutlicht.

Werden diese Informationen zu einer Risikoabschätzung für (benthische) Chironomiden der Gattung *Chironomus* zusammengefasst, so ergibt sich, dass deren pelagische Erstlarven durch eine Bti-Applikation in freilandüblichen Konzentrationen geschädigt werden können. Aber auch ältere Larvenstadien unterliegen dem Risiko einer (sub-)letalen Schädigung durch Bti, insbesondere wenn diese sich frei im Wasserkörper befinden. Für die benthische Lebensphase der *Chironomus*-Arten kann eine Schädigung derzeit nur vermutet werden. Zur weiteren Klärung des Risikos von Bti für benthische Chironomiden sollten daher neben dem akuten Mortilitätstest weitere Untersuchungen wie zum Beispiel der OECD-Test Nr. 218 (*Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment*) durchgeführt werden (OECD, 2010).

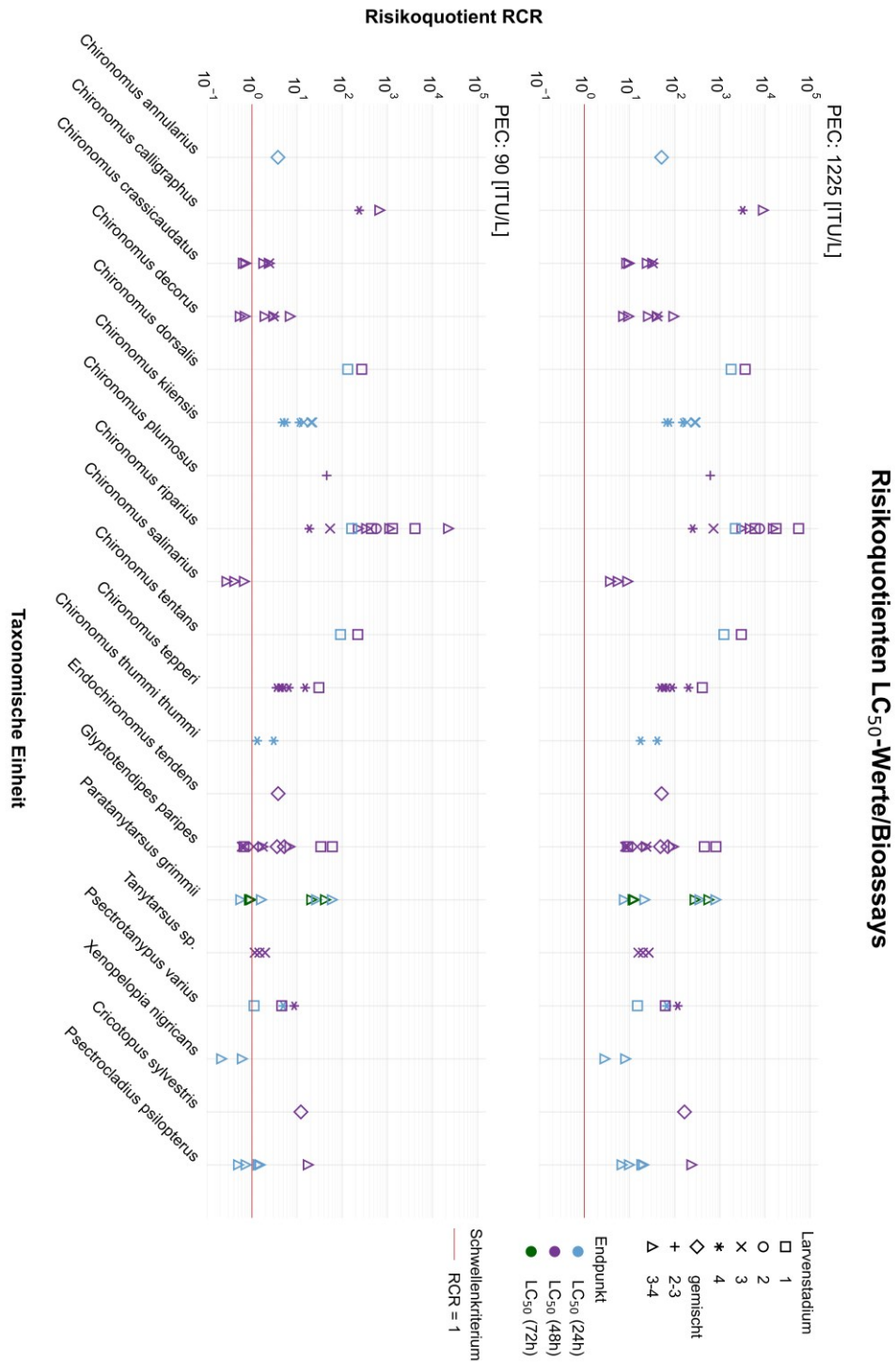


Abbildung 65: Übersicht der LC₅₀-Werte der Chironomidenlarven aus verschiedenen Bioassay-Studien mit zusätzlicher Berechnung der Risk Characterisation Ratios (RCR). Die RCR basiert auf die Predicted Environment Concentration (PEC) von 1225 ITU/L (Eigenberechnung der KABS) und 90 ITU/L (PEC 2. Grades von 1225 ITU/L, Europäische Union 2010). Die rote Linie (auf der Y-Achse auf Höhe des Wertes 10⁰ eingezeichnet) zeigt den Risikoquotienten von PEC/PNEC = 1. Die verwendeten Larvenstadien sind über die unterschiedlichen geometrischen Formen, und der Zeitpunkt der Mortalitätsbestimmung über die Farbe (blau = 24 h, lila = 48 h, grün = 72 h), kodiert. Die jeweiligen Publikationen, aus denen die Daten entnommen wurden, sind in tabellarischer Form im Anhang 3 aufgeführt. Die Artnamen sind entsprechend der Originalliteratur angegeben. Es zeigt sich, dass fast alle aufgeführten *Chironomus*-Arten bei den üblichen Freilandkonzentrationen von Bti im Risikobereich liegen. Außerhalb des Risikobereiches liegen nur vereinzelte Dritt- und Viertlarvenstadien, sowie ein einzelnes Ausreißer-Replikat von *Glyptotentipes paripes* (Ali et. al, 1981).

7. Zusammenfassung der Risikofaktoren für die Chironomiden durch Bti-Applikationen und ihr Management in der Praxis

Sowohl die Risikobewertung als auch das Risikomanagement eines Einsatzes des Biozids Bti zur Stechmückenbekämpfung bewegen sich stets im Spannungsfeld zwischen der potenziellen Gefährdung von Chironomiden als Nichtzielorganismen und der ausreichenden Kontrolle der sich in den Rheinauen entwickelnden Stechmückenlarven. Um eine Risikocharakterisierung und -bewertung des Biozids vornehmen zu können, ist die Kenntnis der ausgebrachten Konzentrationen im jeweiligen Applikationsgebiet sowie der Schwellenwerte für die Auslösung von Effekten grundlegend.

In diesem Kapitel gebe ich einen zusammenfassenden Rückblick auf die im Rahmen dieser Studie erhobenen *In-situ* - sowie *In-vivo*-Daten. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse stelle ich in den Kontext der bisherigen Ergebnisse der Bti-Forschung und grenze sie von noch ungeklärten Fragen ab. Auf diese Weise möchte ich einen ergänzender Beitrag zu dem nach wie vor offenen Forschungsdiskurs leisten.

Zur Bewertung einer möglichen Schädigung, die von einer Bti-Anwendung in den Stechmückenbrutstätten auf dort angesiedelte Zuckmücken ausgeht, sind neben der (akuten) ökotoxikologischen Schädigung, im direkten Anschluss einer Applikation, auch weitere Faktoren wie die Mobilität und Persistenz des Biozids in der Umwelt zu beachten. Dabei ist zu berücksichtigen, dass sich das Risiko für Chironomiden immer multifaktoriell darstellt, denn die verschiedenen Einflussfaktoren auf Chironomiden sind komplex miteinander vernetzt und beeinflussen sich gegenseitig, sodass nicht von einem einzelnen Parameter auf das Gesamtrisiko geschlossen werden kann.

Im Folgenden werden diese Risikoeinflussfaktoren im Einzelnen dargestellt und anschließend in ihrer Gesamtheit diskutiert.

7.1 Zusammenfassung der Risikofaktoren

Im Rahmen der vorliegende Arbeit untersuchte ich das Risiko für Chironomiden durch Bti-Anwendung anhand der Beantwortung von drei Fragestellungen:

- Welche Umweltkonzentration von Bti ist für eine Schädigung von Chironomiden erforderlich?
- Welche Konzentration von Bti kommt bei der Bekämpfung von Stechmücken üblicherweise zum Einsatz?
- An welchen Stellen im Freiland sind Chironomiden durch die Regelausbringung von Bti zur Stechmückenbekämpfung überhaupt gefährdet (räumliches Expositionsrisiko)?

7.1.1 Risiko der Wirkstoffkonzentration

Die Komplexität einer Risikobewertung von Bti im Freiland zeigt sich schon bei der Einschätzung der tatsächlich wirksamen Freilandkonzentration. Diese lässt sich bis heute nur modellhaft ermitteln. Zwar ist die Ausbringungsmenge des Biozids, bezogen auf die Applikationsfläche, bekannt, die tatsächlich zu erwartende Umweltkonzentration (PEC) kann davon jedoch aufgrund von Wirkungsverlusten (durch abiotische und biotische Umwelteinflüsse) abweichen (Kapitel 2.3 und 6.4.4). Auch die Frage nach der Persistenz oder Verdriftung des Biozids konnte bisher nicht abschließend beantwortet werden.

7.1.1.1 Höhe der wirksamen Umweltkonzentration

Bti wird in der Regel entweder als flüssige (AS), granuliert (G) oder wasserdispergierbare (WG) Formulierung des technischen Produkts Vectobac ausgebracht. Die Ausbringungskonzentration variiert allerdings von Bekämpfungsprojekt zu Bekämpfungsprojekt. So beträgt die durchschnittliche Ausbringungskonzentration der KABS in den Oberrheinauen 1225 ITU/L (bezogen auf die obersten 10 cm eines Wasserkörpers). In anderen Stechmückenbekämpfungsprojekten sind die Ausbringungskonzentrationen zum Teil deutlich höher und liegen zwischen 2000 und 3000 ITU/L (Jakob und Poulin, 2016; Lagadic et al., 2014; Lundström et al., 2010a).

Die applizierte Menge an Bti ist nur dann mit der vorausgesagten Umweltkonzentration (PEC 1. Grades) identisch, wenn keine Abbauprozesse des Biozids berücksichtigt werden. Zur Berechnung einer möglichen Metabolisierung und Verdünnung des Biozids wurde das Modell der Europäischen Union (2010) verwendet. Auf dessen Grundlage wurde für die Anwendungsroutine der KABS eine PEC 2. Grades von 90 ITU/L Bti berechnet. Dieser Wert berücksichtigt die zu erwartenden Wirkungsverluste durch vorhandenes organisches Material (Sediment, Bewuchs etc.) und mögliche Transformations- und Degradationsprozesse des Biozids. Die vorgenommene Modelberechnung ist allerdings nicht generell gültig, sondern muss an jedes einzelne Mückenbekämpfungsszenario angepasst werden, um den varrierenden Einflussfaktoren, wie Wassertiefe, Strömung, Dichte der Zielorganismen, Aufwandsmenge/-methode und der eingesetzten technischen Formulierung des Biozids, Rechnung zu tragen.

7.1.1.2 Die Frage nach (sub-)letalen Bti-Effekten

Im folgenden Abschnitt fasse ich die Ergebnisse meiner *In-vivo*- und *In-situ*-Versuche sowie die Erkenntnisse aus der vorgenommenen Literaturliteraturauswertungen zusammen.

Ergebnisse aus eigenen In-Vivo-Versuchen und der Literaturliteraturauswertung

Um abschätzen zu können, ob die ersten Larvenstadien der Chironomiden durch eine einmalige Bti-Applikation unter Standardbedingungen geschädigt werden, habe ich auf der Basis der berechneten PEC-Werte eine *Risk Characterisation Ratio* vorgenommen (Kapitel 6.3.2).

Dabei wurde deutlich, dass insbesondere das hochsensitive erste Larvenstadium der Chironomiden bereits durch sehr geringe Bti-Konzentrationen geschädigt werden kann. So wurden bei Vertretern der *Chironominae* $LC_{50, 48h}$ -Werte ab < 10 ITU/L Bti gemessen (Kapitel 6.3.1). Das bedeutet, dass diese sehr empfindlich auf eine Bti-Exposition reagieren. Ältere Larven reagieren dagegen 4- bis 100-mal unempfindlicher auf das Biozid (Fillinger, 1999; Kästel et al., 2017; Morawski, 1983).

Es zeigte sich zudem, dass alle im Bioassay-Experiment untersuchten Arten (*Chironomus aprili-nus*, *Chironomus dorsalis* und *Chironomus riparius*) wie auch die Mehrzahl der aus der Literatur entnommenen Arten bei einer zu erwartenden Freilandkonzentration von 90 bis 1225 ITU/L (PEC 2. bzw. 1. Grades der KABS-Konzentration) im Risikobereich liegen (Abbildung 9). Dazu habe ich die Studien nach den dort beschriebenen Wirkungen von Bti auf Chironomiden ausgewertet und in drei Gruppen eingeteilt:

- Freilandstudien
- Labor- und Mesokosmosstudien, in denen jeweils die Abundanzreduktion der Chironomiden nach Applikation einer bestimmten Bti-Konzentration angegeben wurde
- Bioassay-Experimente, in denen Mortalitätswerte erhoben wurden

Hier zeigte sich der Trend, dass viele Chironomidenarten, insbesondere aus der Unterfamilie *Chironominae*, im beschriebenen Konzentrationsbereich durch Bti negativ beeinflusst werden können. Dieser Trend zeigte sich sowohl in den Bioassay- als auch in den Labor-/Mesokosmos-Studien deutlicher als in den Freilandstudien (Kapitel 3).

7.1.1.3 Ergebnisse der eigenen Freilandstudie zur Wirkung von Bti auf Chironomidenlarven

Ich konnte im Rahmen der *In-situ*-Studie mit zweimaliger Bti-Applikation keine nachhaltige Schädigung der Chironomidenpopulation feststellen. Obwohl das Ausbleiben einiger Arten zeitlich mit der Bti-Applikation korrelierte, konnte für keine der untersuchten Arten anhand der Phänologiekurven eine Kausalität bestätigt werden (Kapitel 5.4.6). Sollte es im Rahmen der Stechmückenbekämpfung zu (sub-)letalen Schädigungen gekommen sein, war die Chironomidenpopulation in der Lage, diese zu kompensieren. Es ist daher nach den Erkenntnissen dieser Studie davon auszugehen, dass bei einem umsichtigen und möglichst begrenzten Einsatz von Bti im Freiland keine nachhaltige Schädigung der Chironomidenzönose zu befürchten ist.

7.1.1.4 Die Frage nach einer möglichen Persistenz und Mobilität

Die vertikale Mobilität des Biozids im Wasserkörper wird auch im Modell der Europäischen Union (2010) berücksichtigt, welches für Gewässern mit Sedimentanteil eine vierzehntägige Halbwertszeit von Bti berechnet (Kapitel 2.3).

Nach dem Absinken adsorbieren die im Sediment vorhandenen Tonpartikel das zuvor frei verfügbare Bti, sodass es sich dort teilweise anreichert. Die Bindung gilt als reversibel, sodass bei einer Rücklösung das Bti dem Wasserkörper wieder zur Verfügung stehen kann (Europäische Union, 2010). Inwieweit appliziertes Bti sich im Sediment persistierend akkumuliert und ob es auch dort eine Wirkung auf benthische Larven haben kann, konnte bisher nicht geklärt werden und muss daher in Folgestudien überprüft werden.

Auch über die horizontale Mobilität in lenitischen Bereichen ist bisher wenig bekannt. Im eigenen *In-situ*-Experiment konnte ich jedoch bei zweimaliger Bti-Applikation keine schädigenden Effekte auf Chironomiden durch eine mögliche Verdriftung in die bei Hochwasser angeschlossenen Stillwasserbereiche beobachten (Kapitel 5.4.6). Gezielte Folgeuntersuchungen zur Absicherung der Ergebnisse sind jedoch unerlässlich.

7.1.1.5 Zusammenfassende Betrachtung des Risikos durch die eingesetzte Biozidkonzentration

Die Zusammenschau aller vorgestellten Daten, die sowohl aus eigenen Experimenten als auch aus der Literatur entnommen wurden, zeigt, dass die Exposition von Chironomiden gegenüber Bti-Konzentrationen, wie sie routinemäßig zur Stechmückenbekämpfung eingesetzt werden, rechnerisch Chironomiden, insbesondere ihre frühen Larvenstadien, schädigen könnte. Eine nachhaltige Reduktion der Chironomidenpopulation durch einzelne oder wenige Biozidanwendungen pro Jahr konnte ich jedoch in der eigenen *In-situ*-Studie nicht nachweisen.

7.1.2 Frage des räumlichen Expositionsrisikos

Die beiden von mir durchgeführten Feldstudien haben gezeigt, dass die hydrologischen Bedingungen die Chironomidenpopulation in Auen stark beeinflussen (Kapitel 4.6.3 und 5.4.1.6). Da eine Bti-Applikation grundsätzlich von Hochwassereinflüssen abhängig ist, können die hydrologischen Verhältnisse und eine mögliche Bti-Wirkung als Einflussfaktoren nicht voneinander getrennt betrachtet werden.

Im Rahmen von Larvenuntersuchungen im Freiland konnte ich zeigen, dass bestimmte Chironomidenarten zwar in der Lage sind, Trockenperioden von vier bis maximal sechs Wochen im Boden zu überdauern, dass aber längere Trockenperioden zu einem Populationseinbruch führen (Kapitel 5.4.1.6). Umgekehrt führen längere Wasserstände zur Entwicklung individuen- und artenreicherer Chironomidenpopulationen, wobei die Überflutungsdauer vor allem für länger Wasser führende temporäre oder semipermanente Gewässer entscheidend ist. Werden diese temporären, länger Wasser führenden Flächen mit Bti behandelt, besteht die Gefahr, dass die dort angesiedelten Chironomiden geschädigt werden.

Obwohl die Gewässerdynamik in Auen hochdynamisch ist und die Flächen einer ständigen unvorhersehbaren Sukzession unterliegen, entwickeln sich in abgegrenzten Bereichen Flächen, in denen sich dauerhafte und stabile Chironomidenpopulationen etablieren können. Diese Chironomiden-Massenhabitate können sich unter ungünstigen Umständen mit den meist ephemeren Massenbrutstätten von *Aedes vexans* überschneiden, was dazu führt, dass die dort angesiedelten Chironomiden bei Stechmückenbekämpfungen Bti ausgesetzt sind.

Solche Überlappungszonen finden sich häufig, wenn zum Beispiel verlandende Altarme in angrenzende Röhrichte oder Wiesen übergehen. Dieses flachen, nur kurzfristig überfluteten Röhricht- oder Wiesen-Bereiche ermöglichen eine gute Entwicklung von *Aedes vexans*, während gleichzeitig in den tieferen Bereichen eine ausreichende Wasserführung herrscht, um eine Chironomidenpopulation zu entwickeln.

Weitere Überlappungshabitate finden sich aber auch in kleineren (z. T. druckwassergespeisten) Senken und anderen geomorphologischen Vertiefungen, die zwar flächenmäßig klein, aber hinsichtlich ihrer Chironomidenpopulation sehr produktiv sein können (Kapitel 5.4.1.3). Ein dazugehöriger Habitatstyp sind die semipermanenten Tümpel. Diese sind in der Regel sehr flach und werden bei Hochwasserereignissen so stark überflutet, dass sie zum Teil mit den höher gelegenen ephemeren-temporären Massenbrutstätten der Stechmücken in Verbindung stehen. Dann vereinigen sich die Brutstätten von *Aedes vexans* mit den bereits von Chironomiden besiedelten Gebieten und eine klare Abgrenzung zwischen ihren Habitaten ist nicht mehr möglich. Verschiedene Chironomiden-Larvenstadien treffen dann mit *Aedes-vexans*-Erstlarven zusammen und können bei deren Bekämpfung dem Bti ausgesetzt sein.

Das Vorkommen von Überlappungsbereichen zwischen Culiciden- und Chironomidenhabitaten wurde bereits von Becker (1984) und Fillinger (1999) beschrieben, wobei Letztere eine vorsorgliche Aussparung dieser semipermanenten Standorte aus dem Behandlungsplan fordert.

7.1.2.1 Größe der Überlappungszonen der Chironomiden- und Culicidenhabitate

Bei der Beurteilung des Risikos für Chironomiden durch eine Bti-Anwendung muss auch die Gesamtfläche berücksichtigt werden, auf der Chironomiden diesem Expositionsrisiko ausgesetzt sind. Je größer die Überlappungsbereiche der Lebensräume von Chironomiden und Culiciden sind, desto höher ist das Risiko für die Chironomiden einzuschätzen. Im Oberrheingebiet ist nur ein marginaler Anteil der Zielorganismen-Brutstätten ausreichend lange (mindestens 21 Tage) überflutet, dass sich dort eine dauerhaft stabile Chironomidenpopulation etablieren kann.

Die Ergebnisse meiner *In-situ*-Untersuchung im Naturschutzgebiet Horreninsel zeigen, dass sich jedoch fast 10 % der Gesamt-Chironomidenabundanz des Naturschutzgebietes in eben diesen entsprechend lang überfluteten Habitaten entwickeln konnten. Dies belegt die punktuell hohe Produktivität solcher sehr kleiner Habitats.

Allerdings habe ich die auf die Gesamtfläche bezogen produktivsten Chironomidenpopulationen in der vorliegenden Freilandstudie in permanent aquatischen Bereichen gefunden, die von einer Bti-Anwendung ausgeschlossen werden sollten, wie es im Anwendungsbeispiel der Oberrheinauen grundsätzlich gehandhabt wird. Hier werden allenfalls flach überströmte Randbereiche von Altrheinarmen mit Bti behandelt, wenn zum Beispiel in Röhrichtzonen hohe Culicidendichten auftreten (Kapitel 5.3.1).

7.1.2.2 Artenvielfalt in den Überlappungszonen

Bei der Betrachtung des Risikos für die Chironomidenzönose ist jedoch nicht nur die Produktivität in Bezug auf die Individuen, sondern auch die Zusammensetzung der Arten zu berücksichtigen. Die Ergebnisse meiner beiden Freilanduntersuchungen zeigen, dass die Artenvielfalt sowohl in den temporären als auch in den permanenten Gewässern ähnlich hoch ausfiel.

Eine Ausnahme bildeten lediglich die ephemeren (Tümpel-)Habitats, die überwiegend terrestrische Züge aufwiesen. Sie wiesen im Naturschutzgebiet Horren sowohl weniger als 1 % der Gesamtabundanz als auch der Artenzahl der Chironomiden auf. Hierbei handelt es sich gleichzeitig um Massenbrutstätten von *Aedes vexans*, die regelmäßig bekämpft werden. Aufgrund der geringen Abundanz und Artenzahl der Chironomiden in diesen ephemeren (Tümpel-) Habitats ist jedoch nicht zu erwarten, dass eine Bti-Anwendung die allgemeine Artenvielfalt der Chironomiden an diesen Standorten reduziert.

In den semipermanenten Gewässern konnten dagegen explizite Indikatorarten gefunden werden, die in keinem weiteren Habitat des Naturschutzgebietes dominant nachgewiesen werden konnten.

So zeigten beispielsweise alle dominanten Chironomidenarten der semipermanenten Gewässer ($\geq 5\%$ der Gesamtabundanz) eine Anpassung an temporäre Lebensräume. Unter den Arten, die dominant in den semipermanenten Gewässern vorkamen, waren sowohl ein Vertreter der *Chironominae* (*Chironomus-annularis*-Aggregat) als auch einer der *Tanypodinae* (*Psectrotanypus varius*) durch eine hohe Besiedlungsgeschwindigkeit an temporäre bis semipermanente Gewässer angepasst. Die beide als Pionierarten bekannten *Chironomus pseudothummi* und *Chironomus tentans* konnten zudem sogar rein exklusiv nach einem völligen Trockenfallen nachgewiesen werden. In allen anderen Habitats fehlten sie, oder konnten nur durch Einzelfunde bestätigt werden.

Dies zeigt, wie wichtig und schützenswert die semipermanenten Gewässer als Lebensraum für bestimmte Chironomidenarten sind, da diese Arten den temporären bis semipermanenten Charakter ihrer Lebensräume bevorzugen oder gar auf diese angewiesen sind (Kapitel 5.3).

7.2 Risikomanagement

Im Anschluss an die Beschreibung des Gefährdungspotenzials für Chironomiden im Rahmen einer Bti-Anwendung stellt sich die Frage, mit welchen Maßnahmen das Risiko für die Chironomidenpopulationen bestmöglich reduziert werden kann.

7.2.1 Risikobeherrschung in Bezug auf Konzentration und Verwendung des eingesetzten Biozids

Hinsichtlich der eingesetzten Bti-Konzentration wäre es sinnvoll, diese so weit wie möglich zu reduzieren und damit die Risiken für Nichtzielorganismen und insbesondere die Chironomiden zu minimieren. So konnten sowohl Becker (2003a) als auch Lagadic et al. (2014) zeigen, dass die von ihnen als üblich identifizierte Ausbringmenge von Bti ohne Wirkungsverlust gegenüber Culiciden reduziert werden kann.

Auch die Ausbringungstechnik kann dazu beitragen, das Gefährdungspotenzial zu reduzieren. Denn die großflächige Ausbringung per Hubschrauber sorgt zwar für eine gleichmäßige Verteilung des Biozids auf den behandelten Flächen, erschwert aber die Aussparung kleinräumiger Chironomidenhabitats, wie zum Beispiel semipermanenter Tümpel, die in der Flugbahn liegen. Hier könnten stattdessen Drohnen eingesetzt werden, die das Bti gezielter in fein strukturierte und vernetzte Lebensräume ausbringen können. Wird Bti manuell ausgebracht, ist besonders auf die genaue Dosierung zu achten, da das Biozid bei dieser Methode zwar sehr kleinräumig ausgebracht werden kann, dafür allerdings die Ausbringkonzentration weniger transparent ist als bei luftgestützten Applikationsmethoden.

Mehrfachapplikationen des Biozids, wie sie zum Beispiel nach kurz aufeinander folgenden und immer höheren Hochwasserereignissen notwendig werden können, sollten möglichst vermieden werden, da sie zu höheren Bti-Konzentrationen im Wasserkörper führen könnten. Die Halbwertszeit von Bti im Freiland beträgt laut Europäischer Union (2010) 14 Tage (Kapitel 2.3.3), sodass es bei weiteren Anwendungen zu einer Akkumulation und damit zu einem erhöhten Risiko für Chironomiden kommen könnte. Diesem Umstand wurde zwar bereits durch die Festlegung von formulierungsspezifischen Wartezeiten in den Zulassungsbescheiden der Biozide durch die europäische Zulassungsbehörde Rechnung getragen. Um eine unbeabsichtigte Schädigung von Chironomiden präventiv auszuschließen, wäre es jedoch sinnvoll, den Mindestabstand zwischen zwei Anwendungszyklen von bisher zehn Tagen auf mindestens 14, besser 21 Tage, zu verlängern, um Akkumulationseffekte möglichst gering zu halten.

Darüber hinaus wäre es wünschenswert, die Bti-Formulierungen so zu modifizieren, dass der Abbau des Biozids im Freiland schneller erfolgt, um das Restrisiko einer Anreicherung und Persistenz im Wasser weiter zu minimieren. Dies gilt auch für die Herstellung des in den Oberrheinauen häufig eingesetzten Eisgranulats: Durch eine Optimierung der Korngröße könnte eine gleichmäßigere Verteilung des Materials auf der Wasseroberfläche gewährleistet und ein zu schnelles Absinken beim Schmelzen des Eisgranulats verhindert werden.

Darüber hinaus sollte an der Entwicklung weiterer alternativer Wirkstoffe zur Bekämpfung von Culiciden, die beispielsweise auf RNA-Interferenz basieren könnten, geforscht werden (López et al., 2019; Müller et al., 2023; Stewart et al., 2023). Wenn es gelänge, noch zielgerichtetere, spezifischere Wirkstoffe herzustellen, die ausschließlich die Zielorganismen treffen, bestünde kein Risiko mehr für Chironomiden und andere Nichtzielorganismen.

7.2.2 Verringerung des räumlichen Expositionsrisikos

Soll eine mögliche (sub-)letale Schädigung von Chironomiden präventiv ausgeschlossen werden, sind zunächst die semipermanenten Gewässer innerhalb der Massenvermehrungsgebiete von *Aedes vexans* zu kartieren. Denn während in den rein ephemeren Überschwemmungsflächen, den hauptsächlichlichen Massenvermehrungsstätten von *Aedes vexans*, aufgrund der geringen Individuen- und Artenzahlen der Chironomiden keine nachhaltige Schädigung ihrer Populationen durch eine Bti-Anwendung zu befürchten ist, befinden sich in den länger Wasser führenden temporären und semipermanenten Tümpeln spezifische und etablierte Chironomidenpopulationen. Da diese kleinteiligen Flächen oft nicht einmal durch eine Feinkartierung mithilfe von Geoinformationssystemen erfasst werden können, wäre eine regelmäßige Begehung der Behandlungsflächen vorteilhaft, um im Austausch mit den dort tätigen Anwendern festzustellen, wo im oder angrenzend an das Behandlungsgebiet mögliche Chironomidenhabitate vorhanden sind.

Von großem Interesse wird in Zukunft auch sein, wie hoch der Anteil der Überlappungsflächen, die von einer nicht intendierten Bekämpfung betroffen sein könnten, an der Gesamtfläche der genehmigten Applikationsflächen ist. Darüber hinaus sollte weiter vertieft werden, welche Bedeutung die Überlappungsbereiche für die ökologische Gesamtbetrachtung der Dipterenzönosen der Auwälder überhaupt haben.

Als nächster Schritt sollte bei einer Feststellung der gesamtökologischen Relevanz dieser Überlappungszonen (bzw. bei einer Unsicherheit diesbezüglich) die Möglichkeit geprüft werden, semipermanente Lebensräume der Chironomiden aus dem Behandlungsplan auszuschließen. An manchen Brutstätten der Culiciden ist es jedoch praktisch unmöglich, diese Lebensräume von der Anwendung auszusparen, und zwar immer dann, wenn zum Beispiel eine Helikopterbekämpfung zum Schutz der ornithologischen Fauna vorgeschrieben ist, die Chironomidenhabitate aber gleichzeitig innerhalb des Einsatzgebietes des Helikopters sehr kleinräumig verstreut liegen. Eine aktive Aussparung von sehr kleinen Flächen ist mit dem Helikoptereinsatz technisch kaum möglich. Sinnvoller wäre auch hier der Einsatz von Drohnen, da diese für eine kleinräumige Anwendung aus der Luft gezielter gesteuert werden können. In den nicht aussparbaren Überlappungszonen wäre zum Beispiel zu prüfen, ob es sinnvoll sein könnte, die vorgeschriebenen Schwellenwerte der Culicidenlarvendichte weiter anzuheben, sodass eine Bti-Applikation nur noch bei außergewöhnlich hohem Culicidenbesatz erfolgen dürfte.

7.2.3 Risikominimierung durch Schließen von Wissenslücken

Das Schließen von Wissenslücken sollte auf zwei Ebenen betrachtet werden. Zum einen könnte das Risiko für Chironomiden als Nichtzielorganismen der Stechmückenbekämpfung reduziert werden, indem sichergestellt wird, dass die Anwender/innen des Biozids ausführliche Natur- und Artenschutzschulungen erhalten. Diese sollten thematisch sowohl die Artenzusammensetzung der Chironomiden mit ihren jeweiligen Habitatansprüchen als auch die spezifische Kartierung möglicher (Überlappungs-)Habitate behandeln. Dies ist besonders wichtig, wenn Bti in diesen Überlappungsbereichen manuell ausgebracht wird. Denn hier wäre es besonders wünschenswert, dass die Anwender/innen einen sensiblen Blick gegenüber den möglichen negativen Konsequenzen einer Überdosierung entwickeln.

Aber auch auf wissenschaftlicher Ebene ist es wichtig, noch bestehende Wissenslücken zu schließen, um ein umfassendes Bild der hochkomplexen ökologischen Zusammenhänge in Auen zu erhalten. Denn trotz zahlreicher Untersuchungen und Studien ist es bis heute nicht gelungen, den Forschungsdiskurs zur Umweltverträglichkeit von Bti endgültig abzuschließen.

