

TEXTE

04/2018

Rückstände von als Rodentizid ausgebrachten Antikoagulanzen in wildelebenden Biota

Abschlussbericht

TEXTE 04/2018

Umweltforschungsplan des
Bundesministeriums für Umwelt,
Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit

Forschungskennzahl 3710 63 401
UBA-FB 002598

Rückstände von als Rodentizid ausgebrachten Antikoagulanzen in wildlebenden Biota

von

Jens Jacob, Anke Broll, Alexandra Esther
Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Wirbeltierforschung
Münster

Detlef Schenke
Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz
Berlin

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber:

Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
info@umweltbundesamt.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt

Durchführung der Studie:

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst
- Wirbeltierforschung -
Toppheideweg 88
48161 Münster

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz
Königin-Luise-Straße 19
14195 Berlin

Abschlussdatum:

November 2013

Redaktion:

Fachgebiet IV 1.4 Gesundheitsschädlinge und ihre Bekämpfung
Erik Schmolz

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen>

ISSN 1862-4359

Dessau-Roßlau, Januar 2018

Das diesem Bericht zu Grunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit unter der Forschungskennzahl 3710 63 401 finanziert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung

Antikoagulante Rodentizide (AR) sind wichtige Wirkstoffe bei der Schädnerbekämpfung im Biozidbereich, können aber unter Umständen Nichtzielarten gefährden. In diesem Projekt erfolgte 1. die Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten 2. die Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder – Beute – Räuber und 3. die Ermittlung saisonaler Effekte auf sekundäre Rodentizidrückstände in Prädatoren.

61% der Fuchsleberproben wiesen AR-Rückstände auf. Füchse aus Landkreisen mit hoher Großviehdichte (Indikator für hohen Rodentizideinsatz) waren häufiger belastet, als Füchse aus Landkreisen mit niedrigen Großviehdichten. In 32% der Eulen- und Greifvogelproben kamen AR-Rückstände vor. Mit steigender Entfernung zum Anwendungsort sank der Anteil mit Brodifacoum belasteter Kleinsäuger. Rückstände konnten in allen untersuchten Kleinsäugerarten nachgewiesen werden. *Apodemus*-Arten wiesen häufig und z.T. hohe Rückstände auf und bildeten den zweigrößten Anteil der saisonal schwankenden Schleiereulennahrung. *Microtus*-Arten, als häufigste Beuteart, wiesen nur in Einzelfällen Rückstände auf. Der Expositionsweg von AR über *Apodemus*-Arten scheint daher für Schleiereulen wahrscheinlich, wenn die Schleiereule im Hofbereich jagt.

Abstract

Anticoagulant rodenticides (AR) are important agents in biocidal pest rodent control, but could endanger non-target animals. Project aims were to 1. monitor rodenticide residues in non-target species 2. quantify rodenticide residues along the exposure path bait – prey – predator and 3. investigate seasonal effects on secondary rodenticide residues in predators.

61% of liver samples from red foxes showed AR-residues. Foxes from rural districts with high livestock density (indicator for high rodenticide usage) carried AR-residues more frequently than foxes from areas with low livestock density. AR-residues were detected in 32% of owls and birds of prey. The proportion of non-target small mammals carrying brodifacoum-residues decreased with increasing distance from baiting points. Residues were found in all investigated small mammal species. *Apodemus*-species showed AR-residues in partly high concentrations and constituted the second largest part of the barn owls diet. *Microtus*-species were the main prey component of barn owls but showed almost none residues. Exposure to brodifacoum through *Apodemus*-species seems to be most likely for barn owls if barn owls hunt in farm surroundings.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	12
1.1	Einleitung	12
1.2	Ziele	13
1.3	Methoden.....	13
1.3.1	Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nichtzielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität.....	13
1.3.2	Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder – Beute – Räuber	14
1.3.3	Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren	14
1.4	Ergebnisse.....	14
1.4.1	Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität.....	14
1.4.2	Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder – Beute – Räuber	15
1.4.3	Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren	15
1.5	Schlussfolgerungen.....	16
2	Summary.....	18
2.1	Introduction	18
2.2	Aims.....	18
2.3	Methods	19
2.3.1	Recording rodenticide residues in non-target species according to rodenticide use intensity	19
2.3.2	Quantification of rodenticide residues along the exposure path bait – prey - predator	19
2.3.3	Investigation of seasonal and annual effects of rodent population density on secondary rodenticide residues in predators.....	20
2.4	Results	20
2.4.1	Recording rodenticide residues in non-target species according to rodenticide use intensity	20
2.4.2	Quantification of rodenticide residues along the exposure path bait – prey - predator	20

2.4.3	Investigation of seasonal and annual effects of rodent population density on secondary rodenticide residues in predators.....	21
2.5	Conclusions.....	21
3	Einleitung.....	23
3.1	Anwendung und Wirkungsweise von antikoagulanten Rodentiziden	23
3.2	Primäre Risiken antikoagulanter Rodentizide.....	23
3.3	Sekundäre Belastung von Nichtzielarten.....	24
3.4	Beuteverfügbarkeit und die Beutezusammensetzung von Prädatoren	24
4	Projektziele	25
5	Methoden.....	25
5.1	Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität.....	25
5.1.1	AR-Rückstände beim Rotfuchs	25
5.1.2	AR-Rückstände bei Eulen und Greifvögeln	26
5.2	Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder – Beute – Räuber	26
5.2.1	Schadnagerregulierung – Anwendung Brodifacoum-Köder.....	27
5.2.2	AR-Rückstände bei Kleinsäugetern.....	27
5.2.3	Gewöllesammlung.....	28
5.3	Methodenentwicklung AR-Rückstandsanalytik.....	28
5.3.1	Standardverbindungen und -lösungen.....	28
5.3.2	Probenaufbereitung Leber	29
5.3.3	Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie	30
5.3.4	Probenaufarbeitung Gewölle.....	33
5.4	Die Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren.....	33
6	Ergebnisse	34
6.1	Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität.....	34
6.1.1	Rotfüchse	34
6.1.2	Eulen und Greifvögel.....	37
6.2	Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder – Beute – Räuber	38
6.2.1	Zielarten	38
6.2.2	Rückstände in Nichtzielkleinsäugetern	39

6.2.3 Brodifacoum-Rückstände in Kleinsäugertaxa und Häufigkeit der Taxa in der Schleiereulennahrung	47
6.3 Die Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren.....	49
6.3.1 Rückstände in Füchsen	49
6.3.2 Nahrungsbestandteile in der Schleiereulenbeute	49
Schlussfolgerungen	53
7 Projektbezogene Publikationen	56
8 Quellenverzeichnis.....	58

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Anteil untersuchter Leberproben von Rotfüchsen (<i>Vulpes vulpes</i>), die AR-Rückstände aufwiesen	35
Abb. 2	Großviehdichte in Deutschland auf Landkreisebene	36
Abb. 3	Anteil untersuchter Fuchsleberproben mit AR- aus Landkreisen mit hoher, mittlerer und niedriger Rodentizidanwendung	36
Abb. 4	Anteil der Fuchsleberproben aus den Landkreisen Warendorf und Münster mit Rückständen verschiedener AR-Wirkstoffe (oben); Anwendung biozider rodentizider Wirkstoffe von Landwirten im Münsterland (unten).....	37
Abb. 5	Rückstände antikoagulanter Rodentizide in verschiedenen Eulen und Greifvogelarten	38
Abb. 6	Brodifacoum-Rückstandskonzentrationen [ng/g Leber] in Wanderatten aus dem Münsterland	39
Abb. 7	Brodifacoum-Rückstandskonzentrationen [ng/g Leber] von homozygot resistenten, heterozygot resistenten und Wildtyp Wanderratten aus dem Münsterland.....	39
Abb. 8	Brodifacoum-Rückstände vor der Rodentizidanwendung.....	40
Abb. 9	Brodifacoum-Rückstände in Kleinsäugetern in Abhängigkeit der Entfernung zum Anwendungsort.....	41
Abb. 10	Brodifacoum-Rückstände in Kleinsäugetern von Höfen aus dem Münsterland im dichten Transektabschnitt während (Session 2) und nach (Session 3) einer Rodentizidanwendung	43
Abb. 11	Brodifacoum-Rückstände im dichten Transektabschnitt gefangener Kleinsäugeter von Bauernhöfen im Münsterland, aufgeteilt nach Artgruppen.....	45
Abb. 12	Fangerfolg (Mittelwerte $\pm 95\%$ Konfidenzintervall über Höfe, N=14) für die Kleinsäugetertaxa <i>Apodemus</i> spp., Rötelmaus, <i>Microtus</i> spp., Hausspitzmaus und <i>Sorex</i> spp.....	46
Abb. 13	Gegenüberstellung des Anteils an Individuen mit Brodifacoum-Rückständen bei gefangenen Kleinsäugetern im Münsterland und dem Auftreten der entsprechenden Art in der Schleiereulennahrung im gleichen Zeitraum.....	48
Abb. 14	Füchse mit AR-Rückständen aus dem deutschlandweiten Monitoring aus den Jahren 2012 (9 Landkreise; Massenvermehrung der Feld- und Rötelmaus) und 2013 (7 Landkreise; keine Kleinsäugeter-Massenvermehrungen)	49
Abb. 15	Anteil von <i>Microtus</i> -Arten an der Schleiereulennahrung	50
Abb. 16	Anteil von <i>Apodemus</i> -Arten (<i>A. sylvaticus</i> und <i>A. flavicollis</i>) an der Schleiereulennahrung.....	50

Abb. 17	Anteil von <i>Sorex</i> -Arten (<i>S. araneus</i> , <i>S. coronatus</i> und <i>S. minutus</i>) an der Schleiereulennahrung.....	51
Abb. 18	Anteil von Rötelmäusen an der Schleiereulennahrung.....	51
Abb. 19	Anteil von Hausspitzmäusen an der Schleiereulennahrung.....	52
Abb. 20	Anteil von Wanderratten (<i>R. norvegicus</i>) an der Schleiereulennahrung.....	52
Abb. 21	Anteil von Hausmäusen (<i>M. musculus</i>) an der Schleiereulennahrung.....	52

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Landwirtschaftliche Betriebe.....	27
Tab. 2	Identität und Herkunft der Standards	29
Tab. 3	Konfiguration der LC	31
Tab. 4	Konfiguration des MS.....	31
Tab. 5	Ausgewählte diagnostische Ionen.....	32
Tab. 6	Fangzahlen und Fangfolge der vier Fangaktionen von Kleinsäufern	39
Tab. 7	Brodifacoum-Konzentrationsangaben [ng/g] positiv getesteter Kleinsäuger.....	42
Tab. 8	Vorkommen zur Rattenbekämpfung nicht angewandter Rodentizidwirkstoffe gemittelt über die Höfe	47

Abkürzungen

ANOVA	Analysis of variance
AR	antikoagulante Rodentizide
Brom.	Bromadiolon
Chlor.	Chlorphacinon
Couma.	Coumatetralyl
Difen.	Difenacoum
Difet.	Difethialon
EU	Europäische Union
FGAR	First generation anticoagulant rodenticide Antikoagulantes Rodentizid der ersten Generation
Flocou.	Flocoumafen
FN	Fallennacht
GV	Großviehdichte
GE	Großvieheinheiten
LC	liquid chromatography; Flüssigchromatographie
Ind.	Individuen
IS-Mix	interner Standard
LCL	lowest calibration level; niedrigstes Kalibrierlevel
LD	Livestock density
LD50	letale Dosis (50% der untersuchten Individuen)
MS	Mass spectrometry; Massenspektrometrie
N	Stichprobengröße
Q	Quadrupol
SD	Standardabweichung
SGAR	Second generation anticoagulant rodenticide Antikoagulantes Rodentizid der zweiten Generation
SRG-Mix	Surrogatlösung
Warf.	Warfarin

1 Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Antikoagulante Rodentizide (AR) werden in Deutschland in beträchtlichen Mengen zur Schädnerregulierung eingesetzt. Sie finden sowohl im Pflanzenschutz- als auch im Biozidbereich Anwendung. Im vorliegenden Projekt geht es um den Einsatz von ARs im Biozidbereich. Alle ARs wirken als Blutgerinnungshemmer und führen auf verzögerte Weise durch Verbluten zum Tod. Hierdurch entwickeln Zielarten keine Köderscheu und bei ungewollten Vergiftungen (z.B. Hoftiere) ist Vitamin K als Gegengift verfügbar. ARs wirken bei allen warmblütigen Tieren und stellen somit eine Gefahr für Nichtzielarten dar, sich daran zu vergiften. Dies kann entweder über die direkte Köderaufnahme geschehen (primäre Vergiftung) oder über die Aufnahme belasteter Beute durch Prädatoren oder Aasfresser (sekundäre Vergiftung).

Da neben den Zielarten auch Nichtzielkleinsäuger in der Umgebung landwirtschaftlicher Betriebe vorkommen, besteht ein Risiko für Primärvergiftungen mit ARs bei Nichtzielarten im Hofbereich. Untersuchungen zu primären Vergiftungen in Nichtzielkleinsäugetieren sind weltweit sehr selten und wurden in Deutschland bisher nicht durchgeführt. Aufgrund der unterschiedlichen Biologie der Nichtzielarten (z.B. Nahrungsspektren und Habitatansprüche) könnten die Arten einem unterschiedlich hohen Risiko ausgesetzt sein, mit bioziden AR-Ködern in Kontakt zu kommen.

