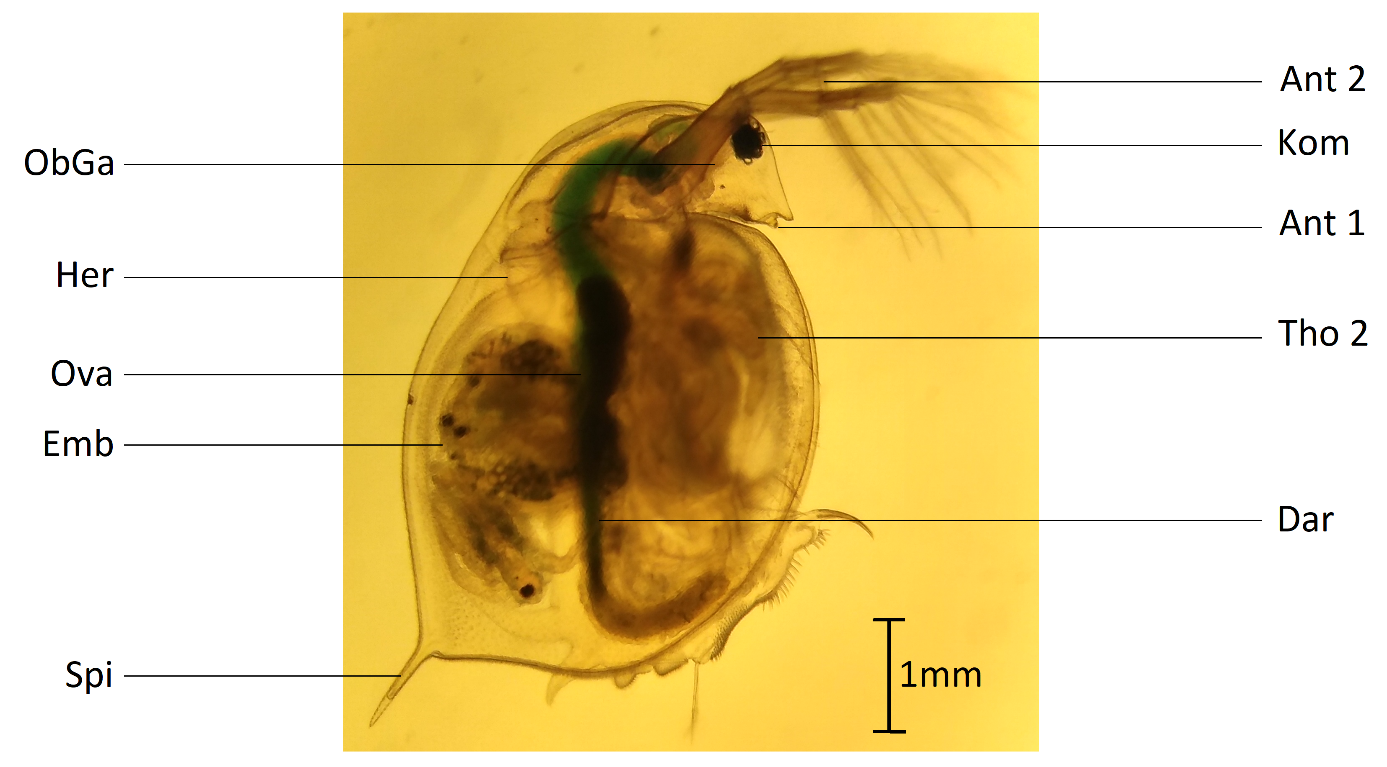
Wirkung von Neurotoxinen aus Pflanzenschutzmitteln auf den Wasserfloh *Daphnia magna*