Es wäre daher sehr wünschenswert, wenn die folgenden weiterführenden Fragen in Zukunft experimentell untersucht würden:

Konzentration und Metabolisierung von Bti im Freiland

- Wie verhält sich Bti unter verschiedenen Freilandbedingungen im Wasserkörper? Welche Verdünnungs- und Transformationsprozesse finden pelagisch statt?
- Wie verhält sich Bti im Sediment? Kommt es hier zu Transformationsprozessen und wie hoch ist die (ggf. reversible) Akkumulationsrate?
- Welche potenziellen negativen Effekte ergeben sich für benthische Chironomiden?

Zur Beantwortung dieser Fragen wäre es notwendig, zuverlässige chemische Nachweismethoden zur Bestimmung der Bti-Konzentration zu entwickeln. Erst auf dieser Basis wäre es möglich, die bisherigen Modellberechnungen auch im Freiland zu evaluieren. Darüber hinaus sollten weitere gezielte Bioassays durchgeführt werden. Denkbar wäre hier beispielsweise die Analyse von Wasserproben aus verschiedenen Tiefen eines mit Bti behandelten Gewässers, um sowohl die räumliche als auch die zeitliche Wirksamkeit des Biozids im Freiland eingehender zu untersuchen.

Auswirkungen von Bti auf die Abundanz und Artenzusammensetzung von Chironomiden

- Gibt es Unterschiede in der Artenvielfalt zwischen Gebieten mit und ohne Bti-Anwendung?
- Werden mögliche Bti-Effekte durch natürliche ökologische Schwankungen und Einflussfaktoren überlagert?
- Wie unterschiedlich reagieren verschiedene Chironomidenarten auf Bti?

Um mögliche Effekte einer Bti-Anwendung auf Chironomiden genauer zu untersuchen, wäre es wichtig, sowohl behandelte als auch stets unbehandelte Gebiete (Tabuzonen) langfristig (mindestens über ein Jahrzehnt) hinsichtlich ihrer Chironomidenzönose zu untersuchen. Um die Datelage darüber hinaus zu verbreitern, sollten sowohl *In-vivo*- als auch *In-situ*-Untersuchungen mit verschiedenen Chironomidenarten bezüglich lang- und kurzfristiger Auswirkungen von Bti-Anwendung vorgenommen werden.

Ökologische Bedeutung der semipermanenten Gewässer in den Behandlungsflächen für die Chironomidenzönose

- Wie groß sind die Flächen der semipermanenten Chironomidenhabitate im Verhältnis zur Gesamt-Applikationsfläche und gibt es alternative Ausgleichshabitate?
- Welchen Einfluss haben Hochwasserereignisse auf die Chironomiden der semipermanenten Gewässer?

Um die ökologische Bedeutung der semipermanenten Gewässer für die Chironomidenzönose abschätzen zu können, wäre es wünschenswert, diese Habitate im Bekämpfungsgebiet großflächig und kleinmaschig zu kartieren und auf ihre Chironomidenproduktivität hin zu überprüfen. Denn während im Rahmen der vorliegenden Arbeit bereits praxisnahe Erkenntnisse aus *In-situ*-Untersuchungen in drei Naturschutzgebieten des Oberrheingebietes gewonnen werden konnten, könnten noch großräumigere Betrachtungen helfen, das potenzielle Gesamtrisiko unter Berücksichtigung diverser variierender Standortfaktoren besser einzuordnen.

Bibliographic

- Abbott, W. S. (1925). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265–267.
- Alberdi, A., Aizpurua, O., Bohmann, K., Gopalakrishnan, S., Lynggaard, C., Nielsen, M., Gilbert & M. T. P. (2019). Promises and pitfalls of using high-throughput sequencing for diet analysis. *Molecular Ecology Resources* 19, 327–348.
- Alberdi, A., Aizpurua, O., Gilbert, M. T. P. & Bohmann, K. (2018). Scrutinizing key steps for reliable metabarcoding of environmental samples. *Methods in Ecology and Evolution* 9, 134–147.
- Ali, A. (1981). *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* (ABG-6108) against chironomids and some nontarget aquatic invertebrates. *Journal of Invertebrate Pathology* 38, 264–272.
- Ali, A., Baggs, R. D. & Stewart, J. P. (1981). Susceptibility of Some Florida Chironomids and Mosquitoes to Various Formulations of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis*. *Journal of Economic Entomology* 74, 672–677
- Ali, A., Lobinske, R. & Leckel, R. (2005). Field assessment of larvicidal activity of a new granular formulation (VBC-60032) of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* against Chironomidae (Diptera) in man-made ponds. *Biologia (Lahore, Pakistan)* 51, 121–131.
- Ali, A., Lobinske, R. J., Leckel, R. J., Carandang, N. & Mazumdar, A. (2008). Population Survey and Control of Chironomidae (diptera) in Wetlands in Northeast Florida, USA. *Florida Entomologist* 91, 446–452.
- Ali, A., Majori, G., Ceretti, G., D'Andrea, F., Scattolin, M. & Ferrarese, U. (1985). A chironomid (Diptera: Chironomidae) midge population study and laboratory evaluation of larvicides against midges inhabiting the lagoon of Venice, Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association* 1, 63–68.
- Ali, A., Nayar, J. K. & Xue, R. D. (1995). Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida laboratory population of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 11, 72–76.
- Allgeier, S., Friedrich, A. & Brühl, C. A. (2019a). Mosquito control based on *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) interrupts artificial wetland food chains. *Sci Total Environ* 686, 1173–1184.
- Allgeier, S., Kästel, A. & Brühl, C. A. (2019b). Adverse effects of mosquito control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Reduced chironomid abundances in mesocosm, semi-field and field studies. *Ecotoxicol Environ Saf* 169, 786–796.
- Amend, A. S., Seifert, K. A. & Bruns, T. D. (2010). Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: Does read abundance count? *Molecular ecology* 19, 5555–5565.
- Antczak, K. A. & Beaudry, M. C. (2018). Assemblages of practice. A conceptual framework for exploring human–thing relations in archaeology. *Archaeological Dialogues* 26, 87–110.
- Armitage, P. D., Pinder, L. & Cranston, P. (2012). The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midge. *Journal of Animal Ecology*, 64, 667.
- Astrin, J., Stüben, P., Zfmk, A., Forschungsmuseum, Z. & Koenig, A. (2008). Phylogeny in cryptic weevils: molecules, morphology and new genera of western Palaearctic Cryptorhynchinae (Coleoptera: Curculionidae). *Invertebrate Systematics* 22, 503–522.

- Baktina, V. (1980). Life cycles and production of mass species of Chironomids in fattening ponds. *Biologica* 12, 13–20.
- Baloğlu, B., Clews, E. & Meier, R. (2018). NGS barcoding reveals high resistance of a hyper-diverse chironomid (Diptera) swamp fauna against invasion from adjacent freshwater reservoirs. *Frontiers in Zoology*, 15:31.
- Baranov, V., Lewandowski, J., Romeijn, P., Singer, G. & Krause, S. (2016). Effects of bioirrigation of non-biting midges (Diptera: Chironomidae) on lake sediment respiration. *Scientific Reports* 6:27329.
- Barnes, L. E. (1983). The colonization of ball-clay ponds by macroinvertebrates and macrophytes. *Freshwater Biology* 13, 561–578.
- Batra, C. P., Mittal, P. K. & Adak, T. (2000). Control of aedes aegypti breeding in desert coolers and tires by use of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulation. *Journal of the American Mosquito Control Association* 16, 321–323.
- Batzer, D. P. & Wissinger, S. A. (1996). Ecology of insect communities in nontidal wetlands. *Annu Rev Entomol* 41, 75–100.
- BAuA (2018). Zusammenfassung der Eigenschaften des Biozidproduktes VectoBac WG. Zulassungsnummer DE-0011520-18. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Dortmund.
- Baverstock, P. & Moritz, C. (1996). Project design. *Molecular systematics* 2, 17–27.
- Becker, C. (1995). Ein Beitrag zur Zuckmückenfauna des Rheins (Diptera: Chironomidae, Universität Bonn, Bonn.
- Becker, N. (1984). Ökologie und Biologie der Culicinae in Südwest-Deutschland, PhD Thesis, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Heidelberg.
- Becker, N. (1997). Microbial control of mosquitoes: management of the upper rhine mosquito population as a model programme. *Parasitol Today* 13, 485–487.
- Becker, N. (2002). Sterilization of *Bacillus thuringiensis israelensis* Products by gamma radiation. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18, 57–62.
- Becker, N. (2003a). Ice granules containing endotoxins of microbial control agents for the control of mosquito larvae – a new application technique. *Journal of the American Mosquito Control Association* 19, 63–66.
- Becker, N. (2003b). *Mosquitoes and their control*. Boston.
- Becker, N. (2006). Biological control of mosquitoes: management of the upper Rhine mosquito population as a model programme. In: Eilenberg, J., Hokkanen, H. (eds). *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. *Progress in Biological Control*, vol 2. Dordrecht.
- Becker, N. (2010). The Rhine Larviciding Program and Its Application to Vector Control. In: Atkinson, P.W. (eds). *Vector Biology, Ecology and Control*. Dordrecht.
- Becker, N., Arnold, A., Berlinghof, H., Kinzig, M., Navas, J., Reichle, D., Riffel, M., Steuerwald, F. & Yazdanian, J. (1996a). Brutstätten-Kartierung und Strategie zur biologischen Stechmückenbekämpfung in Baden-Württemberg. Ludwigshafen am Rhein.
- Becker, N., Arnold, A., Berlinghof, H., Kinzig, M., Navas, J., Reichle, D., Riffel, M., Steuerwald, F. & Yazdanian, J. (1996b). Brutstätten-Kartierung und Strategie zur biologischen Stechmückenbekämpfung in Rheinland-Pfalz. Ludwigshafen am Rhein.

- Belton, P. (2005). British Columbia Mosquitoes as Vectors of West Nile Virus. In: Handbook of British Columbia Provincial Museum. Victoria.
- Ben-Dov, E. (2014). *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and Its Dipteran-Specific Toxins. *Toxins* 6, 1222 – 1243.
- Ben-Dov, E., Saxena, D., Wang, Q., Manasherob, R., Boussiba, S. & Zaritsky, A. (2003). Ingested particles reduce susceptibility of insect larvae to *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Applied Entomology* 127, 146 – 152.
- Berry, K. J., Kvamme, K. L. & Mielke, P. (1983). Improvements in the permutation test for the spatial analysis of the distribution of artifacts into classes. *American Antiq* 48, 547–553.
- Biever, K. D. (1971). Effect of Diet and Competition in Laboratory Rearing of Chironomid Midges 1,2,3. *Annals of the Entomological Society of America* 64, 1166–1169.
- Biswas, J. K., Rana, S., Bhakta, J. N. & Jana, B. B. (2009). Bioturbation potential of chironomid larvae for the sediment–water phosphorus exchange in simulated pond systems of varied nutrient enrichment. *Ecological Engineering* 35, 1444–1453.
- Blanchart, E., Frenot, Y. & Tréhen, P. (1987). Signification biologique du potentiel hydrique dans la distribution des diptères à larves hydrophiles. *Pedobiologia* 30, 333–344.
- Blank, D. (2023). Einfluss von *Bacillus thuringiensis israelensis* Toxinen auf verschiedene Arten der Chironomidae, Master Thesis, RWTH Aachen. Aachen.
- Blank, M. (1993). Kritische Prüfung von Auswirkungen einer B.t.i.-Applikation auf ausgewählte Nichtziel-Organismen (nontarget-organisms) durch vergleichende Emergenzmessungen mittels Photoelektroden. Ludwigshafen am Rhein.
- Boisvert, M. & Boisvert, J. (2000a). Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Target and Nontarget Organisms: A Review of Laboratory and Field Experiments. *Biocontrol Science and Technology* 10, 517–561.
- Bordalo, M. D., Gravato, C., Beleza, S., Campos, D., Lopes, I. & Pestana, J. L. T. (2020). Lethal and sublethal toxicity assessment of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Beauveria bassiana* based bioinsecticides to the aquatic insect *Chironomus riparius*. *Science of The Total Environment* 698, 134–155.
- Boulton, A. J. & Lake, P. S. (1992). Benthic organic matter and detritivorous macroinvertebrates in two intermittent streams in south-eastern Australia. *Hydrobiologia* 241, 107–118.
- Bourret, A., Nozères, C., Parent, E. & Parent, G. J. (2023). Maximizing the reliability and the number of species assignments in metabarcoding studies using a curated regional library and a public repository. *Metabarcoding and Metagenomics* 7. Bourret, A.,
- Nozères, C., Parent, É. & Parent, G.J. (2022). Maximizing the reliability and the number of species assignments in metabarcoding studies. *bioRxiv*.
- Branch, H. E. (1923). The Life History of *Chironomus cristatus* Fabr. with Descriptions of the Species. *Journal of the New York Entomological Society* 31, 15–30.
- Bravo, A., Gill, S. S. & Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* 49, 423–435.
- Brodersen, K. P., Dall, P. C. & Lindegaard, C. (1998). The fauna in the upper stony littoral of Danish lakes: macroinvertebrates as trophic indicators. *Freshwater Biology* 39, 577–592.

- Brodersen, K. P., Odgaard, B. V., Vestergaard, O. & Anderson, N. J. (2001). Chironomid stratigraphy in the shallow and eutrophic Lake Søbygaard, Denmark: chironomid–macrophyte co-occurrence. *Freshwater Biology* 46, 253–267.
- Brodin, Y., Ejdung, G., Strandberg, J. & Lyrholm, T. (2013). Improving environmental and biodiversity monitoring in the Baltic Sea using DNA barcoding of Chironomidae (Diptera). *Molecular Ecology Resources* 13, 996–1004.
- Brown, A. & Oldham, R. (1984). Chironomidae (Diptera) of rutland water. *Archiv für Hydrobiologie Supplementband Monographische Beiträge* 69, 199–227.
- Brown, M. D., Carter, J., Watson, T. M., Thomas, P., Santaguliana, G., Purdie, D. M. & Kay, B. H. (2001). Evaluation of liquid *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* products for control of Australian *Aedes* arbovirus vectors. *Journal of the American Mosquito Control Association* 17, 8–12.
- Brühl, C. A., Després, L., Frör, O., Patil, C. D., Poulin, B., Tetreau, G. & Allgeier, S. (2020). Environmental and socioeconomic effects of mosquito control in Europe using the biocide *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti). *Sci Total Environ* 724, 137800.
- Buchner, D., Haase, P. & Leese, F. (2021). Wet grinding of invertebrate bulk samples – a scalable and cost-efficient protocol for metabarcoding and metagenomics. *Metabarcoding and Metagenomics* 5, e67533.
- Buck, J. (1965). Hydration and respiration in chironomid larvae. *Journal of Insect Physiology* 11, 1503–1516.
- Burt, E. (1940). A filter-feeding mechanism in a larva of the Chironomidae (Diptera: Nematocera). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A, General Entomology* 15, 10–12.
- Butko, P. (2003). Cytolytic toxin Cyt1A and its mechanism of membrane damage: data and hypotheses. *Appl Environ Microbiol* 69, 2415–2422.
- Cantón, P. E., Zanicthe Reyes, E. Z., Ruiz de Escudero, I., Bravo, A. & Soberón, M. (2011). Binding of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cry4Ba to Cyt1Aa has an important role in synergism. *Peptides* 32, 595–600.
- Cao, C. W., Sun, L. L., Wen, R. R., Li, X. P., Wu, H. Q. & Wang, Z. Y. (2012). Toxicity and affecting factors of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Chironomus kiiensis* larvae. *Journal of insect science* 12, 1–8.
- Caquet, T., Roucaute, M., Le Goff, P., and Lagadic, L. (2011). Effects of repeated field applications of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicol Environ Saf* 74, 1122–130.
- Car, M. & De Moor, F. (1984). The response of Vaal River drift and benthos to *Simulium* (Diptera: Nematocera) control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14). *The Onderstepoort journal of veterinary research* 51, 155–160.
- Carrieri, M., Albieri, A., Angelini, P., Baldacchini, F., Venturelli, C., Zeo, S. M. & Bellini, R. (2011). Surveillance of the chikungunya vector *Aedes albopictus* (Skuse) in Emilia-Romagna (northern Italy): organizational and technical aspects of a large scale monitoring system. *Journal of Vector Ecology* 36, 108–116.
- Čerba, D., Koh, M., Vlaičević, B., Turković Čakalić, I., Milošević, D. & Stojković Piperac, M. (2022). Diversity of Periphytic Chironomidae on Different Substrate Types in a Floodplain Aquatic Ecosystem. *Diversity* 14, 264–279.

- Charbonneau, C. S., Drobney, R. D. & Rabeni, C. F. (1994). Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13, 267–279.
- Cheung, P. V. K. & Hammock, B. D. (1984). Toxin-specific immunoassays in field evaluation of BTI, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Annual Report of Mosquito Control Research*, 53–56.
- Chilcott, C., Pillai, J. & Kalmakoff, J. (1983). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as a biocontrol agent against larvae of Simuliidae (Diptera) in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology* 10, 319–325.
- Chimeno, C., Rulik, B., Manfrin, A., Kalinkat, G., Hölker, F. & Baranov, V. (2023). Facing the infinity: tackling large samples of challenging Chironomidae (Diptera) with an integrative approach. *PeerJ*, 11.
- Clark, J. D., Devisetty, B. N., Krause, S. C., Novak, R. J. & Warrior, P. (2007). A novel method for evaluating the particle distributional behavior of a spray-dried technical concentrate and a water-dispersible granule formulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in an aqueous column. *Journal of the American Mosquito Control Association* 23, 60–65.
- Cock, P. J. A., Antao, T., Chang, J. T., Chapman, B. A., Cox, C. J., Dalke, A., Friedberg, I., Hamelryck, T., Kauff, F., Wilczynski, B. & de Hoon, M. J. L. (2009). Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics* 25, 1422–1423.
- Collinson, N. H., Biggs, J., Corfield, A., Hodson, M. J., Walker, D., Whitfield, M. & Williams, P. J. (1995). Temporary and permanent ponds: An assessment of the effects of drying out on the conservation value of aquatic macroinvertebrate communities. *Biological Conservation* 74, 125–133.
- Colton, L., Biggerstaff, B. J., Johnson, A. & Nasci, R. S. (2005). Quantification of West Nile virus in vector mosquito saliva. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21, 49–53.
- Cox, C. & Surgan, M. (2006). Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environ Health Perspect* 114, 1803–1806.
- Crickmore, N., Zeigler, D. R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J. & Dean, D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* 62, 807–813.
- Cuff, J., Suresh, M., Dopson, M., Hawthorne, B., Howells, T., Kitson, J., Miller, K., Xin, T. & Evans, D. (2023). A roadmap for biomonitoring in the 21st century: Merging methods into metrics via ecological networks. In: *Advances in Ecological Research*, Volume 68, 1–34.
- Danks, H. (2004). The roles of insect cocoon in cold conditions. *European Journal of Entomology* 101, 433–437.
- Danks, H. V. (1971). Overwintering of some north temperate and arctic Chironomidae: II. Chironomid biology. *The Canadian Entomologist* 103, 1875–1910.
- Darling, J. A., Jerde, C. L. & Sepulveda, A. J. (2021). What do you mean by false positive? *Environmental DNA* 3, 879–883.
- Davies, B. R. (1976). The dispersal of Chironomidae larvae: a review. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa* 39, 39–62.

- De Araújo-Coutinho, C. J., Cunha Ade, B., Serra-Freire, N. M. & de Mello, R. P. (2003). Evaluation of the impact of *Bacillus thuringiensis* serovar israelensis and Temephos, used for the control of *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* on the associated entomofauna, Paraty, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98, 697–702.
- De Moor, F. & Car, M. (1986). A field evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis as a biological control agent for *Simulium chutteri* (Diptera:Nematocera) in the middle Orange River. *The Onderstepoort journal of veterinary research* 53, 43–50.
- De Respinis, S., Demarta, A., Patocchi, N., Lüthy, P., Peduzzi, R. & Tonolla, M. (2006). Molecular identification of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis to trace its fate after application as a biological insecticide in wetland ecosystems. *Lett Appl Microbiol* 43, 495–501.
- Dejoux, C., Gibon, F.-M. & Yameogo, L. (1985). Toxicité pour la faune non-cible de quelques insecticides nouveaux utilisés en milieu aquatique tropical / 4 : le *Bacillus thuringiensis* var. israelensis h-14. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale* 18, 31–49.
- Delettre, Y. (1985). Recherches sur les Chironomides à larves édaphiques : Biologie, écologie, mécanismes adaptatifs.- Résumé de Thèse de Doctorat d'Etat. *Bulletin d'Ecologie*, 303–304.
- Delettre, Y. R. (1986). La colonisation de biotopes multiples: une alternative à la résistance in situ aux conditions mésologiques défavorables. Cas de *Limnophyes minimus* (Mg.), diptère Chironomidae à larves édaphiques des landes armoricaines. *Revue d' Ecologie et de Biologie du Sol*, 23, 29–38.
- Delettre, Y. R. (1988). Flux d'évaporation corporelle et résistance à la dessiccation chez les larves de quelques Chironomidae terrestres (Diptera). *Revue d'écologie et de biologie du sol*. 25, 129–138.
- Delettre, Y. R. (1994). Fire Disturbance of a Chironomid (Diptera) Community on Heathlands. *Journal of Applied Ecology* 31, 560–570.
- Derua, Y. A., Kweka, E. J., Kisinza, W. N., Githeko, A. K. & Mosha, F. W. (2019). Bacterial larvicides used for malaria vector control in sub-Saharan Africa: review of their effectiveness and operational feasibility. *Parasites & Vectors* 12, 426.
- Dettinger-Klemm, P.-M. A. (2000). Temporäre Stillgewässer - Charakteristika, Ökologie und Bedeutung für den Naturschutz. In: NUA (eds.). *Nua-Seminarbericht Gewässer ohne Wasser? Ökologie, Bewertung, Management temporärer Gewässer*. 17–43.
- Dettinger-Klemm, P.-M. A. (2003). Chironomids (Diptera, Nematocera) of Temporary Pools - an Ecological Case Study, PhD Thesis, Philipps-Universität Marburg. Marburg/Lahn.
- Dettinger-Klemm, P.-M. A. & Bohle, H. W. (1996). Überlebensstrategien und Faunistik von Chironomiden (Chironomidae, Diptera) temporärer Tümpel. *Limnologica* 28, 403–421.
- Deutscher Wetterdienst (o. D.): Wetter und Klima vor Ort, URL: <https://www.dwd.de/> (Stand:18.03.2024).
- Dister, E. (1980). Geobotanische Untersuchungen in der hessischen Rheinaue als Grundlage für die Naturschutzarbeit. PhD Thesis, Georg-August-Universität zu Göttingen.
- Donnelly, M. J., Simard, F. & Lehmann, T. (2002). Evolutionary studies of malaria vectors. *Trends Parasitol* 18, 75–80.
- Downes, J. A. (1969). The Swarming and Mating Flight of Diptera. *Annual Review of Entomology* 14, 271–298.

- Drake, L. E., Cuff, J. P., Young, R. E., Marchbank, A., Chadwick, E. A. & Symondson, W. O. C. (2022). An assessment of minimum sequence copy thresholds for identifying and reducing the prevalence of artefacts in dietary metabarcoding data. *Methods in Ecology and Evolution* 13, 694–710.
- Duchet, C., Larroque, M., Caquet, T., Franquet, E., Lagneau, C. & Lagadic, L. (2008). Effects of spinosad and *Bacillus thuringiensis israelensis* on a natural population of *Daphnia pulex* in field microcosms. *Chemosphere* 74, 70–77.
- Dudley Williams, D. (2005). Temporary forest pools: can we see the water for the trees? *Wetlands Ecology and Management* 13, 213–233.
- Dufrene, M., and Legendre, P. (1997). Species Assemblages and Indicator Species: The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecological Monographs* 67, 345–366.
- Dupont, C., and Boisvert, J. (1986). Persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar. *Israelensis* toxic activity in the environment and interaction with natural substrates. *Water, Air, and Soil Pollution* 29, 425–438.
- ECHA (2014). Opinion on the application for approval of the active substance: *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, Serotype H14, Strain SA3A, Product type: PT18. Helsinki.
- ECHA (2017). European Chemicals Agency, 2017. Guidance on Biocidal Products Regulation: Volume IV. Environment - Assessment and Evaluation (Parts B+C). Helsinki.
- Edwards, C. A. (1967). Relationships between weights, volumes and numbers of soil animals. In: O. Graff and J. E. Satchell (eds.). *Progress in Soil Biology*, Braunschweig-Völkenrode, Amsterdam, 585–591.
- Ekrem, T., Stur, E. & Hebert, P. D. N. (2010). Females do count: Documenting Chironomidae (Diptera) species diversity using DNA barcoding. *Organisms Diversity & Evolution* 10, 397–408.
- Ekrem, T., Willassen, E. & Stur, E. (2007). A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43, 530–542.
- Elbrecht, V. & Leese, F. (2015). Can DNA-Based Ecosystem Assessments Quantify Species Abundance? Testing Primer Bias and Biomass—Sequence Relationships with an Innovative Metabarcoding Protocol. *PLoS ONE* 10(7).
- Engler-Fritz, S. (1984). *Untersuchungen zur Wirksamkeit von B.t.i. - Präparaten gegen Stechmückenlarven*, Heidelberg.
- Epler, J. H., Ekrem, T. & Cranston, P. (2013). The larvae of the Holarctic Chironomidae - Introduction. In: Andersen, T., Cranston, P.S. & Epler J.H. (eds): *The larvae of Chironomidae (Diptera) of the Holarctic region – Keys and diagnoses*. *Insect Systematics & Evolution, Supplement* 66, 387–577.
- Epp, L. J. (2020). *Assessing the Effect of Bacillus thuringiensis var. israelensis on Nontarget Chironomidae Emergence*. PhD Thesis, University Ottawa, Ottawa.
- EU Kommission (2015). Durchführungsverordnung (EU) 2015/406 der Kommission vom 11. März 2015 zur Genehmigung von *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis*, Serotyp H14, Stamm SA3A als Wirkstoff zur Verwendung in Biozidprodukten der Produktart 18. *Amtsblatt der Europäischen Union L* 67, 12–14.
- Europäische Union (2010). *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* – Strain AM65-52 (PT 18). *Assessment Report* 87, Italien.

- Fabis, R. (1995). Ökotoxikologische Untersuchung der Auswirkung einer *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* – Behandlung (B.t.i.) auf die Larven von *Psectrotanypus varius* (Chironomidae), Diploma Thesis, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg.
- Failla, A. J., Vasquez, A. A., Hudson, P., Fujimoto, M. & Ram, J. L. (2016). Morphological identification and COI barcodes of adult flies help determine species identities of chironomid larvae (Diptera, Chironomidae). *Bulletin of Entomological Research* 106, 34–46.
- Federici, B., Park, H.-W., Bideshi, D., Wirth, M., Johnson, J., Sakano, Y. & Tang, M. (2007). Developing recombinant bacteria for control of mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association* 23, 164–175.
- Fillinger, U. (1999). Faunistische und ökotoxikologische Untersuchungen mit B.t.i. an Dipteren der nördlichen Oberrheinauen unter besonderer Berücksichtigung der Verbreitung und Phänologie einheimischer Zuckmückenarten (Chironomidae), PhD Thesis, Karls-Ruprechts-Universität Heidelberg, Heidelberg.
- Fillinger, U., Knols, B. G. J. & Becker, N. (2003). Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in Western Kenya. *Tropical Medicine & International Health* 8, 37–47.
- Findlay, S., Schoeberl, K. & Wagner, B. (1989). Abundance, Composition, and Dynamics of the Invertebrate Fauna of a Tidal Freshwater Wetland. *Journal of the North American Benthological Society* 8, 140–148.
- Fischer, J. (1974). Experimentelle Beiträge zur Ökologie von *Chironomus* (Diptera). *Oecologia* 16, 73–95.
- Fittkau, E. J. (1962). Die Tanypodinae (Diptera: Chironomidae). (Die Tribus Anatópyini, Macropelopiini und Pentaneurini). *Abh. Larvalsyst. Ins.* 6, 1–453.
- Folmer, O., Black, M., Wr, H., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology* 3, 294–299.
- Förster, T., Creutzburg, F., Anton, E., Weigel, A. & Hartmann, M. (2023). Metabarcoding versus morphologische Identifizierung: der Herausforderung gewachsen? *Entomologische Zeitschrift* 133, 103–116.
- Freeman, G. H. & Halton, J. H. (1951). Note on an exact treatment of contingency, goodness of fit and other problems of significance. *Biometrika* 38, 141–149.
- Fritz, H.-G. (1982) Ökologische und systematische Untersuchungen an Diptera/Nematocera (Insecta) in Überschwemmungsgebieten des nördlichen Oberrheins, PhD Thesis, Technische Universität Darmstadt, Darmstadt.
- Frouz, J. (1994). Influence of soil water regime on the larval development of terrestrial Chironomid *Smitia nudipennis* (Diptera, Chironomidae). *Biologia Roč* 49, 229–234.
- Frouz, J., Lobinske, R. J., Yaqub, A. & Ali, A. (2007). Larval gut pH profile in pestiferous *Chironomus crassicaudatus* and *Glyptotendipes paripes* (Chironomidae: Diptera) in reference to the toxicity potential of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 23, 355–358.
- Frouz, J. & Matěna, J. (2015). Desiccation resistance of Chironomid larvae. *European Journal Of Environmental Sciences* 5, 31–34.

- Frouz, J., Matěna, J. & Ali, A. (2003). Survival strategies of chironomids (Diptera: Chironomidae) living in temporary habitats: A review. *European Journal of Entomology* 100, 459–465.
- Furlan, E. M., Davis, J. & Duncan, R. P. (2020). Identifying error and accurately interpreting environmental DNA metabarcoding results: A case study to detect vertebrates at arid zone waterholes. *Molecular Ecology Resources* 20, 1259–1276.
- Garcia, R., DesRochers, B. & Tozer, W. (1981). Studies on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito larvae and other organisms. *Proc. Calif. Mosq. and Vector Control Assoc.* 49, 25–29.
- Garcia, R., DesRochers, B. & Tozer, W. (1980). Further studies on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito larvae and other organisms. In: *Mosquito Control Research Annual Report* (ed., R.E. Fontaine), Davis, 54–57.
- Gersbacher, W. M. (1937). Development of Stream Bottom Communities in Illinois. *Ecology* 18, 359–390.
- Gerstle, V., Manfrin, A., Kolbenschlag, S., Gerken, M., Islam, A. S. M. M. U., Entling, M. H., Bundschuh, M. & Brühl, C. A. (2023). Benthic macroinvertebrate community shifts based on Bti-induced chironomid reduction also decrease Odonata emergence. *Environmental Pollution* 316, 120488.
- Gibbs, K. E., Brautigam, F.C., Stubbs, C.S. & Zibilske, L.M. (1986). Experimental Application of B.t.i. for Larval Black Fly Control: Persistence and Downstream Carry, Efficacy, Impact on Non-target Invertebrates and Fish Feeding. *Maine Life Sciences and Agricultural Experiment Station Technical Bulletin* 123, 1–25.
- Giebner, H., Langen, K., Bourlat, S. J., Kukowka, S., Mayer, C., Astrin, J. J., Misof, B. & Fonseca, V. G. (2020). Comparing diversity levels in environmental samples: DNA sequence capture and metabarcoding approaches using 18S and COI genes. *Mol Ecol Resour* 20, 1333–1345.
- Gingrich, J. B. & Casillas, L. (2004). Selected mosquito vectors of West Nile virus: comparison of their ecological dynamics in four woodland and marsh habitats in Delaware. *Journal of the American Mosquito Control Association* 20, 138–145.
- Glare, T. R. (1998). Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health. Lincoln.
- Gück, E. (2003): Einfluss von Umweltfaktoren auf die Verteilung der Chironomiden (Insecta, Diptera) in Bühnenfeldern der Elbe. PhD Thesis, Philipps-Universität Marburg, Marburg.
- Leyer, I. & Wesche, K. (2007): *Multivariate Statistik in der Ökologie - Eine Einführung*. Berlin, Heidelberg.
- Goldberg, C. (2016). Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods in Ecology and Evolution* 7, 1299–1307.
- Gooderis, B. (1983) Het soortspecifieke patroon in de jaarcyclus van de Chironomidae (Diptera) in twee visvijvers te Mirwart (Ardennen), atholieke. PhD Thesis. Universiteit Leuven, Leuven.
- Gooderis, B. (1989). A methodology for the study of the life cycle of aquatic Chironomidae (Diptera). *Verhandelingen Van Het Symposium "Invertebraten Van België"*, 379–385.
- Graggs, R., Golding, L., Clearwater, S., Susarla, L. & Donovan, W. (2005). Control of chironomid midge larvae in wastewater stabilisation ponds: Comparison of five compounds. *Water science and technology: A journal of the International Association on Water Pollution Research* 51, 191–199.