In zahlreichen Studien, die sich mit sekundären Vergiftungen von Prädatoren beschäftigten, wurden Rückstände in Eulen und Greifvögeln gefunden, wobei der Anteil an belasteten Individuen über die Jahre hinweg zuzunehmen schien. Deshalb wurde der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln neben dem Verlust von Nistmöglichkeiten für den Rückgang u.a. der Schleiereulenpopulationen (*Tyto alba*) in Westeuropa mit verantwortlich gemacht. Einige Studien haben AR-Rückstände in Hermelinen (*Mustela erminea*), Iltissen (*Mustela putorius*) und Füchsen (*Vulpes vulpes*) nachgewiesen. Prädatoren nehmen ARs hauptsächlich über belastete Beuteindividuen auf. Sowohl Ziel- als auch Nichtzielarten könnten eine Rolle spielen.

Es ist schwierig, Studien aus anderen Ländern auf Deutschland zu übertragen, da die Zulassung von antikoagulanten Rodentiziden im Biozidbereich weltweit nicht einheitlich geregelt ist. Zudem sind in anderen Ländern auch andere Wirkstoffe als Pflanzenschutzmittel oder Biozide zugelassen als in Deutschland und die Zusammensetzung der Arten im Hofbereich variieren.

Kleinnager haben eine große Bedeutung als Nahrung für Prädatoren wie Eulen, Greifvögel und Füchse. Bei auf Nager spezialisierten Prädatoren wie der Schleiereule kann die Nahrungszusammensetzung vom verfügbaren Beuteangebot z.B. an Wald- und Feldnagern abhängen. In einigen Ländern, wie z.T. auch in Deutschland, kommen Zielarten von Rodentizidanwendungen nur selten in der Nahrung der Schleiereule vor. Dies deutet darauf hin, dass die Giftaufnahme gerade über Nichtzielkleinsäuger eine entscheidende Rolle spielen kann. Dieser Expositionspfad wurde bisher aber kaum untersucht. Ebenso ist unbekannt, in welchem Maße Prädatoren, z.B. Eulen, Greifvögel und Füchse in Deutschland durch Rodentizide belastet sind.

Im ländlichen Bereich dürfte die Intensität der Anwendung biozider ARs – und damit das Risiko für Nichtzielarten – z.B. mit der Viehhaltung zusammenhängen, weil in der Tierhaltung kommensale Schädner bekämpft werden müssen. Dieser Aspekt wurde jedoch bisher nicht betrachtet. Ebenso ist weitgehend unbekannt, inwieweit das saisonale und jährlich schwankende Beuteangebot Auswirkungen auf die Rückstände biozider ARs in Prädatoren haben. Feldmäuse (*Microtus arvalis*) und Rötelmäuse (*Myodes glareolus*) zeigen beispielsweise starke Schwankungen der Populationsdichte saisonal und zwischen den Jahren und es kommt immer wieder zu Massenvermehrungen. Es wäre somit denkbar, dass Populationsschwankungen der Nager die Belastung mit Rodentiziden der Prädatoren beeinflussen.

1.2 Ziele

Im Projekt sollte deshalb erfolgen:

1. die Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität
2. die Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfad es Köder – Beute – Räuber
3. die Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren.

1.3 Methoden

1.3.1 Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nichtzielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität

Im Jahr 2012 und 2013 wurden im Rahmen des Tollwutmonitorings der Bundesländer bei Füchsen aus verschiedenen Regionen Deutschlands Leberproben genommen und im Projekt auf Rodentizidrückstände untersucht.

Für die Analyse der Leberproben wurde eine neue Methode entwickelt, bei der die Proben mittels einer Chem-Elut Säule aufgereinigt und anschließend mittels Flüssigchromatographie (LC) gekoppelt mit einer Massenspektrometrie (MS) gleichzeitig auf acht verschiedene AR-Wirkstoffe (Brodifacoum, Bromadiolon, Chlorphacinon, Coumatetralyl, Difenacoum, Difethialon, Flocoumafen und Warfarin) hin untersucht wurden.

Für jeden deutschen Landkreis wurde die Großviehdichte (GV, Großvieheinheiten pro Fläche des Landkreises) (GENESIS-Online Datenbank des statistischen Bundesamtes, 01.03.2010) pro Fläche des Landkreises ermittelt. Eine Großvieheinheit entspricht 500 kg Tiermasse. Wir gingen davon aus, dass mit steigender GV auch die Menge an eingesetzten Rodentiziden steigt. Die GV stellte deshalb einen Indikator für die eingesetzte Menge an Rodentiziden dar. Die Großviehdichte wurde in drei Klassen eingeteilt: niedrig (GV unter 0,2) mittel (GV zwischen 0,2 und 0,5), hoch (GV über 0,5). Proben aus Landkreisen mit verschiedenen GVs wurden hinsichtlich des Vorkommens von AR-Rückständen in Fuchsleberproben verglichen.

Über einen Zeitraum von 2 Jahren (2011 und 2012) wurden außerdem Totfunde von Eulen und Greifvögeln aus verschiedenen Regionen Deutschlands gesammelt. Die

Leberproben der Vögel wurden wie die Fuchsleberproben mittels LC-MS auf Rückstände der acht rodentiziden Wirkstoffe hin untersucht.

1.3.2 Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder - Beute - Räuber

In den Jahren 2011, 2012 und 2013 erfolgte im Herbst (2011 und 2012) und im Winter (2012 und 2013) im Münsterland (Nordrhein-Westfalen) auf sechs bis neun landwirtschaftlichen Betrieben pro Jahreszeit ein Monitoring von AR-Rückständen in Kleinsäufern. Auf jedem Betrieb wurde für die Regulierung von Wanderraten Ratron® Brodifacoum-Haferflocken-Köder fachgerecht in Köderstationen im Innen- und Außenbereich des Hofes ausgelegt. Die Anwendung erfolgte über drei Wochen. Nichtziel-Kleinsäuger wurden in drei Zeiträumen (vor, während und nach) der Schadnagerregulierung mit Schlagfallen gefangen. Der Fang der Tiere erfolgte je Hof auf zwei Transekten, die vom Anwendungsort weg führten. Pro Transekt wurden 54 Fallen aufgestellt. Die Fallenstandorte der Transekte wurden in drei Entfernungsbereiche eingeteilt (dicht, mittel, fern). Die Fallen wurden so lange scharf gestellt, bis auf einem Transektabschnitt (als Summe aus beiden Transekten) fünf Kleinsäuger gefangen wurden. Leberproben der Kleinsäuger wurden mittels LC-MS auf Rodentizidrückstände untersucht.

Vor, während und nach der Rodentizidanwendung erfolgte im 3-Tage Intervall das Aufsammeln von Gewöllen an Nist- und Rastplätzen der Schleiereulen. Knochen und Zähne wurden aus den Gewöllen herausgetrennt und anschließend den Beutearten zugeordnet.

1.3.3 Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren

2012 war sowohl für die Rötelmaus als auch für die Feldmaus ein Massenvermehrungsjahr. Im Jahr 2013 war dies nicht der Fall. Der Anteil an AR-Rückständen in Füchsen wurde zwischen 2012 und 2013 verglichen. Das Beutespektrum von Schleiereulen wurde anhand der Gewölle-Zusammensetzung von März 2011 bis Januar 2013 monatlich bestimmt um saisonale und jährliche Schwankungen der Kleinsäuger in der Nahrung zu untersuchen.

1.4 Ergebnisse

1.4.1 Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität

Insgesamt wurden 265 Fuchsleberproben auf Rückstände untersucht, von denen 161 Rückstände von antikoagulanten Rodentiziden aufwiesen. Es zeigte sich, dass Rückstände von SGAR (Brodifacoum, Bromadiolon, Difenacoum, Difethialon und Flocoumafen) deutlich häufiger auftraten als Rückstände von Wirkstoffen der ersten Generation (Chlorphacinon, Coumatetralyl, Warfarin). Brodifacoum und Bromadiolon konnten am häufigsten nachgewiesen werden, während Chlorphacinon und Warfarin nur in Einzelfällen vorhanden waren. Wie erwartet zeigte sich, dass Rückstände in Individuen aus Landkreisen mit hohem Rodentizideinsatz (Indikator: GV) vermehrt mit AR-Rückständen belastet waren.

In Eulen- und Greifvogelproben traten Rückstände vor allem in auf Nager spezialisierten Arten (Mäusebussard (*Buteo buteo*), Rotmilan (*Milvus milvus*) und Schleiereule) auf.

Zwanzig der 63 untersuchten Proben aller Vogelarten zeigten Rückstände. Sechs Proben enthielten mehr als einen Wirkstoff.

1.4.2 Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder - Beute - Räuber

Von 54 Wanderratten (*Rattus norvegicus*) als Zielart der Rodentizidanwendung wiesen 98% den während der Bekämpfung verwendeten Wirkstoff (Brodifacoum) auf. Die Konzentrationen waren in Proben verendet aufgefundener Tiere höher als in denen gefangener Individuen, ebenso zeigten die homozygot AR-resistenten Wanderratten (Mutation Y139C) im Vergleich zu nicht resistenten bzw. heterozygot resistenten höhere Rückstandskonzentrationen.

Im gesamten Untersuchungszeitraum gelang der Fang von 1.243 Nichtziel-Kleinsäugetern. Der Fangerfolg in den zwei Herbstaktionen war signifikant höher als in den beiden Wintern. Die Fangerfolge nach der Anwendung von Brodifacoum waren stets die niedrigsten. Gefangen wurden *Apodemus*-Arten (*A. sylvaticus* und *A. flavicollis*), Rötelmäuse, Feldmäuse und Erdmäuse (*Microtus agrestis*) sowie drei verschiedene Sorex-Arten (*S. araneus*, *S. coronatus* und *S. minutus*) und Hausspitzmäuse (*Crocidura russula*).

Rückstände anderer AR-Wirkstoffe als Brodifacoum waren selten in den Proben zu finden (max. 4%). Eine Ausnahme bildete hier Chlorphacinon, welches im Herbst 2011 vermehrt auftrat (14,7%). Auch selten waren Rückstände des angewandten Wirkstoffs Brodifacoum vor Bekämpfungsbeginn in den beiden Aktionen im Herbst. Im Winter dagegen zeigten die Tiere vor Bekämpfungsbeginn vermehrt Rückstände; es handelte sich hierbei aber um vorwiegend geringe Konzentrationen (<100 ng/g Leber).

Mit steigender Entfernung zum Anwendungsort sank der Anteil belasteter Individuen. Dieses Muster zeigt sich in allen untersuchten Zeiträumen. Hohe Brodifacoum-Konzentrationen (>1.000 ng/g Leber) traten fast ausschließlich im dichten Transektabschnitt auf. Der Anteil an Tieren mit niedrigen Konzentrationen war nach der Bekämpfung (ca. 35%) in dichter Entfernung zum Hof signifikant höher als während der Anwendung (ca. 10%), während der Anteil hoher Konzentrationen (ca. 8%) in diesem Bereich nach der Bekämpfung tendenziell geringer war als während der Anwendung (ca. 17%).

Zwischen den Kleinsäugetertaxa zeigten sich Unterschiede in der Belastungsintensität. *Apodemus*-Arten, sowie Rötelmäuse und Hausspitzmäuse wiesen im dichten Transektabschnitt regelmäßig Rückstände auf, in z.T. hohen Konzentrationen, während Rückstände in Sorex-Arten zwar genauso oft vorkamen, die Konzentrationen jedoch geringer waren. *Microtus*-Arten waren nur selten mit ARs belastet.

Microtus-Arten waren der Hauptbestandteil der Schleihereulennahrung, aber auch *Apodemus*-Arten und *Sorex*-Arten traten oft in der Beute der Schleihereule auf, ebenso wie die etwas weniger präsente Rötelmaus. Hausspitzmäuse dagegen kamen eher selten vor. Zielarten waren nur in Einzelfällen vertreten.

1.4.3 Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren

Von März 2011 bis Januar 2013 wurden 1.708 Gewölle gesammelt, und die Kleinsäugeterzusammensetzung untersucht. Insgesamt konnten 6.034 Beuteindividuen identifiziert werden. Zielarten einer bioziden Rodentizidanwendung (hier: Wanderratten

und Hausmäuse) kamen nur in seltenen Fällen in der Schleiereulennahrung vor. Wanderratten traten ausschließlich von Oktober bis Januar in den Gewöllen auf (max. Januar 2013: 4,2%), Hausmäuse von Juli bis März (max. Januar 2013: 1,5%). Feldmäuse kamen am häufigsten vor. In der Brutzeit (Frühjahr- und Sommermonate) der Eulen machten Feldmäuse im Hofmittel bis 65% der Nahrungsbestandteile aus. In den Wintermonaten waren sie etwas weniger dominant vertreten. In dieser Zeit stieg dagegen der Anteil an *Apodemus*- und *Sorex*-Arten. Rötelmäuse und Hausspitzmäuse waren das ganze Jahr über selten zu finden und zeigten den höchsten Anteil im späten Herbst. Die Massenvermehrung der Rötelmaus im Jahr 2012 spiegelte sich nicht in der Gewöllezusammensetzung wider. Feldmäuse machten jedoch im Massenvermehrungsjahr (2012) im Juli und August tendenziell einen größeren Anteil der Schleiereulennahrung aus als 2011, als keine Feldmausmassenvermehrung auftrat. Die Zunahme war mit 10% aber relativ gering. Der Anteil an Proben mit AR-Rückständen in Füchsen unterschied sich nicht zwischen den Jahren.