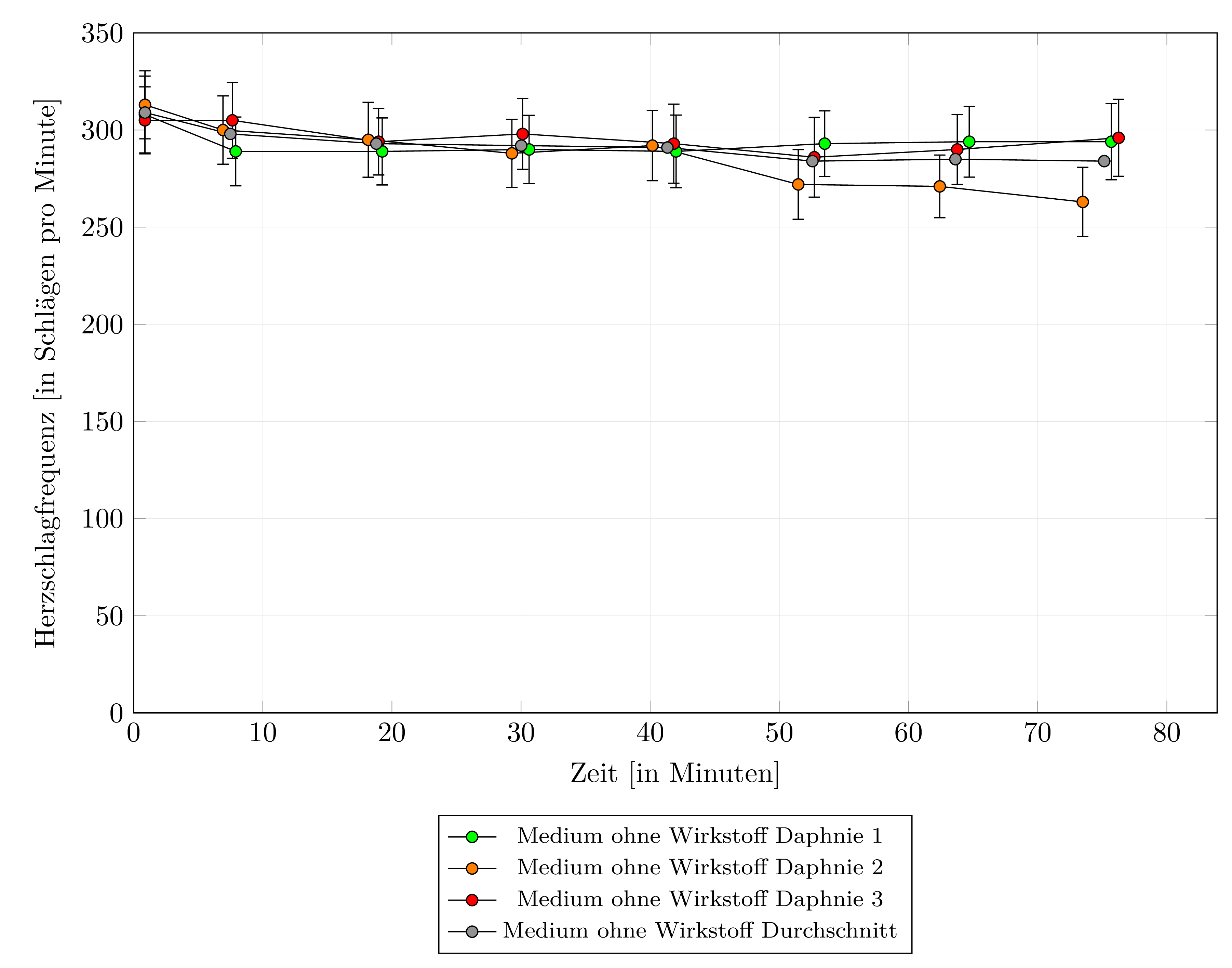
Ein neues Schulexperiment mit neurobiologischen und ökologischen Aspekten