- Gray, E., Fusco, R., Royals, C., Noblet, R. & Wyatt, R. (2011). Field Evaluation of Bactimos Pt Against Chironomid Midge (Diptera: Chironomidae) Larvae in Residential Ponds. *Journal of the American Mosquito Control Association* 27, 173–176.
- Griego, V. M. & Spence, K. D. (1978). Inactivation of *Bacillus thuringiensis* spores by ultraviolet and visible light. *Appl Environ Microbiol* 35, 906–910.
- Grodhaus, G. (1971). Sporadic parthenogenesis in three species of *Chironomus* (Diptera). *The Canadian Entomologist* 103, 338–340.
- Grodhaus, G. (1980). Aestivating Chironomid Larvae Associated with Vernal Pools. In: Murray, D.A. (eds.). *Chironomidae*. Oxford, 315–322.
- Groß, A. (1994). Ökotoxikologische Untersuchungen an ausgewählten Gewässern im Oberrheingebiet im Rahmen von B.t.i. – Behandlungen. Diploma Thesis, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Heidelberg.
- Grzybkowska, M., Leszczyńska, J., Głowacki, Ł., Szczerkowska, E., Dukowska, M. & Szląg-Wasielewska, E. (2020). Some aspects of the ecological niche of chironomids associated with submersed aquatic macrophytes in a tailwater. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 421, 22.
- Guidi, V., Patocchi, N., Lüthy, P. & Tonolla, M. (2011). Distribution of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in soil of a Swiss Wetland reserve after 22 years of mosquito control. *Appl Environ Microbiol* 77, 3663–3668.
- Guryev, V., Makarevitch, I., Blinov, A. & Martin, J. (2001). Phylogeny of the genus *Chironomus* (Diptera) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome b and cytochrome oxidase I. *Mol Phylogenet Evol* 19, 9–21.
- Halvelka, P. & Rieder, N. (1979). Zwei seltene Chironomiden im Oberrheingebiet und ihre rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung (*Xenopelopia nigricans* FITTKAU und *X. falcigera* KIEFER). *Beitr naturk Forsch Südwdtl* 38, 125–129.
- Healey, I. N. & Russell-Smith, A. (1970). The extraction of fly larvae from woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 2, 119–129.
- Heidenreich, U. (2019). Der Hockenheimer Rheinbogen. *Badische Heimat* 99, 108–121.
- Heimpel, A. M. (1967). A Critical Review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. *Berliner and Other Crystalliferous Bacteria*. *Annual Review of Entomology* 12, 287–322.
- Heinis, F. & Davids, C. (1993). Factors governing the spatial and temporal distribution of Chironomid larvae in the Maarsseveen lakes with special emphasis on the role of oxygen conditions. *Journal of Aquatic Ecology* 27, 21–34.
- Heitkamp, U. (1989). Das Ökosystem Tümpel: Strukturelle Merkmale des Lebensraums und Eigenschaften der Zoozönose. *Göttinger Naturkundliche Schriften* 1. 25–46.
- Heitkamp, U. (2006). Stagnierende Kleingewässer in Südniedersachsen - Typologie, Umweltbedingungen und Fauna. *NVN/BSH Merkblatt* 70 (3), 1–8.
- Hempel, E. (2010). Controlling Factors Of Life Cycle And Distribution Of Chironomid Key Species In The Mesotrophic Saidenbach Reservoir. PhD-Thesis. Technische Universität Dresden. Dresden.

- Hershey, A. E., Shannon, L., Richard, Axler, R., Ernst, C. & Mickelson, P. (1995). Effects of methoprene and Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) on non-target insects. *Hydrobiologia* 308(3): 219–227.
- Hershey, A. E., Lima, A. R., Niemi, G. J. & Regal, R. R. (1998). Effects Of *Bacillus Thuringiensis* *Israelensis* (Bti) And Methoprene On Nontarget Macroinvertebrates. In: *Minnesota Wetlands. Ecological Applications* 8, 41–60.
- Hilsenhoff, W. L. (1966). The Biology of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) in Lake Winnebago, Wisconsin. *Annals of The Entomological Society of America* 59, 465–473.
- Hinton, H. (1951). A new Chironomid from Africa, the larva of which can be dehydrated without injury. *Proceedings of the Zoological Society of London* 121, 371–380.
- Hinton, H. E. (1960). Cryptobiosis in the larva of *Polypedilum vanderplanki* Hint. (Chironomidae). *Journal of Insect Physiology* 5, 286–300.
- Holloway, M. T. P. (1983) Factors controlling the productivity of a benthic detritivore (*Chironomus riparius*), PhD Thesis. Cardiff University. Cardiff.
- Hughes, P. A., Stevens, M. M., Park, H.-W., Federici, B. A., Dennis, E. S. & Akhurst, R. (2005). Response of larval *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae) to individual *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* toxins and toxin mixtures. *Journal of Invertebrate Pathology* 88, 34–39.
- Hunter, J. D. (2007). Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering* 9, 90–95.
- Ibarra, J. & Federici, B. A. (1987). An alternative Bioassay employing neonate larvae for determining the toxicity of suspended particles to mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 3, 187–195.
- Ibrahim, M. A., Griko, N., Junker, M. & Bulla, L. A. (2010). *Bacillus thuringiensis*: a genomics and proteomics perspective. *Bioeng Bugs* 1, 31–50.
- Ignoffo, C. M., Garcia, C., Kroha, M. & Couch, T. L. (1983). The Effects of Temperature and Water on the Insecticidal Activity and Spore Viability of a Wettable Powder Foundation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Journal of the Kansas Entomological Society* 56, 88–92.
- Izekova, E. I. (2000). On the new substrates for phytophilous chironomid larvaeduring and after summer increase of the water level in reservoir. In: Hoffrichter, O. (eds.). *Late 20th Century Research on Chironomidae: An Anthology from the 13th International Symposium on Chironomidae*, Freiburg, 5-9 September 1997. Aachen.309–313.
- Jackson, J. K., Horwitz, R. J. & Sweeney, B. W. (2002). Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* on Black Flies and Nontarget Macroinvertebrates and Fish in a Large River. *Transactions of the American Fisheries Society* 131, 910–930.
- Jackson, J. M. & McLachlan, A. J. (1991). Rain-pools on peat moorland as island habitats for midge larvae. *Hydrobiologia* 209, 59–65.
- Jakob, C. & Poulin, B. (2016). Indirect effects of mosquito control using Bti on dragonflies and damselflies (Odonata) in the Camargue. *Insect Conservation and Diversity* 9, 161–169.
- KABS (2020). Antrag: Biologische Stechmückenbekämpfung in den Oberrheinauen. Unveröffentlicht.
- Kaliguna, N. S. (1960). Die ontogenetischen Veränderungen in der Morphologie der Chironomidenlarven. *Verh XI Internat Kong Ent* 1, 182–184.

- Kang, H. J., Baek, M. J., Kang, J. H. & Bae, Y. J. (2022). Diversity and DNA Barcode Analysis of Chironomids (Diptera: Chironomidae) from Large Rivers in South Korea. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 12035.
- Karch, S. & Delage, Y. (2005). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* H14 against the chironomid *Paratanytarsus grimmii* in a drinking-water supply system in the Paris area. *European Mosquito Bulletin* 20, 3–5.
- Kästel, A., Allgeier, S. & Brühl, C. A. (2017). Decreasing *Bacillus thuringiensis israelensis* sensitivity of *Chironomus riparius* larvae with age indicates potential environmental risk for mosquito control. *Sci Rep* 7, 13565.
- KEMI (Swedish Chemicals Agency) (2015). Product Assessment Report related to product authorisation under Regulation (EU) No 528/2012 VectoBac G and VectoBac GR. Sundbyberg.
- Kiknadze, I. I., Wang, X., Istomina, A. G. & Gunderina, L. I. (2005). A new *Chironomus* species of the plumosus sibling-group (Diptera, Chironomidae) from China. *Aquatic Insects* 27, 199–211.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16, 111–120.
- Kolbenschlag, S., Gerstle, V., Eberhardt, J., Bollinger, E., Schulz, R., Brühl, C. A. & Bundschuh, M. (2023). A temporal perspective on aquatic subsidy: Bti affects emergence of Chironomidae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 250, 114503.
- Kondo, S., Fujiwara, M., Ohba, M., and Ishii, T. (1995). Comparative larvicidal activities of the four *Bacillus thuringiensis* serovars against a chironomid midge, *Paratanytarsus grimmii* (Diptera: Chironomidae). *Microbiological Research* 150, 425–428.
- Koskenniemi, E. S. (1989). Winter regulation effects on littoral chironomids in Hungarian reservoirs. *Acta Biol Debr Oecol Hung* 3, 215–218.
- Kreuzer, R. (1940). Limnologisch-ökologisch Untersuchungen an holsteinischen Kleingewässern. *Archiv für Hydrobiologie* 10, 395–572.
- Lacey, L. A. (2007). *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association* 23, 13–163.
- Lacey, L. A. (1985). *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. *Biological Control of Mosquitoes Bull Am Mosq Control Assoc*, 132–158.
- Lacey, L. A., Escaffre, H., Philippon, B., Sékétéli, A., and Guillet, P. (1982). Large river treatment with *Bacillus thuringiensis* (H-14) for the control of *Simulium damnosum* s.l. in the Onchocerciasis Control Programme. *Tropenmed Parasitol* 33, 97–101.
- Lackmann, A., McEwen, D. & Butler, M. (2020). Evidence of parthenogenetic populations from the *Paratanytarsus laccophilus* species group (Diptera: Chironomidae) in the Alaskan Arctic. *Chironomus Journal of Chironomidae Research*, 48–58.
- Lagadic, L., Roucaute, M. & Caquet, T. (2014). Bti sprays do not adversely affect non-target aquatic invertebrates in French Atlantic coastal wetlands. *Journal of Applied Ecology* 51, 102–113.
- Lagadic, L., Schäfer, R. B., Roucaute, M., Szöcs, E., Chouin, S., de Maupeou, J. Duchet, C., Franquet, E., Le Hunsec, B., Bertrand, C., Fayolle, S., Francés, B., Rozier, Y., Foussadier, R., Santoni, J. B. & Lagneau, C. (2016). No association between the use of Bti for mosquito control

and the dynamics of non-target aquatic invertebrates in French coastal and continental wetlands. *Sci Total Environ* 553, 486–494.

Larget, I., and De Barjac, H. (1981). Specificite et principe actif de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Bull Soc Path exol* 74, 216–227.

Langdon, P. G., Ruiz, Z., Wynne, S., Sayer, C. D. & Davidson, T. A. (2010). Ecological influences on larval chironomid communities in shallow lakes: Implications for palaeolimnological interpretations. *Freshwater Biology* 55, 531–545.

Langton, P. H. & Visser, H., (1991). *Chironomidae Exuviae: A Key to Pupal Exuviae of the West Palaearctic Region: Expert Center for Taxonomic Identification*. Amsterdam.

LANUV (2020). *Helophyten-Bestimmungsschlüssel, Arbeitshilfe für das Monitoring der Fließgewässer Nordrhein-Westfalens gemäß EG-WRRL*, 48. Recklinghausen.

LANUV (2021). *Taxonomie für die Praxis: Bestimmungshilfen – Makrozoobenthos 4, Chironomidenlarven. Band 1: Chironomini: LANUV*. Recklinghausen.

LANUV (2022). *Taxonomie für die Praxis: Bestimmungshilfen - Makrozoobenthos 4, Chironomidenlarven. Band 2: Tanypodinae, Diamesinae, Prodiamesinae, Podonominae, Telmatogentinae, Buchonomyiinae und Tanytarsini: LANUV*. Recklinghausen.

Lavariás, S., Arrighetti, F., and Siri, A. (2017). Histopathological effects of cypermethrin and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on midgut of *Chironomus calligraphus* larvae (Diptera: Chironomidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 139, 9–16.

Layton, R. J. & Voshell, J. R., Jr. (1991). Colonization of New Experimental Ponds by Benthic Macroinvertebrates. *Environmental Entomology* 20, 110–117.

Lee, L., Saxena, D. & Stotzky, G. (2003). Activity of free and clay-bound insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* against the mosquito *Culex pipiens*. *Appl Environ Microbiol* 69, 4111–4115.

Lellák, J. (1968). Positive Phototaxis der Chironomiden-Larvulae als regulierender Faktor ihrer Verteilung in stehenden Gewässern. *Annales Zoologici Fennici* 5, 84–87.

Leonard, J. A., Shanks, O., Hofreiter, M., Kreuz, E., Hodges, L., Ream, W., Wayne, R. K. & Fleischer, R. C. (2007). Animal DNA in PCR reagents plagues ancient DNA research. *Journal of Archaeological Science* 34, 1361–1366.

Liber, K., Schmude, K. L. & Rau, D. M. (1998). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to Chironomids in Pond Mesocosms. *Ecotoxicology* 7, 343–354.

Lindeberg, B. (1967). Sibling species delimitation in the *Tanytarsus lestagei* aggregate (Diptera, Chironomidae). *Annales Zoologici Fennici* 4, 45–86.

Liu, M., Clarke, L. J., Baker, S. C., Jordan, G. J. & BurrIDGE, C. P. (2020). A practical guide to DNA metabarcoding for entomological ecologists. *Ecological Entomology* 45, 373–385.

Lods-Crozet, B. & Castella, E. (2009). Colonisation by midges (Chironomidae, Diptera) of recently-created shallow ponds: Implications for the restoration of lacustrine fringing wetlands. *Int. J. Lim.* 45, 257–266.

López, S., Guimarães-Ribeiro, V., Rodriguez, J., Dorand, F., Salles, T., Te, S.-G., Alvarenga, E. S., Melo, A., Almeida, R. & Moreira, M. (2019). RNAi-based bioinsecticide for *Aedes* mosquito control. *Scientific Reports* 9, 4038.

- Lundström, J. O., Brodin, Y., Schäfer, M. L., Vinnersten, T. Z. & Ostman, O. (2010a). High species richness of Chironomidae (Diptera) in temporary flooded wetlands associated with high species turn-over rates. *Bull Entomol Res* 100, 433–444.
- Lundström, J. O., Schäfer, M. L., Petersson, E., Persson Vinnersten, T. Z., Landin, J. & Brodin, Y. (2010b). Production of wetland Chironomidae (Diptera) and the effects of using *Bacillus thuringiensis israelensis* for mosquito control. *Bulletin of Entomological Research* 100, 117–125.
- Mackey, A. (1976). Quantitative studies on the Chironomidae (Diptera) of the Rivers Thames and Kennet. *Archiv für Hydrobiologie* 80(3), 327–348.
- Mackey, A. P. (1979). Trophic dependencies of some larval chironomidae (Diptera) and fish species in the River Thames. *Hydrobiologia* 62, 241–247.
- Magoga, G., Forni, G., Brunetti, M., Meral, A., Spada, A., De Biase, A. & Montagna, M. (2022). Curation of a reference database of COI sequences for insect identification through DNA metabarcoding: Database 2020, 1–7.
- Markiyanova, M. F. (2016). Composition and distribution of sibling species of *Chironomus Meigen, 1803* (Diptera, Chironomidae) in Curonian Lagoon of the Baltic Sea. *Biology Bulletin* 43, 1422–1427.
- Marshall, S. A. (2012). *Flies: The Natural History & Diversity of Diptera*. Buffalo, New York.
- Mason, C. F. & Bryant, R. J. (1975). Periphyton production and grazing by chironomids in Alderfen Broad, Norfolk. *Freshwater Biology* 5, 271–277.
- Matêna, J. (1989). Seasonal Dynamics of a *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera, Chironomidae) Population from a Fish Pond in Southern Bohemia. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 74, 599–610.
- Matêna, J. (1990). Succession of *Chironomus Meigen* Species (Diptera, Chironomidae) in Newly Filled Ponds. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 75, 45–57.
- Matêna, J. & Frouz, J. (2000). Distribution and ecology of *Chironomus Meigen* species in the Czech Republic (Diptera: Chironomidae). In: Hoffrichter, O. (eds.). *Late 20th Century Research on Chironomidae: An Anthology from the 13th International Symposium on Chironomidae*, Freiburg, 5-9 September 1997. Aachen. 543–548.
- Mauch, E. (2017). Aquatische Diptera-Larven in Mittel-, Nordwest und Nordeuropa. Übersicht über die Formen und ihre Identifikation. *Lauterbornia* 83, Dinkelscherben.
- McLachlan, A. (1983). Life-History Tactics of Rain-Pool Dwellers. *Journal of Animal Ecology* 52, 545–561.
- McLachlan, A. J. (1985). The Relationship between Habitat Predictability and Wing Length in Midges (Chironomidae). *Oikos* 44, 391–397.
- Merritt, R. W., Walker, E. D., Wilzbach, M. A., Cummis, K. W. & Morgan, W. T. (1989). A broad evaluation of B.t.i. for black fly (Diptera: Simuliidae) control in a Michigan river: efficacy, carry and nontarget effects on invertebrates and fish. *J Am Mosq Control Assoc* 5(3), 397–415.
- Metzger, R. (1987). Die Chironomiden-Fauna (Diptera) ausgewählter Gewässer am nördlichen Oberrhein sowie deren mögliche Beeinflussung durch die Stechmückenbekämpfung mit B.t.i.-Präparaten, Diploma Thesis, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg.
- Metzger, R. (1991). Die sedimentbewohnende Chironomidenfauna (Diptera, Nematocera) in Augengewässern am Oberrhein, PhD Thesis, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg.

- Metzger, R. (1987) Die Chironomiden-Fauna (Diptera) ausgewählter Gewässer am nördlichen Oberrhein sowie deren mögliche Beeinflussung durch die Stechmückenbekämpfung mit B.t.i.-
- Michailova, P. & Petrova, N. (1994). Cytogenetic characteristics of *Chironomus balatonicus* De-vai, Wülker, Scholl (Diptera, Chironomidae) from the Chernobyl region. *Cytobios* 79, 15–29.
- Milošević, D., Simić, V., Stojković, M., Čerba, D., Mančev, D., Petrović, A. & Paunović, M. (2013). Spatio-temporal pattern of the Chironomidae community: toward the use of non-biting midges in bioassessment programs. *Aquatic Ecology* 47, 37–55.
- Mittal, P. K. (2003). Biolarvicides in vector control: challenges and prospects. *J Vector Borne Dis* 40, 20–32.
- Miura, T., Takahashi, R., and Mulligan, F. S. (1980). Effects of the bacterial mosquito larvicide, *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 on selected aquatic organisms. *Mosquito News* 40, 619–622.
- Mollenhauer, T. (2020) Die Persistenz des Biozides *Bacillus thuringiensis israelensis* im Sedi-ment der Rheinauen bei Altrip. Bachelor Thesis, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg.
- Moller Pillot, H. K. M. M. & Buskens, R. F. M. (1990). De larven der Nederlandse Chironomidae (Diptera) Deel C: Autoekologie en verspreiding. *Nederlandse Faunistische Mededelingen* 1, 1–85.
- Moller Pillot, H. (2003). Hoe waterdieren zich handhaven in een dynamische wereld. 10 jaar onderzoek in de Roodloop, een bovenloopje van de Reusel in Noord-Brabant. Stichting het Noordbrabants Landschap, Haaren.
- Moller Pillot, H. K. M. (2009). Chironomidae larvae of the Netherlands and adjacent lowlands, Vol. 2, Biology and ecology of the Chironomini. Zeist.
- Moller Pillot, H. K. M. (2013). Chironomidae Larvae, Vol. 3, Orthoclaadiinae: Biology and Ecology of the Aquatic Orthoclaadiinae (Chironomidae Larvae: Biology and Ecology of the aquatic Orthoclaadiinae). Zeist.
- Molloy, D. (1992). Impact of the black fly (Diptera: Simuliidae) control agent *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on chironomids (Diptera: Chironomidae) and other nontarget insects: Results of ten field trials. *J Am Mosq Control Assoc* 8, 24–31.
- Moraweski, J. (1983) Untersuchungen zur Wirkung von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* auf aquatische Nontarget-Organismen. PhD Thesis, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg.
- Morinière, J., Balke, M., Doczkal, D., Geiger, M. F., Hardulak, L. A., Haszprunar, G., Hausmann, A., Hendrich, L., Regalado, L. & Rulik, B. (2019). A DNA barcode library for 5,200 German flies and midges (Insecta: Diptera) and its implications for metabarcoding-based biomonitoring. *Molecular Ecology Resources* 19, 900–928.
- Morinière, J., Cancian de Araujo, B., Lam, A. W., Hausmann, A., Balke, M., Schmidt, S., Hendrich, L., Doczkal, D., Fartmann, B., Arvidsson, S. & Haszprunar, G. (2016). Species Identification in Malaise Trap Samples by DNA Barcoding Based on NGS Technologies and a Scoring Matrix. *PLoS ONE* 18;11(5); e0155497.
- Mullen, G. R. & Hinkle, N. C. (1988). Method for determining settling rates of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 formulations. *Journal of the American Mosquito Control Association* 4, 132–137.
- Müller, R., Bálint, M., Harges, K., Hollert, H., Klimpel, S., Knorr, E., Kochmann, J., Lee, K.-Z., Mehring, M. & Pauls, S. (2023). RNA interference to combat the Asian tiger mosquito in Europe:

- A pathway from design of an innovative vector control tool to its application. *Biotechnology Advances* 66, 108167.
- Myasnik, M., Manasherob, R., Ben-Dov, E., Zaritsky, A., Margalith, Y. & Barak, Z. e. (2001). Comparative Sensitivity to UV-B Radiation of Two *Bacillus thuringiensis* Subspecies and Other *Bacillus* sp. *Current Microbiology* 43, 140–143.
- Nagai, S., Sildever, S., Nishi, N., Tazawa, S., Basti, L., Kobayashi, T. & Ishino, Y. (2022). Comparing PCR-generated artifacts of different polymerases for improved accuracy of DNA metabarcoding. *Metabarcoding and Metagenomics* 6, e77704.
- Nagy, K., Duca, R. C., Lovas, S., Creta, M., Scheepers, P. T. J., Godderis, L. & Ádám, B. (2020). Systematic review of comparative studies assessing the toxicity of pesticide active ingredients and their product formulations. *Environ Res* 181, 108926.
- Naumann, E. (1931). *Limnologische Terminologie*. Berlin.
- Neugebauer, H. (1990). Faunistisch-ökologische Untersuchungen in semipermanenten Gewässern unterschiedlichen Alters in der Oberrheinebene. In: Kinzelbach, R., Friedrich, G. (eds.). *Biologie des Rheins. Limnologie aktuell*. 467–471.
- Neugebauer, M. (1993) Ökotoxikologische Untersuchungen zur Anwendung von mikrobiologischen Präparaten im Rahmen der Stechmückenbekämpfung. Staatsexamen Thesis, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Heidelberg.
- Niemi, G. J., Hershey, A. E., Shannon, L., Hanowski, J. M., Lima, A., Axler, R. P. & Regal, R. R. (1999). Ecological effects of mosquito control on zooplankton, insects, and birds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 549–559.
- Nogeitzig, A., Nützmann, G., Lewandowski, J. & Hupfer, M. (2007). Reaktive Transportmodellierung des Phosphor-Kreislaufs in Seesedimenten unter dem Einfluss von Bioirrigation durch *Chironomus plumosus*. In: Deutsche Gesellschaft für Limnologie (DGL). *Erweiterte Zusammenfassungen der Jahrestagung 2007 (Münster)*, 106–110.
- Nolte, U. (1993). Egg masses of Chironomidae (Diptera). A review, including new observations and a preliminary key. *Ent Scand Suppl* 43, 5–75.
- Nolte, U. (1996). From egg to adult in less than seven days: *Apedilum elachistus* Chironomidae. *Chironomids: From Genes to Ecosystems* CSIRO Publications, East Melbourne, Australia, 177–184.
- OECD (2010). Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, Paris.
- OECD (2011). Test No. 235: *Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, Paris.
- Oertli, B. & Lachvanne, J.-B. (1995). The effects of shoot age on colonization of an emergent macrophyte (*Typha latifolia*) by macroinvertebrates. *Freshwater Biology* 34, 421–431.
- Ohana, B., Margalit, J. & Barak, Z. (1987). Fate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* under Simulated Field Conditions. *Appl Environ Microbiol* 53, 828–831.
- Olafsson, J. S. (1992). Vertical microdistribution of benthic chironomid larvae within a section of the littoral zone of a lake. *Netherland Journal of Aquatic Ecology* 26, 397–403.

- Oliveira, M.-L., Moeller, E., and Scheutwinkel, M. (2004). Laborleiter Führung und Organisation, Sicherheit und Umwelt, Qualitätssicherung. Kissing.
- Oliver, D. (1971). Life history of the Chironomidae. *Annu. Rev. Entomol. Annual Review of Entomology* 16, 211–230.
- Olsen, C. (1921). The Ecology of *Urtica Dioica*. *Journal of Ecology* 9, 1–18.
- Oosterbroek, P. (2006). The European Families of the Diptera. Utrecht.
- Orendt, C. & Spiess, M. (2012). Chironomini (Diptera: Chironomidae: Chironominae) - Keys to Central European larvae using mainly macroscopic characters. Leipzig.
- Orendt, C. & Spiess, M. (2012). *Chironomus* (Meigen) (Diptera: Chironomidae). Key to the larvae of importance to biological water analysis in Germany and adjacent areas. Leipzig.
- Palmer, R. W. (1993). Short-term impacts of formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de barjac and the organophosphate Temephos, used in blackfly (Diptera: Simuliidae) Control, On Rheophilic Benthic Macroinvertebrates In The Middle Orange River, South Africa. *Southern African Journal of Aquatic Sciences* 19, 14–33.
- Pantel, S. (2003): Vorschläge zur multivariaten Strukturanalyse varianzreicher Tiergemeinschaften am Beispiel von Makroinvertebraten-Zönosen landwirtschaftlicher Fließgewässer in Südniedersachsen. PhD Thesis, RWTH Aachen, Aachen.
- Pardey, A., Christmann, K.-H., Feldmann, R., Glandt, D. & Schlüpmann, M. (2005). Die Kleingewässer: Ökologie, Typologie und Naturschutzziele. *Abhandlungen aus dem Westfälischen Museum für Naturkunde* 67(3), 9–44.
- Patil, C., Calvayrac, C., Zhou, Y., Romdhane, S., Salvia, M. V., Cooper, J. F., Dayan, F. E. & Bertrand, C. (2016). Environmental Metabolic Footprinting: A novel application to study the impact of a natural and a synthetic β -triketone herbicide in soil. *Sci Total Environ* 566-567, 552–558.
- Pérez, C., Fernandez, L. E., Sun, J., Folch, J. L., Gill, S. S., Soberón, M. & Bravo, A. (2005). *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cyt1Aa synergizes Cry11Aa toxin by functioning as a membrane-bound receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 18303–18308.
- Persson Vinnersten, T., Lundström, J., Schäfer, M., Petersson, E. & Landin, J. (2010). A six-year study of insect emergence from temporary flooded wetlands in central Sweden, with and without Bti-based mosquito control. *Bulletin of entomological research* 100, 715–725.
- Pesta, O. (1935). Kleingewässerstudien in den Ostalpen. *Arch Hydrobiol* 29, 296–345.
- Pichler, W. (1939). Unsere derzeitige Kenntnis von der Thermik kleiner Gewässer. *Thermische Kleingewässertypen. Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 38, 231–242.
- Pichler, W. (1947). Zur Terminologie der Kleingewässer. *Arch Hydrobiol* 41, 415–420.
- Pinder, L. C. V. (1986). Biology of Freshwater Chironomidae. *Annual Review of Entomology* 31, 1–23.
- Piñol, J., Mir, G., Gomez-Polo, P. & Agustí, N. (2015). Universal and blocking primer mismatches limit the use of high-throughput DNA sequencing for the quantitative metabarcoding of arthropods. *Molecular Ecology Resources* 15, 819–830.

- Pires Paula, D., Linard, B., Crampton-Platt, A., Srivathsan, A., Timmermans, M., Sujii, E., Pires, C., Souza, L., Andow, D. & Vogler, A. (2016). Uncovering Trophic Interactions in Arthropod Predators through DNA Shotgun-Sequencing of Gut Contents. *PloSone* 11(9), e0161841.
- Platzer-Schultz, I. (1974). *Unsere Zuckmücken*. Lutherstadt.
- Pluskota, B., Augsten, X., Jöst, A., Kizgin, A., Kühnlenz, T., Stelzner, L., Rodriguez, A. T. & Becker, N. (2018). Untersuchungen zur Effektivität von Monitoring- und Bekämpfungsmaßnahmen für die Entwicklung eines Maßnahmenkatalogs zur integrierten Bekämpfung der Asiatischen Tigermücke in Baden-Württemberg. In: Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (LUBW). Reihe KLIMOPASS-Berichte. Karlsruhe.
- Poff, N. & Ward, J. V. (1989). Implications of Streamflow Variability and Predictability for Lotic Community Structure: A Regional Analysis of Streamflow Patterns. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46, 1805–1818.
- Polukonova, N. V. (2005). A comparative morphological analysis of the midges *Chironomus curabilis* and *Ch. nuditaris* (Chironomidae, Diptera). 2. Midge males and females. *Zoologicheskii zhurnal* 84, 367–370.
- Polukonova, N. V., Djomin, A. G., Mogue, N. S. & Shaikevich, E. V. (2009). Comparison of *Chironomus usenicus* and *Chironomus curabilis* with species of the group *plumosus* (Diptera) inferred from the mitochondrial DNA Gene COI and by the polytene chromosomes banding pattern. *Russian Journal of Genetics* 45, 899–905.
- Poncet, S., Delécluse, A., Klier, A. & Rapoport, G. (1995). Evaluation of Synergistic Interactions among the CryIVA, CryIVB, and CryIVD Toxic Components of *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* Crystals. *Journal of Invertebrate Pathology* 66, 131–135.
- Pont, D., Franquet, E. & Tourenq, J. N. (1999). Impact of Different *Bacillus thuringiensis* Variety *israelensis* Treatments on a Chironomid (Diptera Chironomidae) Community in a Temporary Marsh. *Journal of Economic Entomology* 92, 266–272.
- Porter, D. L. (1971). Oogenesis and chromosomal heterozygosity in the thelytokous midge, *Lundstroemia parthenogenetica* (Diptera, Chironomidae). *Chromosoma* 32, 332–342.
- Porter, D. L. & Martin, J. (2011). Cytogenetics of a parthenogenetic Arctic species of *Micropsectra* (Diptera, Chironomidae). *Comp Cytogenet* 5, 315–328.
- Poulin, B., Lefebvre, G., Hilaire, S. & Després, L. (2022). Long-term persistence and recycling of *Bacillus thuringiensis israelensis* spores in wetlands sprayed for mosquito control. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 243, 114004.
- Puillandre, N., Lambert, A., S., B. & Achaz, G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular ecology* 21, 1864–1877.
- Puntí, T., Rieradevall, M. & Prat, N. (2009). Environmental factors, spatial variation, and specific requirements of Chironomidae in Mediterranean reference streams. *J. of the North American Benthological Society*, 28(1), 247–265.
- Purcell, B. H. (1981). Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some nontarget organisms in the salt marsh. *Mosquito News* 41, 476–484.
- Purcell, B. H. (1981). Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some nontarget organisms in the salt marsh. *Mosquito News* 41, 476–484.