1.5 Schlussfolgerungen

Wirkstoffe antikoagulanter Rodentizide, vor allem die der zweiten Generation, waren regelmäßig in Fuchsleberproben vorhanden. Es zeigte sich, dass solche Rückstände häufiger in Landkreisen mit hoher GV und damit einem vermuteten stärkerem Einsatz von ARs einhergehen. Füchse kommen anscheinend mit Bioziden, die in der Tierhaltung angewandt werden, in Kontakt. Von Eulen und Greifvögeln waren vor allem solche Arten belastet, die auf Nager als Beute spezialisiert sind (Mäusebussard, Rotmilan und Schleiereule).

Es zeigte sich, dass Nichtzielkleinsäuger verschiedener Arten in Hofumgebung in Köderstationen ausgelegte Brodifacoum-Köder konsumieren und es somit zu Primärvergiftungen kommt. Auch Sekundärvergiftungen über wirbellose Tiere könnten (v.a. bei den geringen Rückständen in Spitzmäusen) eine Rolle spielen. Der Anteil an Individuen mit Rückständen war in dichter Hofumgebung höher als in weiterer Entfernung. Tiere mit Brodifacoum-Leberkonzentrationen >1.000 ng/g stammten fast ausschließlich aus der dichten Hofumgebung, so dass besonders dort die Exposition bezüglich Sekundärvergiftungen gegeben ist.

Der höhere Anteil von Proben mit AR-Rückständen in Nichtzielarten vor der Anwendung von Brodifacoum im Winter spiegelte die Persistenz des Wirkstoffs wider. Dementsprechend traten auch drei Monate nach der Anwendung noch Rückstände des angewandten Rodentizids auf, während Rückstände anderer Wirkstoffe gleichbleibend selten gefunden wurden. Auch dies demonstriert die Assoziation von AR-Rückständen in Kleinsäugetieren mit dem unmittelbaren Anwendungsort und die geringe Wahrscheinlichkeit, dass Kleinsäuger Köder auf benachbarten Höfen konsumieren.

Rückstände konnten in allen untersuchten Arten nachgewiesen werden. Besonders betroffen waren neben Nagern (Waldmäuse und Rötelmäuse) auch Hausspitzmäuse, obwohl diese als insektivor gelten. Rückstände wurden auch in anderen Spitzmausarten gefunden, allerdings in deutlich geringeren Konzentrationen. Dies könnte darauf hindeuten, dass diese Tiere den Köder nicht direkt, sondern evtl. über Invertebraten aufgenommen haben.

Apodemus-Arten konnten in Hofnähe besonders oft gefangen werden, außerdem waren sie auch regelmäßig in den Gewöllen von Schleiereulen zu finden. Der Expositionsweg von AR über *Apodemus*-Arten scheint daher für Schleiereulen wahrscheinlich, wenn die Schleiereule im Hofbereich jagt. Auch Rötelmäuse könnten hier eine Rolle spielen, kommen in den Gewöllen jedoch deutlich seltener vor. *Microtus*-Arten, die besonders häufig von der Schleiereule erbeutet wurden, waren selten belastet und dürften daher kaum als Expositionspfad eine Rolle für Schleiereulen dieser Gegend spielen. Da Hausspitzmäuse nur selten in Gewöllen gefunden wurden und *Sorex*-Arten nur Rückstandskonzentrationen unter 1.000 ng/g aufwiesen, scheint das Gefährdungspotenzial durch diese Arten eher gering.

Massenvermehrungen von Feld- und Rötelmaus schienen im Untersuchungszeitraum von 2011 bis 2013 nur einen geringen Einfluss auf die Beutezusammensetzung von Schleiereulen zu haben und daher das Risiko von Sekundärvergiftungen von Schleiereulen nicht wesentlich zu beeinflussen. In Bundesländern mit extremeren Massenvermehrungen, v.a. der Feldmaus, könnte sich die Verfügbarkeit von Feldmäusen als Nahrungsquelle deutlicher in der Zusammensetzung der Schleiereulenbeute niederschlagen und so das Expositionsrisiko verringern.

Die Erkenntnisse aus diesem Projekt stellen eine wichtige Grundlage für die Beurteilung von Risiken bei der Anwendung von ARs und der Betrachtung von Risikominimierungs-Strategien dar. Eine abschließende Einschätzung biologischer Effekte von AR-Wirkstoffrückständen auf biologische Effekte war in diesem Projekt aber nicht möglich, weil die erforderlichen Informationen zum Zusammenhang LD₅₀ - Leberkonzentration - Wirkung kaum bekannt sind.

2 Summary

2.1 Introduction

Anticoagulant rodenticides (ARs) are commonly used in Germany for pest rodent control. Anticoagulant rodenticides are used for plant protection as well as for biocidal use. The active agents of rodenticides belong to the coumarin or indandion derivatives. They inhibit blood clotting of vertebrates and result in a delayed death of poisoned individuals caused by internal bleeding. This mode of action avoids bait shyness of rodents and vitamin K is available as antidote. However, ARs act on all warm-blooded animals and therefore non-target animals are at risk to be poisoned as well. There are two ways of poisoning: through bait ingestion (primary poisoning) and through intake of poisoned prey or carrion (secondary poisoning).

Beside the target rodents, there are non-target small mammal species in the surrounding area of a farm. These are at risk of primary poisoning during biocidal AR-use. The extent of risk depends on the species' food preferences and habitat use. Little is known about primary poisoning with ARs in small mammals and there have been no systematic studies in Germany.

Worldwide there is evidence of secondary poisoning with ARs in many species when predators consume poisoned small mammals. Many studies focused on the impact of ARs on birds of prey showing that the fraction of individuals which carry AR-residues increases over time. Increasing AR-residues were discussed as a potential reason for declines of barn owl (*Tyto alba*) populations in Europe. Some studies considered other predators like stoats (*Mustela erminea*), polecats (*Mustela putorius*) and European foxes (*Vulpes vulpes*). Because predators take up rodenticides by consuming poisoned prey, it seems likely that target animals play an important role in this context. However, in some countries, as in Germany, commensal rodents are usually rare in the predators' diet. This indicates that poison uptake through contaminated non-target animals could play an important role for predators. However, this has rarely been studied and - apart from occasional opportunistically collected information - no data are available for Germany.

It is difficult to transfer the results of studies from other countries to Germany, because of varying pesticide regulation and varying use of ARs in biocides and plant protection products. Additionally, small mammal communities can differ depending on region.

In rural areas the intensity of biocidal use, and thus the risk for non-target animals, should depend on the density of livestock farming, because pest management is common in livestock farming in Germany. This correlation was not investigated yet. Equally, there is a lack of knowledge about the effect of population fluctuations of small prey mammals on predators' risk of secondary poisoning. In Germany, there are outbreaks of common vole (*Microtus arvalis*) and bank vole (*Myodes glareolus*) populations every 2-5 years, which could affect risk and AR-residues in predators.

2.2 Aims

Project aims were to

1. monitor rodenticide residues in non-target species according to rodenticide use intensity
2. quantify rodenticide residues along the exposure path bait – prey - predator
3. investigate seasonal and annual effects of rodent population density on secondary rodenticide residues in predators.

2.3 Methods

2.3.1 Recording rodenticide residues in non-target species according to rodenticide use intensity

In 2012 and 2013 liver samples from European foxes were collected in different regions of Germany and analysed for anticoagulant rodenticide residues. A new method was developed to purify samples with a Chem-Elut column and to analyse the samples by a high performance liquid chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS) for eight different AR-active agents simultaneously (brodifacoum, bromadiolone, chlorphacinone, coumatetralyl, difenacoum, difethialone, flocoumafen and warfarin).

Livestock units per area were calculated for each German rural district (GENESIS-Online Database of the Federal Statistical Office: 01.03.2010). Livestock density (LD) was used as indicator for the intensity of rodenticide use. We assumed that livestock density is positively correlated with the amount of rodenticides applied because infestation with commensal rodents in livestock farming is common and, therefore pest-management is necessary and partially regulated by law. We compared AR-occurrences in fox liver samples from rural districts with different LDs.

2011 and 2012 owls and birds of prey found dead were collected from different regions of Germany. Liver samples of these individuals were screened by LC-MS for eight AR-substances following the procedures for the fox samples.

2.3.2 Quantification of rodenticide residues along the exposure path bait - prey - predator

Twice a year from 2011 to 2013 (autumn 2011 and 2012 and winter 2012 and 2013) AR-residues in small mammals were monitored on six to nine livestock farms in the area of Muenster (North Rhine-Westphalia) in Germany. On each farm Ratron® brodifacoum rolled oat bait was used in bait boxes indoor and outdoor for three weeks according to label instructions. Non-target small mammals were snap trapped before, while and after bait application. Trapping was done on two transects per farm that started at bait boxes and extended away from the baited area. Per transect 54 snap traps were set. Transects were divided into three sections: close, medium and far away from the baited area. Traps were set until five individuals (sum of both transects) per distance section were trapped or for a maximum of three days. Liver samples of small mammals were analysed for AR-residues by LC-MS.

Fresh spit pellets of barn owls were sampled from known resting and nesting sites every third day. Bones and teeth from the spit pellets were used for the identification of small mammal species.

2.3.3 Investigation of seasonal and annual effects of rodent population density on secondary rodenticide residues in predators

2012 was an outbreak year of common voles and bank voles. Residue occurrence was compared between these years. Seasonal and annual fluctuations in barn owls diet was based on monthly spit pellet collections from March 2011 to January 2013.

2.4 Results

2.4.1 Recording rodenticide residues in non-target species according to rodenticide use intensity

Of the 265 liver samples from foxes screened for AR-residues, 60.8% contained residues of a least one substance. Second generation anticoagulant rodenticides (SGARs), namely brodifacoum, bromadiolone, difenacoum, difethialone und flocoumafen were detected more frequently than first generation anticoagulant rodenticides (FGARs) (chlorophacinone, coumatetralyl, warfarin). Brodifacoum and bromadiolone were found most often, whereas chlorophacinone and warfarin were found only occasionally. More contaminated individuals originated from rural districts with high LD compared to regions of low LD.

AR-residues in owls and birds of prey mainly occurred in species specialised in preying on small rodents (common buzzard (*Buteo buteo*), red kite (*Milvus milvus*) and barn owls). There were AR-residues in twenty of 63 samples, six of them contained more than one AR-substance.

2.4.2 Quantification of rodenticide residues along the exposure path bait - prey - predator

The Norway rat (*Rattus norvegicus*) was the target species of the pest control. Brodifacoum residues in Norway rats were found in 98% of cases. Brodifacoum residue concentrations were higher in individuals found dead than in trapped individuals. Individuals that were Y139C homozygous resistant against ARs carried higher residue concentrations than heterozygous or wild type animals.

During the investigation period, 1,243 non-target small mammals were trapped. Trapping success was higher in autumn than in winter and always lowest shortly after the baiting period. Trapped individuals were *Apodemus*-species (*A. sylvaticus* and *A. flavicollis*), bank voles, common voles and field voles (*M. agrestis*), as well as three *Sorex*-species (*S. araneus*, *S. coronatus* and *S. minutus*) and greater white-toothed shrews (*C. russula*).

Residues of AR-substances not used during the baiting campaigns were rarely found (max. 4%), except of chlorophacinone, which was found more often in autumn 2011 (14.7%). Before the commencement of baiting, brodifacoum was rarely detected in autumn but occurred more regularly in winter, however, concentrations were mainly low.

With increasing distance to the baiting area the percentage of individuals carrying brodifacoum residues decreased. This pattern occurred in all investigation periods. AR-concentrations above 1,000 ng/g liver were found almost only close to the farm. After baiting, the percentage of individuals with low concentrations of residues close to the farm was significantly higher than during baiting. However, higher concentrations in this area tended to occur more often during than after baiting. In winter sessions the ratio of contaminated individuals was higher than in autumn.

Brodifacoum residues varied among species. *Apodemus*-species as well as bank voles and greater white-toothed shrews regularly carried residues sometimes with high concentrations especially close to the baiting area, whereas residues in *Sorex*-species occurred regularly but in lower concentrations. *Microtus*-species rarely carried brodifacoum residues but they were the main component of barn owls prey. *Apodemus*-species and *Sorex*-species were found regularly in the barn owls' diet also. Bank voles were present occasionally in spit pellets and greater white-toothed shrews were least frequently found.

2.4.3 Investigation of seasonal and annual effects of rodent population density on secondary rodenticide residues in predators

From March 2011 to January 2013 1,708 barn owl pellets were analysed for prey content. In total 6,034 prey items were identified. Target mammals of AR-use were found in few cases only. Common voles were found most often. During the breeding period of barn owls common voles made up to 65% of prey. In winter they were less present and numbers of *Apodemus*-species and *Sorex*-species increased in the barn owls' diet. Bank voles and greater white-toothed shrews were less common with a peak of occurrence in late autumn. The outbreak of bank voles in 2012 was not well reflected in the barn owls' diet. Common voles tended to be more prevalent in the diet in summer (July and August) of the outbreak year than in the previous year but the difference was small (about 10%). AR-residues in foxes did not differ between outbreak and non-outbreak years.