H. Giovio, I. Heil, J. Bohrmann

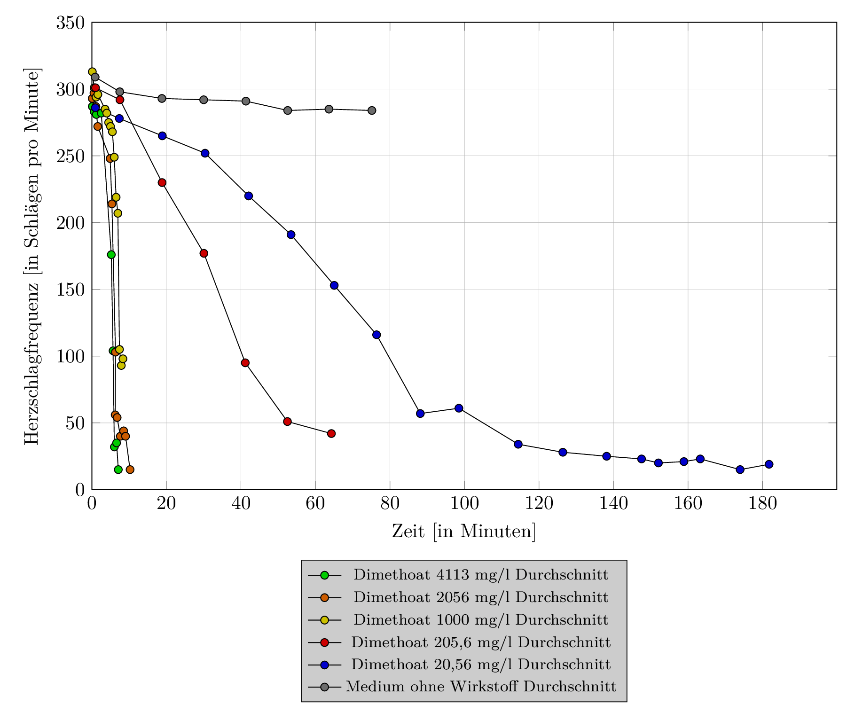
Zusatzmaterial

Abbildungen

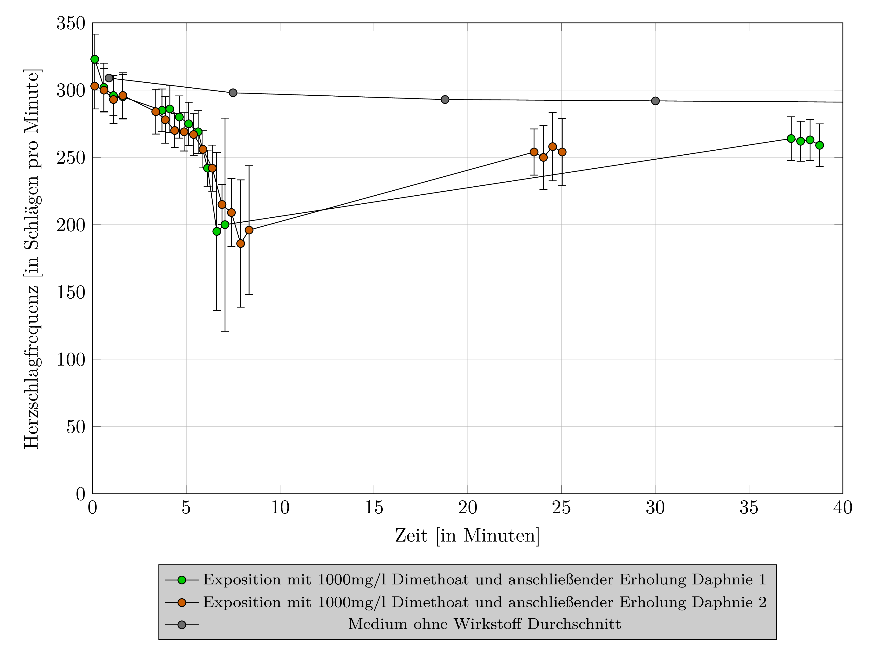
 **Abb.1** Weiblicher Wasserfloh der Art *Daphnia magna* im Durchlicht. **Ant 1** Erstes Antennenpaar, **Ant 2** Zweites Antennenpaar, **Dar** Darm, **Emb** Embryonen im Brutraum, **Her** Herz, **Kom** Komplexauge, **ObGa** Oberschlundganglion, **Ova** Ovar, **Spi** Spina, **Tho 2** Zweite Thorakopode. (Foto: Hazel Giovio; schematische Abbildung zu finden z.B. in [16] und in [29]).



**Abb. 2** Herzschlagfrequenzen von drei Wasserflöhen der Art *Daphnia magna* unter Normalbedingungen (Wasser ohne Wirkstoff). Die Datenpunkte geben jeweils die über einen Zeitraum von 6,5 Minuten gemittelte Herzschlagfrequenz (± Standardabweichung) einer Daphnie wieder; grün, orange und rot: Daphnie 1, 2 und 3, grau: Mittelwerte der Herzschlagfrequenzen der drei Daphnien (aus: [13]).



**Abb. 3** Herzschlagfrequenzen bei verschiedenen Konzentrationen eines Neurotoxins (hier: Dimethoat) über einen Zeitraum von 180 Minuten; Mittelwerte der Herzschlagfrequenzen von je drei Daphnien; grün: 4x konzentrierte Wirkstofflösung, orange: 2x konzentrierte Wirkstofflösung, gelb: konzentrierte Wirkstofflösung, rot: 1:5 verdünnte Wirkstofflösung, blau: 1:50 verdünnte Wirkstofflösung, grau: Wasser (aus: [13]).