- Ramoska, W. A., Watts, S. & Rodriguez, R. E. (1982). Influence of Suspended Particulates on the Activity of *Bacillus thuringiensis* Serotype H-14 Against Mosquito Larvae. *Journal of Economic Entomology* 75, 1–4.
- Ratte, M., Ratte, T. & Daniels, B. (2015). ToxRat Professional. Alsdorf.
- R Core Team (2023). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria.
- Regierungspräsidiums Karlsruhe (1984). Verordnung über das NSG Rußheimer Altrhein-Elisabethenwört. In: Landkreis Germersheim (eds.). Staatsanzeiger für Rheinland-Pfalz Nr. 4, 108–114.
- Rey, D., Long, A., Pautou, M. P. & Meyran, J. C. (1998). Comparative histopathology of some Diptera and Crustacea of aquatic alpine ecosystems, after treatment with *Bacillus thuringiensis* var. israelensis. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88, 255–263.
- Rheinland-Pfalz (1978). Verordnung zur einstweiligen Sicherstellung des Naturschutzgebietes „Horreninsel“ (RVO-730019780831T120000), Ludwigshafen am Rhein.
- Rice, P., Longden, I. & Bleasby, A. (2000). EMBOSS: The European molecular biology open software suite. *Trends in genetics: TIG* 16, 276–277.
- Rodcharoen, J., Mulla, M. S. & Chaney, J. D. (1991). Microbial larvicides for the control of nuisance aquatic midges (Diptera: Chironomidae) inhabiting mesocosms and man-made lakes in California. *Journal of the American Mosquito Control Association* 7, 56–62.
- Röder, N. & Schwenk, K. (2023). Direct PCR meets high-throughput sequencing – metabarcoding of chironomid communities without DNA extraction. *Metabarcoding and Metagenomics* 7, e102455.
- Rodriguez-Martinez, S., Klaminder, J., Morlock, M. A., Dalén, L. & Huang, D. Y.-T. (2023). The topological nature of tag jumping in environmental DNA metabarcoding studies. *Molecular Ecology Resources* 23, 621–631.
- Roskosch, A., Jordan, S., Hette, N., Buchert, R., Khalili, A., Reza Morad, M., Nützmann, G., Hupfer, M. & Lewandowski, J. (2009). Die Wirkung von *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) auf Transportprozesse in limnischen Sedimenten. In: Deutsche Gesellschaft für Limnologie (eds.). *Erweiterte Zusammenfassung der Jahrestagung 2008*, Hardegsen, 449–454.
- Roskosch, A., Morad, M., Khalili, A. & Lewandowski, J. (2010). Bioirrigation by *Chironomus plumosus*: Advective flow investigated by particle image velocimetry. *Journal of the North American Benthological Society* 29, 789–802.
- Rossaro, B. & Delettre, Y. (1992). Description of *Smittia celtica*, sp. n. (Diptera: Chironomidae). *Annales- Societe Entomologique de France* 28, 365–370.
- Ruhi, A., Boix, D., Sala, J., Gascón, S. & Quintana, X. (2009). Spatial and temporal patterns of pioneer macrofauna in recently created ponds: Taxonomic and functional approaches. *Hydrobiologia* 634, 137–151.
- Rukmini, V., Reddy, C. Y. & Venkateswerlu, G. (2000). *Bacillus thuringiensis* crystal δ -endotoxin: Role of proteases in the conversion of protoxin to toxin. *Biochimie* 82, 109–116.
- Rulik, B., Eberle, J., von der Mark, L., Thormann, J., Jung, M., Köhler, F., Apfel, W., Weigel, A., Kopetz, A. & Köhler, J. (2017). Using taxonomic consistency with semi-automated data pre-processing for high quality DNA barcodes. *Methods in Ecology and Evolution* 8, 1878–1887.

- Saether, O. A. & Spies, M. (2004). Fauna Europae: Chironomidae. In Jong, H. (eds.). In: de Jong, H. (eds.). Fauna Europaea: Diptera, Nematocera. – Fauna Europaea. Database version 1.1, <http://www.faunaeur.org/>; Amsterdam).
- Sakurai, M., Furuki, T., Akao, K., Tanaka, D., Nakahara, Y., Kikawada, T., Watanabe, M. & Okuda, T. (2008). Vitrification is essential for anhydrobiosis in an African chironomid, *Polypedilum vanderplanki*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105, 5093–5098.
- Sambrook, J., Russell, D. W., Irwin, C. A. & Janssen, K. A. (2001). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring, New York.
- Sauer, F. (2001). Fliegen und Mücken: nach Farbfotos erkannt. Karlsfeld.
- Schäfer, M. L. & Lundström, J. O. (2014). Efficiency of Bti-based floodwater mosquito control in Sweden—four examples. Journal of the European Mosquito Control Association 32, 1–8.
- Scharf, B. W. (1973). Experimental-ecological investigations on *Chironomus thummi* and *Chironomus piger* (Diptera, Chironomidae). Archiv für Hydrobiologie 72, 225–244.
- Schleuter, A. (1989). Die Chironomiden-Besiedlung stehender Kleingewässer in Abhängigkeit von Wasserführung und Fallaubeintrag. Archiv für Hydrobiologie, 471–487.
- Schlüpfmann, M. (2003). Entstehung, Nutzung, Typologie, Temperaturverhältnisse und Hydrochemie stehender Kleingewässer im Raum Hagen. Dortmunder Beitr Landeskd 36/37, 55–112.
- Schmidt-Chanasit, J., Haditsch, M., Schöneberg, I., Günther, S., Stark, K. & Frank, C. (2010). Dengue virus infection in a traveller returning from Croatia to Germany. Euro Surveill 15, 19677.
- Schnabel, S. (2000). Chironomiden temporärer Tümpel im Bereich der Lahnaue - faunistisch-ökologische Aspekte. Verhandlungen des Westdeutschen Entomologentag Düsseldorf 1999, 201–208.
- Schnell, I. B., Bohmann, K., and Gilbert, M. T. P. (2015). Tag jumps illuminated – reducing sequence-to-sample misidentifications in metabarcoding studies. Molecular Ecology Resources 15, 1289–1303.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R. & Dean, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol Mol Biol Rev 62, 775–806.
- Schnetter, W., Engler-Fritz, S., Aly, C. & Becker, N. (1983). Anwendung von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* – Präparaten gegen Stechmücken am Oberrhein. Mitt dtsch Ges allg angew Ent 4, 18–25.
- Schnetter, W., Engler, S., Morawcsik, J. & Becker, N. (1981). Wirksamkeit von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* gegen Stechmückenlarven und Nontarget-Organismen. Mitt dtsch Ges allg angew Ent 2, 195–202.
- Schuch, S., Ludwig, H. & Wesche, K. (2020). Erfassungsmethoden für ein Insektenmonitoring - Eine Materialsammlung. In: Bundesamt für Naturschutz (eds.). BfN-Skripten 565. Bonn.
- Seibt, C., Hamann, E., Roskosch, A., Nützmann, G. & Lewandowski, J. (2009). Modellierung der von Chironomiden induzierten Austauschprozesse zwischen Sediment und Freiwasser. In: Deutsche Gesellschaft für Limnologie (DGL). Erweiterte Zusammenfassungen der Jahrestagung 2007 (Münster), 460–465.

- Sepulveda, A., Hutchins, P., Forstchen, M., McKeefry, M. & Swigris, A. (2020). The Elephant in the Lab (and Field): Contamination in Aquatic Environmental DNA Studies. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8,10.3389.
- Severns, P. M., and Sykes, E. M. (2020). Indicator Species Analysis: A Useful Tool for Plant Disease Studies. *Phytopathology* 110, 1860–1862.
- Sheeran, W. & Fisher, S. W. (1992). The effects of agitation, sediment, and competition on the persistence and efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 24, 338–346.
- Shen, W., Le, S., Li, Y. & Hu, F. (2016). SeqKit: A Cross-Platform and Ultrafast Toolkit for FASTA/Q File Manipulation. *PLoS ONE* 11(10), e0163962.
- Shen, Y. Y., Chen, X. & Murphy, R. W. (2013). Assessing DNA barcoding as a tool for species identification and data quality control. *PLoS ONE* 8, e57125.
- Sickel, W., Zizka, V. M. A., Scherges, A., Bourlat, S. & Dieker, P. (2023). Abundance estimation with DNA metabarcoding – recent advancements for terrestrial arthropods. *Metabarcoding and Metagenomics* 7, e112290.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. (1994). Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87, 651–701.
- Smock, L. A. & Stoneburner, D. L. (1980). The Response of Macroinvertebrates to Aquatic Macrophyte Decomposition. *Oikos* 35, 397–403.
- Soberón, M., López-Díaz, J. A. & Bravo, A. (2013). Cyt toxins produced by *Bacillus thuringiensis*: a protein fold conserved in several pathogenic microorganisms. *Peptides* 41, 87–93.
- Spandl, H. (1923). Zur Kenntnis der Tierwelt vorübergehender Gewässer. *Zoologischer Anzeiger* 56, 36–41.
- Stadtwerke Speyer (o. D.). Trinkwasseranalyse Speyer, URL: [sws-2057-002-Trinkwasseranalyse-A4-WEB.pdf](#) (Stand: 18.03.2024).
- Steenbergern, H. A. (1993). Macrofauna-atlas van Noord-Holland: Verspreidingskaarten en responsies op milieufactoren van ongewervelde waterdieren. Haarlem.
- Stehr, W. C. & Branson, J. W. (1938). An ecological study of an intermittent stream. *Ecology*, 294–310.
- Steinhart, M. (1999). Einflüsse der saisonalen Überflutung auf die Chironomidenbesiedlung (Diptera) aquatischer und amphibischer Biotope des Unteren Odertals. PhD Thesis, Freie Universität Berlin. Aachen.
- Steinhart, M. (2000). How Chironomidae (Diptera) cope with changing water levels in a floodplain?. In: Hoffrichter, O. (eds.). *Late 20th Century Research on Chironomidae: Late 20th Century Research on Chironomidae: An Anthology from the 13th International Symposium on Chironomidae*, Freiburg, 5-9 September 1997. Aachen. 309–313.
- Stevens, M. M., Akhurst, R. J., Clifton, M. A. & Hughes, P. A. (2004). Factors affecting the toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* to fourth instar larvae of *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 86, 104–110.

- Stevens, M. M., Helliwell, S. & Hughes, P. A. (2005). Toxicity Of *Bacillus Thuringiensis* Var. *Israelensis* Formulations, Spinosad, And Selected Synthetic Insecticides To *Chironomus Tepperi* Larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21, 446–450.
- Stevens, M. M., Hughes, P. A. & Mo, J. (2013). Evaluation of a commercial *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulation for the control of chironomid midge larvae (Diptera: Chironomidae) in establishing rice crops in south-eastern Australia. *Journal of Invertebrate Pathology* 112, 9–15.
- Stewart, A., Mysore, K., Njoroge, T., Winter, N., Feng, R., Singh, S., James, L., Singkhaimuk, P., Sun, L., Mohammed, A., Oxley, J. D., Duckham, C., Ponlawat, A., Severson D. & Duman-Scheel, M. (2023). Demonstration of RNAi Yeast Insecticide Activity in Semi-Field Larvicide and Attractive Targeted Sugar Bait Trials Conducted on *Aedes* and *Culex* Mosquitoes. *Insects* 14(12), 950–962.
- Stotzky, G. (2005). Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. *Plant and Soil* 266, 77–89.
- Strenzke, K. (1950). *Systematik, Morphologie und Ökologie der terrestrischen Chironomiden*. Stuttgart.
- Strenzke, K. (1960). Die systematische und ökologische Differenzierung der Gattung *Chironomus*. *Ann Entomol Fenn* 26, 111–139.
- Suemoto, T., Kawai, K. & Imabayashi, H. (2005). Dried-up zone as a temporal stock of chironomid larvae: survival periods and density in a reservoir bank. *Hydrobiologia* 545, 145–152.
- Sun, Z., Majaneva, M., Sokolova, E., Rauch, S., Meland, S. & Ekrem, T. (2019). DNA metabarcoding adds valuable information for management of biodiversity in roadside stormwater ponds. *Ecol Evol* 9, 9712–9722.
- Swadener, C. (1994). *Bacillus thuringiensis* (B. t.). *Journal of Pesticide Reform* 14(3), 13–20.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. & Coissac, E. (2018). *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*. Oxford.
- Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38, 3022–3027.
- Ter Braak, C. & Beest, D. (2022). Testing environmental effects on taxonomic composition with canonical correspondence analysis: alternative permutation tests are not equal. *Environmental and Ecological Statistics* 29, 849–868.
- Tetreau, G., Banneville, A.-S., Andreeva, E. A., Brewster, A. S., Hunter, M. S., Sierra, R. G., Teulon, J.-M., Young, I. D., Burke, N., Grünwald, T. A., et al. (2020). Serial femtosecond crystallography on in vivo-grown crystals drives elucidation of mosquitoicidal Cyt1Aa bioactivation cascade. *Nature Communications* 11, 1153.
- Theissinger, K., Kästel, A., Elbrecht, V., Makkonen, J., Michiels, S., Schmidt, S. I., Allgeier, S., Leese, F. & Brühl, C. A. (2020). Corrigendum: Using DNA metabarcoding for assessing chironomid diversity and community change in mosquito controlled temporary wetlands. *MBMG 2*: e21060.
- Thienemann, A. (1926). *Die Binnengewässer Mitteleuropas: eine limnologische Einführung*. Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Thienemann, A. (1950). *Verbreitungsgeschichte der Süßwassertierwelt Europas*. Stuttgart.

- Thienemann, A. (1974). *Chironomus: Leben, Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Chironomiden*. Stuttgart.
- Tilquin, M., Paris, M., Reynaud, S., Despres, L., Ravanel, P., Geremia, R. A. & Gury, J. (2008). Long Lasting Persistence of *Bacillus thuringiensis* Subsp. *israelensis* (Bti) in Mosquito Natural Habitats. *PLoS ONE* 3, e3432.
- Titmus, G. & Badcock, R. (2006). Distribution and feeding of larval Chironomidae in a gravel-pit lake. *Freshwater Biology* 11, 263–271.
- Tokeshi, M. (1986). Population dynamics, life histories and species richness in an epiphytic chironomid community. *Freshwater Biology* 16, 431–441.
- Toth, M., Mora, A., Kiss, B., Devai, G. & Specziar, A. (2012). Are macrophyte-dwelling Chironomidae (Diptera) largely opportunistic in selecting plant species? *EJE* 109, 247–260.
- Tourenq, J.-N. (1976). Recherches écologiques sur les Chironomides (Diptera) de Camargue. I. Etude faunistique et biogéographique. *Annales des Limnologie* 12, 17–24.
- Treverrow, N. L. (1985). Susceptibility Of *Chironomus Tepperi* (Diptera: Chironomidae) To *Bacillus Thuringiensis* Serovar *Israelensis*. *Australian Journal of Entomology* 24, 303–304.
- Tronstad, L., Tronstad, B. & Benke, A. (2010). Growth Rates of Chironomids Collected from an Ephemeral Floodplain Wetland. *Wetlands* 30, 827–831.
- Vachon, V., Laprade, R. & Schwartz, J.-L. (2012). Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review. *Journal of Invertebrate Pathology* 111, 1–12.
- Vallenduuk, H.J. (2009). Neglected and new characters in Chironomidae: Tanypodinae (larvae). *Lauterbornia* 68, 83–93.
- Vallenduuk, H. J. (2019). Chironomini larvae of western European lowlands (Diptera: Chironomidae). Keys with notes to the species. *Lauterbornia* 82, 1–217.
- Vallenduuk, H. J., and Moller Pillot, H. K. M. (2013). *Chironomidae Larvae: General ecology and Tanypodinae*. Zeist.
- Valtierra de Luis, D. (2019). Novel application of bioassays and functional importance of minor crystal components of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* for dipteran pests, Phd Thesis, Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Van Essen, F. W. & Hembree, S. C. (1982). Simulated field studies with four formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquitos: residual activity and effect of soil constituents. *Mosquito News* 42, 66–72.
- Vaughan, I., Newberry, C., Hall, D., Liggett, J. & Ormerod, S. (2008). Evaluating large-scale effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-biting midges (Chironomidae) in a eutrophic urban lake. *Freshwater Biology* 53, 2117–2128.
- Verdonschot, P., Higler, L., Hoek, W. & Cuppen, J. (1992). A list of macroinvertebrates in Dutch water types: A first step towards an ecological classification of surface waters based on key factors. *Hydrobiological Bulletin* 25, 241–259.
- Vodopich, D. S. & Cowell, B. C. (1984). Interaction of Factors Governing the Distribution of a Predatory Aquatic Insect. *Ecology* 65, 39–52.
- Walshe, B. M. (1948). The Oxygen Requirements and Thermal Resistance of Chironomid Larvae from Flowing And From Still Waters. *Journal of Experimental Biology* 25, 35–44.

- Ward, E. S., Ellar, D. J. & Chilcott, C. N. (1988). Single amino acid changes in the *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* δ -endotoxin affect the toxicity and expression of the protein. *Journal of Molecular Biology* 202, 527–535.
- Ward, G. M. & Cummins, K. W. (1979). Effects of Food Quality on Growth of a Stream Detritivore, *Paratendipes Albimanus* (Meigen) (Diptera: Chironomidae). *Ecology* 60, 57–64.
- Watanabe, M., Kikawada, T. & Okuda, T. (2003). Increase of internal ion concentration triggers trehalose synthesis associated with cryptobiosis in larvae of *Polypedilum vanderplanki*. *Journal of Experimental Biology* 206, 2281–2286.
- Weber, G. (1992). Terrestrial Chironomidae on agricultural soil treated with sewage sludge. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 26, 577–579.
- Werner, D. (1997). Die Dipterenfauna verschiedener Muldeponien und Kompostierungsanlagen in der Umgebung von Berlin unter besonderer Berücksichtigung ihrer Ökologie und Bionomie. *Studia Dipt Suppl* 1, 1–176.
- Wiggins, G. B., Mackay, R. J. & Smith, I. M. (1980). Evolutionary and Ecological Strategies of Animals in Annual Temporary Pools. *Archiv für Hydrobiologie*, 58, 97–206.
- Wilcox, T. M., McKelvey, K. S., Young, M. K., Jane, S. F., Lowe, W. H., Whiteley, A. R. & Schwartz, M. K. (2013). Robust detection of rare species using environmental DNA: the importance of primer specificity. *PLoS One* 8, e59520.
- Williams, C. R., Ritchie, S. A. & Whelan, P. I. (2005). Potential distribution of the Asian disease vector *Culex gelidus* Theobald (Diptera: Culicidae) in Australia and New Zealand: a prediction based on climate suitability. *Australian Journal of Entomology* 44, 425–430.
- Williams, D. D. (1997). Temporary ponds and their invertebrate communities. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 7, 105–117.
- Williams, D. D. (2005). *The Biology of temporary Waters*. Oxford.
- Wilson, R. S. & Ruse, L. P. (2005). *A guide to the identification of genera of chironomid pupal exuviae occurring in Britain and Ireland (including common genera from Northern Europe and their use in monitoring lotic and lenitic fresh waters*. Freshwater Biological Association. Ambleside, Cumbria.
- Wipfli, M. S. & R. W. Merritt (1994). Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Nontarget Benthic Insects through Direct and Indirect Exposure. *Journal of the North American Benthological Society* 13(2), 190–205.
- Wirth, M. C., Jiannino, J. A., Federici, B. A. & Walton, W. E. (2004). Synergy between Toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus*. *Journal of medical entomology* 41, 935–941.
- Wissinger, S. (1999). Invertebrate communities in alpine ponds. In: Batzer, D.P & D. Boix (eds.) *Invertebrates in Freshwater Wetlands - An international Perspective on Their Ecology*, 55-103.
- Wolfram, G., Wenzl, P. & Jerrentrup, H. (2018). A multi-year study following BACI design reveals no short-term impact of Bti on chironomids (Diptera) in a floodplain in Eastern Austria. *Environmental Monitoring and Assessment* 190, 709.
- Wolfram, G. & Wenzl, P. (2018). Gelsenregulierung mittels *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Eine Bewertung aus gewässerökologischer Sicht. Wien.

- Woodcock, B. A. (2005). Pitfall Trapping in Ecological Studies. In *Insect Sampling in Forest Ecosystems*, 37–57.
- Wraight, S., Molloy, D. & McCoy, P. (1982). A Comparison of Laboratory and Field Tests of *Bacillus Sphaericus* Strain 1593 and *Bacillus Thuringiensis* Var. *Israelensis* Against *Aedes Stimulans* Larvae (Diptera: Culicidae). *The Canadian Entomologist* 114, 55–61.
- Wrubleski, D. A. (1987). Chironomidae (Diptera) of peatlands and marshes in Canada. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada* 119, 141-161.
- Yang, Q., Tang, S., Rang, J., Zuo, M., Ding, X., Sun, Y., Feng, P. & Xia, L. (2015). Detection of toxin proteins from *Bacillus thuringiensis* strain 4.0718 by strategy of 2D-LC-MS/MS. *Curr Microbiol* 70, 457–463.
- Yeates, D. & Wiegmann, B. (2017). Phylogeny of Diptera. *Suricata* 4, 253–265.
- Yeates, D. K. & Wiegmann, B. M. (2005). *Evolutionary Biology of Flies*. New York, Chichester, West Sussex.
- Yiallourous, M. (1996). Untersuchung zur Wirkung von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* und *Bacillus sphaericus* auf Larven von *Psectrocladius psilopterus* und *Xenopelopia nigricans* (Chironomidae, Diptera). Heidelberg.
- Yiallourous, M., Storch, V. & Becker, N. (1999). Impact of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on larvae of *Chironomus thummi thummi* and *Psectrocladius psilopterus* (Diptera: Chironomidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 74, 39–47.
- Zgomba, M. & Petrić, D. (1991). Larval instar sensitivity to B.t.i. under different temperature and population density conditions. Heidelberg.

Anhang

Die abgebildeten Anhänge dienen dem besseren Verständnis der Datenauswertungen der vorliegenden Arbeit. Zusätzliche digitale Anhänge finden sich auf dem beigelegten Speichermedium.

Anhang zu Kapitel 3

Anhang 1: Übersicht der ausgewerteten Publikationen mit Daten zur Bti-Sensitivität von Chironomiden im Freiland. Die in der Originalliteratur angegebene Wirkkonzentration wurde zur einheitlichen Darstellung in die Angabe ITU/L umgerechnet. Die Reduktion gibt die maximale prozentuale Verringerung der gemessenen Abundanz an. Erhoben wurden sowohl Chironomidenlarven als auch -imagines.

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs-ort	Gewässertyp	Art der Unter-suchung	Dosis [ITU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Ablabesmyia monilis</i>	Tanyptodinae	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
<i>Bryophaenocladius</i> sp.	Orthocladinae	USA	leni-tisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
<i>Cardiocladius</i> sp.	Orthocladinae	Südafrika	lotisch	akut	1440	0	Palmer, R. W. (1993)
<i>Cardiocladius</i> sp.	Orthocladinae	Südafrika	lotisch	akut	1440	0	Palmer, R. W. (1993)
<i>Cardiocladius</i> sp.	Orthocladinae	USA	leni-tisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	780	0	Lagadic, L., et al. (2014)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	USA	lotisch	akut	33000	0	Merritt, R. W., et al. (1989)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Schweden	leni-tisch	langfris-tig	1800	0	Persson Vinnersten, T., et al. (2010)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Kananda	leni-tisch	langfris-tig	1300	0	Epp, L. J. (2020)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Österreich	leni-tisch	langfris-tig	900	0	Wolfram, G., et al. (2018)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Kananda	leni-tisch	langfris-tig	125	0	Epp, L. J. (2020)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	1710	0	Lagadic, L., et al. (2016)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	9375	0	Lagadic, L., et al. (2016)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Deutschland	leni-tisch	akut	2880	68	Allgeier, S., et al. (2019)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	USA	leni-tisch	akut	19800	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Australien	leni-tisch	akut	18000	92	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Großbritan-nien	leni-tisch	akut	18000	35	Vaughan, I., et al. (2008)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Australien	leni-tisch	akut	12000	91	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Australien	leni-tisch	akut	6000	71	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	Australien	leni-tisch	akut	6000	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomidae</i>	Chironomidae	USA	leni-tisch	akut	5940	50	Liber, K., et al. (1998)

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs-ort	Gewässertyp	Art der Unter-suchung	Dosis [TTU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	akut	5600	0	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Australien	lenitisch	akut	3750	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	akut	3060	25	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Frankreich	lenitisch	langfris-tig	3000	48	Jakob, C. and B. Poulin (2016)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Deutschland	lenitisch	akut	2880	0	Kolbensschlag, S., et al. (2023)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	langrfris-tig	2500	88	Ali, A. (1981)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	langrfris-tig	2500	67	Ali, A. (1981)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	akut	1800	0	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Australien	lenitisch	akut	1500	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Deutschland	lenitisch	akut	1440	65	Theissing, K., et al. (2020)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Deutschland	lenitisch	akut	1440	53	Allgeier, S., et al. (2019)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Deutschland	lenitisch	akut	1440	49	Allgeier, S., et al. (2019)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Südafrika	lotisch	akut	1150	0	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	langrfris-tig	1000	66	Ali, A. (1981)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	Südafrika	lotisch	akut	800	0	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomidae</i>	USA	lenitisch	langrfris-tig	500	61	Ali, A. (1981)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	n.d.	lotisch	n.d.	33000	0	Molloy, D. (1992)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	USA	lotisch	akut	73500	0	Wipfli, M. S., Merritt, R.W. (1994)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	Schweden	lenitisch	langfris-tig	2800	0	Lundström, J. O., et al. (2010)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	USA	lenitisch	akut	17100	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	USA	lotisch	akut	12000	0	Gibbs, K. E., et al. (1986)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	USA	lenitisch	akut	5400	50	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	USA	lenitisch	akut	3600	25	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	Deutschland	lenitisch	akut	2880	47	Gerstle et al. (2023)
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	USA	lenitisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	Österreich	lenitisch	langfris-tig	900	0	Wolfram, G., et al. (2018)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	lenitisch	akut	34804	87	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	lenitisch	akut	17402	73	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	lenitisch	akut	12000	81	Ali, A., et al. (2005)

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs-ort	Gewässertyp	Art der Unter-suchung	Dosis [TTU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	11200	67	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	6300	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	6000	64	Ali, A., et al. (2005)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	5400	50	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	2700	25	Liber, K., et al. (1998)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	langfris-tig	2500	92	Ali, A. (1981)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	langfris-tig	2500	39	Ali, A. (1981)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	Südafrika	lotisch	akut	2400	19	De Moor, F., Car, M. (1986)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	Elfenbein-küste	lotisch	akut	1920	0	Dejoux, C., et al. (1985)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	1200	0	Caquet, T., et al. (2011)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	langfris-tig	1000	72	Ali, A. (1981)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	600	0	Caquet, T., et al. (2011)
<i>Chironomini</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	langfris-tig	500	49	Ali, A. (1981)
<i>Chironomus cingula-tus</i>	<i>Chironomini</i>	Deutschland	leni-tisch	akut	24000	75	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	33500	100	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	22500	95	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	11000	66	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	7640	47	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	4400	32	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	13000	0	Purcell, B. H. (1981)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	9000	0	Purcell, B. H. (1981)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	8960	100	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	8960	84	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	6000	80	Ali, A., et al. (2005)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	4500	0	Purcell, B. H. (1981)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	4480	81	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	USA	leni-tisch	akut	4480	32	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Chironomus stigmat-e-rus</i>	<i>Chironomini</i>	nd	leni-tisch	akut	1500	100	Miura, T., et al. (1980)
<i>Chironomus stigmat-e-rus</i>	<i>Chironomini</i>	nd	leni-tisch	akut	375	100	Miura, T., et al. (1980)

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs-ort	Gewässertyp	Art der Unter-suchung	Dosis [TTU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Chironomus tepperi</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	6000	100	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomus tepperi</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	3750	96	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Chironomus tepperi</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	1500	75	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Cladotanytarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	18000	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Corynoneura</i> sp.	Orthocladinae	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
<i>Cricotopus quadrifasciatus</i>	Orthocladinae	Elfenbein-küste	leni-tisch	akut	2250	0	Lacey, L. A. (1985)
<i>Cricotopus sylvestris</i>	Orthocladinae	Deutschland	leni-tisch	akut	90000	0	Groß, A. (1994)
<i>Cricotopus sylvestris</i>	Orthocladinae	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
<i>Cricotopus/Orthocladius</i>	Orthocladinae	USA	lotisch	akut	22200	0	Jackson, J. K., et al. (2002)
<i>Cryptochironomus gri-seidorsum</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	6000	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Cryptochironomus gri-seidorsum</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	3750	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Cryptochironomus gri-seidorsum</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	1500	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Cryptochironomus</i> sp.	Chironomini	Elfenbein-küste	leni-tisch	akut	2250	0	Lacey, L. A. (1985)
<i>Dicrotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	18000	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Dicrotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	8960	100	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Dicrotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	8960	77	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Dicrotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	4480	86	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Dicrotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	4480	65	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Einfeldia</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	18000	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Endochironomus</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	18000	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Eukiefferiella</i> sp.	Orthocladinae	USA	leni-tisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
<i>Glyptotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	12000	76	Ali, A., et al. (2005)
<i>Glyptotendipes</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	6000	73	Ali, A., et al. (2005)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	24000	95	Gray, E., et al. (2011)
<i>Goeldichironomus ho-loprasinus</i>	Chironomini	nd	leni-tisch	akut	1500	100	Miura, T., et al. (1980)
<i>Goeldichironomus ho-loprasinus</i>	Chironomini	nd	leni-tisch	akut	375	100	Miura, T., et al. (1980)
<i>Goeldichironomus</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	6000	66	Ali, A., et al. (2005)
<i>Microchironomus deribae</i>	Chironomini	Frankreich	leni-tisch	akut	8040	97	Pont, D., et al. (1999)
<i>Microchironomus deribae</i>	Chironomini	Frankreich	leni-tisch	akut	3960	77	Pont, D., et al. (1999)

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs-ort	Gewässertyp	Art der Unter-suchung	Dosis [ITU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Microchironomus deribae</i>	Chironomini	Frankreich	leni-tisch	akut	1920	35	Pont, D., et al. (1999)
<i>Nanocladius</i> sp.	Orthocla-di-inae	Elfenbein-küste	leni-tisch	akut	4500	0	Lacey, L. A. (1985)
<i>Nilotanypus</i> sp.	Tanypodinae	USA	lotisch	akut	22200	0	Jackson, J. K., et al. (2002)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Schweden	leni-tisch	langfris-tig	2800	0	Lundström, J. O., et al. (2010)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Österreich	leni-tisch	langfris-tig	2200	0	Wolfram, G., et al. (2018)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Österreich	leni-tisch	langfris-tig	2200	0	Wolfram, G., et al. (2018)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	USA	leni-tisch	akut	11160	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	USA	leni-tisch	akut	4680	50	Liber, K., et al. (1998)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Deutschland	leni-tisch	akut	2880	62	Gerstle et al. (2023)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	USA	leni-tisch	akut	2880	25	Liber, K., et al. (1998)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Südafrika	lotisch	akut	2400	26	De Moor, F., Car, M. (1986)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	1200	0	Caquet, T., et al. (2011)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Südafrika	lotisch	akut	1150	17	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Südafrika	lotisch	akut	1150	0	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Südafrika	lotisch	akut	800	0	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	Frankreich	leni-tisch	langfris-tig	600	0	Caquet, T., et al. (2011)
<i>Orthocla-di-inae</i>	Orthocla-di-inae	USA	leni-tisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
<i>Parachironomus arcu-atus</i>	Chironomini	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
<i>Parachironomus pari-lis</i>	Chironomini	Deutschland	leni-tisch	akut	90000	0	Groß, A. (1994)
<i>Paratany-tarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	18000	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Paratany-tarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	8960	44	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Paratany-tarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	8960	0	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Paratany-tarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	4480	0	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Paratany-tarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	4480	27	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Pentaneura</i> sp.	Tanypodinae	Südafrika	lotisch	akut	1150	0	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Polypedilum nubifer</i>	Chironomini	Frankreich	leni-tisch	akut	8040	89	Pont, D., et al. (1999)
<i>Polypedilum nubifer</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	6000	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Polypedilum nubifer</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	3750	0	Stevens, M., et al. (2013)