2.5 Conclusions

European foxes carried residues mainly of SGARs, probably from contact to biocides used in rural areas. More foxes from rural districts with a high LD contained AR-residues than foxes from districts with a low LD. Owls and birds of prey seemed to be exposed to ARs by secondary poisoning via small mammals because residues were found mainly in bird species that are specialised in small mammal prey (common buzzard, red kite and barn owl).

We showed evidence for primary poisoning of non-target small mammals during brodifacoum application on livestock farms in Germany. There is a strong spatial association of non-target individuals containing concentrations over 1,000 ng/g of this rodenticide to the immediate baiting area. Individuals trapped further away carried AR-residues less frequently and AR liver concentrations were low. As a consequence, exposure risk regarding secondary poisoning is highest in the immediate surroundings of farms.

The persistence of SGARs was demonstrated by residues of brodifacoum present in non-target small mammals before baiting in winter sessions. At this time, the last brodifacoum application was conducted three months ago during baiting in autumn. Residues of other AR-substances were rarely found, suggesting tight spatial association of residues in non-target small mammals to the baiting area.

Residues were detected in all investigated small mammal species. Brodifacoum residue liver concentrations suggested that *Apodemus*-species, bank voles and greater white-toothed shrews consumed bait most often, although the latter is known to be insectivorous. There were brodifacoum residues in other shrew species but at low

concentrations, indicating that they perhaps did not ingest the bait directly but indirectly, possibly by consuming brodifacoum contaminated invertebrates. *Apodemus*-species carried partially high concentrations of brodifacoum and they were present regularly in barn owl pellets in winter. Thus, they seem to have the highest potential to pass brodifacoum to barn owls, if barn owls hunt on farm areas. *Microtus*-species, which are the main prey of barn owls, rarely carried residues and thus they are unlikely to pass biocidal rodenticides to predators.

Outbreaks of common voles and bank voles seemed to have little effect on the barn owls' diet in the area of Muenster in Germany and therefore, will not considerably influence secondary poisoning of barn owls. In districts with more distinctive fluctuations of these species changes in owl bait composition and subsequent AR exposure risk could occur.

The results of this project provide valuable information for risk assessment and risk minimization strategies when ARs are applied. A final assessment of biological or population effects due to AR secondary poisoning is not possible because there are almost no data for the relation of AR LD₅₀ – liver concentration – effect.

3 Einleitung

3.1 Anwendung und Wirkungsweise von antikoagulanten Rodentiziden

Antikoagulante Rodentizide (AR) werden in Deutschland in beträchtlichen Mengen zur Schädnerregulierung im Biozid- und Pflanzenschutzbereich eingesetzt. Im vorliegenden Projekt ging es um den Einsatz von ARs im Biozidbereich. ARs beziehen sich im Folgenden daher auf die acht im Biozidbereich in der EU registrierten Wirkstoffe (Brodifacoum, Bromadiolon, Chlorphacinon, Coumatetralyl, Difenacoum, Difethialon, Flocoumafen und Warfarin), wenn nichts anderes angegeben wird.

In den späten 1940er Jahren wurde Warfarin (Thijssen 1995) als AR der ersten Generation (*first generation anticoagulant rodenticide* - FGAR) eingeführt und weitere wie Chlorphacinon und Coumatetralyl folgten. Aufgrund von Resistenzbildungen gegen die Wirkstoffe der ersten Generation wurde in den 1970er Jahren die zweite Generation (*second generation anticoagulant rodenticide* - SGAR) von AR auf den Markt gebracht. Sie haben eine höhere Toxizität (Eason *et al.* 2002) eine längeren Persistenz (Test an Laborratten: Brodifacoum ($t_{1/2}=113,5$) vs. Warfarin ($t_{1/2}=26,2$) (Fisher *et al.* 2003)), und sind schon nach einmaliger Aufnahme wirksam. Erickson und Urban (2004) wiesen Retentionszeiten in der Leber für SGARs von bis zu 248 Tagen in Rattengeweben nach, mit den höchsten Konzentrationen in der Leber. Spurr *et al.* (2005) fanden Rückstände in Rattenlebern 24 Monate nach einer Brodifacoum-Anwendung. Aufgrund der schnellen Wirksamkeit und der geringeren Resistenzprobleme (Pelz 2006) finden heutzutage vor allem SGAR-Stoffe Anwendung in der Schädnerbekämpfung.

Alle ARs wirken als Blutgerinnungshemmer und führen auf verzögerte Weise durch innerliches Verbluten zum Tod (Maroni *et al.* 2000, Valchev *et al.* 2008). Hierdurch entwickeln die Zielarten keine Köderscheu (Gratz 1973) und bei ungewollten Vergiftungen (z.B. Hoftiere) kann Vitamin K als Gegengift verwendet werden. Rodentizide wirken bei allen Säugetieren (Maroni *et al.* 2000) und anderen Wirbeltieren (Hughes *et al.* 2013) und stellen somit eine Gefahr für Nichtzielarten dar, sich daran zu vergiften. Dies kann entweder über die direkte Köderaufnahme geschehen (primäre Vergiftung) oder über die Aufnahme belasteter Beute oder Aas durch Prädatoren bzw. Aasfresser (sekundäre Vergiftung).

3.2 Primäre Risiken antikoagulanter Rodentizide

Eine Vielzahl an Kleinsäugertaxa kommt in der Umgebung landwirtschaftlicher Betriebe vor (Brakes and Smith 2005, Großbritannien). Dies lässt ein hohes Risiko für Primärvergiftungen im Hofbereich vermuten, weil z.B. Nichtzielnagetiere auf Grund ihrer Körpergröße Zugang zu Köderboxen haben dürften. Untersuchungen zu primären Vergiftungen in Nichtzielkleinsäugetieren sind aber weltweit sehr selten und wurden in Deutschland bisher nicht systematisch durchgeführt. Brakes und Smith (2005) haben demonstriert, dass verschiedene Nagetierarten unterschiedlich stark gefährdet sind. *Apodemus*-Arten wiesen in ihrer Untersuchung den häufigsten Kontakt mit Giftködern (Coumatetralyl) auf. Feldmäuse hingegen konsumierten nur selten die als Biozid ausgebrachten Rodentizide. Rückstände der Wirkstoffe wurden von Brakes und Smith (2005) aber nicht gemessen. Der Anteil belasteter Waldmäuse in der Untersuchung von Tosh *et al.* (2012, Irland) war zwar geringer als in der von Brakes und Smith (2005),

Nachweise von Rückständen in *Apodemus*-Arten kamen aber in verschiedenen Entfernungen bis maximal 110 m zum Anwendungsort vor.

Es ist jedoch schwierig, solche Studien auf Deutschland zu übertragen, da die Zulassung von Antikoagulanzen zur Nagerbekämpfung nicht einheitlich geregelt ist und somit die Qualität und Quantität der Anwendung zwischen den Ländern variiert. Auch variieren die Habitate und die Artenzusammensetzungen. Aufgrund der unterschiedlichen Biologie der Arten (z.B. Nahrungsspektren und Habitatansprüche) könnten verschiedene Nichtziel-Kleinsäugerarten einem unterschiedlich hohen Risiko ausgesetzt sein, mit biozidem AR-Köder in Kontakt zu kommen.

3.3 Sekundäre Belastung von Nichtzielarten

Rückstände von ARs in Prädatoren wurden u.a. in Großbritannien, Dänemark, Kanada und Neuseeland nachgewiesen (Cox and Smith 1990, Eadsforth et al. 1996, Newton et al. 1997, Eason et al. 2002, Spurr et al. 2005, Albert et al. 2010, Christensen et al. 2012). Systematische Untersuchungen fehlten in Deutschland aber bisher. Viele Studien haben sich mit Rückständen in Eulen und Greifvögeln beschäftigt (Newton et al. 1990, Burn et al. 2002, Fisher et al. 2003, Murray 2011), weniger mit Raubsäugern, wie Füchsen und Marderartigen (McDonald et al. 1998, Shore et al. 2003, Fournier-Chambrillon et al. 2004, Tosh et al. 2011). Aufgrund der Erkenntnisse zu AR-Rückständen in Schleiereulen wurde der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln neben dem Verlust von Nistmöglichkeiten für den Rückgang u.a. der Schleiereulenpopulationen in Westeuropa mit verantwortlich gemacht (Roulin 2002). Prädatoren nehmen ARs hauptsächlich über belastete Beuteindividuen auf. Sowohl Zielarten als auch Nichtzielarten könnten dabei als Beute eine Rolle spielen. In den Lebern von acht tot gefundenen Schleiereulen, die innere Blutungen aufwiesen, konnten Newton et al. (1997) AR-Konzentrationen nachweisen, die in allen Fällen über 100 ng/g lagen; vor allem Bromadiolon und Brodifacoum waren vertreten. Dies führte zu dem Schluss, dass Leberkonzentrationen über 100 ng/g letal für Schleiereulen sein könnten. In einer späteren experimentellen Untersuchung lagen die Leberkonzentrationen von mit vergifteten Mäusen gefütterten Schleiereulen bei 200 bis 1.720 ng/g (Newton et al. 1999). Gray et al. (1994) fanden im experimentellen Design Brodifacoum-Leberkonzentrationen die bei 700 ng/g lagen. Diese Zusammenhänge beruhen aber nur auf der Untersuchung von Schleiereulen. Generell ist über den Zusammenhang von Leberkonzentrationen und biologischen Effekten in Nichtzielarten sehr wenig bekannt und es scheint artspezifische Unterschiede in der Sensibilität der Prädatoren gegenüber ARs zu geben (Thomas et al. 2011). Dowding et al. (1999) diskutierten einen Überschneidungsbereich von 200 bis 600 ng/g aufgrund der Konzentrationen in Leberproben ihrer eigenen Untersuchung und von anderen Untersuchungen, in denen Tiere lebend gefangen wurden. Leberrückstände geben aber einen Überblick darüber, welche Arten überhaupt mit ARs in Kontakt kommen und ob AR-Konzentrationen geographischer und saisonaler Variabilität unterliegen.

3.4 Beuteverfügbarkeit und die Beutezusammensetzung von Prädatoren

Die Nahrungszusammensetzung der Schleiereule hängt vom verfügbaren Beuteangebot ab (Campbell *et al.* 1987). In Griechenland sind die häufigsten Beutearten *Mus domesticus* mit 26% und *Rattus rattus* mit etwa 11% (Bontzorlos *et al.* 2005). In anderen Regionen der Welt sind Zielarten in deutlich geringerem Umfang Teil der Schleiereulennahrung. In

Utah konnten *Mus musculus* und *Rattus norvegicus* nur selten in Schleiereulengewöllen gefunden werden (2% und 0,4%) (Smith et al. 1972). In Deutschland schwankt der Anteil von Hausmäusen (*Mus musculus*) in der Schleiereulennahrung zwischen 5% und 18% (Görner 1979, Langenbach 1982). Ratten kommen noch seltener vor (weniger als 1% (Görner 1979, Langenbach 1982, Gemmeke 1996)). Dies deutet darauf hin, dass die Aufnahme von ARs über Nichtzielkleinsäuger eine entscheidende Rolle für die Schleiereule in Deutschland spielen kann. Dieser Expositionspfad wurde bisher aber kaum gezielt untersucht. Auch ist unbekannt, in welchem Maße Schleiereulen und andere Eulen und Greifvögel in Deutschland durch Rodentizide belastet sind.

Feldmäuse und Rötelmäuse zeigen starke Schwankungen der Populationsdichte zwischen den Jahren (Selas et al. 2002, Bryja et al. 2005, Jacob and Tkadlec 2010). Bei beiden Arten treten Massenvermehrungen auf, die von Populationszusammenbrüchen gefolgt werden (Selas et al. 2002, Bryja et al. 2005). Es wäre denkbar, dass Populationschwankungen dieser Nagetierarten die Belastung mit Rodentiziden der Prädatoren beeinflussen, wenn diese durch die Massenvermehrung bedingt ihre Beutezusammensetzung anpassen. Coeurdassier et al. (2012) zeigten beispielsweise, dass die Nahrung von Rotmilanen (*Milvus milvus*) während einer Massenvermehrung von Schermäusen (*Arvicola terrestris*) zu 94% aus dieser Nagerart bestand.

4 Projektziele

Im Projekt sollte erfolgen:

1. die Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität
2. die Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfad es Köder – Beute – Räuber
3. die Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren.