**Abb. 4** Erholung der Herzschlagfrequenz nach der Exposition mit einem Neurotoxin aus einem Pflanzenschutzmittel (hier: Dimethoat); die Exposition wurde abgebrochen, wenn etwa die halbe normale Herzschlagfrequenz erreicht war. Die Datenpunkte geben jeweils die über einen Zeitraum von 15 Sekunden gemittelte Herzschlagfrequenz (± Standard-abweichung) einer Daphnie wieder; grün: Exposition mit konzentrierter Wirkstofflösung (Daphnie 1), orange: Exposition mit konzentrierter Wirkstofflösung (Daphnie 2), grau: Exposition mit Wasser (Mittelwerte der drei Daphnien aus Abb. 2; aus: [13])

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| a) Exposition mit Wasser | b) Exposition mit 1:200 verdünnter Wirkstofflösung | c) Exposition mit 1:20 verdünnter Wirkstofflösung |
| **Abb. 5** Zeitlicher Verlauf der Herzschlagfrequenz von Wasserflöhen (*Daphnia magna*) bei Exposition mit verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen bzw. mit Wasser (vgl. Abb. 2-4 im Arbeitsmaterial); exemplarische Messergebnisse, ermittelt mit der App „TouchCounter“.  a) Negativkontrolle (Probemessung aus Schritt A2), b) und c) niedrige Wirkstoffkonzentrationen, d) und e) hohe Wirkstoffkonzentrationen. | d) Exposition mit halbkonzentrierter Wirkstofflösung | e) Exposition mit konzentrierter Wirkstofflösung |

.

Tabellen

**Tab. 1** Toxizität einiger Neurotoxine bei ausgewählten Organismen im Vergleich sowie Wirkstoffgehalt verschiedener Pestizide.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Dimethoat | Flupyradifuron | Imidacloprid | Nikotin |
| LD50 oral - Ratte | > 60 mg/kg | > 300 mg/kg | 410 mg/kg | 70 mg/kg |
| LD50 Haut - Ratte | > 353 mg/kg | > 2000 mg/kg | > 5000 mg/kg | Keine Daten verfügbar |
| LC50 Regenbogenforelle | > 7,5 mg/L (96 h) | > 74,2 mg/L (96 h) | 211 mg/L (96 h) [19] | 4 mg/L (96 h) |
| EC50 Wasserfloh | > 5,4 mg/L (48 h) | > 77,6 mg/L (48 h) | 85 mg/L (48 h) [19] | 0,24 mg/L (48 h) [27] |
| **Wirkstoffgehalt pro Einheit** | **8,36 mg**  **(3,8 g/kg) \***  **Lizetan Combistäbchen (2,2 g)** | **3,76 mg**  **(1,88 g/kg) \***  **Lizetan Combistäbchen Plus (2 g)** | **50 mg**  **(25 g/kg)** [12]  **Lizetan 3 in 1 Schädlingsfrei (Tablette à 2 g)** | **---** |

Die Werte geben die toxische Wirkstoffmenge pro Kilogramm Körpergewicht bzw. pro Liter Umgebungswasser des genannten Lebewesens an (Zeile 1-4); die Herstellerangaben beziehen sich auf den Wirkstoffgehalt pro Kilogramm Insektizid, die Menge wurde auf die Masse eines Stäbchens bzw. einer Tablette umgerechnet (Zeile 5); LD50 und LC50: die Dosis bzw. Konzentration, die bei 50 Prozent der Individuen einer Stichprobe den Tod auslöst (auch: mittlere letale Dosis bzw. mittlere letale Konzentration), EC50: die Konzentration, die bei 50 Prozent der Individuen einer Stichprobe einen anderen definierten Effekt auslöst, z.B. Immobilisation. Quellen (soweit nicht anders angegeben): [25] sowie Herstellerangaben auf der Verpackung (\*).

**Tab. 2** Überblick über den Ablauf bei der Probemessung (nur 1 Intervall) und bei den Messungen mit Wirkstofflösung (zwei Intervalle mit 5 Minuten-Messpause).