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs-ort	Gewässertyp	Art der Unter-suchung	Dosis [TTU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Polypedilum nubifer</i>	Chironomini	Frankreich	leni-tisch	akut	3000	0	Duchet, C., et al. (2015)
<i>Polypedilum nubifer</i>	Chironomini	Australien	leni-tisch	akut	1500	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Polypedilum nubifer</i>	Chironomini	Frankreich	leni-tisch	akut	960	0	Duchet, C., et al. (2015)
<i>Polypedilum</i> sp.	Chironomini	Südafrika	lotisch	akut	24000	0	Palmer, R. W. (1993)
<i>Polypedilum</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	12000	100	Ali, A., et al. (2005)
<i>Polypedilum</i> sp.	Chironomini	USA	leni-tisch	akut	6000	86	Ali, A., et al. (2005)
<i>Procladius choreus</i>	Tanypodinae	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
<i>Procladius</i> sp.	Tanypodinae	USA	leni-tisch	akut	8960	0	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Procladius</i> sp.	Tanypodinae	USA	leni-tisch	akut	8960	17	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Procladius</i> sp.	Tanypodinae	USA	leni-tisch	akut	4480	24	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Procladius</i> sp.	Tanypodinae	USA	leni-tisch	akut	4480	0	Rodcharoen, J., et al. (1991)
<i>Psectrotanypus varius</i>	Tanypodinae	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
<i>Pseudorthocladius</i> sp.	Orthocladi-inae	USA	leni-tisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
<i>Rheotanytarsus exi-guus group</i>	Tanytarsini	n.d.	lotisch	n.d.	33000	23	Molloy, D. (1992)
<i>Rheotanytarsus fuscus</i>	Tanytarsini	Südafrika	lotisch	akut	24000	0	Palmer, R. W. (1993)
<i>Rheotanytarsus fuscus</i>	Tanytarsini	Südafrika	lotisch	akut	1440	0	Palmer, R. W. (1993)
<i>Rheotanytarsus</i> sp.	Tanytarsini	USA	lotisch	akut	33000	23	Merritt, R. W., et al. (1989)
<i>Smittia</i> sp.	Orthocladi-inae	USA	leni-tisch	langfris-tig	1570	0	Hershey A., et al. (1995)
Tanypodinae	Tanypodinae	Schweden	leni-tisch	langfris-tig	2800	0	Lundström, J. O., et al. (2010)
Tanypodinae	Tanypodinae	USA	leni-tisch	akut	34804	29	Rodcharoen, J., et al. (1991)
Tanypodinae	Tanypodinae	Deutschland	leni-tisch	akut	2880	18	Gerstle et al. (2023)
Tanypodinae	Tanypodinae	Südafrika	lotisch	akut	2400	100	De Moor, F., Car, M. (1986)
Tanypodinae	Tanypodinae	Elfenbein-küste	lotisch	akut	1920	0	Dejoux, C., et al. (1985)
<i>Tanytus punctipennis</i>	Tanypodinae	Deutschland	leni-tisch	akut	4840	0	Blank, M. (1993)
Tanytarsini	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	6300	75	Liber, K., et al. (1998)
Tanytarsini	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	3780	50	Liber, K., et al. (1998)
Tanytarsini	Tanytarsini	USA	leni-tisch	akut	2880	25	Liber, K., et al. (1998)
Tanytarsini	Tanytarsini	USA	leni-tisch	langfris-tig	2500	88	Ali, A. (1981)
Tanytarsini	Tanytarsini	USA	leni-tisch	langfris-tig	2500	65	Ali, A. (1981)
Tanytarsini	Tanytarsini	Elfenbein-küste	lotisch	akut	1920	0	Dejoux, C., et al. (1985)

Taxonomie	Unterfamilie	Untersuchungs- ort	Gewässertyp	Art der Unter- suchung	Dosis [ITU/L]	Reduktion Max. [%]	Literatur
<i>Tanytarsini</i>	<i>Tanytarsini</i>	Elfenbein- küste	lotisch	akut	1920	0	Dejoux, C., et al. (1985)
<i>Tanytarsini</i>	<i>Tanytarsini</i>	Südafrika	lotisch	akut	1150	0	Car, M., De Moor, F. (1984)
<i>Tanytarsini</i>	<i>Tanytarsini</i>	USA	leni- tisch	langfris- tig	1000	82	Ali, A. (1981)
<i>Tanytarsini</i>	<i>Tanytarsini</i>	USA	leni- tisch	langfris- tig	500	72	Ali, A. (1981)
<i>Tanytarsus curticornis</i>	<i>Tanytarsini</i>	Schweden	leni- tisch	langfris- tig	2800	0	Lundström, J. O., et al. (2010)
<i>Tanytarsus curticornis</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	3000	0	Duchet, C., et al. (2015)
<i>Tanytarsus curticornis</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	960	0	Duchet, C., et al. (2015)
<i>Tanytarsus fimbriatus</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	8040	96	Pont, D., et al. (1999)
<i>Tanytarsus fimbriatus</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	3960	89	Pont, D., et al. (1999)
<i>Tanytarsus fimbriatus</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	1920	54	Pont, D., et al. (1999)
<i>Tanytarsus horni</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	8040	93	Pont, D., et al. (1999)
<i>Tanytarsus horni</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	3960	72	Pont, D., et al. (1999)
<i>Tanytarsus horni</i>	<i>Tanytarsini</i>	Frankreich	leni- tisch	akut	1920	24	Pont, D., et al. (1999)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	USA	lotisch	akut	22200	0	Jackson, J. K., et al. (2002)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	Australien	leni- tisch	akut	6000	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	Australien	leni- tisch	akut	3750	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	Australien	leni- tisch	akut	1500	0	Stevens, M., et al. (2013)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	USA	leni- tisch	akut	18000	75	Liber, K., et al. (1998)
<i>Xenopelopia falcigera</i>	<i>Tanypodinae</i>	Deutschland	leni- tisch	akut	90000	0	Groß, A. (1994)

Anhang 2: Übersicht der ausgewerteten Publikationen mit Daten zur Bti-Sensitivität von Chironomiden aus Mesokomen- oder Laborversuchen. Die in der Originalliteratur angegebene Wirkkonzentration wurde zur einheitlichen Darstellung in die Angabe ITU/L umgerechnet. Die Reduktion gibt die maximale prozentuale Verringerung der gemessenen Abundanz an. Erhoben wurden ausschließlich Chironomidenlarven. Das entsprechende Larvenstadium ist angegeben.

Taxonomie	Unterfamilie	Larvenstadium	Dosis [ITU/L]	Reduktion Max. [%]	Autoren
<i>Chironominae</i>	<i>Chironominae</i>	gemischt	1175	0	Purcell, B. H. (1981)
<i>Chironomus annularius</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2400	50	Rey, D., et al. (1998)
<i>Chironomus annularius</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2400	67	Rey, D., et al. (1998)
<i>Chironomus annularius</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	1500	30	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus calligraphus</i>	<i>Chironomini</i>	4	38	50	Lavariás, S., et al. (2017)
<i>Chironomus calligraphus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	13	50	Lavariás, S., et al. (2017)
<i>Chironomus cingulatus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	24000	75	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus cingulatus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	12000	24	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus cingulatus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	6000	11	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus cingulatus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	3000	4	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	14080	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	12555	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	12500	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	4980	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3	3750	50	Ali, A. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	3750	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	42000	0	Garcia, R., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	16575	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	12800	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	4660	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	4200	0	Garcia, R., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3	2980	50	Ali, A. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	2980	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	1280	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	15000	80	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	15000	75	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	15000	85	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	6000	0	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	3000	0	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	1500	0	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	1	34	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	1	69	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	4	1884	50	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	4	1600	50	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	4	804	50	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	3	650	50	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	3	444	50	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	3	420	50	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus maturus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	42000	97	Garcia, R., et al. (1981)
<i>Chironomus maturus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	4200	97	Garcia, R., et al. (1981)
<i>Chironomus maturus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	420	47	Garcia, R., et al. (1981)
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	24000	70	Metzger, R. (1987)

Taxonomie	Unterfamilie	Larven- stadium	Dosis [ITU/L]	Reduktion Max. [%]	Autoren
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2520	100	Moraweski, J. (1983)
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2340	100	Moraweski, J. (1983)
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	756	100	Moraweski, J. (1983)
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	200	50	Larget, I., De Barjac, H. (1981)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	4	485	50	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3	169	50	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	40	50	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	26	50	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	2	16	50	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	8	50	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	7	50	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	2	50	Bordalo, M. D., et al. (2020)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	0,4	50	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	21	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	56	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus salinarius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	32400	50	Ali, A., et al. (1985)
<i>Chironomus salinarius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	21945	50	Ali, A., et al. (1985)
<i>Chironomus salinarius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	13380	50	Ali, A., et al. (1985)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	gemischt	19950	0	Chilcott, C., et al. (1983)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	2-3	6000	15	Metzger, R. (1987)
<i>Chironomus</i> sp.	<i>Chironomini</i>	gemischt	3000	0	Chilcott, C., et al. (1983)
<i>Chironomus tentans</i>	<i>Chironomini</i>	1	41	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus tentans</i>	<i>Chironomini</i>	1	100	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	1	300	50	Treverrow, N. L. (1985)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	4740	90	Treverrow, N. L. (1985)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2580	50	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2160	50	Treverrow, N. L. (1985)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2040	50	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2040	50	Stevens, M., et al. (2005)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1770	50	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1770	50	Stevens, M., et al. (2005)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1380	50	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	600	50	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus thummi thummi</i>	<i>Chironomini</i>	4	6930	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Chironomus thummi thummi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2970	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Chironomus thummi-group</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2520	100	Moraweski, J. (1983)
<i>Chironomus thummi-group</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	756	100	Moraweski, J. (1983)
<i>Chironomus zealandicus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	30000	93	Graggs, R., et al. (2005)
<i>Chironomus zealandicus</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	3000	93	Graggs, R., et al. (2005)
<i>Cricotopus sylvestris</i>	<i>Orthocladiinae</i>	gemischt	748	50	Fillinger, U. (1999).
<i>Endochironomus tendens</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2398	50	Fillinger, U. (1999).
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	15330	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	14925	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	1	13590	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	13170	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	8310	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	5210	50	Ali, A. (1981)

Taxonomie	Unterfamilie	Larven- stadium	Dosis [ITU/L]	Reduktion Max. [%]	Autoren
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	5210	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2541	50	Fillinger, U. (1999)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	1749	50	Fillinger, U. (1999)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	1307	50	Ali, A. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	1	270	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	1	150	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	16002	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	10275	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	9546	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	5610	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	432	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	336	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	214	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	150	50	Karch, S. and Y. Delage (2005)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	18008	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	12285	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	6573	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	6542	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	5985	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	513	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	4	1830	50	Fabis, R. (1995)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	4	1050	50	Fabis, R. (1995)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	1	1980	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	1	8172	50	Blank, D. M. (2023)
<i>Tanypodinae</i>	<i>Tanypodinae</i>	NA	756	100	Moraweski, J. (1983)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	7830	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	6190	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	4630	50	Ali, A. (1981)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	4630	50	Ali, A., et al. (1981)
<i>Xenopelopia nigricans</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	42735	50	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Xenopelopia nigricans</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	14910	50	Yiallourous, M., et al. (1999)

Anhang 3: Übersicht der ausgewerteten Publikationen mit Bioassay-Daten zur Bti-Sensitivität von Chironomiden. Die in der Originalliteratur angegebene Wirkkonzentration wurde zur einheitlichen Darstellung in die Angabe ITU/L umgerechnet. Die akute mittlere Letalität wurde entweder nach 24, 48 oder 72 Stunden erhoben. Das entsprechende Larvenstadium der Untersuchungen ist angegeben.

Taxonomie	Unterfamilie	Larvenstadium	Dosis [ITU/L]	Effekt	Literatur
<i>Chironomus annularius</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2400	LC50 (24h)	Rey, D., et al. (1998)
<i>Chironomus calligraphus</i>	<i>Chironomini</i>	4	38	LC50 (48h)	Lavarias, S., et al. (2017)
<i>Chironomus calligraphus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	13	LC50 (48h)	Lavarias, S., et al. (2017)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	14080	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	12555	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	12500	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	4980	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3	3750	LC50 (48h)	Ali, A. (1981)
<i>Chironomus crassicaudatus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	3750	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	16575	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	12800	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	4660	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3	2980	LC50 (48h)	Ali, A. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	2980	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus decorus</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	1280	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	1	34	LC50 (48h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus dorsalis</i>	<i>Chironomini</i>	1	69	LC50 (24h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	4	1884	LC50 (24h)	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	4	1600	LC50 (24h)	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	4	804	LC50 (24h)	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	3	650	LC50 (24h)	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	3	444	LC50 (24h)	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus kiiensis</i>	<i>Chironomini</i>	3	420	LC50 (24h)	Cao, C. W., et al. (2012)
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomini</i>	2-3	200	LC50 (48h)	Larget, I., De Barjac, H. (1981)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	4	485	LC50 (48h)	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3	169	LC50 (48h)	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	40	LC50 (48h)	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	26	LC50 (48h)	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	2	16	LC50 (48h)	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	8	LC50 (48h)	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	7	LC50 (48h)	Kästel, A., et al. (2017)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	2	LC50 (48h)	Bordalo, M. D., et al. (2020)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	0,4	LC50 (48h)	Charbonneau, C. S., et al. (1994)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	21	LC50 (48h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Chironomini</i>	1	56	LC50 (24h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus salinarius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	32400	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1985)
<i>Chironomus salinarius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	21945	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1985)
<i>Chironomus salinarius</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	13380	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1985)
<i>Chironomus tentans</i>	<i>Chironomini</i>	1	41	LC50 (48h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus tentans</i>	<i>Chironomini</i>	1	100	LC50 (24h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	1	300	LC50 (48h)	Treverrow, N. L. (1985)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2580	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2160	LC50 (48h)	Treverrow, N. L. (1985)

Taxonomie	Unterfamilie	Larven- stadium	Dosis [ITU/L]	Effekt	Literatur
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2040	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2040	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2005)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1770	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1770	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2005)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1770	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2005)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	1380	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus tepperi</i>	<i>Chironomini</i>	4	600	LC50 (48h)	Stevens, M., et al. (2004)
<i>Chironomus thummi thummi</i>	<i>Chironomini</i>	4	6930	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Chironomus thummi thummi</i>	<i>Chironomini</i>	4	2970	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Cricotopus sylvestris</i>	<i>Orthocladiinae</i>	gemischt	748	LC50 (48h)	Fillinger, U. (1999)
<i>Endochironomus tendens</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2398	LC50 (48h)	Fillinger, U. (1999)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	1533	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	1492	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	1	1359	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	1317	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	8310	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	5210	LC50 (48h)	Ali, A. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3	5210	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	2541	LC50 (48h)	Fillinger, U. (1999)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	gemischt	1749	LC50 (48h)	Fillinger, U. (1999)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	3-4	1307	LC50 (48h)	Ali, A. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	1	270	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Glyptotendipes paripes</i>	<i>Chironomini</i>	1	150	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	16002	LC50 (24h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	10275	LC50 (72h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	9546	LC50 (72h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	5610	LC50 (24h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	432	LC50 (72h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	336	LC50 (24h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	214	LC50 (72h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	<i>Tanytarsini</i>	3-4	150	LC50 (24h)	Karch, S. und Delage, Y. (2005)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	18008	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	12285	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	6573	LC50 (48h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	6542	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	5985	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrocladius psilopterus</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	513	LC50 (48h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	4	1830	LC50 (24h)	Fabis, R. (1995)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	4	1050	LC50 (48h)	Fabis, R. (1995)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	1	1980	LC50 (48h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Psectrotanypus varius</i>	<i>Tanypodinae</i>	1	8172	LC50 (24h)	Blank, D. M. (2023)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	7830	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	6190	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	4630	LC50 (48h)	Ali, A. (1981)
<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i>	3	4630	LC50 (48h)	Ali, A., et al. (1981)
<i>Xenopelopia nigricans</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	42735	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)
<i>Xenopelopia nigricans</i>	<i>Tanypodinae</i>	3-4	14910	LC50 (24h)	Yiallourous, M., et al. (1999)

Anhang zu Kapitel 4

Anhang 4: Aufstellung der im Naturschutzgebiet Rußheimer Altrhein vorkommenden Arten, auf die im Rahmen der Stechmückenbekämpfung besonders Rücksicht genommen werden muss (Becker et al., 1996a).

Trivialname	Wissenschaftlicher Name
Vögel	
Blaukelchen	<i>Luscinia scecica</i>
Drosselrohrsänger	<i>Acrocephalus arundinaceus</i>
Eisvogel	<i>Alcedo atthis</i>
Haubentaucher	<i>Podiceps cristatus</i>
Mäusebussard	<i>Buteo buteo</i>
Pirol	<i>Oriolus oriolus</i>
Rohrhammer	<i>Emberiza schoeniclus</i>
Schwarzer Milan	<i>Milvus migrans</i>
Sumpfrohrsänger	<i>Acrocephalus palustris</i>
Teichhuhn	<i>Gallinula chloropus</i>
Teichrohrsänger	<i>Acrocephalus scirpaceus</i>
Wespenbussard	<i>Pernis apivorus</i>
Zwergdommel	<i>Ixobrychus minutus</i>
Zwergtaucher	<i>Tachyvaptus ruficollis</i>
Amphibien	
Moorfrosch	<i>Rana arvalis</i>
Wasserfrosch	<i>Rana esculenta</i>
Pflanzen	
Braunes Cypergras	<i>Cyperus fuscus</i>
Freikantige Teichbinse	<i>Schoenoplectus triqueter</i>
Froschbiss	<i>Hydrocharis morsus-ranae</i>
Gelbe Schwertlilie	<i>Iris pseuacorus</i>
Gelbe Teichrose	<i>Nuphar lutea</i>
Nadelbinse	<i>Elocharis acicularis</i>
Knotenblütiger Sellerie	<i>Apium nodiflorum</i>
Schild-Ehrenpreis	<i>Veronica scutellata</i>
Schlammkraut	<i>Limnosella aquatica</i>
Schmalblättriger Rohrkolben	<i>Typha angustifolia</i>
Schwimmfarn	<i>Salvina natans</i>
Seekanne	<i>Nyphoides peltata</i>
Wasserfeder	<i>Hottonia palustris</i>

Trivialname	Wissenschaftlicher Name
Wassernuss	<i>Trapa natans</i>
Wasserschierling	<i>Cicuta virosa</i>
Weißer Seerose	<i>Nymphaea alba</i>
Wilder Reis	<i>Leersia oryzoides</i>
Sumpf-Wolfsmilch	<i>Euphorbia palustris</i>

Anhang 5: Aufstellung der im Naturschutzgebiet Hockenheimer Rheinbogen vorkommenden Arten, auf die im Rahmen der Stechmückenbekämpfung besonders Rücksicht genommen werden muss (Becker et al., 1996a).

Trivialname	Wissenschaftlicher Name
Vögel	
Mäusebussard	<i>Buteo buteo</i>
Pirol	<i>Oriolus oriolus</i>
Sumpfrohrsänger	<i>Acrocephalus palustris</i>
Teichrohrsänger	<i>Acrocephalus scirpaceus</i>
Amphibien	
Erdkröte	<i>Bufo bufo</i>
Pflanzen	
Sumpf-Wolfsmilch	<i>Euphorbia palustris</i>

Anhang 6: Häufigkeit der Nachweise einzelner Chironomidenarten innerhalb der Photoelektoren, dargestellt für die einzelnen Untersuchungsjahre

Chironomidenart	Σ Untersuchungsjahre	Σ 2019	Σ 1995	Σ 1996	Σ 1997
<i>Ablabemyia longistyla</i>	8	0	6	1	1
<i>Ablabemyia monilis</i>	2	0	0	2	0
<i>Ablabemyia phatta</i>	1	0	1	0	0
<i>Bryophaenocladus sp.</i>	6	0	0	4	2
<i>Chironomus cinglatus</i>	1	0	0	1	0
<i>Chironomus luridus</i>	1	1	0	0	0
<i>Chironomus nuditarsis</i>	5	5	0	0	0
<i>Chironomus plumosus</i>	4	0	3	0	1
<i>Chironomus pseudothummi</i>	5	0	3	0	2
<i>Chironomus riparius</i>	1	1	0	0	0
<i>Chironomus sp.</i>	22	1	12	3	6
<i>Cladolanytarsus atridorsum</i>	4	0	3	1	0
<i>Cladolanytarsus nigrovittatus</i>	3	0	1	0	2
<i>Cladotanytarsus mancus</i>	3	3	0	0	0
<i>Cladotanytarsus vanderwulpi</i>	3	0	1	0	2
<i>Cladopelma edwardsi</i>	6	0	5	1	0
<i>Cladopelma krusemani</i>	1	0	0	1	0
<i>Cladopelma virescens</i>	6	4	2	0	0

Chironomidenart	Σ Untersuchungsjahre	Σ 2019	Σ 1995	Σ 1996	Σ 1997
<i>Conchapelopia melanops</i>	5	0	2	3	0
<i>Corynoneura sp.</i>	7	0	3	0	4
<i>Corynoneura edwardsi</i>	5	0	1	0	4
<i>Corynoneura scutellata</i>	5	3	2	0	0
<i>Cricotopus (C.) annulator</i>	4	0	4	0	0
<i>Cricotopus (I.) bicinclus</i>	6	0	4	2	0
<i>Cricotopus (I.) intersectus</i>	15	0	7	2	6
<i>Cricotopus (C.) triannulatus</i>	6	0	4	2	0
<i>Cricotopus (I.) sylvestris</i>	28	6	10	4	8
<i>Cryptocladopelma viridula</i>	1	0	1	0	0
<i>Cryptocladopelma virescens</i>	3	0	3	0	0
<i>Cryptochironomus albofasciatus</i>	5	0	2	1	2
<i>Cryptochironomus obreptans</i>	2	1	0	0	1
<i>Cryptochironomus supplicans</i>	4	0	2	0	2
<i>Cryptochironomus virescens</i>	0	0	0	0	0
<i>Dicrotendipes notatus</i>	1	0	1	0	0
<i>Dicrotendipes lobiger</i>	6	0	2	4	0
<i>Dicrotendipes nervosus</i>	3	3	0	0	0
<i>Dicrotendipes tritomus</i>	12	0	10	0	2
<i>Dicrotendipes sp.</i>	2	2	0	0	0
<i>Einfeldia dissidens</i>	0	0	0	0	0
<i>Einfeldia lonipes</i>	2	0	2	0	0
<i>Endochironomus albipennis</i>	24	13	7	1	3
<i>Endochironomus tendens</i>	11	1	5	2	3
<i>Epoicocladus flavens</i>	2	0	1	1	0
<i>Glyptotendipes gripekoveni</i>	1	0	1	0	0
<i>Glyptotendipes pallens</i>	15	0	5	4	6
<i>Harnischia sp.</i>	1	0	1	0	0
<i>Harnischia curtilamellata</i>	1	0	1	0	0
<i>Harnischia fuscimana</i>	8	0	4	0	4
<i>Limnophyes edwardsi</i>	9	0	8	1	0
<i>Kiefferulus tendipediformis</i>	7	0	6	0	1
<i>Limnophyes habilis</i>	21	0	4	8	9
<i>Limnophyes minimus</i>	39	0	19	13	7
<i>Limnophyes pentaplastus</i>	1	1	0	0	0
<i>Limnophyes sp.</i>	18	18	0	0	0
<i>Macropelopia sp.</i>	1	1	0	0	0
<i>Macropelopia adaucla</i>	1	0	0	0	1
<i>Metriocnemus hirticollis</i>	1	0	0	1	0
<i>Microcricotopus bicolor</i>	3	0	3	0	0
<i>Microchironomus tener</i>	0	0	0	0	0
<i>Microspectra atofasciala</i>	5	0	4	0	1
<i>Microspectra junci</i>	1	0	1	0	0
<i>Microspectra notescens</i>	3	0	3	0	0
<i>Microtendipes pedellus</i>	5	0	2	0	3
<i>Monopelopia tenuicalcar</i>	5	0	4	0	1
<i>Nanocladius distinctus</i>	3	3	0	0	0
<i>Nanocladius bicolor</i>	4	0	3	0	1

Chironomidenart	Σ Untersuchungsjahre	Σ 2019	Σ 1995	Σ 1996	Σ 1997
<i>Natarsia punctata</i>	10	0	5	4	1
<i>Orthocladius sp.</i>	1	0	1	0	0
<i>Orthocladius obumbratus</i>	4	0	2	0	2
<i>Orthocladius (O.) cf. rubicundus</i>	1	0	1	0	0
<i>Parachironomus arcuatus</i>	19	0	9	4	6
<i>Parachironomus frequens</i>	4	0	4	0	0
<i>Parachironomus monochromus</i>	1	0	1	0	0
<i>Parachironomus varius</i>	1	0	0	0	1
<i>Paracladius conversus</i>	2	0	0	0	2
<i>Paratendipes albimanus</i>	8	0	6	1	1
<i>Paralauterborniella nigrohalteralis</i>	2	0	0	2	0
<i>Paralimnophyes hydrophilus</i>	1	0	0	1	0
<i>Paraphaenocladius impensus</i>	9	0	2	3	4
<i>Paratanytarsus natvigi</i>	2	0	2	0	0
<i>Paratanytarsus bituberculatus</i>	1	0	0	0	1
<i>Paratanytarsus inopertus</i>	11	0	8	2	1
<i>Paratrichocladius sp.</i>	1	0	1	0	0
<i>Paratrichocladius cf. rufiventris</i>	1	0	1	0	0
<i>Paratanytarsus dissimilis</i>	10	7	3	0	0
<i>Paratanytarsus intricatus</i>	8	1	3	0	4
<i>Paratanytarsus grimmii</i>	7	5	2	0	0
<i>Paratanytarsus laetipes</i>	1	1	0	0	0
<i>Paratanytarsus tenellutus</i>	0	0	0	0	0
<i>Paratanytarsus tenuis</i>	0	0	0	0	0
<i>Pentapedium tritum</i>	1	0	1	0	0
<i>Pentapedium unicum</i>	1	0	1	0	0
<i>Phaenopsectra flavipes</i>	10	3	7	0	0
<i>Polypedilum aculum</i>	1	0	1	0	0
<i>Polypedilum albicorne</i>	1	0	1	0	0
<i>Polypedilum convictum</i>	3	0	3	0	0
<i>Polypedilum cultellatum</i>	7	1	4	2	0
<i>Polypedilum laetum</i>	3	0	3	0	0
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	23	0	8	5	10
<i>Polypedilum pedestre</i>	1	0	1	0	0
<i>Polypedilum pullum</i>	5	0	3	1	1
<i>Polypedilum tritum</i>	1	0	1	0	0
<i>Polypedilum sordens</i>	23	5	7	5	6
<i>Procladius sagittalis</i>	7	7	0	0	0
<i>Procladius choreus</i>	22	0	8	6	8
<i>Procladius lugens</i>	1	0	0	1	0
<i>Psectrocladius limbatellus</i>	2	2	0	0	0
<i>Psectrocladius sordidellus</i>	4	0	3	0	1
<i>Psectrotanypus varius</i>	9	0	2	4	3
<i>Pseudosmittia trilobata</i>	2	0	0	0	2
<i>Pseudosmittia sp.</i>	12	6	0	5	1
<i>Prodiamesa olivacea</i>	2	2	0	0	0
<i>Rheocricotopus altripis</i>	1	0	1	0	0
<i>Rheocricotopus chalybeatus</i>	3	0	3	0	0

Chironomidenart	Σ Untersuchungsjahre	Σ 2019	Σ 1995	Σ 1996	Σ 1997
<i>Rheocricotopus fuscipes</i>	2	0	2	0	0
<i>Rheocricotopus effusus</i>	1	0	1	0	0
<i>Rheopelopia ca. maculipennis</i>	1	0	1	0	0
<i>Rheotanytarsus curtistylus</i>	1	0	0	1	0
<i>Rheotanytarsus muscicola</i>	8	0	6	1	1
<i>Rheotanytarsus photophilus</i>	1	0	1	0	0
<i>Smittia sp.</i>	20	6	3	8	3
<i>Smittia aterrima</i>	5	0	0	3	2
<i>Smittia nudipennis</i>	5	0	4	1	0
<i>Smittia pratorum</i>	2	0	0	0	2
<i>Smittia rufipennis</i>	4	0	4	0	0
<i>Schineriella schineri</i>	2	0	1	0	1
<i>Smittia scutellosetosa</i>	7	0	0	6	1
<i>Synorthocladius semivirens</i>	3	0	3	0	0
<i>Telopelopia fascigera</i>	3	0	3	0	0
<i>Tanypus punctipennis</i>	16	0	6	4	6
<i>Tanytarsus brundini</i>	2	0	2	0	0
<i>Tanytarsus ejunctus</i>	2	0	2	0	0
<i>Tanytarsus eminulus</i>	6	0	4	0	2
<i>Tanytarsus heusdensis</i>	5	0	4	0	1
<i>Tanytarsus holochlorus</i>	12	0	6	2	4
<i>Tanytarsus lestagei</i>	3	0	2	0	1
<i>Tanytarsus medius</i>	5	2	2	0	1
<i>Tanytarsus mendax</i>	4	4	0	0	0
<i>Tanytarsus occultus</i>	4	4	0	0	0
<i>Tanytarsus pallidicomis</i>	6	2	2	1	1
<i>Tanytarsus usmaensis</i>	7	0	3	1	3
<i>Tanytarsus sp.</i>	1	0	0	1	0
<i>Telmatopelopia nemorum</i>	1	0	0	0	1
<i>Thienemannia gracel</i>	1	0	0	0	1
<i>Thienmanniella sp.</i>	1	0	1	0	0
<i>Tventenia calvescens</i>	1	0	1	0	0
<i>Xenopelopia nigricans</i>	20	0	10	1	9
<i>Zavreliella mamorata</i>	5	0	2	0	3
Summe	811	125	364	139	183

Anhang 7: Eklektorfänge der Dipterenanalysen des Untersuchungsjahres 2019 sowie der Referenzdaten aus den Jahren 1995 – 1997 (Fillinger, 1999). Die Eklektor-ID beinhaltet drei Informationen, die jeweils über zwei Ziffern codiert sind: Die Jahreszahl, der Untersuchungsmonat und die Eklektoornummer. Die Zuordnung der Eklektoornummer ist dem Kapitel 4.4 zu entnehmen. N. b. = nicht bestimmbar.