5 Methoden

5.1 Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität

5.1.1 AR-Rückstände beim Rotfuchs

Im Jahr 2012 und 2013 wurden aus verschiedenen Regionen Deutschlands Rotfüchse gesammelt und ihre Leber auf Rodentizidrückstände untersucht. Bei diesen Füchsen handelte es sich um Tiere, bei denen kein Verdacht auf eine illegale gezielte Vergiftung bestand. Die meisten Fuchsproben entstammten dem Tollwutmonitoring in Deutschland. Es handelt sich also um Füchse, die entweder tot aufgefunden wurden oder die aufgrund von Verhaltensauffälligkeiten für das Monitoring geschossen wurden. Ein Teil der Füchse aus Nordrhein-Westfalen und Baden-Württemberg stammte von Jägern, die die Tiere nicht aufgrund von Verhaltensauffälligkeiten geschossen haben. Die Tiere wurden an den zuständigen Veterinärinstituten oder am Julius Kühn-Institut seziiert und fachgerecht eine Leberprobe von mindestens 4 g entnommen. Zur Abtötung verschiedener potentiell vorhandener Pathogene (z.B. Fuchsbandwurm: *Echinococcus multilocularis*) wurden die

Proben mindestens eine Woche bei -80°C gelagert und anschließend bei -20°C aufbewahrt. Die Leberproben wurden mittels LC-MS (siehe Abschnitt 5.2) auf Rückstände von acht antikoagulanten Rodentiziden (Brodifacoum, Bromadiolon, Chlorphacinon, Coumatetralyl, Difenacoum, Difethialon, Flocoumafen und Warfarin) untersucht. Die ermittelten Konzentrationen beziehen sich auf das Frischgewicht der Leberprobe [ng Wirkstoff/g Leber].

Für jeden deutschen Landkreis wurde die Großviedichte (GV, Großvieheinheiten (GE) pro ha des Landkreises) pro Fläche des Landkreises ermittelt (GENESIS-Online Datenbank des statistischen Bundesamtes, 01.03.2010). Die GV dürfte ein Indikator für die Menge an Rodentiziden, die im landwirtschaftlichen Bereich dieses Landkreises eingesetzt wurden, darstellen. Es ist davon auszugehen, dass in einem Landkreis mit hoher Großviedichte mehr Rodentizide eingesetzt werden als in Landkreisen mit niedriger Großviedichte, da Ratten regelmäßig auf Betrieben mit Tierhaltung vorkommen und eine Bekämpfung z.B. in der Schweinehaltung (Schweinehaltungs-Hygieneverordnung (1999)) gesetzlich vorgeschrieben ist. Proben aus Landkreisen mit unterschiedlicher GV wurden hinsichtlich des Anteils an Proben mit AR-Rückständen verglichen. Es erfolgte eine Klassifizierung in drei Bereiche: hohe GV ($>0,5$ GE/ha), mittlere GV ($>0,2$ GE/ha und $<0,5$ GE/ha) und niedrige GV ($<0,2$ GE/ha).

In einer Umfrage unter 90 Landwirten in Münster und direkter Umgebung wurden Angaben zum Thema „Rodentizide“ abgefragt. Die Angaben zum Wirkstoffeinsatz wurden mit den gefundenen Wirkstoffen in Füchsen aus dieser Region verglichen.

5.1.2 AR-Rückstände bei Eulen und Greifvögeln

Über einen Zeitraum von 2 Jahren (2011 und 2012) wurden aus verschiedenen Regionen Deutschlands Totfunde von Eulen und Greifvögeln gesammelt und uns Leberproben zugesandt, die auf AR-Rückstände untersucht wurden. Bei den Proben handelte es sich um Funde, bei denen kein Verdacht auf eine illegale gezielte Vergiftung der Tiere bestand. Bei den meisten auf ihre Todesursache untersuchten Individuen handelte es sich um Verkehrsoffer oder verhungerte Tiere. In manchen Fällen konnten innere Blutungen festgestellt werden, die aber nicht zwangsläufig auf eine Vergiftung schließen lassen (v.a. bei Verkehrsoffern). Die Totfunde wurden noch am Fundtag eingefroren und in gefrorenem Zustand an das Julius Kühn-Institut versandt. Zur Abtötung verschiedener potentiell vorhandener Pathogene erfolgte die Lagerung der Proben für eine Woche bei -80°C mit anschließender Aufbewahrung bei -20°C bis zur Sektion und Analyse. Für die Sektion wurden die Totfunde kurzzeitig angetaut, bis den Tieren eine Leberprobe von mindestens 2 g entnommen werden konnte. Die Leberproben wurden mittels LC-MS (siehe Abschnitt 5.3) auf Rückstände von acht antikoagulanten Rodentiziden (Brodifacoum, Bromadiolon, Chlorphacinon, Coumatetralyl, Difenacoum, Difethialon, Flocoumafen und Warfarin) untersucht. Die ermittelten AR-Konzentrationen beziehen sich auf das Frischgewicht der Leberprobe [ng Wirkstoff/g Leber].

5.2 Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder - Beute - Räuber

In den Jahren 2011, 2012 und 2013 wurden im Herbst (2011 und 2012) und im Winter (2012 und 2013) im Münsterland (Nordrhein-Westfalen) sechs (Herbst 2011), sieben (Winter 2012), neun (Herbst 2012) bzw. acht (Winter 2013) landwirtschaftliche Betriebe

untersucht. Welche Höfe zu welchem Zeitpunkt untersucht wurden, ist in Tab. 1 dargestellt. Es handelte sich bei allen untersuchten Betrieben um Betriebe mit Viehhaltung. Die Betriebe hatten gelegentlich bis regelmäßig Probleme mit kommensalen Schadnagern. Auf jedem Hof befand sich ein Nistkasten für Schleiereulen, in dem über die letzten 15 Jahre mehr oder weniger regelmäßig Bruten festgestellt wurden.

Tab. 1 Landwirtschaftliche Betriebe mit Tierhaltung im Münsterland auf denen Kleinsäuger vor, während und nach einer Brodifacoum-Rodentizidanwendung auf Transekten gefangen wurden

Hof	Herbst 2011	Winter 2012	Herbst 2012	Winter 2013
1	X	X	X	X
2	X	X	X	X
3	X	X	X	X
4	X	X	X	X
5	X	X	X	X
6	X	X	X	X
7		X	X	X
8			X	
9			X	
10				X

5.2.1 Schadnagerregulierung - Anwendung Brodifacoum-Köder

Vor der experimentellen Phase dieses Projekts wurde eine Umfrage unter Landwirten in Münster und Umgebung durchgeführt, in der u.a. der angewandte Wirkstoff erfragt wurde. Brodifacoum verwendeten die befragten Landwirte am häufigsten (48% der Landwirte, die ARs einsetzen, nutzen diesen Wirkstoff), weswegen dieser Wirkstoff in der vorliegenden Studie eingesetzt wurde.

Anhand von Rattenspuren (Kot und Wechsel) erfolgte die Rodentizidanwendung auf jedem Betrieb in 20 Köderstationen (innerhalb und an der Außenseite von Gebäuden). Auf Höfen mit wenigen Spuren wurden zusätzlich Stellen gewählt, die potentiell für Ratten attraktiv sein könnten (zugängliche Futterstellen und abgeschiedene Ruheplätze). Die Köderstationen wurden eine Woche vor Beginn der Bekämpfung mit Haferflocken ohne Wirkstoff vorgeködert. Zum Beginn der Bekämpfung wurden die wirkstofffreien Köder durch 150 g Ratron© Brodifacoum-Haferflocken-Köder pro Köderbox ersetzt. Die Anwendung erfolgte über drei Wochen entsprechend der Herstellerangaben. Während dieser Zeit wurden die Köderstationen regelmäßig (zu Beginn alle zwei Tage, später je nach Bedarf, max. alle sieben Tage) kontrolliert und bei Bedarf nachgeködert.

5.2.2 AR-Rückstände bei Kleinsäufern

Für die Rückstandsanalytik wurden Kleinsäuger in drei Zeiträumen der Schadnagerregulierung gefangen. Die Fangsession 1 erfolgte vor der Bekämpfung, die Fangsession 2 drei Tage nach Beginn des Rodentizideinsatzes (während) und die Fangsession 3 direkt nach Abschluss der Maßnahme (nach).

Zielarten

Bei deutlichen Rattenspuren auf den Höfen wurden max. 30 Rattenschlagfallen (Rattenfalle FOX©) auf Rattenwechsellern aufgestellt. Der Rattenfang erfolgte erst in der zweiten Fangsession, um die Tiere nicht schon vor der Köderanwendung fallenscheu zu machen. Beködert wurden die Fallen mit einer Mischung aus Haferflocken und Erdnussbutter. Die Fallen wurden für drei aufeinanderfolgende Tage scharf gestellt.

Nichtzielkleinsäuger

Nichtzielkleinsäuger wurden zu allen drei Fangsessions gefangen. Der Fang erfolgte auf zwei Transekten, die in einem maximalen Abstand von 0,5 bis 5 Meter Entfernung zur nächstgelegenen Köderbox begannen, eine Länge von 104 Metern hatten und vom Hof weg führten. Alle 4 m markierten Holzstäbe den Standort zweier Mausschlagfallen (FOX©), die an den ersten neun Standorten mit Drahtschlaufen an den Markierungsstäben befestigt waren, um ein Verschleppen der Fallen (durch z.B. Hofkatzen) zu vermeiden. Pro Transekt wurden 27 Fallenstandorte eingerichtet (54 Fallen), von denen jeweils 9 Fallenstandorte einem Transektabschnitt zugeordnet waren: dicht, mittel und fern. Die Fallen wurden mit einem Gemisch aus Haferflocken und Erdnussbutter beködert und so lange scharf gestellt, bis auf einem Transektabschnitt (als Summe aus beiden Transekten) der Fang von 5 Kleinsäufern gelang, maximal jedoch drei Nächte, da davon ausgegangen werden konnte, dass sich der weitere Fangerfolg nach drei Fangnächten nicht drastisch verbessern würde. In Ausnahmefällen erfolgte eine vierte Fangnacht. Die gefangenen Individuen wurden bestimmt und die Fänge noch am Fangtag bei -20°C eingefroren.

Nach mindestens einer Woche Lagerung bei -80°C wurden die Proben aufgetaut und die Tiere sezziert, das Gewicht und das Geschlecht bestimmt und die Leber asserviert. Von Zielarten wurde eine Gewebeprobe von der Schwanzspitze für die Rodentizidresistenzuntersuchung entnommen. Da sich Feld- und Erdmäuse äußerlich stark ähneln, erfolgte die Artbestimmung anhand der Zähne. Bis zur Analyse lagerten die Leberproben bei -20°C und/oder -80°C.

5.2.3 Gewöllesammlung

Vor, während und nach dem Rodentizideinsatz wurden Gewölle von Schleihereulen gesammelt. Um möglichst frische Gewölle zu erhalten, wurden diese alle drei Tage an bekannten Nist- (Nistkästen) und Rastplätzen (Dachböden, Scheunen, an Zaunpfählen etc.) gesammelt und bis zur Rückstandsanalytik bei -20°C bzw. -80°C eingefroren. Während der Probenaufarbeitung wurden die Knochen und Zähne aus den Gewölle herausgetrennt und anschließend für die Nahrungsanalytik verwendet.

5.3 Methodenentwicklung AR-Rückstandsanalytik

5.3.1 Standardverbindungen und -lösungen

Die Standardverbindungen Tab. 2 für die Analyse wurden bei -20°C gelagert. Mit Ausnahme von Difethialon, das nur als Lösung erhältlich war, wurden jeweils 10 mg einer Standardsubstanz in 10 ml Aceton gelöst (1 mg/ml) und bis zum Verbrauch bei -20°C gelagert.

Tab. 2 Identität und Herkunft der Standards

STANDARDS	CAS-Nummer	Reinheit	Firma	Bestellnr.
ANALYTE				
Chlorphacinon	3691-35-8	96 % certif.	Ehrens-torfer	C11460000
Warfarin	81-81-2	99,5 % certif.		C17940000
Coumatetralyl	5836-29-3	99,5 % certif.		C11740000
Bromadiolon	28772-56-7	98,5 % certif.		C10680000
Difenacoum	56073-07-5	97 % certif.		C12608000
Brodifacoum	56073-10-0	99 % certif.		C10667500
Flocoumafen	90035-08-8	99,5 % certif.		C13662000
Difethialon	104653-34-1	98,5 % (10 µ/ml)		L12625000AL
SURROGATE				
Acenocoumarol	152-72-7	99,7 %	Novartis	830999
Diphacinon-D4	1219802-15-9	98 %	Ehrens-torfer	D-7081
Phenprocoumon	435-97-2	100,1 %	Arevi-pharma	-
Coumachlor	81-82-3	99 % certif.	Ehrenstorfer	C11710000
INTERNE STANDARDS				
Chlorphacinon-D4	1219805-75-0	99 %	Ehrens-torfer	D-7082
Warfarin-D5	75472-93-4	99,5 % certif.		C17940100

Im Folgenden wird die letztlich angewendete Methode beschrieben.

Aus den Stammlösungen der Surrogate wurde durch Entnahme von 100 µl und Auffüllen auf 10 ml mit Acetonitril eine Zwischenverdünnung mit allen Surrogaten hergestellt (10 µg/ml). Aus dieser Lösung entstand durch weiteres Verdünnen mit Acetonitril (1:5) die Surrogatlösung (SRG-Mix) (2 ng/µl) von der 100 µl den Leberproben vor der Aufarbeitung zugegeben wurden. Aus den Stammlösungen von Chlorphacinon-D4 und Warfarin-D5 wurden durch Entnahme von 250 bzw. 100 µl und Auffüllen auf 1 ml mit Methanol Zwischenverdünnungen hergestellt (250 bzw. 100 µg/ml). Nach der Entnahme von 100 µl aus der Zwischenverdünnung und dem Auffüllen auf 100 ml mit Acetonitril entstand der interne Standard (IS-Mix: 250 bzw. 100 pg/µl) für das Dotieren der Proben vor der Messung.