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 1. Intervall | | Messpause | 2. Intervall | |
| 13 x | 15 sec messen | 5 Minuten  Mikroskop ausschalten! | **13 x** | 15 sec messen |
| 15 sec pausieren | 15 sec pausieren |

**Tab. 3:** Möglichkeiten der Variation bei der Durchführung des Experiments.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Vorbereitung (Lehrkraft) | Einstiegsstunde (SuS) | Folgestunde(n) (SuS) | Bemerkungen |
| Schritt A1 | Schritt A2 | Schritt A3 und B | Abfolge entspricht Darstellung im Arbeitsmaterial |
| Schritt A1 | Schritt A3 | Schritt A2 und B | Experiment funktioniert auch, wenn Wirkstofflösungen bereits einige Tage alt sind (vgl. Abschnitt 3.2) |
| Schritt A1 und A3 | Schritt A2 | Schritt B |
| Schritt A1,  Schritt A3 entfällt | Schritt A2 | Schritt B | nur Vergleich der Herzschlagfrequenz bei Exposition mit und ohne Wirkstoff, keine Aussage bezüglich des Effekts unterschiedlicher Konzentrationen des Wirkstoffs – entsprechend nur eine Hypothese zu formulieren (vgl. Abschnitt 4.3) |

Links zum Videoclip und zur App „TouchCounter“:

[www.humanbiologie.rwth-aachen.de](http://www.humanbiologie.rwth-aachen.de) (🡪 Fachdidaktik Biologie 🡪 „Arbeitsmaterialien“)

<https://github.com/blizzard4591/TouchCounter/releases>

Literaturverzeichnis

[1] Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K et al. (2017) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Begründet von Forth W, Henschler D, Rummel W. München: Elsevier Health Sciences

[2] Bayrhuber H, Kull U (Hg.) (2005) Linder Biologie. Gesamtband. Braunschweig: Bildungshaus Schulbuchverlage

[3] Bekker JM, Krijgsman B (1951) Physiological investigations into the heart function of *Daphnia*. The Journal of Physiology 115(3): 249–257; online: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1113/jphysiol.1951.sp004669> (letzter Zugriff: 19.11.2019)

[4] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (2013) BVL ändert Zulassung von Pflanzenschutzmitteln aus der Gruppe der Neonicotinoide; online: <https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/04_pflanzenschutzmittel/2013/2013_07_16_hi_Neonicotinoide.html> (letzter Zugriff: 20.11.2019)

[5] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (2019) EU-Genehmigung des Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffs Dimethoat nicht erneuert; online: <https://www.bvl.bund.de/DE/04_Pflanzenschutzmittel/06_Fachmeldungen/2019/2019_07_01_Fa_Nichtgenehmigung_Dimethoat.html> (letzter Zugriff: 15.11.2019)

[6] Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz (Hg.) (2018) Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 17. Dezember 2018 (BGBl. I S. 2586) geändert worden ist; online: <https://www.gesetze-im-internet.de/tierschg/BJNR012770972.html> (letzter Zugriff: 19.11.2019)

[7] Die Allianz der Wissenschaftsorganisationen (2018) Tierversuche verstehen. Eine Informationsinitiative der Wissenschaft; online: <https://www.tierversuche-verstehen.de> (letzter Zugriff: 19.11.2019)

[8] Ebert D (2005) Ecology, epidemiology, and evolution of parasitism in *Daphnia*. Basel: National Library of Medicine

[9] Fent K (2013) Ökotoxikologie: Umweltchemie-Toxikologie-Ökologie. Stuttgart: Georg Thieme

[10] Flückiger E (1952). Beiträge zur Verwendung von *Daphnia* als pharmakologisches Testobjekt. Dissertation, ETH Zürich

[11] Forum Tierversuche in der Forschung (2012) Ziel- und Zweckbewertung von Tierversuchen. Hintergrundpapier des Forum Tierversuche in der Forschung; online: <https://www.dfg.de/download/pdf/dfg_magazin/gremien_politikberatung/tierschutz2015/dialogforum_tierversuche/ziel-und_zweckbewertung_tierversuche.pdf> (letzter Zugriff: 19.11.2019)

[12] Frenger N, Strauß T, Wüller M, Bohrmann J (2011). Wie wird die Umweltverträglichkeit von Chemikalien geprüft? Unterricht Biologie 362:42-48

[13] Giovio H (2019) Wirkung von Neurotoxinen auf *Daphnia magna*: Experimente mit Nikotin und Dimethoat für das Lehr-Lern-Labor. Bachelorarbeit, RWTH Aachen