Eklektor-ID	<i>Anisopodidae</i>	<i>Brachycera</i>	<i>Cecidomyiidae</i>	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>Chaoboridae</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Culicidae</i>	<i>Limoniidae</i>	<i>Mycetophilidae</i>	<i>Psychodidae</i>	<i>Scatopsidae</i>	<i>Sciaridae</i>	<i>Simuliidae</i>	<i>Tipulidae</i>	<i>Trichoceridae</i>	n.b.
190401	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190402	0	11	0	0	0	2	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
190403	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
190404	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190405	0	10	0	0	0	4	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
190406	0	12	0	0	0	3	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
190407	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190408	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190409	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190411	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190412	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190413	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190414	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190415	0	27	9	2	0	0	0	0	2	0	0	15	0	0	0	1
190416	0	2	0	0	0	194	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190417	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190418	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190501	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190502	0	21	0	0	0	1	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
190503	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	1	0	0
190504	0	25	0	0	0	0	0	0	1	0	0	17	0	15	1	0
190505	0	14	1	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
190506	0	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
190507	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190508	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190509	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190510	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190511	0	11	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0
190512	0	14	5	0	0	2	0	0	0	0	0	4	0	0	4	2
190513	0	23	1	0	0	11	0	0	28	0	0	32	0	0	0	0
190514	0	8	0	1	0	6	0	0	25	0	0	78	0	0	0	0
190515	0	7	0	103	0	775	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
190516	0	2	0	95	2	1366	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
190517	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190518	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190601	0	55	23	0	0	1	1	0	0	0	0	5	0	2	0	60
190602	0	1180	82	0	0	0	0	0	0	2	0	59	0	8	0	36
190603	0	51	32	0	13	6	0	0	0	0	0	5	0	0	0	231

Eklektor-ID	<i>Anisopodidae</i>	<i>Brachycera</i>	<i>Cecidomyiidae</i>	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>Chaoboridae</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Culicidae</i>	<i>Limoniidae</i>	<i>Mycetophilidae</i>	<i>Psychodidae</i>	<i>Scatopsidae</i>	<i>Sciaridae</i>	<i>Simuliidae</i>	<i>Tipulidae</i>	<i>Trichoceridae</i>	n.b.
190604	0	103	10	0	1632	40	3	0	0	1	1	2	0	0	0	2
190605	0	150	7	0	0	5	0	0	1	0	0	87	0	6	0	7
190606	0	235	7	0	0	0	0	0	4	1	0	64	0	22	0	5
190607	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190608	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190609	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190610	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190611	0	35	26	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	0	0	0
190612	0	60	51	0	0	1	0	0	4	0	0	62	0	4	1	0
190613	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190614	0	0	0	0	0	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190615	0	6	0	0	2	2131	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3
190616	0	6	0	0	0	2084	0	0	0	1	0	1	0	0	0	5
190617	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190618	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
190701	0	197	32	0	0	59	3	0	1	0	0	16	0	0	0	0
190702	0	143	47	0	0	1	3	0	5	0	0	46	0	1	1	0
190703	0	155	39	0	0	0	0	0	2	0	0	137	0	0	0	0
190704	0	628	62	0	0	18	170	0	4	11	0	110	0	0	0	0
190705	0	200	21	0	1	1	3	0	2	1	0	86	0	1	3	3
190706	0	291	21	0	0	1	2	0	4	1	0	114	0	0	0	2
190707	0	513	2	15	1	316	17	0	2	67	0	5	0	0	0	12
190708	0	633	16	50	2	468	47	0	0	127	0	43	0	1	0	21
190709	0	409	0	2	21	893	0	0	0	7	0	5	0	1	0	3
190710	0	333	2	0	1	290	2	0	1	1	0	13	1	3	0	1
190711	0	233	72	0	0	6	5	0	1	1	0	80	0	0	0	5
190712	0	175	66	0	0	0	3	0	16	0	0	119	0	0	2	0
190713	0	82	4	0	0	20	2	0	2	0	0	4	0	0	0	2
190714	0	41	0	0	0	56	4	0	0	0	0	2	0	0	0	0
190715	0	637	0	0	0	428	9	0	0	0	0	2	1	0	0	4
190716	0	208	0	0	1	852	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0
190717	0	84	0	1	9	1268	3	0	0	2	0	4	0	0	0	0
190718	0	2	0	0	29	1018	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
190801	0	30	1	0	0	0	0	0	1	0	0	12	0	0	0	1
190802	0	86	2	0	0	0	0	0	4	0	0	64	0	0	0	0
190803	0	108	22	0	0	0	1	0	22	0	0	164	0	0	0	1
190804	0	67	18	0	0	3	0	0	8	0	0	59	0	0	0	0
190805	0	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	4	0
190806	0	118	2	0	0	0	0	0	28	0	0	43	0	0	0	0
190807	0	484	7	31	0	651	17	0	3	73	0	7	0	1	3	2
190808	0	390	10	54	0	634	19	0	2	131	0	3	0	0	8	6
190809	0	226	0	8	0	148	2	0	0	6	0	5	0	0	0	0
190810	0	54	0	0	2	398	1	0	0	6	0	3	0	0	0	1
190811	0	71	19	0	0	4	0	0	0	0	0	42	0	0	0	1

Elekktor-ID	<i>Anisopodidae</i>	<i>Brachycera</i>	<i>Cecidomyiidae</i>	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>Chaoboridae</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Culicidae</i>	<i>Limoniidae</i>	<i>Mycetophilidae</i>	<i>Psychodidae</i>	<i>Scatopsidae</i>	<i>Sciaridae</i>	<i>Simuliidae</i>	<i>Tipulidae</i>	<i>Trichoceridae</i>	n.b.
950402	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950403	0	28	0	0	0	15	0	1	0	8	0	24	0	0	0	0
950404	0	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950405	0	7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0	0	0
950411	0	21	7	0	0	7	0	0	0	0	1	6	0	0	0	0
950412	0	16	6	0	0	5	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
950413	0	1	0	0	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950414	0	0	0	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950415	0	0	0	0	5	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950416	0	0	0	1	1	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950501	0	4	1	3	1	184	223	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950502	0	4	0	0	2	285	74	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950503	0	28	0	2	0	5	6	0	1	16	0	10	0	0	0	0
950504	0	49	0	3	0	13	3	0	22	12	0	15	0	0	0	0
950505	0	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0
950511	0	48	0	0	0	3	0	0	5	2	0	5	0	0	0	0
950512	0	59	3	1	0	3	0	4	5	0	1	11	0	0	0	0
950513	0	0	0	0	7	5	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950514	0	0	0	0	58	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950515	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950516	0	2	0	0	64	315	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
950601	0	0	0	2	5	2528	7	0	0	0	2	0	0	0	0	0
950602	0	14	0	0	6	2168	15	0	1	0	0	0	0	0	0	0
950603	0	11	0	2	0	4431	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0
950604	0	2	0	2	0	1791	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
950605	0	47	0	1	0	15	0	0	265	15	0	15	0	0	0	0
950611	0	38	2	0	0	0	0	0	0	2	0	8	0	0	0	0
950612	0	42	3	0	0	3	0	0	17	0	0	22	0	1	0	0
950613	0	0	0	0	14	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950614	0	0	0	0	42	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950615	0	0	0	0	0	259	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950616	0	0	0	0	153	71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950701	0	97	0	5	1	1083	5	3	0	0	0	1	0	0	0	0
950702	0	10	0	3	8	791	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0
950703	0	131	70	22	0	1963	3	0	33	88	0	62	0	0	0	0
950704	0	96	18	62	0	1807	2	2	66	128	0	47	0	0	0	0
950705	0	204	20	0	0	14	0	0	36	25	0	68	0	0	0	0
950711	0	57	0	0	1	25	1	0	17	14	0	51	0	0	0	0
950712	0	75	5	0	4	37	0	0	40	7	0	18	0	0	0	0
950713	0	8	0	1	114	13	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
950714	0	0	0	1	120	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950715	0	50	0	69	63	588	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950716	0	24	0	214	17	1250	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
950801	0	400	109	37	0	44	3	3	2	40	0	50	0	0	0	0

Elekktor-ID	<i>Anisopodidae</i>	<i>Brachycera</i>	<i>Cecidomyiidae</i>	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>Chaoboridae</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Culicidae</i>	<i>Limoniidae</i>	<i>Mycetophilidae</i>	<i>Psychodidae</i>	<i>Scatopsidae</i>	<i>Sciaridae</i>	<i>Simuliidae</i>	<i>Tipulidae</i>	<i>Trichoceridae</i>	n.b.
951202	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
951203	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
951204	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
951205	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
951211	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
951212	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
951213	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
951214	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
951215	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
951216	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
960101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960113	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960201	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
960202	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960203	0	7	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
960204	0	64	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0
960205	0	7	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
960211	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960212	0	1	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
960213	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960214	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960215	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
960301	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
960302	0	5	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
960303	0	2	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0	0	4	0
960304	0	50	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
960305	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0
960311	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0
960312	0	0	0	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0	0	0	0
960313	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
960314	0	5	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	2	0
960315	0	6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	7	0
960401	0	6	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
960402	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960403	0	10	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
960404	0	9	0	0	0	3	0	0	1	0	0	4	0	0	0	0

Eklektor-ID	<i>Anisopodidae</i>	<i>Brachycera</i>	<i>Cecidomyiidae</i>	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>Chaoboridae</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Culicidae</i>	<i>Limoniidae</i>	<i>Mycetophilidae</i>	<i>Psychodidae</i>	<i>Scatopsidae</i>	<i>Sciaridae</i>	<i>Simuliidae</i>	<i>Tipulidae</i>	<i>Trichoceridae</i>	n.b.
960405	0	5	0	0	0	3	0	0	1	1	0	8	0	0	0	0
960411	0	5	0	0	0	49	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0
960412	0	0	0	0	0	10	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0
960413	0	2	0	0	0	68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960414	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960415	0	7	0	0	6	343	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
960501	0	10	1	0	0	1	0	0	0	4	0	13	0	0	0	0
960502	0	27	0	0	0	0	0	0	1	3	0	10	0	0	0	0
960503	0	90	7	1	0	15	0	0	0	7	0	17	0	2	0	0
960504	1	116	48	1	0	9	0	0	0	39	0	214	0	1	0	0
960505	0	22	4	0	0	3	0	0	5	4	0	63	0	0	0	0
960511	0	36	3	0	0	9	0	7	4	1	2	52	0	7	0	0
960512	0	29	0	0	0	11	0	4	8	2	0	12	0	0	0	0
960513	0	35	0	0	0	215	0	1	0	16	0	3	0	0	0	0
960514	0	8	0	0	0	13	0	0	0	9	0	2	0	0	0	0
960515	0	0	0	255	669	855	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
960601	0	26	2	0	0	0	0	0	0	1	0	6	0	0	0	0
960602	0	23	0	0	0	0	0	0	0	2	0	6	0	0	0	0
960603	0	189	3	0	0	11	4	0	0	13	0	7	0	0	0	0
960604	1	141	4	0	0	23	0	0	0	20	1	12	0	0	0	0
960605	0	36	8	0	0	0	0	0	1	10	1	306	0	0	0	0
960611	0	46	0	0	0	0	0	2	4	0	0	9	0	3	0	0
960612	0	23	0	0	0	4	0	5	0	0	0	4	0	10	0	0
960613	0	76	0	14	2	13	0	1	0	7	0	6	0	0	0	0
960614	0	191	4	24	0	44	2	8	530	14	0	3	0	0	0	0
960615	0	136	0	29	184	558	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960701	0	216	14	21	2	32	0	1	6	59	1	60	0	0	0	0
960702	0	162	6	18	0	13	0	0	10	19	1	24	0	0	0	0
960703	1	235	16	22	1	89	1	3	0	160	1	98	0	0	0	0
960704	0	506	12	8	2	12	8	8	1	141	8	67	0	0	0	0
960705	0	41	6	0	0	3	0	0	0	0	0	158	0	0	0	0
960711	0	45	0	1	0	5	0	1	0	4	0	51	0	0	0	0
960712	0	179	0	0	0	11	0	7	4	9	2	10	0	0	0	0
960713	0	174	2	16	0	228	0	7	3	20	0	24	0	0	0	0
960714	0	327	0	117	0	219	3	12	2144	40	0	16	0	0	0	0
960715	0	21	0	65	227	748	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
960801	0	123	3	34	0	3	0	0	7	1	0	41	0	0	0	0
960802	0	239	14	0	0	0	0	0	10	5	0	24	0	0	0	0
960803	0	212	14	90	0	18	1	0	3	27	9	84	0	0	0	0
960804	0	270	12	20	0	0	1	2	7	16	1	63	0	0	0	0
960805	0	90	0	0	0	3	0	0	8	5	5	52	0	0	0	0
960811	0	24	0	0	0	0	0	0	0	13	0	32	0	0	0	0
960812	0	79	2	1	0	18	0	0	3	22	0	25	0	0	0	0
960813	0	192	4	17	0	181	6	11	25	32	0	38	0	0	0	0

Anhang zu Kapitel 5

Anhang 8: Übersicht über die relevanten Arten in der Stechmückenbrutstätte 67-1002, auf die im Rahmen der Stechmückenbekämpfung besonders Rücksicht genommen werden muss (Becker et al., 1996b).

Trivialname	Wissenschaftlicher Name
Vögel	
Graureiher	<i>Ardea cinerea</i>
Haubentaucher	<i>Podiceps cristatus</i>
Pirol	<i>Oriolus oriolus</i>
Rohrhammer	<i>Emberiza schoeniclus</i>
Schilfrohrsänger	<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>
Schwarzmilan	<i>Milvus migrans</i>
Steinkauz	<i>Athene noctua</i>
Sumpfrohrsänger	<i>Acrocephalus palustris</i>
Teichhuhn	<i>Gallinula chloropus</i>
Teichrohrsänger	<i>Acrocephalus scirpaceus</i>
Turmfalke	<i>Falco tinnuculus</i>
Zwergtaucher	<i>Podiceps ruficollis</i>
Amphibien	
Gelbbauchunke	<i>Bombina variegata</i>
Kreuzkröte	<i>Bufo calamita</i>
Moorfrosch	<i>Rana arvalis</i>
Pflanzen	
Arznei-Haarstrang	<i>Peucedanum officinale</i>
Dornige Hauhechel	<i>Ononis spinosa</i>
Helm-Knabenkraut	<i>Orchis militaris</i>
Kanten-Lauch	<i>Allium angulosum</i>
Kümmel-Haarstrang	<i>Peucedanum carvifolia</i>
Seekanne	<i>Nymphoides peltata</i>
Steppen-Wolfsmilch	<i>Euphorbia seguieriana</i>
Weiden-Alant	<i>Inula salicina</i>
Wiesen-Alant	<i>Inula britannica</i>
Wildrebe	<i>Vitis vinifera ssp. sylvestris</i>

Anhang 9: Erhobene biotische Umweltfaktoren an den Untersuchungsstandorten

Standort	Helophytenbedeckung	Hydrophytenbedeckung	Substrat	Faulschlamm	Externes organisches Material	Böden
I1	Nein	flächendeckend	Kies/Sand	ja	nein	Sediment
U5	Teilweise	teilweise	Schluff/Ton	nein	teilweise	Nassgley
B5	Teilweise	teilweise	Schluff/Ton	nein	teilweise	Nassgley
U4	Ja	selten	Tonschlamm	ja	viel	Auengley
B4	Ja	selten	Tonschlamm	nein	teilweise	Auengley
U3	Ja	nein	terrestrischer Boden	nein	teilweise	Auengley
B3	Ja	nein	terrestrischer Boden	nein	viel	Auengley
U1	Nein	nein	terrestrischer Boden	nein	teilweise	Brauner Außenboden - Auengley
B1	Nein	nein	terrestrischer Boden	nein	teilweise	Brauner Außenboden - Auengley

Anhang 10: Umweltfaktor Überflutungsdauer, gemessen in Tagen. Kontaktfeucht = keine Überflutung, jedoch feuchter Boden vorhanden

Datum	U1	B1	U3	B3	U4	B4	U5	B5	I1
07.05.20	0	0	0	0	kontaktfeucht	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
14.05.20	0	0	0	≤ 7	≤ 7	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
28.05.20	0	0	0	0	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
11.06.20	0	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
25.06.20	0	0	≤ 7	≤ 7	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
09.07.20	0	0	≤ 14	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
23.07.20	0	0	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
06.08.20	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
12.08.20	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
20.08.20	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
27.08.20	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
03.09.20	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
10.09.20	0	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
17.09.20	0	0	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
24.09.20	0	0	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	≥ 28	≥ 28	≥ 28
01.10.20	0	0	≤ 7	≤ 21	≤ 7	≤ 7	≥ 28	≥ 28	≥ 28
08.10.20	≤ 7	≤ 7	≤ 14	≥ 28	≤ 14	≤ 14	≥ 28	≥ 28	≥ 28
15.10.20	≤ 14	≤ 14	≤ 21	≥ 28	≤ 21	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28
12.11.20	≤ 28	≤ 28	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
17.12.20	0	0	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
05.03.22	0	0	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
21.04.22	0	0	0	0	kontaktfeucht	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
02.06.22	0	0	0	≤ 7	≤ 7	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
28.06.22	0	0	0	0	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
28.07.22	0	0	0	0	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
22.08.22	0	0	≤ 7	≤ 7	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28

Datum	U1	B1	U3	B3	U4	B4	U5	B5	11
27.09.22	0	0	≤ 14	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28
05.11.22	0	0	≤ 21	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28	≥ 28

Anhang 11: Umweltfaktor Trockenheit, gemessen in Tagen. Kontaktfeucht = keine Überflutung, jedoch feuchter Boden vorhanden

Datum	U1	B1	U3	B3	U4	B4	U5	B5	11
07.05.20	> 30	> 30	0	≥ 30	kontaktfeucht	0	0	0	0
14.05.20	> 30	> 30	≤ 7	0	0	0	0	0	0
28.05.20	> 30	> 30	≤ 14	≤ 7	0	0	0	0	0
11.06.20	> 30	> 30	0	≤ 21	0	0	0	0	0
25.06.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
09.07.20	> 30	> 30		0	0	0	0	0	0
23.07.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
06.08.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
12.08.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
20.08.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
27.08.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
03.09.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
10.09.20	> 30	> 30	≤ 7	≤ 7	0	0	0	0	0
17.09.20	> 30	> 30	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	0	0	0	0
24.09.20	> 30	> 30	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	0	0	0
01.10.20	> 30	> 30	0	0	0	0	0	0	0
08.10.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15.10.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12.11.20	0	0	≤ 7	0	0	0	0	0	0
17.12.20	≤ 7	≤ 7	≤ 14	≤ 7	0	0	0	0	0
05.03.22	≤ 14	≤ 14	≤ 21	≤ 14	0	0	0	0	0
21.04.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	0	0	0	0
02.06.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	0	0	0	0
28.06.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	0	0	0	0
28.07.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	0	0	0	0
22.08.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	kontaktfeucht	kontaktfeucht	0	0	0
27.09.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	≤ 7	≤ 7	0	0	0
05.11.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	kontaktfeucht	kontaktfeucht	≤ 7	≤ 7	0

Anhang 12: Pegelstand an den Probestellen. Pegelhöhe wird in cm angegeben. Kontaktfeucht = keine Überflutung, jedoch feuchter Boden vorhanden

Datum	U1	B1	U3	B3	U4	B4	U5	B5	11
07.05.20	0	0	0	0	kontaktfeucht	15	80	80	>100
14.05.20	0	0	0	15	30	15	80	70	>100
28.05.20	0	0	0	0	15	20	70	70	>100
11.06.20	0	0	0	0	15	20	70	60	>100
25.06.20	0	0	40	40	70	50	>100	>100	>100
09.07.20	0	0	45	45	75	60	>100	>100	>100
23.07.20	0	0	15	15	40	45	70	70	>100
06.08.20	0	0	50	80	70	30	>100	>100	>100
12.08.20	0	0	40	15	60	15	80	70	>100
20.08.20	0	0	60	15	50	30	80	70	>100
27.08.20	0	0	0	15	20	20	80	70	>100
03.09.20	0	0	0	5	20	15	90	70	>100
10.09.20	0	0	5	0	20	10	60	50	>100
17.09.20	0	0	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	5	50	40	80
24.09.20	0	0	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	kontaktfeucht	40	30	70
01.10.20	0	0	5	15	35	30	40	50	80
08.10.20	15	10	15	45	45	40	70	60	80
15.10.20	15	15	20	45	60	30	100	100	>100
12.11.20	0	0	0	0	40	30	100	100	>100
17.12.20	0	0	0	0	40	30	100	100	>100
05.03.22	nd	nd	nd	nd	15	20	70	60	>100
21.04.22	nd	nd	nd	nd	30	30	50	40	>100
02.06.22	nd	nd	nd	nd	15	20	45	30	80
28.06.22	nd	nd	nd	nd	15	20	40	30	80
28.07.22	nd	nd	nd	nd	kontaktfeucht	kontaktfeucht	30	30	70
22.08.22	nd	nd	nd	nd	0	0	0	0	60
27.09.22	nd	nd	nd	nd	0	0	0	0	60
05.11.22	nd	nd	nd	nd	kontaktfeucht	kontaktfeucht	50	30	70

Anhang 13: Wetterdaten an Probenahmetagen

Datum	Temperatur min.	Temperatur max.	Mitteltempera- tur	Nieder- schlag	Sonnen- schein	Wind max.
07.05.20	3,2	23	14	0	13,5	4
14.05.20	6,3	16,3	11,6	0	6,1	5
28.05.20	9,8	22,7	17,4	0	13,6	6
11.06.20	12	19,3	15,2	0,5	1,9	4
25.06.20	6,3	26,6	22,3	0	13,1	5
09.07.20	15,5	31,1	22,9	0	9,1	6
23.07.20	12,8	27,2	20,7	0	13,8	6
06.08.20	11,9	31,3	22,6	0	13,6	4
12.08.20	21,6	36,3	27,8	0,1	10,1	8
20.08.20	19,7	33	25,7	0	9,2	4
25.08.20	13,1	24,8	18,5	0	3,5	4
27.08.20	10,2	24,2	18,4	1,7	8,5	4
03.09.20	9,6	23,5	17,6	0	3,6	5
10.09.20	17,7	23,2	20	0	0,7	4
17.09.20	15,3	23,5	19,2	0	9	6
24.09.20	13,5	19,9	16,9	16	3,6	5
01.10.20	7,7	18,5	13,2	0,7	2,1	4
08.10.20	8,9	16,1	13,5	0,9	0,2	6
15.10.20	7,4	10,7	9	0,4	0	5
28.10.20	9,9	15,6	12,3	6	2,5	6
12.11.20	2,4	11,7	8,9	0	1	5
17.12.20	4,3	11,1	7,1	0	0,4	4
05.03.22	-5	8,4	2,3	0	10,1	4
21.04.22	4,5	17,2	11,7	0	5,5	5
02.06.22	6,6	24,5	17,3	0	14,6	4
28.06.22	11,8	27,8	21,2	0	13,2	4
28.07.22	14,2	29,7	22,7	0	6,8	5
22.08.22	13,7	30,9	23,2	0	10,4	4
27.09.22	9	14,3	10,7	6	2	5
05.11.22	6	12	9	0,7	1,5	4

Anhang 14: Larvenfänge nach Art alphabetisch sortiert. Zur besseren graphischen Darstellung ist die Tabelle in drei Abschnitte Artnamen I–III gegliedert.

			Artnamen I (von insgesamt III)																		
Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus aprilinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>	
14.05.2020	11	I												2							
14.05.2020	11	II												3							
14.05.2020	11	III												12							
14.05.2020	11	IV												4							
14.05.2020	11	V												7							
14.05.2020	11	VI												9							
14.05.2020	B4	I												15							
14.05.2020	B4	II												2							
14.05.2020	B4	III												4							
14.05.2020	B4	IV												13							
14.05.2020	B4	V				7															
14.05.2020	B4	VI												7							
14.05.2020	B5	I							5					8							
14.05.2020	B5	II												2							
14.05.2020	B5	III												7							
14.05.2020	B5	IV												10							
14.05.2020	B5	V												6							
14.05.2020	B5	VI												4							
14.05.2020	U5	I																			
14.05.2020	U5	II												5							
14.05.2020	U5	III							2					1							
14.05.2020	U5	IV												7							
14.05.2020	U5	V												4							
14.05.2020	U5	VI												5							
28.05.2020	11	III																			
28.05.2020	11	IV												20							
28.05.2020	11	V												8							
28.05.2020	11	VI												11							
28.05.2020	B4	II												1							
28.05.2020	B4	III												2							
28.05.2020	B4	VI												1							
28.05.2020	B5	I												37							
28.05.2020	B5	II							1					10							
28.05.2020	B5	III												6							

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
25.06.2020	U4	IV												1						
25.06.2020	U5	I												1						
25.06.2020	U5	II						1						2						
25.06.2020	U5	III												1						
25.06.2020	U5	IV												2						
25.06.2020	U5	V												1						
25.06.2020	U5	VI																		
09.07.2020	11	I												6						
09.07.2020	11	II												10			1			
09.07.2020	11	III												9						
09.07.2020	11	IV						2												
09.07.2020	11	V												4						
09.07.2020	11	VI				2														
09.07.2020	B4	I						9						5						
09.07.2020	B4	II						2						4						
09.07.2020	B4	III						5												
09.07.2020	B4	IV												5						
09.07.2020	B4	V												11						
09.07.2020	B4	VI				3								1						
09.07.2020	B5	I												1						
09.07.2020	B5	II												5						
09.07.2020	B5	III																		
09.07.2020	B5	IV						1						2						
09.07.2020	B5	V												1						
09.07.2020	B5	VI																		
09.07.2020	U4	II					4													
09.07.2020	U5	I												13						
09.07.2020	U5	II												9						
09.07.2020	U5	III												3						
09.07.2020	U5	IV												6						
09.07.2020	U5	V												13						
09.07.2020	U5	VI												1						
23.07.2020	B4	I												49						
23.07.2020	B4	II												35						
23.07.2020	B4	III												34						
23.07.2020	B4	IV												17						
23.07.2020	B4	V												15						

Artnamen I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
06.08.2020	U4	V																		
06.08.2020	U4	VI																		
06.08.2020	U5	I																		
06.08.2020	U5	II																		
06.08.2020	U5	III												2						
06.08.2020	U5	IV																		
06.08.2020	U5	V																		
06.08.2020	U5	VI																2		
12.08.2020	B4	I												26						
12.08.2020	B4	II												12						
12.08.2020	B4	III												10						
12.08.2020	B4	IV						2						34						
12.08.2020	B4	V												20						
12.08.2020	B4	VI												40						
12.08.2020	U4	I																		
12.08.2020	U4	II												14						
12.08.2020	U4	III									7									
12.08.2020	U4	IV																		
12.08.2020	U4	V									2				1					
12.08.2020	U4	VI																		
20.08.2020	11	I												7						
20.08.2020	11	II												10						
20.08.2020	11	III												7						
20.08.2020	11	IV												8						
20.08.2020	11	V												10						
20.08.2020	11	VI												10						
20.08.2020	B4	I												3						
20.08.2020	B4	II												11						
20.08.2020	B4	III												14						
20.08.2020	B4	IV						2						1						
20.08.2020	B4	V												9						
20.08.2020	B4	VI												10						
20.08.2020	B5	I																		
20.08.2020	B5	II												1						
20.08.2020	B5	III																		
20.08.2020	B5	IV												1						
20.08.2020	B5	V												1						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
20.08.2020	B5	VI																		
20.08.2020	U4	I			2									2						
20.08.2020	U4	II						2							2					
20.08.2020	U4	III				2								1	2					
20.08.2020	U4	IV												1						
20.08.2020	U4	V												4						
20.08.2020	U4	VI				2														
20.08.2020	U5	I																		
20.08.2020	U5	II																		
20.08.2020	U5	IV												1						
20.08.2020	U5	V																		
20.08.2020	U5	VI																		
27.08.2020	11	I												5						
27.08.2020	11	II												24						
27.08.2020	11	III												9						
27.08.2020	B4	I				3								3						
27.08.2020	B4	II												26						
27.08.2020	B4	III												18						
27.08.2020	B4	IV												22						
27.08.2020	B4	V												58						
27.08.2020	B4	VI												34						
27.08.2020	U4	II				2														
27.08.2020	U4	III																		
27.08.2020	U4	IV																		
27.08.2020	U4	V																		
27.08.2020	U4	VI																		
03.09.2020	11	I												3						
03.09.2020	11	II												13						
03.09.2020	11	III												8						
03.09.2020	11	IV												5						
03.09.2020	11	VI												9						
03.09.2020	B3	II																		
03.09.2020	B4	I												5						
03.09.2020	B4	II												12						
03.09.2020	B4	III												44						
03.09.2020	B4	IV												16						
03.09.2020	B4	V												19						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
03.09.2020	B4	VI												29						
03.09.2020	B5	I												1						
03.09.2020	B5	III																		
03.09.2020	B5	IV																		
03.09.2020	B5	VI												1						
03.09.2020	U4	I																		
03.09.2020	U4	II																		
03.09.2020	U4	III				1														
03.09.2020	U4	IV																		
03.09.2020	U4	V																		
03.09.2020	U4	VI																		
03.09.2020	U5	I																		
03.09.2020	U5	VI																		
10.09.2020	B4	I												64						
10.09.2020	B4	II												192						
10.09.2020	B4	III						56						56						
10.09.2020	B4	IV												32						
10.09.2020	B4	V												68						
10.09.2020	B4	VI												156						
10.09.2020	U4	I																		
10.09.2020	U4	II				1								1						
10.09.2020	U4	III									4									
10.09.2020	U4	IV												4						
10.09.2020	U4	V												1	1					
10.09.2020	U4	VI												16						
17.09.2020	11	I												2						
17.09.2020	11	II												4						
17.09.2020	11	III												2						
17.09.2020	11	IV												5						
17.09.2020	11	V												2						
17.09.2020	11	VI												2						
17.09.2020	B4	I												41						
17.09.2020	B4	II						4						14						
17.09.2020	B4	III												28						
17.09.2020	B4	IV												36						
17.09.2020	B4	V						1						63						
17.09.2020	B4	VI						1						31						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanypus nervosus</i>
17.09.2020	B5	I																		
17.09.2020	B5	II																		
17.09.2020	B5	III																		
17.09.2020	B5	IV												2						
17.09.2020	B5	V																		
17.09.2020	B5	VI																		
17.09.2020	U4	I																		
17.09.2020	U4	II																		
17.09.2020	U4	III						2												
17.09.2020	U4	IV																		
17.09.2020	U4	V																		
17.09.2020	U4	VI																		
17.09.2020	U5	II																		
17.09.2020	U5	III																		
17.09.2020	U5	V																		
24.09.2020	B4	I												4						
24.09.2020	B4	II												4						
24.09.2020	B4	III												22						
24.09.2020	B4	IV												36						
24.09.2020	B4	V												61						
24.09.2020	B4	VI												39						
24.09.2020	U4	I																		
24.09.2020	U4	II																		
24.09.2020	U4	III																		
24.09.2020	U4	IV												2						
24.09.2020	U4	V																		
24.09.2020	U4	VI																		
01.10.2020	11	I												4						
01.10.2020	11	II												2						
01.10.2020	11	III												2						
01.10.2020	11	IV												3						
01.10.2020	11	V						1						1						
01.10.2020	11	VI												2						
01.10.2020	B4	I												27						
01.10.2020	B4	II												15						
01.10.2020	B4	III												11						
01.10.2020	B4	IV												10						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
01.10.2020	B4	V												48						
01.10.2020	B4	VI												42						
01.10.2020	B5	I																		
01.10.2020	B5	II																		
01.10.2020	B5	III												2						
01.10.2020	B5	IV																		
01.10.2020	B5	V						1												
01.10.2020	B5	VI												1						
01.10.2020	U4	I																		
01.10.2020	U4	II																		
01.10.2020	U4	III																		
01.10.2020	U4	IV																		
01.10.2020	U5	II																		5
01.10.2020	U5	III						1												3
01.10.2020	U5	IV																		
01.10.2020	U5	VI																		2
08.10.2020	B3	III												84						
08.10.2020	B4	I												76						
08.10.2020	B4	II						1						34						
08.10.2020	B4	III																		
08.10.2020	B4	IV												29						
08.10.2020	B4	V																		
08.10.2020	B4	VI												122						
08.10.2020	U4	I																		
08.10.2020	U4	II																		
08.10.2020	U4	IV																		
08.10.2020	U4	VI																		
15.10.2020	11	I												3						
15.10.2020	11	III												3						
15.10.2020	11	IV												4						
15.10.2020	11	VI												5						
15.10.2020	B3	IV																		
15.10.2020	B4	I												49						
15.10.2020	B4	II																		
15.10.2020	B4	III						2						35						
15.10.2020	B4	IV												40						
15.10.2020	B4	V		7				1						49						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
15.10.2020	B4	VI												78						
15.10.2020	B5	II																		
15.10.2020	B5	III																		
15.10.2020	B5	IV																		2
15.10.2020	B5	V												1						
15.10.2020	B5	VI												1						
15.10.2020	U4	I																		
15.10.2020	U4	II																		
15.10.2020	U4	III											1							
15.10.2020	U4	IV																		
15.10.2020	U4	V																		
15.10.2020	U4	VI																		
15.10.2020	U5	III																		
15.10.2020	U5	VI																		
12.11.2020	11	I																		
12.11.2020	11	II												5						
12.11.2020	11	III																		
12.11.2020	11	IV												1						
12.11.2020	11	V												1						
12.11.2020	B4	I												34						
12.11.2020	B4	II												27						
12.11.2020	B4	III												57						
12.11.2020	B4	IV												82						
12.11.2020	B4	V												35						
12.11.2020	B4	VI												17						
12.11.2020	B5	I												1						
12.11.2020	B5	II																		
12.11.2020	B5	III																		
12.11.2020	B5	IV																		
12.11.2020	B5	V																		
12.11.2020	B5	VI																		
12.11.2020	U4	V												1						
12.11.2020	U5	I	1																	
17.12.2020	11	I												3						
17.12.2020	11	II																		
17.12.2020	11	III												1						
17.12.2020	11	V												1						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
05.03.2022	U5	II												3				4		
05.03.2022	U5	III																		
05.03.2022	U5	IV																		
05.03.2022	U5	V		1										1						
05.03.2022	U5	VI																		
21.04.2022	11	I												2						
21.04.2022	11	II												2						
21.04.2022	11	III												6						
21.04.2022	11	IV																		
21.04.2022	11	V												5						
21.04.2022	11	VI																		
21.04.2022	B4	I						1						1						
21.04.2022	B4	II																	1	
21.04.2022	B4	III																	3	
21.04.2022	B4	IV																		
21.04.2022	B4	V																		
21.04.2022	B4	VI												1						
21.04.2022	B5	I												1						
21.04.2022	B5	II																	1	
21.04.2022	B5	III												1					1	
21.04.2022	B5	IV																		
21.04.2022	B5	V																		
21.04.2022	B5	VI																	4	
21.04.2022	U4	VI												1						
21.04.2022	U5	I												1						
21.04.2022	U5	II																		
21.04.2022	U5	V																		
21.04.2022	U5	VI																		
02.06.2022	11	I												5						
02.06.2022	11	II												4						
02.06.2022	11	III												1						
02.06.2022	11	IV												3						
02.06.2022	11	V												5						
02.06.2022	11	VI												7						
02.06.2022	B4	I												5						
02.06.2022	B4	II												13						
02.06.2022	B4	III						2						1						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanytus nervosus</i>
28.06.2022	U4	IV				2			1								1			
28.06.2022	U4	V				47														
28.06.2022	U4	VI				51										1				
28.06.2022	U5	I																		
28.06.2022	U5	II																		
28.06.2022	U5	III																		
28.06.2022	U5	IV																		
28.06.2022	U5	V																		
28.06.2022	U5	VI																		
28.07.2022	11	I												4						
28.07.2022	11	II												4						
28.07.2022	11	III												3						
28.07.2022	11	IV												8						
28.07.2022	11	V						1						5						
28.07.2022	11	VI												9						
28.07.2022	B4	I												2						1
28.07.2022	B4	II																		
28.07.2022	B4	III																		
28.07.2022	B4	IV																		
28.07.2022	B4	V																		
28.07.2022	B4	VI																		
28.07.2022	B5	I												1						
28.07.2022	B5	II												2						
28.07.2022	B5	III						2												
28.07.2022	B5	IV							1					1						
28.07.2022	B5	V		1										1					1	
28.07.2022	B5	VI						1						3						
28.07.2022	U4	II													1					
28.07.2022	U4	III				15		2						4	3					
28.07.2022	U4	V													1					
28.07.2022	U4	VI				13		1	2					1	2					
28.07.2022	U5	I						1												
28.07.2022	U5	II						1												
28.07.2022	U5	III						1						2						
28.07.2022	U5	IV												1						
28.07.2022	U5	V																		1
28.07.2022	U5	VI						1						1						