Aus den Stammlösungen der Analyte und Surrogate wurde durch Entnahme von 100 µl und Auffüllen auf 10 ml mit Methanol/Wasser (1:1/v/v) eine Zwischenverdünnung hergestellt (10 µg/ml). In weiteren Verdünnungsschritten über Mischstandards mit Konzentrationen von 1 µg/ml bzw. 100 ng/ml wurden Kalibrierstandards mit Konzentrationen von 0,1 - 0,5 - 1 - 5 - 10 - 25 - 50 - 100 pg/µl Methanol/Wasser inkl. der internen Standards Chlorphacinon-D4 und Warfarin-D5 (250 bzw. 100 pg/µl) erzeugt.

5.3.2 Probenaufbereitung Leber

Alle Leberproben wurden in gefrorenem Zustand angeliefert und bis zur Aufarbeitung bei - 80 °C gelagert und einmal aufgearbeitet. Um den Matrixeinfluss auf das Analyseergebnis zu begrenzen, erfolgte nach dem Auftauen das Einwiegen von ca. 1 g von jeder Leberprobe in ein PP-Gefäß. Bei Bedarf wurde die Probe vorher mit einem Skalpell zerteilt. Die Probe wurde dann mit einer Surrogat-Lösung und 20 ml Methanol

versetzt und mit einem Ultra Turrax-Stab 3 min homogenisiert. Nach der Zugabe von 10 ml Wasser wurde der Vorgang für 1 min wiederholt und dann das Homogenat zentrifugiert. Die Hälfte des dekantierten Überstandes wurde mit 5 ml einer 20% NaCl-Lösung versetzt, gut vermischt und auf eine Chem Elut-Säule gegeben. Nach 15 min wurden die Analyten mit 100 ml Dichlormethan von der Säule eluiert. 2 ml vom Eluat wurden bis zur Trockene eingeeengt, mit interner Standard-Lösung versetzt und das Lösungsmittel verdampft. Der Rückstand wurde in 1 ml Wasser/Methanol (1:1/v/v) gelöst und durch einen Spritzenfilter in ein Bördelfläschchen gedrückt, das Gläschen sofort verschlossen und bis zur Messung bei -20°C gelagert.

5.3.3 Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie

Flüssigchromatographie (LC)

Die chromatographische Trennung der Analyten erfolgte mit Geräten der Ultimate 3000 RS – Serie unter den in Tab. 3 angegebenen Bedingungen.

Tab. 3 Konfiguration der LC

PARAMETER	EINSTELLUNG		
Injektionsvolumen	5 µl		
Autosamplertemperatur	+10 °C		
Spritzenspülung	100 µl		
Lösungsmittel A	Methanol+0,5% Essigsäure+5mmol Ammoniumacetat		
Lösungsmittel B	Wasser+0,5% Essigsäure+5mmol Ammoniumacetat		
Gradientenprogramm	Zeit (min)	Lösungsmittel A (%)	Lösungsmittel B (%)
	0	10	90
	3	90	10
	4	90	10
	4	10	90
	6	10	90
Lösungsmittelfluss	800 µl/min		
Säulenofentemperatur	70 °C		

Eine Messserie begann mit dem zweimaligen Einspritzen von Acetonitril, gefolgt von der Standardreihe und wiederum zweimal Acetonitril. Jeder Analysenextrakt wurde zweimal injiziert. Nach 8 - 12 Injektionen begann ein neuer Zyklus mit dem Einspritzen von Acetonitril.

Massenspektrometrie (MS)

Die Konfiguration der QTrap 5500 für die Rodentizidanalytik zeigt Tab. 4.

Tab. 4 Konfiguration des MS

PARAMETER	EINSTELLUNG
Ionenquelle	Elektrospray-Ionisation
Ionenspray Polarität	negativ
Spannung der Kapillare	-4500 V
Quellentemperatur	450 °C
Detektion	Scheduled Multiple Reaction Monitoring
Dwelltime	10 ms
Software	Analyst 1.6.1
Quantifizierung	Peakflächen

Kalibrierung

In Abhängigkeit von der Größe der Messserie wurde die Standardreihe mit den 8 Konzentrationsstufen vor und nach einer Probenserie mindestens zweimal gemessen. Die Kalibrierkurven einer Messserie wurde aus allen gemessenen Analysenstandards berechnet und mit Korrelationskoeffizienten $r > 0,99$ für die Quantifizierung der Analytenkonzentration in den Proben verwendet. Das Signal - Rausch - Verhältnis der Standardlösung mit dem niedrigsten Wirkstoff-Gehalt von $0,1 \text{ pg}/\mu\text{l}$ war immer $>6:1$.

Identifizierung und Quantifizierung der Analyten

Ein Analyt galt als identifiziert, wenn das Verhältnis seiner chromatographischen Retentionszeit zu der des internen Standards in der Probe um $<2,5\%$ von der relativen Retentionszeit in der Standardlösung abwich und das Signal - Rausch - Verhältnis $>6:1$ war.

In der Tab. 5 sind die Massenspuren der einzelnen Analyten, die für die Identifizierung und für die Quantifizierung genutzt wurden, mit den dafür optimierten Spannungen aufgelistet.

Tab. 5 Ausgewählte diagnostische Ionen (Molekülion in Quadrupol 1 (Q1) und Fragmention in Quadrupol 3 (Q3) der Analyte, Surrogate und internen Standards mit den optimierten Einstellungen (DP - Declustering Potential / EP - Entrance Potential / CE - Collision Energy / CXP - Cell Exit Potential).

STANDARDS	Q1	Q3	DP	EP	CE	CXP
	(m/z)		(V)			
ANALYTE	[M-H] ⁻	Product				
Chlorphacinon	373,1	201,0	-75	-10	-30	-13
Warfarin	307,	161,0	-90	-10	-28	-13
Coumatetralyl	291,	140,9	-125	-10	-38	-13
Bromadiolon	526,9	249,0	-30	-10	-50	-19
Difenacoum	443,1	135,0	-55	-10	-46	-11
Brodifacoum	521,	78,9	-85	-10	-94	-13
Flocoumafen	541,0	382,0	-65	-10	-36	-29
Difethialon	538,9	80,8	-215	-10	-92	-13
SURROGATE						
Acenocoumarol	352,0	145,0	-55	-10	-58	-19
Diphacinon D4	343,1	167,0	-115	-10	-32	-15
Phenprocoumon	278,9	250,0	-55	-10	-32	-17
Coumachlor	340,9	160,8	-60	-10	-30	-21
INTERNE STANDARDS						
Chlorphacinon D4	377,1	200,9	-120	-10	-32	-15
Warfarin D5	312,1	161,0	-95	-10	-28	-9

Zur Absicherung der Befunde wurden Spektren von der Probe aufgenommen, wenn im Retentionszeitfenster der Analyten Signale $>1000 \text{ cps}$ auftraten. Der Messwert wurde

akzeptiert, wenn eine Übereinstimmung mit den Spektren in der Spektrenbibliothek (8 Lösungsmittel- und 8 Putenleber-Matrix-Standards), von >50% gegeben war.

Die Berechnung der Analyten- und Surrogatkonzentrationen erfolgte über die relativen Peakflächen, wobei für die 4-Hydroxycumarine das Warfarin-D5 und für die 1,3-Indandione das Chlorphacinon-D4 als interner Standard genutzt wurden. Es erfolgte keine Korrektur der gemessenen Konzentrationen mit den Wiederfindungen.

5.3.4 Probenaufarbeitung Gewölle

Gewölle sind die ausgewürgten, unverdaulichen Reste von Beutetieren. Die Zusammensetzung der Gewölleballen war extrem heterogen, so dass die Herstellung einer repräsentativen Analysenprobe sich aufwändig gestaltete. Aus den Gewölleballen wurden im ersten Schritt die Knochen der Beutetiere herausgelöst, um die Beutearten zu bestimmen. Da im Gewölle unverdauliche Reste mehrerer unterschiedlich exponierter Beutetiere enthalten sein konnten, musste der Gewölleballen zunächst homogenisiert werden. In mehreren Versuchen gelang es jedoch nicht, die sehr feste Struktur der Gewöllebestandteile mit den im Analysenlabor üblichen Geräten wie Ultra-Turrax oder Warring Blendor zu zerkleinern. Erst das Einfrieren der Gewölle in flüssigem Stickstoff vor der Zerkleinerung brachte den gewünschten Erfolg.

Im zweiten Schritt wurde jeder Gewölleballen einzeln in einen Edelmörser gelegt und mit flüssigem Stickstoff überschichtet. Die in der Kälte spröde gewordene Gewöllematrix wurde mit einem Edelmörser zerstoßen. Aus der homogenen Masse konnte die Analysenprobe eingewogen werden. 128 so hergestellte Gewölleproben wurden eingefroren und stehen für die Analyse bereit.

Da Gewölle und Leber sehr unterschiedliche Materialien sind, können die Ergebnisse von Wiederfindungsversuchen mit der Lebermatrix nicht direkt auf das Gewölle übertragen werden. Wiederfindungsversuche mit Gewöllematrix sind eine wichtige Voraussetzung für die Analyse der Gewölleproben aus den Versuchen.

Einige der Gewölle, die während des Bekämpfungszeitraums gesammelt werden konnten, wurden auf die Beutezusammensetzung untersucht und Zusammenhänge zwischen der Häufigkeit von Beutearten in der Eulennahrung und dem Auftreten von Rückständen in den verschiedenen Beutearten betrachtet.

5.4 Die Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren

In diesem Teil der Studie wurden die Zusammenhänge zwischen den Populationsdichten verschiedener Kleinnagerarten und der Präsenz von Rückständen in ihren Prädatoren untersucht.

2012 war sowohl für die Rötelmaus als auch für die Feldmaus ein Massenvermehrungsjahr (unveröffentlichte Daten). Der Einfluss auf die Prädatoren sollte anhand von Rückstandsnachweisen in Gewölleproben erfolgen, deren Analyse in Ermangelung einer geeigneten Methode aber nicht abgeschlossen werden konnte.

Stattdessen wurden Nahrungsanalysen von Schleihereulengewölle durchgeführt. In den Jahren 2011 bis 2012 wurden monatlich an 9-12 verschiedenen Standorten im Münsterland (Nordrhein-Westfalen, Deutschland) Gewölle aus Nistkästen und von

bekanntesten Aufenthaltsorten von Schleiereulen auf landwirtschaftlichen Betrieben gesammelt und auf ihre Nahrungszusammensetzung hin untersucht. Durch das regelmäßige Sammeln konnten die Proben jeweils einem Monat zugeordnet werden, so dass saisonale Schwankungen dargestellt werden konnten.

Die Gewölle (bzw. die Beutereste in den Gewöllen) wurden zur Sterilisation bei 100°C für mindestens drei Stunden getrocknet und durch eine neu entwickelte Methode so bearbeitet, dass Fellreste von den Knochen und Zähnen der Beuteindividuen getrennt wurden. Hierzu erfolgte das Einweichen der Gewölle in Wasser in einem Plastikbecher für 1-2 min. Anschließend wurden die Proben in einen Eimer überführt, in dessen Boden ein Sieb eingearbeitet war. Mit einem harten Wasserstrahl wurde das Gewölle nun aufgebrochen und möglichst viel der Fellreste durch das Sieb gespült. Die restliche Knochen- und Fellmasse wurde mit einer geringen Menge Wasser in einen hohen Plastikbehälter überführt und für einige Minuten stehen gelassen, damit sich die Knochen und Zähne am Behältergrund absetzen konnten. Anschließend wurden mit einem schwachen, weit gefächerten Wasserstrahl die Fellreste an der Wasseroberfläche aufgewirbelt, so dass sich weitere Knochen und Zähne aus den Fellbestandteilen lösten und auf den Boden des Behälters absanken. Die Fellreste wurden anschließend in ein Sieb dekantiert und auf verbliebene Knochen und Zähne abgesucht. Alle Knochen und Zähne wurden auf ein feinmaschiges Sieb überführt und für 3 h bei 60°C im Trockenschrank getrocknet. Anschließend erfolgte über die Bestimmung (Jenrich *et al.* 2010) von Knochen und Zähnen der Beuteindividuen bis auf Artniveau sowie die Ermittlung der Minimalzahl der Beuteindividuen pro Art pro Gewölle.

6 Ergebnisse

6.1 Erfassung von Rodentizidrückständen bei Nicht-Zielarten unter Berücksichtigung der Anwendungsintensität

6.1.1 Rotfüchse

Insgesamt konnten 265 Fuchsleberproben auf Rückstände analysiert werden. Brodifacoum- und Bromadiolon-Rückstände traten in 46 bzw. 39% der Fuchsleberproben auf (Abb. 1). Floucoumafen konnte in ca. 16% der Proben nachgewiesen werden. Chlorphacinon und Warfarin waren die Wirkstoffe, die am seltensten gefunden wurden. Es zeigt sich, dass Rückstände von SGAR (Brodifacoum, Bromadiolon, Difenacoum, Difethialon und Flocoumafen) häufiger auftraten als Rückstände von Wirkstoffen der ersten Generation (Chlorphacinon, Coumatetralyl, Warfarin).