[14] [Hollert H, Seiler T-B, Bohrmann J, Müller O (2013)](http://www.humanbiologie.rwth-aachen.de/images/stories/downloads/HoSeBoMü13.pdf) Ökotoxikologie - Eine interdiziplinäre Wissenschaft. Praxis der Naturwissenschaften - Biologie in der Schule 3/62:4-6; online: [http://www.humanbiologie.rwth-aachen.de/images/stories/downloads/HoSeBoM%C3% BC13.pdf](http://www.humanbiologie.rwth-aachen.de/images/stories/downloads/HoSeBoM%C3%25%20BC13.pdf) (letzter Zugriff: 15.11.2019)

[15] Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (2019) GESTIS-Stoffdatenbank; online: <https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index.jsp> (letzter Zugriff: 19.11.2019)

[16] Kaestner A (1993) Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Band I: Wirbellose Tiere. 4. Teil: Arthropoda (ohne Insecta). Stuttgart: Gustav Fischer

[17] Killermann W, Hiering P, Starosta B (2013) Biologieunterricht heute: Eine moderne Fachdidaktik. Donauwörth: Auer

[18] Kreutzberg K, Dahmen R, Schmidt B, Bohrmann J (2011) Wie wirken Neurotoxine? Unterricht Biologie 362:36-41

[19] Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) Nordrhein-Westfalen (2015) ECHO-Stoffbericht Neonicotinoide; online: [https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuv/ analytik/ECHO\_Neonicotinoide\_Maerz\_2015.pdf](https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuv/%20analytik/ECHO_Neonicotinoide_Maerz_2015.pdf) (letzter Zugriff: 15.11.2019)

[20] Lexikon der Biologie (1999): Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; online: <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/> (19.11.2019).

[21] Menzel R, Tison L (2019) Mit den Waffen der Chemie gegen Insekten. Wie Neonicotinoide das Verhalten von bestäubenden Insekten beeinträchtigen. Biologie in unserer Zeit 3(49):198-206

[22] Ministerium für Schule und Bildung des Landes Nordrhein-Westfalen (2019): Kernlehrplan für die Sekundarstufe I Gymnasium in Nordrhein-Westfalen. Biologie; online: <https://www.schulentwicklung.nrw.de/lehrplaene/lehrplan/197/3413_Biologie.pdf> (letzter Zugriff: 15.11.2019)

[23] Ministerium für Schule und Weiterbildung des Landes Nordrhein-Westfalen (2014): Kernlehrplan für die Sekundarstufe II Gymnasium/Gesamtschule in Nordrhein-Westfalen. Biologie; online: [https://www.schulentwicklung.nrw.de/lehrplaene/lehrplan/147/KLP\_ GOSt\_Biologie.pdf](https://www.schulentwicklung.nrw.de/lehrplaene/lehrplan/147/KLP_%20GOSt_Biologie.pdf) (letzter Zugriff: 15.11.2019)

[24] Reichert H (2000) Neurobiologie. Stuttgart: Georg Thieme

[25] Sigma-Aldrich (2018/2019) Sicherheitsdatenblätter; online: [https://www.sigmaaldrich.com/ safety-center.html](https://www.sigmaaldrich.com/%20safety-center.html) (Sicherheitsdatenblätter werden nach Eingabe der Produktnummer angezeigt, Dimethoat: 45449, Flupyradifuron: 37050, Imidacloprid: 37894, Nicotin: 36733; letzter Zugriff: 15.11.2019)

[26] Skrzipek KH (2013) Praktikum der Verhaltenskunde. Heidelberg: Springer

[27] Smith SB, Savino JF, Blouin MA (1988). Acute toxicity to *Daphnia pulex* of six classes of chemical compounds potentially hazardous to great lakes aquatic biota. Journal of Great Lakes Research 14(4):394-404; online: [https://www.sciencedirect.com/science/article/ pii/S0380133088715725](https://www.sciencedirect.com/science/article/%20pii/S0380133088715725) (letzter Zugriff: 15.11.2019)

[28] Stenderup J, Olesen J, Glenner H (2006) Molecular phylogeny of the Branchiopoda (Crustacea) – Multiple approaches suggest a ‘diplostracan’ ancestry of the Notostraca. Molecular Phylogenetics and Evolution 41(1):182–194

[29] Storch V, Welsch U (2014) Kükenthal Zoologisches Praktikum. Heidelberg: Springer