Artname I (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Anatopymia plumipes</i>	<i>Benthalia carbonaria</i>	<i>Chironomus acerbiphilus</i>	<i>Chironomus annularius-Aggregat</i>	<i>Chironomus apralinus</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Chironomus lacunarius</i>	<i>Chironomus luridus</i>	<i>Chironomus nudiventris</i>	<i>Chironomus obtusidens</i>	<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Chironomus pseudothummi</i>	<i>Chironomus riparius-Aggregat</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Cladotanytarsus sp.</i>	<i>Cladopelma group viridulum</i>	<i>Clinotanypus nervosus</i>
22.08.2022	11	I												2						
22.08.2022	11	II												3						
22.08.2022	11	IV												1						
22.08.2022	11	V				1								1						
27.09.2022	11	III												1						
27.09.2022	11	IV																		
27.09.2022	B5	II																		
27.09.2022	B5	III		1																
27.09.2022	B5	IV		1																
27.09.2022	U5	II																		
05.11.2022	11	I												8						
05.11.2022	11	II												9						
05.11.2022	11	III																		
05.11.2022	11	IV												4						
05.11.2022	11	V												14						
05.11.2022	11	VI												6						
05.11.2022	B4	III														1				
05.11.2022	B5	I				1								1						
05.11.2022	B5	II												5						
05.11.2022	B5	III												2						
05.11.2022	B5	IV																		
05.11.2022	B5	V																		
05.11.2022	B5	VI								2										
05.11.2022	U4	VI													1					
05.11.2022	U5	I												19						
05.11.2022	U5	II												20						
05.11.2022	U5	III												16						
05.11.2022	U5	IV												29						
05.11.2022	U5	V												15						
05.11.2022	U5	VI												17						
Σ Art			1	36	4	443	4	155	8	1	15	2	1	4545	34	1	6	7	13	16

Artnamen II (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Cladopelma virescens</i>	<i>Clyptotendipes</i> sp.	<i>Cricotopus (Isocladius) sylvestris-Group</i>	<i>Cryptochironomus obreptans/supplicans</i>	<i>Cryptotendipes holsatus</i>	<i>Cryptochironomus psittacinus</i>	<i>Cryptochironomus rostratus</i>	<i>Cryptotendipes usmaensis</i>	<i>Demicyptochironomus vulneratis</i>	<i>Dicrotendipes notatus</i>	<i>Dicrotendipes lobiger</i>	<i>Endochironomus albipennis</i>	<i>Glyptotendipes pallens</i>	<i>Graculus ambiguus</i>	<i>Kiefferulus tendipediformis</i>	<i>Krenopelopia</i> sp.	<i>Lipinella araeicola</i>	<i>Microtendipes chloris-group</i>
22.08.2022	11	V				1														
27.09.2022	11	III																		
27.09.2022	11	IV																		
27.09.2022	B5	II				1								1	2					
27.09.2022	B5	III				1														
27.09.2022	B5	IV				1									1					
27.09.2022	U5	II																		
05.11.2022	11	I																		
05.11.2022	11	II																		
05.11.2022	11	III				1														
05.11.2022	11	IV																		
05.11.2022	11	V																		
05.11.2022	11	VI																		
05.11.2022	B4	III																		
05.11.2022	B5	I							2											
05.11.2022	B5	II																		
05.11.2022	B5	III																		
05.11.2022	B5	IV																		1
05.11.2022	B5	V																		2
05.11.2022	B5	VI				1														
05.11.2022	U4	VI																		
05.11.2022	U5	I				3			2											
05.11.2022	U5	II			1	1								1						
05.11.2022	U5	III				6														
05.11.2022	U5	IV				3														
05.11.2022	U5	V																		
05.11.2022	U5	VI																		
		Σ Art	56	1	7	335	2	12	5	2	5	3	5	22	3	1	1	3	1	3

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytus kraatzii</i>	<i>Tanytus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytus villipennis</i>
14.05.2020	11	I					1									5
14.05.2020	11	II										3				
14.05.2020	11	III										2				
14.05.2020	11	IV										2				
14.05.2020	11	V														
14.05.2020	11	VI										1				
14.05.2020	B4	I														
14.05.2020	B4	II														
14.05.2020	B4	III														
14.05.2020	B4	IV								1						
14.05.2020	B4	V								1						
14.05.2020	B4	VI														
14.05.2020	B5	I										11				
14.05.2020	B5	II					2					9				
14.05.2020	B5	III					2					5				
14.05.2020	B5	IV					4		18							
14.05.2020	B5	V					1		1			2				
14.05.2020	B5	VI					4									2
14.05.2020	U5	I														3
14.05.2020	U5	II					4		3			7				
14.05.2020	U5	III					2		3							
14.05.2020	U5	IV														
14.05.2020	U5	V							1				2			3
14.05.2020	U5	VI							1			3				
28.05.2020	11	III										1				
28.05.2020	11	IV										1	1			
28.05.2020	11	V														
28.05.2020	11	VI										1				
28.05.2020	B4	II								2						
28.05.2020	B4	III														
28.05.2020	B4	VI														
28.05.2020	B5	I							7				10			10
28.05.2020	B5	II							2				2			
28.05.2020	B5	III							8			2	12			
28.05.2020	B5	IV							17				10			1
28.05.2020	B5	V							26				8			1
28.05.2020	B5	VI							1							2

Artnamen III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarsus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzii</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
28.05.2020	U5	I							8				2			16
28.05.2020	U5	II							24							
28.05.2020	U5	III							8							4
28.05.2020	U5	IV							4							12
28.05.2020	U5	V														
28.05.2020	U5	VI							16							3
11.06.2020	11	I							1							
11.06.2020	11	II										1				
11.06.2020	11	III											2			
11.06.2020	11	IV														
11.06.2020	11	V														
11.06.2020	11	VI														
11.06.2020	B4	I								12						
11.06.2020	B4	II								10						
11.06.2020	B4	III								5						
11.06.2020	B4	IV							3	2						
11.06.2020	B4	V								5						
11.06.2020	B4	VI								11						
11.06.2020	U4	VI														
11.06.2020	U5	III														
25.06.2020	11	II										4				
25.06.2020	11	III					1					11				
25.06.2020	11	IV										26				
25.06.2020	11	V							1			8				
25.06.2020	11	VI										3				
25.06.2020	B4	VI								1						
25.06.2020	B5	I							14			5				
25.06.2020	B5	II					1		2			2			1	
25.06.2020	B5	III							2				8			
25.06.2020	B5	IV							3				7			
25.06.2020	B5	V						1	3			1				
25.06.2020	B5	VI					4		7			8				
25.06.2020	U4	I														
25.06.2020	U4	II								1						
25.06.2020	U4	IV														
25.06.2020	U5	I					5		7							
25.06.2020	U5	II					2		18							

Artnamen III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarsus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzi</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
23.07.2020	B5	III														
23.07.2020	B5	IV														
23.07.2020	B5	V					4									
23.07.2020	B5	VI							1			6				
23.07.2020	U1	III									4					
23.07.2020	U4	II								19						
23.07.2020	U4	III								19						
23.07.2020	U4	IV								3						
23.07.2020	U4	V								24						
23.07.2020	U4	VI								8						
23.07.2020	U5	I							35			9	3			
23.07.2020	U5	II					2		36			19				
06.08.2020	11	I														
06.08.2020	11	II														
06.08.2020	11	III														
06.08.2020	11	IV														
06.08.2020	11	V														
06.08.2020	11	VI										1				
06.08.2020	B4	I														
06.08.2020	B4	II														
06.08.2020	B4	III														
06.08.2020	B4	IV														
06.08.2020	B4	V														
06.08.2020	B4	VI														
06.08.2020	B5	I							5			22				
06.08.2020	B5	II										15	18			
06.08.2020	B5	III							16			9				
06.08.2020	B5	IV										38	20			
06.08.2020	B5	V							10			32				
06.08.2020	B5	VI							10			33				
06.08.2020	U4	I								3						
06.08.2020	U4	II								5						
06.08.2020	U4	III								2						
06.08.2020	U4	IV								6						
06.08.2020	U4	V								6						
06.08.2020	U4	VI								3						
06.08.2020	U5	I							2							

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarpus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzii</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
06.08.2020	U5	II							1							
06.08.2020	U5	III							8							
06.08.2020	U5	IV							16			2				
06.08.2020	U5	V							2							
06.08.2020	U5	VI							4							
12.08.2020	B4	I								2		2	2			
12.08.2020	B4	II								2			2			
12.08.2020	B4	III								2			6			
12.08.2020	B4	IV								2			2			
12.08.2020	B4	V								4			4			
12.08.2020	B4	VI											8			
12.08.2020	U4	I								2						
12.08.2020	U4	II											1			
12.08.2020	U4	III								3						
12.08.2020	U4	IV								8						
12.08.2020	U4	V					1			4						
12.08.2020	U4	VI								2						
20.08.2020	11	I														
20.08.2020	11	II														
20.08.2020	11	III														
20.08.2020	11	IV														
20.08.2020	11	V														
20.08.2020	11	VI														
20.08.2020	B4	I							1							
20.08.2020	B4	II														
20.08.2020	B4	III							1			2				
20.08.2020	B4	IV											1			
20.08.2020	B4	V										1				
20.08.2020	B4	VI								1		2				
20.08.2020	B5	I										2				
20.08.2020	B5	II							1			1				
20.08.2020	B5	III										4				
20.08.2020	B5	IV										2				
20.08.2020	B5	V										1				
20.08.2020	B5	VI							1				1			
20.08.2020	U4	I								6						
20.08.2020	U4	II								11						

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarsus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzi</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
20.08.2020	U4	III								25						
20.08.2020	U4	IV								15						
20.08.2020	U4	V								71						
20.08.2020	U4	VI								9						
20.08.2020	U5	I								1						
20.08.2020	U5	II								1						
20.08.2020	U5	IV								3						
20.08.2020	U5	V								2						
20.08.2020	U5	VI								1						
27.08.2020	11	I														
27.08.2020	11	II														
27.08.2020	11	III														
27.08.2020	B4	I											6			
27.08.2020	B4	II														
27.08.2020	B4	III								2						
27.08.2020	B4	IV										4				
27.08.2020	B4	V														
27.08.2020	B4	VI														
27.08.2020	U4	II								1						
27.08.2020	U4	III								2						
27.08.2020	U4	IV								20						
27.08.2020	U4	V								4						
27.08.2020	U4	VI								8						
03.09.2020	11	I														
03.09.2020	11	II														
03.09.2020	11	III														
03.09.2020	11	IV														
03.09.2020	11	VI														
03.09.2020	B3	II							4							
03.09.2020	B4	I														
03.09.2020	B4	II								1			1			
03.09.2020	B4	III								19		5	4			
03.09.2020	B4	IV														
03.09.2020	B4	V								3			1			
03.09.2020	B4	VI								9			4			
03.09.2020	B5	I							6			7				
03.09.2020	B5	III							1			1	3			

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytus kraatzi</i>	<i>Tanytus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytus villipennis</i>
03.09.2020	B5	IV							4				1			
03.09.2020	B5	VI							4							
03.09.2020	U4	I							1	4						
03.09.2020	U4	II								1						
03.09.2020	U4	III								11						
03.09.2020	U4	IV							2	1						
03.09.2020	U4	V								3						
03.09.2020	U4	VI								6						
03.09.2020	U5	I										1				
03.09.2020	U5	VI										1				
10.09.2020	B4	I								6						
10.09.2020	B4	II										10				
10.09.2020	B4	III										22				
10.09.2020	B4	IV								9						
10.09.2020	B4	V											12			
10.09.2020	B4	VI							6							
10.09.2020	U4	I								2						
10.09.2020	U4	II								2						
10.09.2020	U4	III														
10.09.2020	U4	IV														
10.09.2020	U4	V														
10.09.2020	U4	VI								2						
17.09.2020	11	I														
17.09.2020	11	II														
17.09.2020	11	III														
17.09.2020	11	IV														
17.09.2020	11	V														
17.09.2020	11	VI														
17.09.2020	B4	I								5						
17.09.2020	B4	II								4						
17.09.2020	B4	III								8						
17.09.2020	B4	IV								1			22			
17.09.2020	B4	V								68			9			
17.09.2020	B4	VI								10			6			
17.09.2020	B5	I											8			
17.09.2020	B5	II														
17.09.2020	B5	III										4				

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytus kraatzi</i>	<i>Tanytus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytus villipennis</i>
01.10.2020	B5	II					1									
01.10.2020	B5	III										1				
01.10.2020	B5	IV														
01.10.2020	B5	V							1							
01.10.2020	B5	VI					2		2							
01.10.2020	U4	I								11						
01.10.2020	U4	II								8						
01.10.2020	U4	III								3						
01.10.2020	U4	IV								2						
01.10.2020	U5	II														
01.10.2020	U5	III														
01.10.2020	U5	IV							2							
01.10.2020	U5	VI							1	1						
08.10.2020	B3	III														
08.10.2020	B4	I								61						77
08.10.2020	B4	II								19		24	40			
08.10.2020	B4	III								21		21	14			
08.10.2020	B4	IV								21		1	7			
08.10.2020	B4	V								49		2	20			
08.10.2020	B4	VI								4		31	14			
08.10.2020	U4	I								1						
08.10.2020	U4	II								1						
08.10.2020	U4	IV								1						
08.10.2020	U4	VI								2						
15.10.2020	11	I														
15.10.2020	11	III														
15.10.2020	11	IV														
15.10.2020	11	VI														
15.10.2020	B3	IV								1						
15.10.2020	B4	I								23						
15.10.2020	B4	II								9			21			
15.10.2020	B4	III								30			3			
15.10.2020	B4	IV								4		3	17			
15.10.2020	B4	V								6			40			
15.10.2020	B4	VI								8		6	7			
15.10.2020	B5	II								4			1			
15.10.2020	B5	III											1			

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microchironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarpus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzi</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
15.10.2020	B5	IV														
15.10.2020	B5	V														
15.10.2020	B5	VI														
15.10.2020	U4	I								8						
15.10.2020	U4	II								11			1			
15.10.2020	U4	III														
15.10.2020	U4	IV								1						
15.10.2020	U4	V								4						
15.10.2020	U4	VI								1						
15.10.2020	U5	III										1				
15.10.2020	U5	VI														
12.11.2020	11	I					2									
12.11.2020	11	II					1									
12.11.2020	11	III					2									
12.11.2020	11	IV														
12.11.2020	11	V					1									
12.11.2020	B4	I								6			1			
12.11.2020	B4	II											2			
12.11.2020	B4	III														
12.11.2020	B4	IV								6						
12.11.2020	B4	V							1	9			14			
12.11.2020	B4	VI											4			
12.11.2020	B5	I														
12.11.2020	B5	II														
12.11.2020	B5	III					12									
12.11.2020	B5	IV							2							
12.11.2020	B5	V														
12.11.2020	B5	VI								4						
12.11.2020	U4	V											2			
12.11.2020	U5	I														
17.12.2020	11	I														
17.12.2020	11	II							1							
17.12.2020	11	III														
17.12.2020	11	V								3						
17.12.2020	11	VI														
17.12.2020	B4	I										1	12			
17.12.2020	B4	II								18			9			

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarpus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzii</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
17.12.2020	B4	III								7			17			
17.12.2020	B4	IV								18						
17.12.2020	B4	V								5						
17.12.2020	B4	VI								2			3			
17.12.2020	B5	I														
17.12.2020	B5	II							1							
17.12.2020	B5	III							1							
17.12.2020	B5	IV								1						
17.12.2020	B5	V														
17.12.2020	B5	VI														
05.03.2022	11	I					27		3						1	
05.03.2022	11	II					7		12							
05.03.2022	11	III					4									
05.03.2022	11	IV					17		31							
05.03.2022	11	V					26		15							
05.03.2022	11	VI					10		10							
05.03.2022	B4	I								2						
05.03.2022	B4	II								2						
05.03.2022	B4	III								1						
05.03.2022	B4	IV							1	1						
05.03.2022	B4	V					6									
05.03.2022	B4	VI											1			
05.03.2022	B5	I					5									
05.03.2022	B5	II					9		4							
05.03.2022	B5	III					24		6							
05.03.2022	B5	IV							2							
05.03.2022	B5	V							2							
05.03.2022	B5	VI					12									
05.03.2022	U4	I							3							
05.03.2022	U4	II					4									
05.03.2022	U4	III					1									
05.03.2022	U4	V								1						
05.03.2022	U4	VI								8						
05.03.2022	U5	I							11							
05.03.2022	U5	II					3		3							
05.03.2022	U5	III							5							
05.03.2022	U5	IV					3		4							

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytus kraatzi</i>	<i>Tanytus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytus villipennis</i>
05.03.2022	U5	V	1				2		6					3		
05.03.2022	U5	VI							2							
21.04.2022	11	I							22							
21.04.2022	11	II							15							
21.04.2022	11	III					8		2							
21.04.2022	11	IV					2		15							
21.04.2022	11	V														
21.04.2022	11	VI							4							
21.04.2022	B4	I														
21.04.2022	B4	II		1												
21.04.2022	B4	III														
21.04.2022	B4	IV							4			3				
21.04.2022	B4	V							3							
21.04.2022	B4	VI							1							
21.04.2022	B5	I							1							
21.04.2022	B5	II														
21.04.2022	B5	III							1							
21.04.2022	B5	IV														
21.04.2022	B5	V					4		1	1						
21.04.2022	B5	VI														
21.04.2022	U4	VI					1									
21.04.2022	U5	I							1							
21.04.2022	U5	II							2							
21.04.2022	U5	V					2									
21.04.2022	U5	VI					1									
02.06.2022	11	I														
02.06.2022	11	II														
02.06.2022	11	III														
02.06.2022	11	IV							1							
02.06.2022	11	V														
02.06.2022	11	VI														
02.06.2022	B4	I					1		1	26						
02.06.2022	B4	II											12			
02.06.2022	B4	III							18				3			
02.06.2022	B4	IV							4				41			
02.06.2022	B4	V							5				5			
02.06.2022	B4	VI							1			5				

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microchironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypetillum nubeculosum</i>	<i>Polypetillum sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytarpus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytarsus kraatzii</i>	<i>Tanytarsus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytarsus villipennis</i>
02.06.2022	B5	I							12							
02.06.2022	B5	II							6				2	2		
02.06.2022	B5	III							4				8			
02.06.2022	B5	IV					2		2							
02.06.2022	B5	V					8		1				1	3		
02.06.2022	B5	VI					13							2		
02.06.2022	U4	I								1						
02.06.2022	U4	II								20						
02.06.2022	U4	III								14						
02.06.2022	U4	IV							84							
02.06.2022	U4	V								12						
02.06.2022	U4	VI														
02.06.2022	U5	I														
02.06.2022	U5	II														
02.06.2022	U5	III							1							
02.06.2022	U5	IV							9							
02.06.2022	U5	V							2							
02.06.2022	U5	VI														
28.06.2022	11	I	1													
28.06.2022	11	II					4									
28.06.2022	11	III							1							
28.06.2022	11	IV					2									
28.06.2022	11	V														
28.06.2022	11	VI														
28.06.2022	B4	I											7			
28.06.2022	B4	II					4		12	4			9			
28.06.2022	B4	III								20			20			
28.06.2022	B4	IV							12			1	20			
28.06.2022	B4	V							4	22		5	13			
28.06.2022	B4	VI								27			3			
28.06.2022	B5	I								6						
28.06.2022	U4	I								2						
28.06.2022	U4	II								73						
28.06.2022	U4	III								82						
28.06.2022	U4	IV								11						
28.06.2022	U4	V								20						
28.06.2022	U4	VI								23						

Artname III (von insgesamt III)

Datum	Standort	Replik	<i>Microhironomus tener</i>	<i>Microspectra</i> sp.	<i>Parachironomus</i> sp.	<i>Paratanytarsus</i> sp.	<i>Polypedium nubeculosum</i>	<i>Polypedium sordens</i>	<i>Procladius</i> sp.	<i>Psectrotanytus varius</i>	<i>Smitia</i> sp.	<i>Tanytus kraatzii</i>	<i>Tanytus punctipennis</i>	<i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsini</i> sp.	<i>Tanytus villipennis</i>
22.08.2022	11	V							1							
27.09.2022	11	III														
27.09.2022	11	IV					1									
27.09.2022	B5	II											1			
27.09.2022	B5	III					1						1			
27.09.2022	B5	IV					1		2							
27.09.2022	U5	II					1									
05.11.2022	11	I							2							
05.11.2022	11	II							1			2				
05.11.2022	11	III							1							
05.11.2022	11	IV							9							
05.11.2022	11	V							1							
05.11.2022	11	VI							1							
05.11.2022	B4	III														
05.11.2022	B5	I							3							
05.11.2022	B5	II							6							
05.11.2022	B5	III					2		6							
05.11.2022	B5	IV							1							
05.11.2022	B5	V							6							
05.11.2022	B5	VI							7							
05.11.2022	U4	VI														
05.11.2022	U5	I							2							
05.11.2022	U5	II							1							
05.11.2022	U5	III							2							
05.11.2022	U5	IV							8							
05.11.2022	U5	V							2							
05.11.2022	U5	VI							6							
		Σ Art	1	2	1	1	348	7	1179	1875	4	596	706	13	2	143



B1

B2

B3

B4

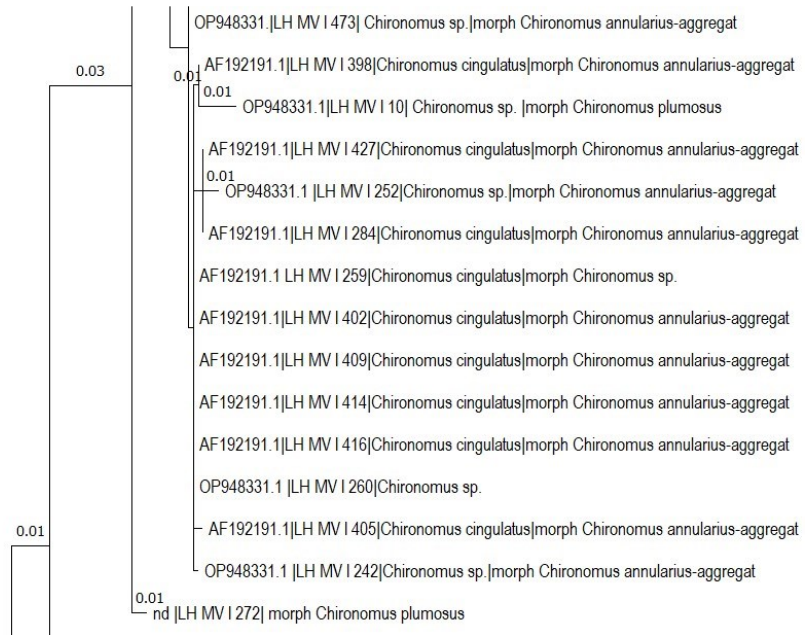
B5

B6

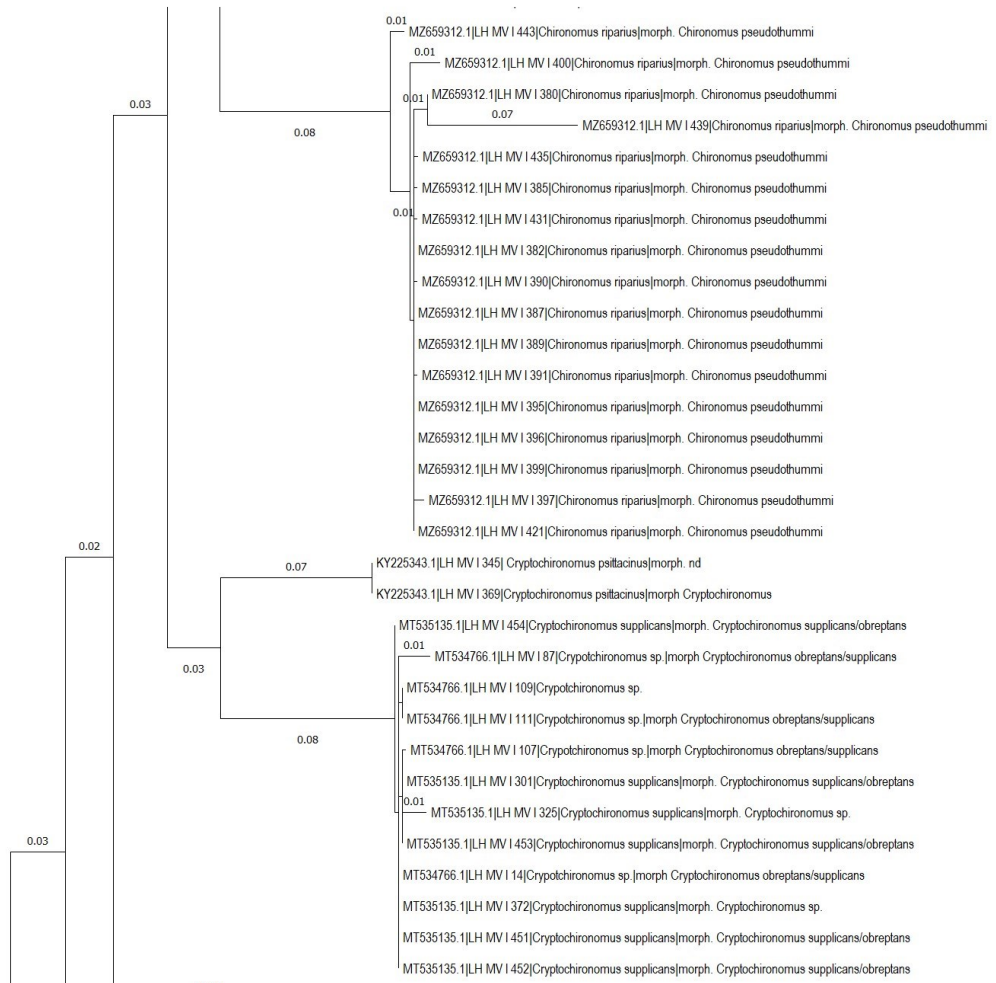
B1

	AF192191.1 LH MV I 450 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 271 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 146 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 155 Chironomus curabilis morph Chironomus nudtarsis
	AF192191.1 LH MV I 245 Chironomus cingulatus morph Chironomus sp.
	AF192191.1 LH MV I 286 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 235 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 426 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
0.01	AF192191.1 LH MV I 432 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
0.01	OP948330.1 LH MV I 423 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 406 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 394 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 248 Chironomus cingulatus morph Chironomus sp.
	AF192191.1 LH MV I 276 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 392 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 407 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	nd LH MV I 272 morph morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 274 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 277 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 411 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 177 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 261 Chironomus sp.
	OP948331.1 LH MV I 180 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 176 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	nd LH MV I 254 morph morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 419 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 175 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 404 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 393 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 278 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 275 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 310 Chironomus cingulatus morph Chironomus sp.
	OP948331.1 LH MV I 262 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 317 Chironomus cingulatus morph Chironomus sp.
	AF192191.1 LH MV I 401 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
0.01	AF192191.1 LH MV I 422 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 249 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 379 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 476 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 420 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 417 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 408 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
	nd LH MV I 256 morph morph Chironomus annularius-aggregat
	AF192191.1 LH MV I 403 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat
0.01	nd LH MV I 257 morph morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 241 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
	OP948331.1 LH MV I 473 Chironomus sp. morph Chironomus annularius-aggregat
0.03	AF192191.1 LH MV I 398 Chironomus cingulatus morph Chironomus annularius-aggregat