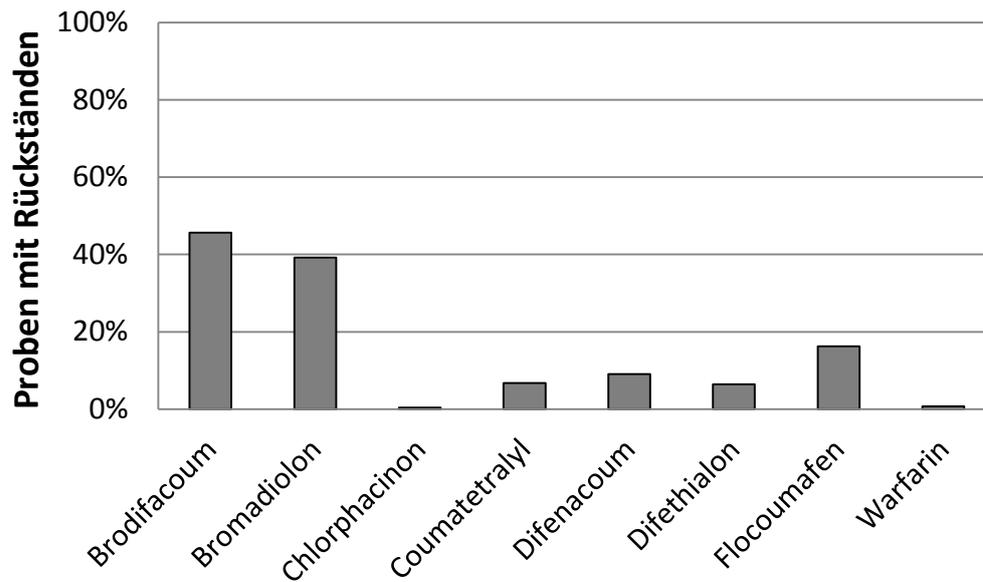


Abb. 1 Anteil untersuchter Leberproben von Rotfüchsen (*Vulpes vulpes*), die AR-Rückstände aufwiesen. N=265

Der Median der Brodifacoum-Konzentration lag in Proben mit Rückständen dieses Wirkstoffs bei 63 ng/g und die maximal gefundene Konzentration bei 1.411 ng/g. Sechs der 265 Proben zeigten Brodifacoum-Rückstände über 800 ng/g. Bromadiolon-Konzentrationen waren ähnlich (Median 52 ng/g), mit einer maximalen Konzentration von 1.212 ng/g. Rückstände über 800 ng/g waren hier in sieben Fällen zu finden. Die maximalen Konzentrationen aller anderen Wirkstoffe lagen unter 900 ng/g (Coumatetralyl: 891 ng/g; Chlorphacinon: 11 ng/g; Difenacoum: 604 ng/g; Difethialon: 134 ng/g; Flocoumafen: 545 ng/g; Warfarin: 14 ng/g). Summierte Konzentrationen aller Wirkstoffe zeigten einen Median von 123 ng/g und einem Maximalwert von 1.534 ng/g.

Die GV und die Anzahl analysierter Fuchsleberproben ist in Abb. 2 dargestellt. Die GV diente als Indikator des bioziden Rodentizideinsatzes im landwirtschaftlichen Bereich. Hohe GVs fanden sich im Nordwesten in Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Schleswig-Holstein sowie im Süden Deutschlands in Bayern. In Ost-, Zentral- und Südwest-Deutschland herrschten dagegen geringere GVs vor. Der Anteil an Proben mit Rückständen war bei Individuen, die aus Landkreisen mit hoher GV kamen, höher als der Anteil bei Individuen aus Landkreisen mit geringer GV (Einfaktorielle ANOVA: df=12; F=6,63; p=0,015; Post Hoc (Bonferroni): zwischen hoch und niedrig: Differenz=44%; p=0,014). Die Rückstände sind in Abb. 3 gegen die GV-Klassen aufgetragen.

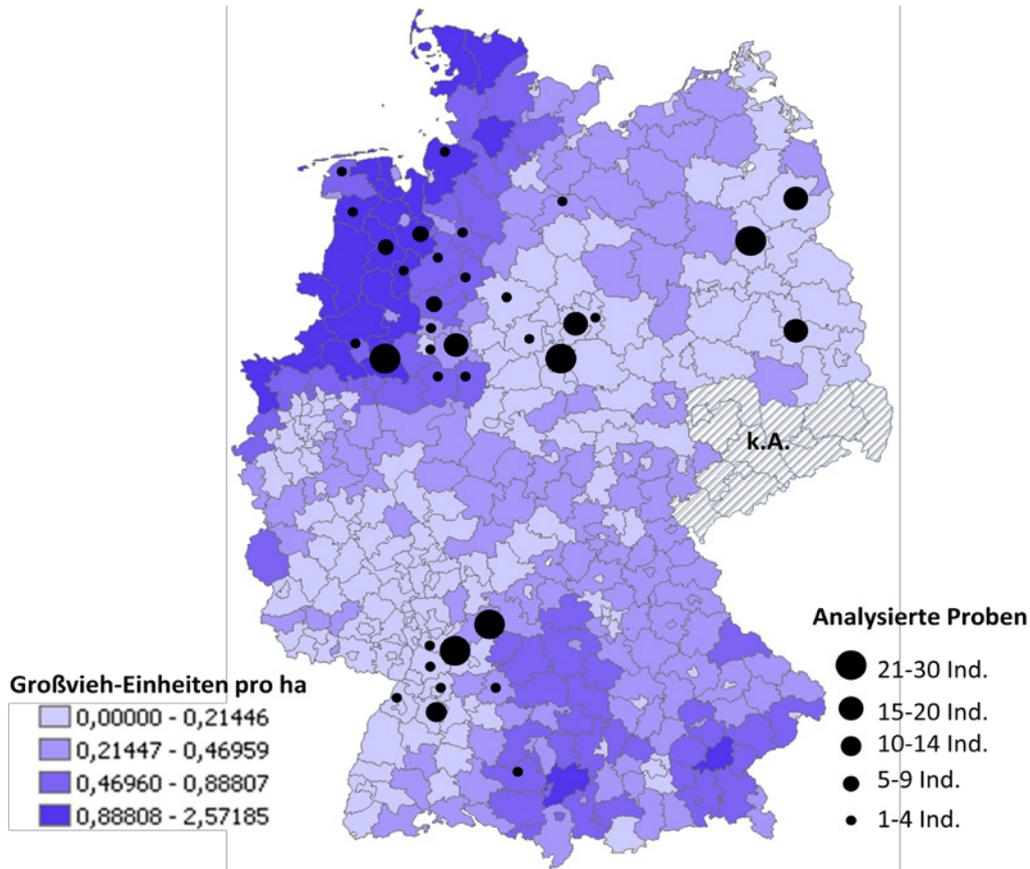


Abb. 2 Großviehdichte in Deutschland auf Landkreisebene; je dunkler die Farbe des Landkreises, desto höher die Großviehdichte (Großvieheinheiten pro ha; GENESIS-Online Datenbank des statistischen Bundesamtes, 01.03.2010); die Größe der Punkte gibt Anzahl an analysierten Fuchsleberproben aus diesem Landkreis wieder

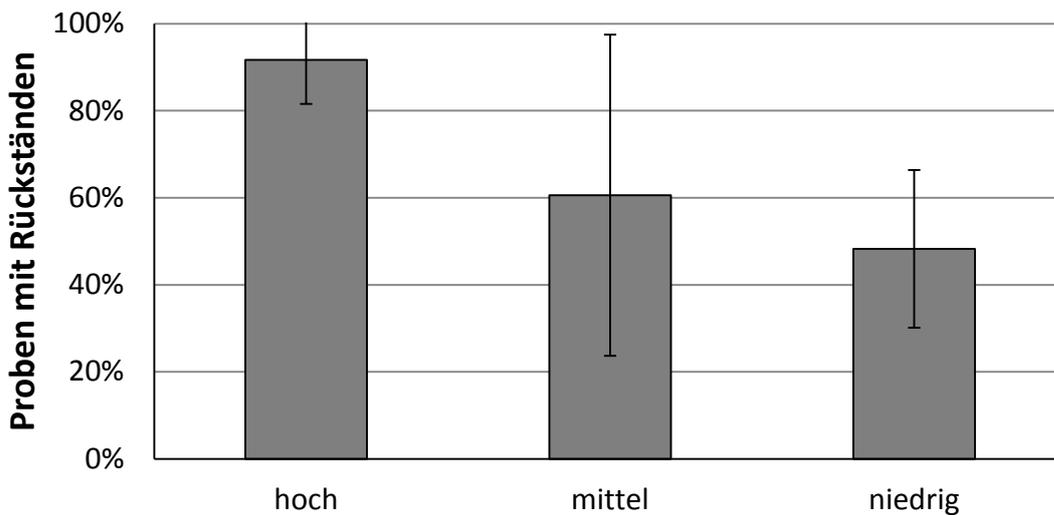


Abb. 3 Anteil untersuchter Fuchsleberproben mit AR- aus Landkreisen mit hoher, mittlerer und niedriger Rodentizidanwendung; die von der Großviehdichte abgeleitet wurde; dargestellt sind die Mittelwerte der Anteile belasteter Füchse pro Landkreis \pm SD; N (Landkreise: hoch: N=4; mittel: N=2; niedrig: N=7; Individuen: hoch:N= 67; mittel: N=44; niedrig: N=141)

In der Fragebogen-Umfrage zum Thema Rattengift haben von 90 befragten Landwirten 62 geantwortet. 80,6% gaben an, hin und wieder Ratten auf ihrem Betrieb zu haben. 71% der Landwirte mit Rattenproblemen setzten Rodentizide ein. Brodifacoum wurde mit Abstand am häufigsten angewandt (Abb. 4).

Vergleicht man die Ergebnisse der Landwirtbefragung mit dem Vorkommen von Rückständen in Fuchsleberproben aus dem Landkreis Warendorf (N=29) und aus Münster (N=1), so zeigt sich, dass Rückstände des häufig angewandten Wirkstoffs Brodifacoum in über 50% der Proben auftraten (Abb. 4). Aber auch Bromadiolon, welches laut Umfrage nur zu ca. 10% angewandt wurde, kam in über 50% der Proben vor. Difenacoum hingegen wurde am zweit häufigsten angewandt, fand sich aber in keiner Probe. Flocoumafen dagegen trat als Rückstand auf und wurde auch angewandt.

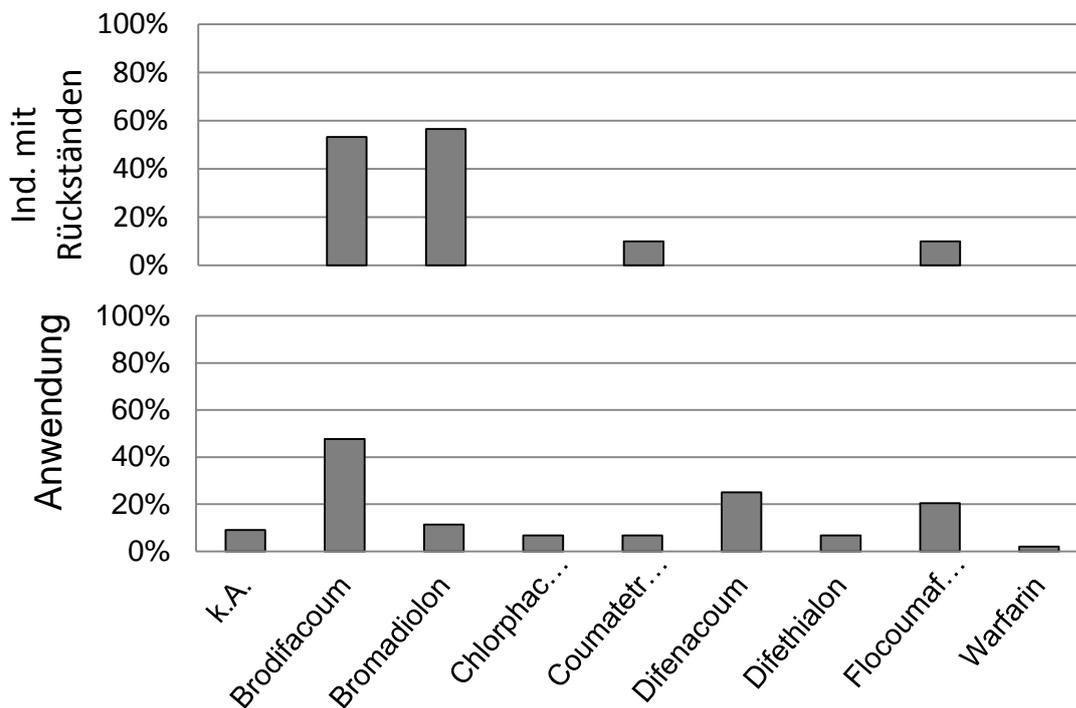


Abb. 4 Anteil der Fuchsleberproben aus den Landkreisen Warendorf und Münster mit Rückständen verschiedener AR-Wirkstoffe (oben); Anwendung biozider rodentizider Wirkstoffe von Landwirten im Münsterland (unten); Prozentualer Anteil von 44 Landwirten, die Rodentizide gegen Ratten einsetzten (k.A. – keine Angabe)

6.1.2 Eulen und Greifvögel

Insgesamt konnten 63 Proben von Eulen- und Greifvogel-Totfunden (inkl. 5 Weißstorch-Proben) auf die acht verschiedenen AR-Wirkstoffe untersucht werden. Es zeigten sich Rückstände in 31,7% der Proben. Davon enthielten 30% (6 Proben) Rückstände von mehr als einem Wirkstoff. Mäusebussarde (18), Rotmilane (5) und Schleiereulen (7) wiesen am häufigsten AR-Rückstände auf (Abb. 5).