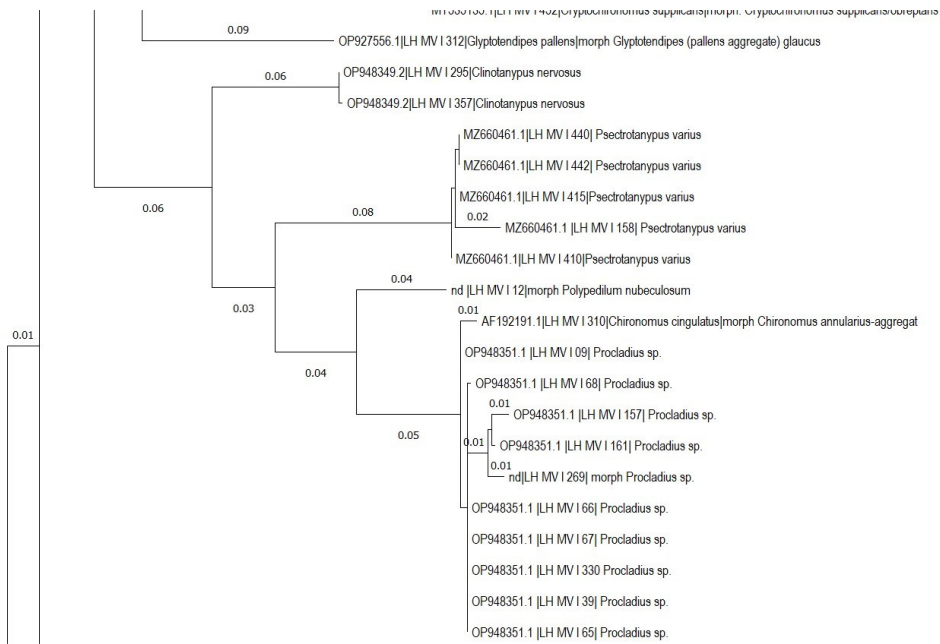
B2



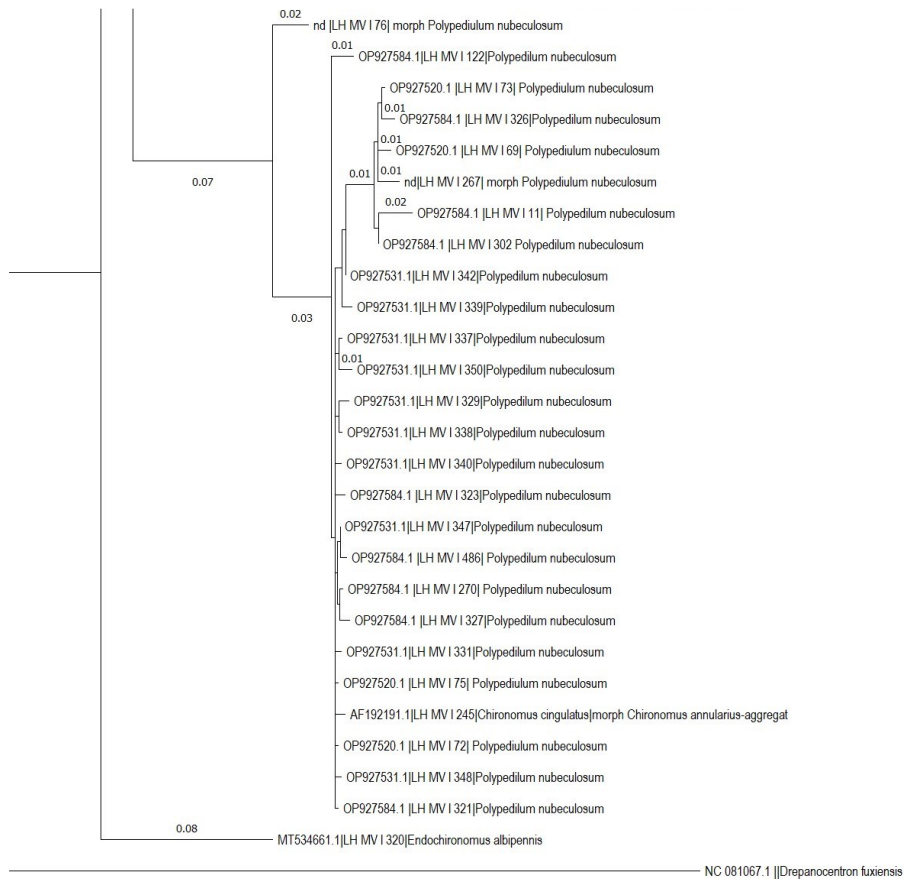
B4



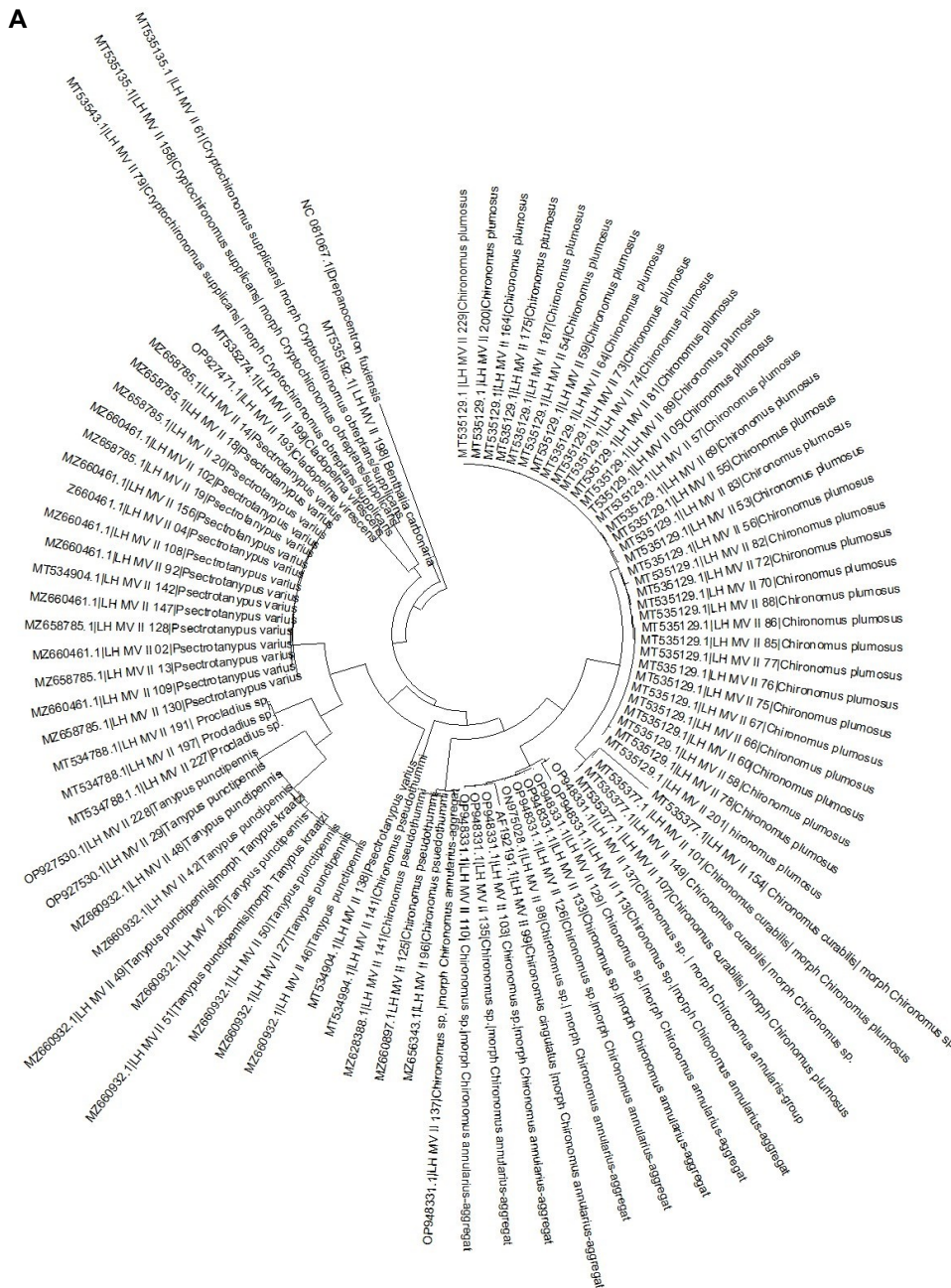
B5

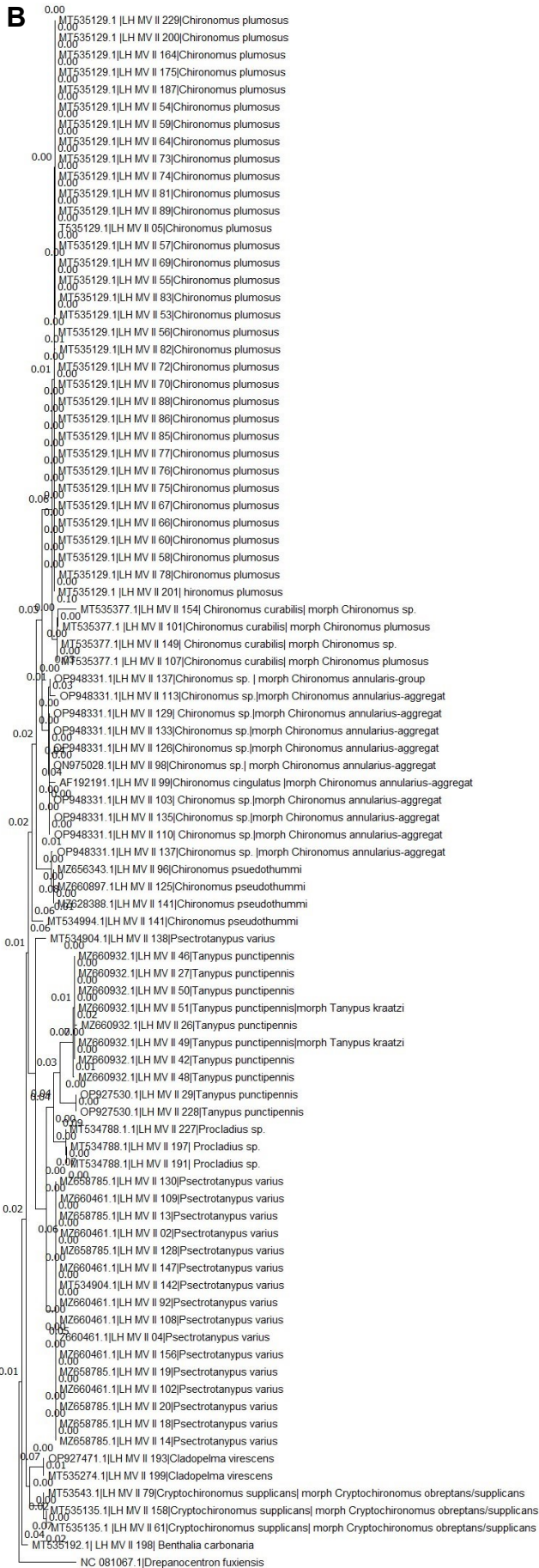


B6



Anhang 16: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs II mit den Primern von Folmer et al. (1994). Als *Outgroup* wurde *Drepanocentron fuxiensis* gewählt. Die Evolutionsgeschichte wurde mit der Maximum-Likelihood-Methode und dem 2-Parameter-Modell von Kimura (1980) abgeleitet. Dargestellt ist der Baum mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit (-5899.30). Die Ausgangsbäume für die heuristische Suche wurden automatisch ermittelt, indem der Neighbor-Join-Algorithmus und der BioNJ-Algorithmus auf eine Matrix paarweiser Abstände angewendet wurden, die mit dem Maximum Composite Likelihood (MCL)-Ansatz geschätzt wurden. Danach wurde die Topologie mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit ausgewählt. Diese Analyse bezog sich auf 90 Nukleotidsequenzen. Der endgültige Datensatz umfasste insgesamt 645 Positionen. Die evolutionären Analysen wurden in MEGA11 durchgeführt. Die obere Grafik (A) stellt die phylogenetische Untersuchung als kreisförmiges Kladogramm dar.

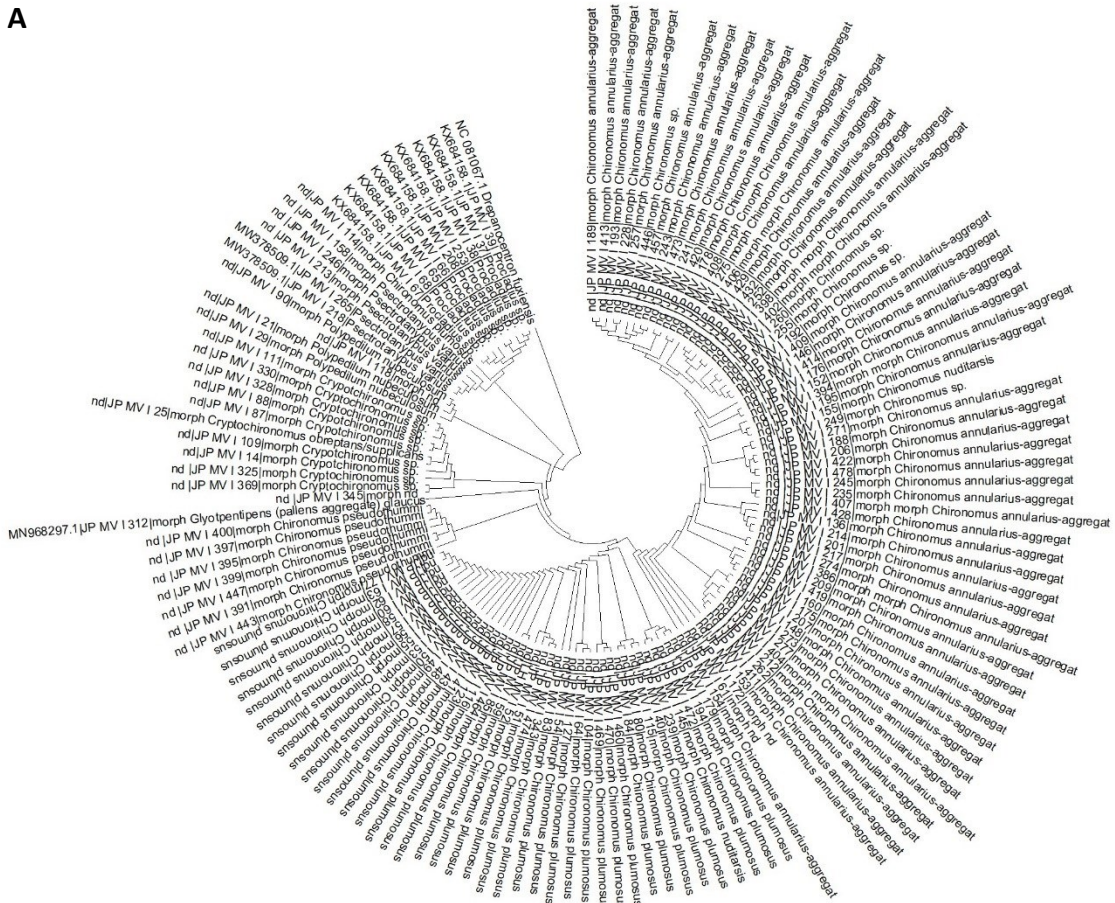




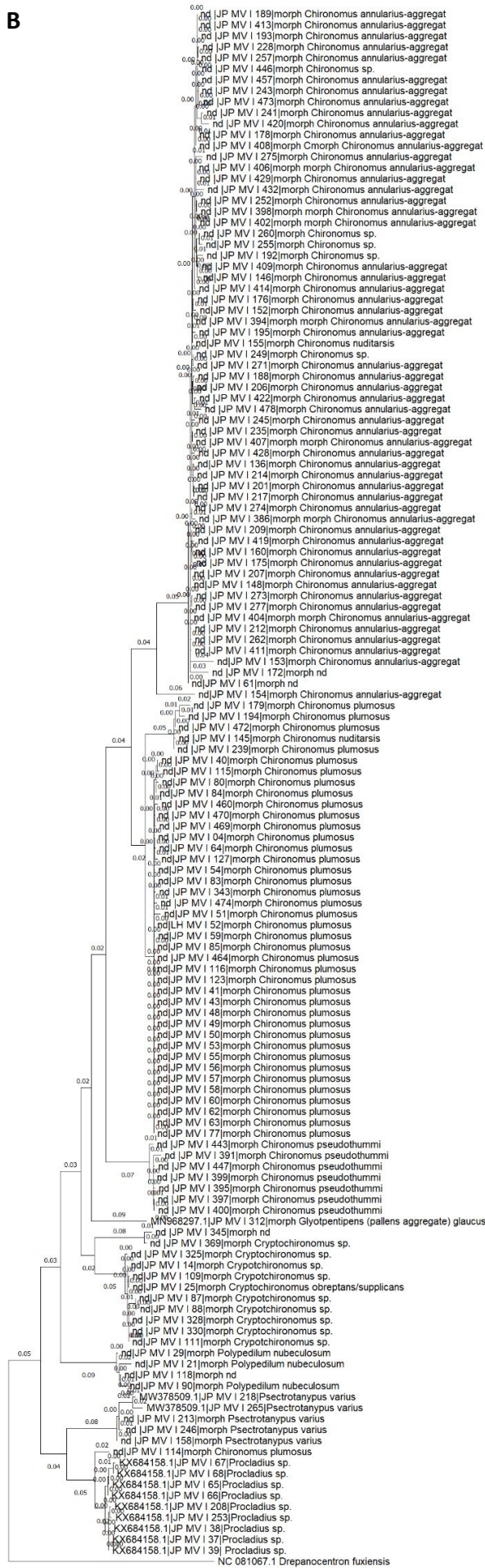
0.050

Anhang 17: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs I mit den Primern von Simon et al. (1994). Als *Outgroup* wurde *Drepanocentron fluxiensis* gewählt. Die Evolutionsgeschichte wurde mit der Maximum-Likelihood-Methode und dem 2-Parameter-Modell von Kimura (1980) abgeleitet. Dargestellt ist der Baum mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit (-8344,67). Die Ausgangsbäume für die heuristische Suche wurden automatisch ermittelt, indem der *Neighbor-Join*-Algorithmus und der *BioNJ*-Algorithmus auf eine Matrix paarweiser Abstände angewendet wurden, die mit dem *Maximum Composite Likelihood* (MCL)-Ansatz geschätzt wurden. Danach wurde die Topologie mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit ausgewählt. Diese Analyse bezog sich auf 142 Nukleotidsequenzen. Der endgültige Datensatz umfasste insgesamt 791 Positionen. Die evolutionären Analysen wurden in MEGA11 durchgeführt. Die obere Grafik (A) stellt die phylogenetische Untersuchung als kreisförmiges Kladogramm dar.

A

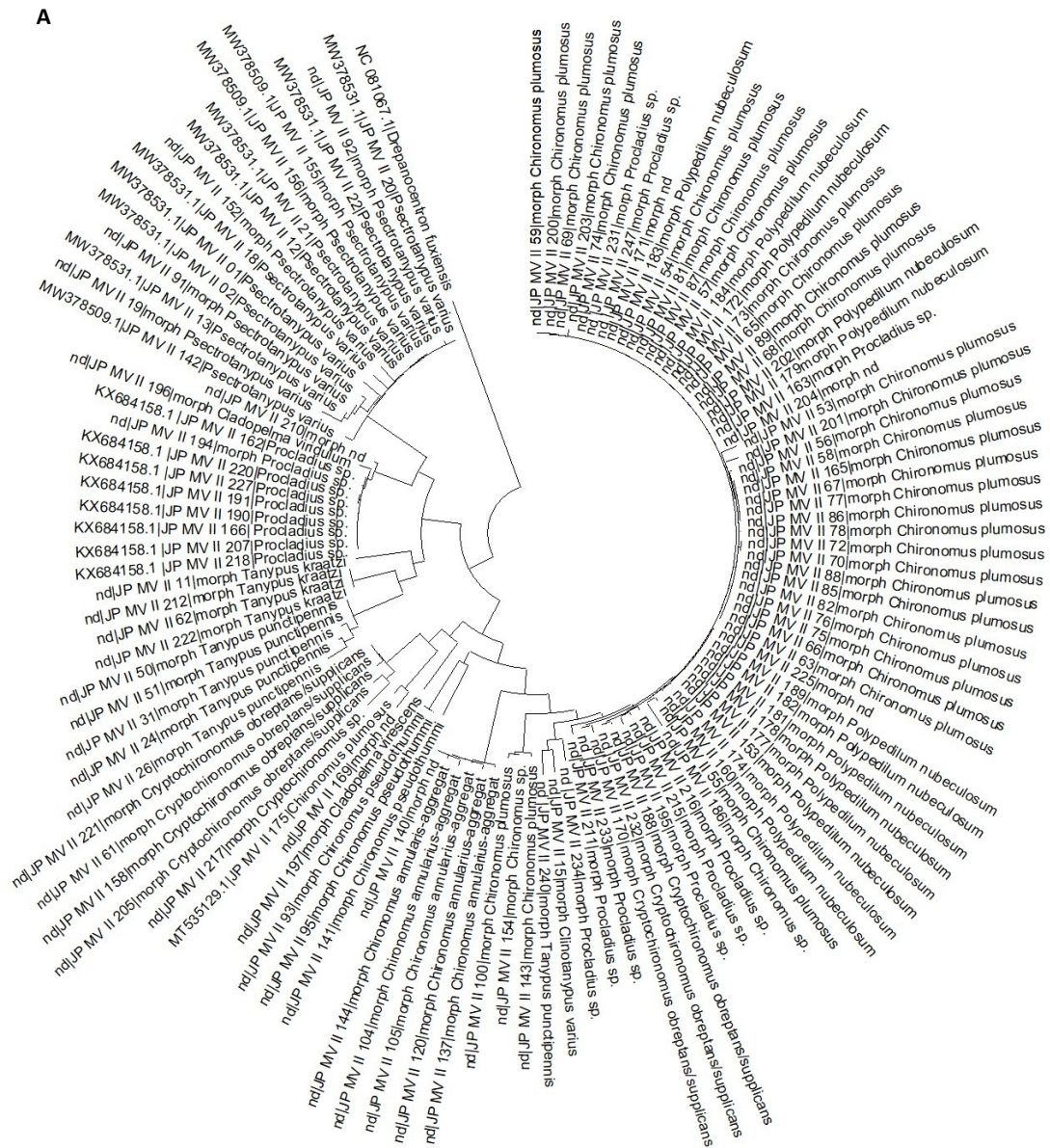


B

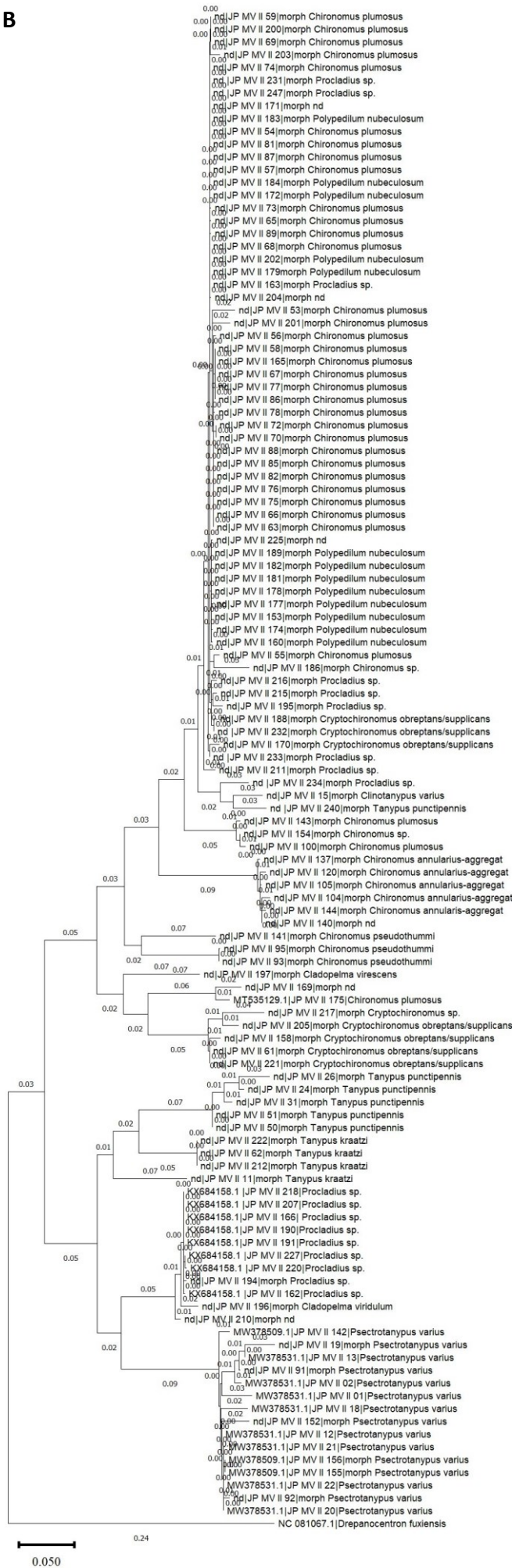


0.050

Anhang 18: Phylogenetische Rekonstruktion der Chironomidenarten des Methodenvergleichs II mit den Primern von Simon et al. (1994). Als *Outgroup* wurde *Drepanocentron fluxiensis* gewählt. Die Evolutionsgeschichte wurde mit der Maximum-Likelihood-Methode und dem 2-Parameter-Modell von Kimura (1980) abgeleitet. Dargestellt ist der Baum mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit (-8811,76). Die Ausgangsbäume für die heuristische Suche wurden automatisch ermittelt, indem der *Neighbor-Join*-Algorithmus und der *BioNJ*-Algorithmus auf eine Matrix paarweiser Abstände angewendet wurden, die mit dem *Maximum Composite Likelihood* (MCL)-Ansatz geschätzt wurden. Danach wurde die Topologie mit der höchsten logarithmischen Wahrscheinlichkeit ausgewählt. Diese Analyse bezog sich auf 119 Nukleotidsequenzen. Der endgültige Datensatz umfasste insgesamt 792 Positionen. Die evolutionären Analysen wurden in MEGA11 durchgeführt. Die obere Grafik (A) stellt die phylogenetische Untersuchung als kreisförmiges Kladogramm dar.



B



Anhang zu Kapitel 6

Anhang 19: Übersicht der durchgeführten Versuchsreihen und ermittelten Kenngrößen für die Erstlarven der Art *Chironomus riparius* für eine Expositionsdauer von 24 h und 48 h. n. d. = nicht definiert

Mortalität	Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2		Versuchsreihe 3		Gepoolte Daten	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
LC10	3,35	3,48	4,37	n. d.	4,33	n. d.	3,95	2,14
lower 95%-cl	0,46	0,44	1,56	n. d.	0,06	n. d.	0,75	0,94
upper 95%-cl	8,06	7,99	7,88	n. d.	12,76	n. d.	8,65	3,65
LC20	9,33	6,73	8,82	4,02	9,94	2,89	9,31	4,31
lower 95%-cl	2,55	1,47	4,16	2,66	0,61	1,95	2,97	2,30
upper 95%-cl	17,93	13,29	14,10	2,66	23,88	3,92	17,07	6,58
LC50	66,23	23,88	33,91	15,61	48,58	11,09	48,06	16,41
lower 95%-cl	37,59	11,70	22,63	12,41	19,08	8,93	28,25	11,72
upper 95%-cl	150,39	44,72	51,17	19,18	183,75	13,40	90,99	21,98
LC90	n. d.	164,05	263,45	122,91	n. d.	85,92	n. d.	125,67
lower 95%-cl	n. d.	76,60	144,19	90,49	n. d.	66,43	n. d.	82,58
upper 95%-cl	n. d.	1017,90	754,84	183,84	n. d.	119,09	n. d.	234,72
Mortalität der Kontrollgruppe (%)	2,1	2,1	1,4	6,9	4,2	10,4	2,7	6,4
LOEC	≤ 4,000		≤ 4,000		16		≤ 4,000	
NOEC	4		4		8		4	

Anhang 20: Übersicht der durchgeführten Versuchsreihen und der ermittelten Kenngrößen für die Erstlarven der Art *Chironomus dorsalis* für Expositionsdauern von 24 h und 48 h. n. d. = nicht definiert

Mortalität	Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2		Gepoolte Daten	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
LC10	9,57	n. d.	6,21	n. d.	6,96	n. d.
lower 95%-cl	3,11	n. d.	1,97	n. d.	5,32	n. d.
upper 95%-cl	17,27	n. d.	11,16	n. d.	8,28	n. d.
LC20	18,77	n. d.	10,62	3,01	12,92	2,15
lower 95%-cl	8,53	n. d.	4,49	2,10	10,53	1,44
upper 95%-cl	30,43	n. d.	17,34	3,91	15,38	2,94
LC50	68,14	12,78	29,66	7,47	42,14	8,66
lower 95%-cl	43,17	2,40	18,32	6,08	36,63	6,95
upper 95%-cl	122,60	28,79	47,60	8,90	48,65	10,44
LC90	485,26	226,23	141,72	29,87	255,06	72,13
lower 95%-cl	227,41	77,75	79,60	24,07	200,23	57,02
upper 95%-cl	2.295,05	10.425,88	434,09	39,71	342,85	96,67

Mortalität	Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2		Gepoolte Daten	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Mortalität der Kontrollgruppe (%)	0	14,6	12,5	12,5	7,5	13,3
LOEC	≤4,000		≤4,000		≤4,000	
NOEC	< 4,000		< 4,000		< 4,000	

Anhang 21: Übersicht der durchgeführten Versuchsreihen und der ermittelten Kenngrößen für die Erstlarven der Art *Chironomus aprilius* für Expositionsdauern von 24 h und 48 h. n. d. = nicht definiert

Mortalität	Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2		Versuchsreihe 3		Gepoolte Daten	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
LC10	6,73	2,57	n. d.	n. d.	6,11	4,49	3,83	2,47
lower 95%-cl	2,77	0,64	n. d.	n. d.	3,89	2,85	0,91	1,03
upper 95%-cl	11,52	5,13	n. d.	n. d.	8,53	6,27	7,97	4,29
LC20	15,71	4,75	5,07	3,96	11,17	7,94	9,28	4,92
lower 95%-cl	8,61	1,65	0,00	1,15	7,92	5,59	3,46	2,53
upper 95%-cl	23,69	8,33	17,44	7,59	14,59	10,39	16,24	7,62
LC50	79,43	15,40	38,93	19,20	35,45	23,58	50,50	18,36
lower 95%-cl	54,53	8,922	6,973	10,89	28,46	18,97	31,39	12,85
upper 95%-cl	129,60	23,89	446,69	30,59	44,29	29,09	89,55	25,16
LC90	n. d.	92,29	n. d.	212,49	205,76	123,79	n. d.	136,23
lower 95%-cl	n. d.	52,92	n. d.	107,05	145,89	91,09	n. d.	86,57
upper 95%-cl	n. d.	261,66	n. d.	794,73	328,74	186,81	n. d.	274,11
Mortalität der Kontrollgruppe (%)	8,3	10,4	4,2	9,4	8,3	12,5	6,7	10,4
LOEC	≤4,000		≤4,000		≤4,000		≤4,000	
NOEC	< 4,000		< 4,000		< 4,000		< 4,000	

Anhang 22: Trinkwasseranalytik Speyer (Stadtwerke Speyer, o. D.)

		Messwert	Grenzwert
Enterokokken	Anz./100ml	0	0
<i>Clostridium perfringens</i>	Anz./100ml	0	0
Benzol	µg/l	<0,25	1
Bor	mg/l	<0,1	1
Chrom	µg/l	<0,5	25
Cyanid	mg/l	<0,005	0,05
1,2-Dichlorethan	µg/l	<0,3	3
Fluorid	mg/l	0,1	1,5
Nitrat	mg/l	1	50
Quecksilber	µg/l	<0,1	1
Selen	µg/l	<1	10
Tetrachlorethen	µg/l	<0,5	10
Trichlorethen	µg/l	<0,5	10
Antimon	µg/l	<1	5
Arsen	µg/l	<0,1	10
Benzo(a)pyren	µg/l	<0,0025	0,01
Blei	µg/l	<1	10
Cadmium	µg/l	<0,2	3
Epichlorhydrin	µg/l	<0,1	0,1
Kupfer	mg/l	<0,01	2
Nickel	µg/l	<2	20
Nitrit	mg/l	<0,01	0,5
Summe PAC*	µg/l	<0,005	0,1
Trihalogenmethane	µg/l	<1	50
Summe Pflanzenbehandlungsmittel	µg/l	<0,1	0,5
Aluminium	mg/l	<0,02	0,2
Ammonium	mg/l	<0,05	0,5
Chlorid	mg/l	4	250
Eisen	mg/l	<0,02	0,2
Färbung	l/m	0,1	0,5
Geruchsschwellenwert (25°C)	TON	0	0
Geschmack		0	0
Leitfähigkeit (25°C)	µS/cm	535	2790
Mangan	mg/l	<0,005	0,05
Natrium	mg/l	12,2	200
TOC**	mg/l	1,2	

Sulfat	mg/l	<5	250
Trübung	NTU	<0,1	1
pH-Wert		7,28	9,5
Säurekapazität bis pH 4,3	mmol/l	5,46	
Calcium	mg/l	81,5	
Magnesium	mg/l	12,4	
Kalium	mg/l	2,4	
Gesamthärte, durchschnittlich	°dH	14,2	
entspricht Calciumcarbonat	mmol/l	2,54	
Hydrogencarbonat	mg/l	330	
Calcitlösevermögen	mg/l	-11	5
Uran	µg/l	<0,2	10

Eidesstattliche Versicherung

GESAMTFAKULTÄT FÜR MATHEMATIK,
INGENIEUR- UND NATURWISSENSCHAFTEN

Eidesstattliche Versicherung gemäß § 8 der Promotionsordnung der Gesamtfakultät für Mathematik, Ingenieur- und Naturwissenschaften der Universität Heidelberg

1. Bei der eingereichten Dissertation mit dem Titel: „Auswirkungen von *Bacillus thuringiensis israelensis* auf die Dipterenzönose im Auwald mit einem Schwerpunkt auf der Familie der *Chironomidae*“ handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.
2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht.
3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich bislang nicht an einer Hochschule des In- oder Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt
4. Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärungen bestätige ich
5. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erklärt und nichts verschwiegen habe.

Heidelberg, der 26.04.2024

Vaßholz

Eigener Beitrag zur Datenerhebung und -analyse

Der Inhalt meiner Dissertation wurde, sofern nicht anders angegeben, vollständig von mir selbst erstellt. Dies schließt die Sammlung, Analyse, Visualisierung und Diskussion der Daten ein. Alle modifizierten oder neu entwickelten Methoden wurden ausschließlich von mir entworfen. Das in dieser Arbeit verwendete Bildmaterial unterliegt, sofern nicht anders angegeben, meinem Urheberrecht.

Ich habe im Rahmen der vorliegenden Arbeit Studierende beim Anfertigen ihrer Bachelor- und Master-Thesis unterstützt. Der Inhalt der Bachelor- und Masterarbeiten wurde meinerseits vorgegeben und betreut. Experimente oder Probenahmen erfolgten unter meiner Anleitung. Soweit nicht anders angegeben, wurde die Auswertung, Darstellung und Diskussion dieser Daten im Rahmen der vorliegenden Arbeit ausschließlich von mir vorgenommen.

- Blank, D. (2023). Einfluss von *Bacillus thuringiensis israelensis* Toxinen auf verschiedene Arten der *Chironomidae*, Masterthesis, RWTH Aachen, Aachen.
- Mollenhauer, T. (2020) Die Persistenz des Biozides *Bacillus thuringiensis israelensis* im Sediment der Rheinauen bei Altrip. Bachelorthesis, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg.
- Rodewald, S. (2020): The Chironomidae of the Northern Upper Rhine Graben: An Acquisition of the Biocoenosis of Nematocera in Different Water Body Types (with a Focus on the Distribution of *Chironomidae*). Bachelorthesis, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg.

Bei der Feldarbeit wurde ich von Dr. Björn Pluskota-Jehle sowie von studentischen Hilfskräften unterstützt, die mich bei der Datenerhebung im Gelände begleiteten. Teilweise wurden einfache Hilfstätigkeiten im Labor unter meiner Anleitung von wissenschaftlichen Hilfskräften oder den oben genannten Studierenden durchgeführt. Die bauliche Umsetzung der von mir entwickelten Methoden wurde von Dr. Björn Pluskota-Jehle unterstützt. Die statistischen Methoden wurden in Zusammenarbeit mit Richard Ottermanns (SCIDAC, Raeren und RWTH Aachen, *Computational Ecotoxicology*) durchgeführt, der mir sowohl die Software CANOCO zur Verfügung stellte als mich auch bei den bioinformatischen Analysen fachlich unterstützte. Mit den Metabarcoding-Analysen wurde das Labor *Advanced Identification Methods GmbH*, Leipzig, beauftragt. Die Darstellung und Interpretation der Daten erfolgten ausschließlich durch mich.