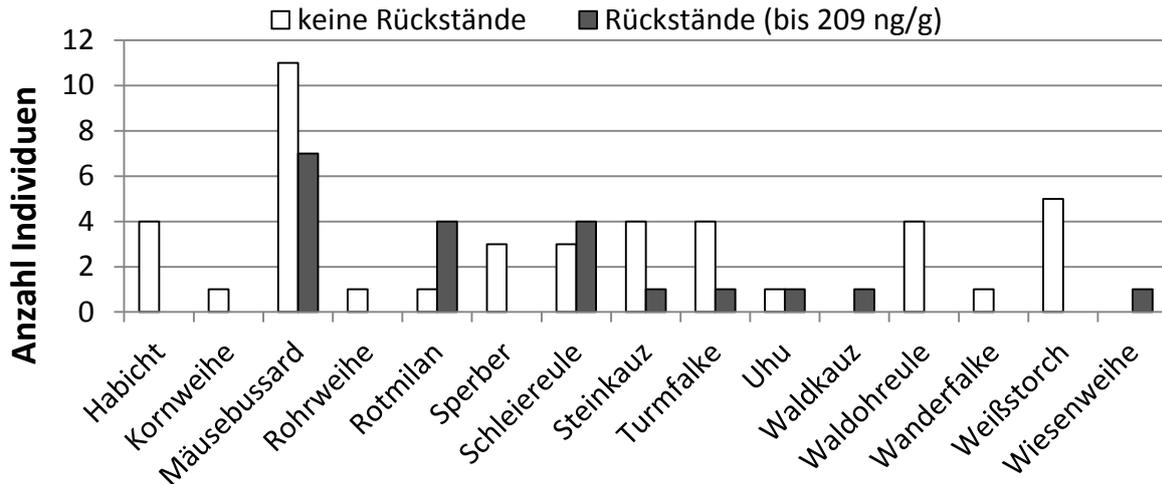


Abb. 5 Rückstände antikoagulanter Rodentizide in verschiedenen Eulen und Greifvogelarten (inkl. Weißstorch)

Brodifacoum war der Wirkstoff mit der höchsten Prävalenz (19%) gefolgt von Bromadiolon und Flocoumafen (je 7,9%), Chlorphacinon (4,8%) und Difenacoum (3,2%). Coumatetralyl, Diefethialon und Warfarin konnten in keiner Probe identifiziert werden. In den Proben, die Rückstände des entsprechenden Wirkstoffs aufwiesen, hatten Brodifacoum-Konzentrationen einen Median von 89 ng/g (max. 209 ng/g), Bromadiolon-Konzentrationen einen Median von 33 ng/g (max. 129 ng/g) und Flocoumafen-Konzentrationen einen Median von 37 ng/g (max. 158 ng/g). Die Konzentrationen anderer Wirkstoffe lagen alle unter 100 ng/g. Summierte Konzentrationen aller Wirkstoffe wiesen einen maximalen Wert von 232 ng/g auf, bei einem Median von 89 ng/g.

6.2 Quantifizierung der Rodentizidrückstände entlang des Expositionspfades Köder - Beute - Räuber

6.2.1 Zielarten

Summiert aus allen Fangaktionen konnten 93 Wanderrattenproben während und nach der Rodentizidanwendung gesammelt werden. 54 davon im Herbst 2011. Aufgrund der im Projekt insgesamt hohen Probenanzahl wurden nur die Ratten aus dem Herbst 2011 auf AR-Rückstände untersucht.

Im Herbst 2011 wurden 16 Wanderratten in Fallen gefangen und 29 verendete Tiere eingesammelt. Weitere 9 Tiere wurden von einem Hofhund gefangen. Es konnten sowohl in den mit Fallen gefangenen Tieren als auch in den verendeten Tieren sehr hohe Rückstände des ausgebrachten Wirkstoffs Brodifacoum nachgewiesen werden (max. 18.072 ng/g; Abb. 6). Im Mittel waren die Rückstandskonzentrationen in der Leber von verendeten Tieren (N=29; \bar{x} =7.837 ng/g) höher als in Tieren, die mit Fallen (N=16; \bar{x} =3.916 ng/g) gefangen wurden (t-Test: N=45; t=3.384; p=0,002). In Y139C-homozygoten und damit resistenten Tieren lagen die Brodifacoum-Leberkonzentrationen im Mittel bei 9.053 ng/g (N=18). In homozygot resistenten Ratten fanden sich damit signifikant höhere Rückstände als in heterozygot-resistenten Tieren (N=23; 4.748 ng/g) oder beim Wildtyp

(N=13; 3.299 ng/g) (einfaktorielle ANOVA: N=54; F=11,832; p<0,001; Post-hoc: Bonferroni: p<0,01 zwischen den Gruppen homozygot und heterozygot, sowie homozygot und Wildtyp) (Abb. 7).

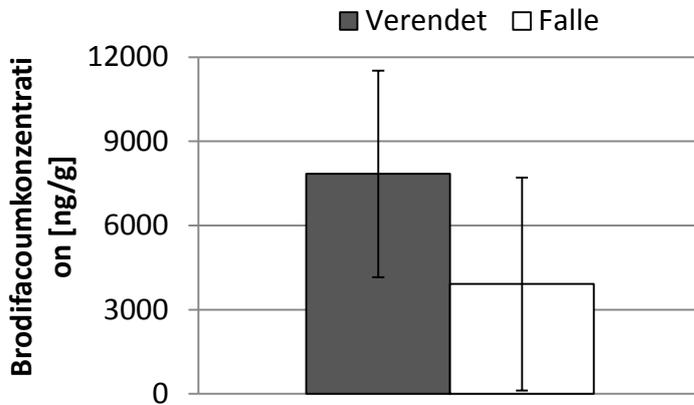


Abb. 6 Brodifacoum-Rückstandskonzentrationen [ng/g Leber] in Wanderratten aus dem Münsterland, die während und nach einer Rodentizidanwendung (gepoolt) in Fallen gefangen bzw. ohne Falleneinwirkung tot aufgefunden wurden; Mittelwerte der Individuen ±SD

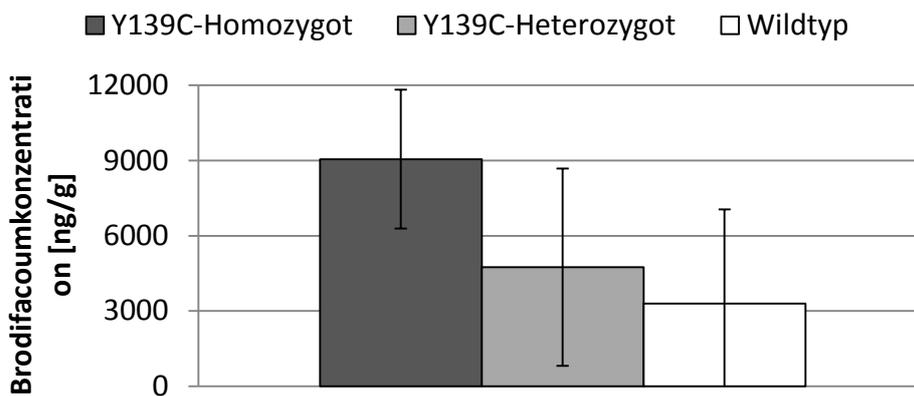


Abb. 7 Brodifacoum-Rückstandskonzentrationen [ng/g Leber] von homozygot resistenten, heterozygot resistenten und Wildtyp Wanderratten aus dem Münsterland, die während und nach einer Rodentizidanwendung (gepoolt), Mittelwerte der Individuen ±SD

6.2.2 Rückstände in Nichtzielkleinsäugetern

Die Fangzahlen von Nichtzielkleinsäugetern aller vier Untersuchungszeiträume (Fangaktionen) sind in Tab. 6 dargestellt. Der Fangerfolg (gefangene Individuen pro 100 Fallennächte (FN)) war im Herbst (Herbst: 12,8 Ind/100FN) höher als zu den Winterfangaktionen (Winter: 4,2 Ind/100FN) (t-Test: N Herbst=15; N Winter=15; t=4,725; p<0,001).

Tab. 6 Fangzahlen und Fangerfolge der vier Fangaktionen von Kleinsäugetern in der Hofumgebung von Bauernhöfen im Münsterland für die drei Fangsessions (vor, während und nach der Rodentizidanwendung)

Fangaktion	Fänge	Fangerfolg [Ind/100FN] ±SD		
		Vor	Während	Nach
Herbst 2011	355	13±5	22±4	13±3
Winter 2012	289	9±6	11±5	7±5

Herbst 2012	482	17±11	19±12	11±6
Winter 2013	117	4±3	1±1	1±1

Alle Individuen aus dem Herbst 2011, Winter 2012 und Winter 2013 und 417 der 482 Tiere aus dem Herbst 2012 wurden aufgearbeitet und die Leberproben am Julius Kühn-Institut, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz auf Rückstände aller acht zugelassenen bioziden antikoagulanten Wirkstoffe untersucht.

Rückstände vor Bekämpfungsbeginn: Brodifacoum

Es zeigte sich (Abb. 8), dass vor der Rodentizidanwendung in den Herbst-Fangaktionen nur vereinzelt Tiere Rückstände von Brodifacoum aufwiesen (im Mittel: Herbst 2011: N=6; 4,7% ±6,2%; Herbst 2012: N=9; 3,5% ±4,8%), während es im Winter deutlich mehr Tiere waren (im Mittel: Winter 2012: N=7; 19,6% ±16,1%; Winter 2013: N=8; 27,6% ±15,4%).

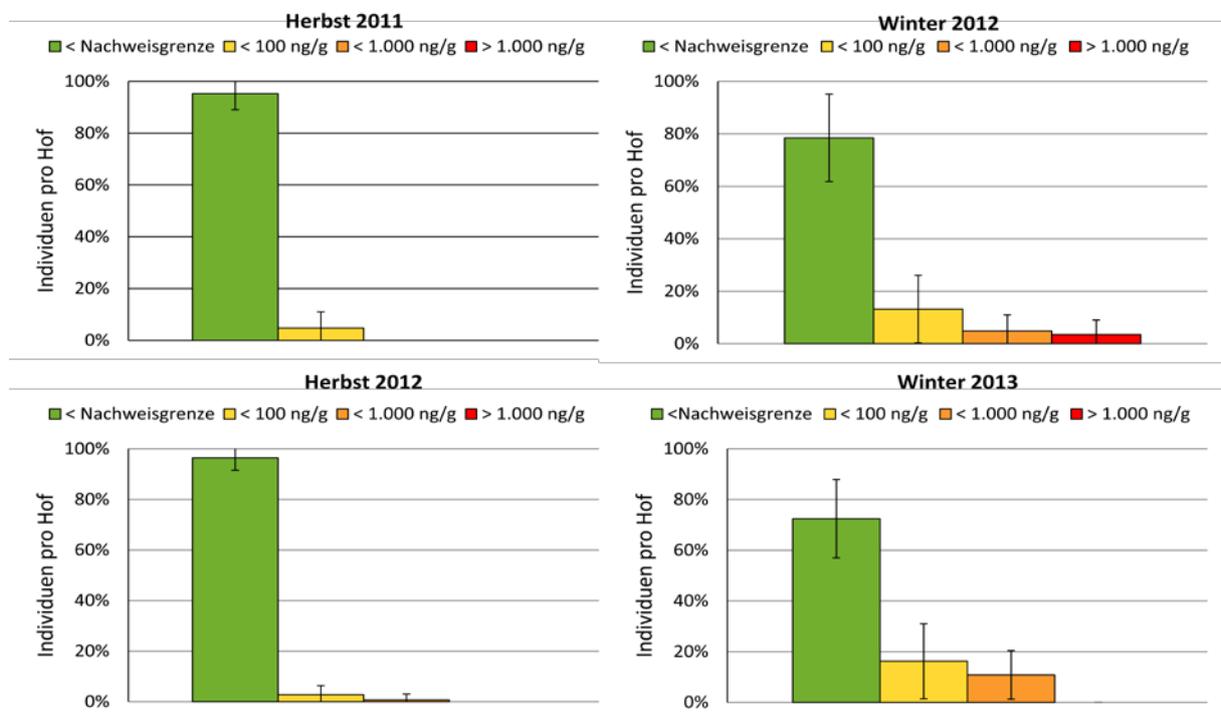


Abb. 8 Brodifacoum-Rückstände vor der Rodentizidanwendung auf Bauernhöfen im Münsterland zu den vier verschiedenen Fangaktionen (Herbst 2011, Winter 2012, Herbst 2012 und Winter 2013), Mittelwerte der Höfe; Klassen von Rückstandskonzentrationen sind farblich markiert

In der statistischen Analyse wurden nur Höfe berücksichtigt, die sowohl im Herbst als auch im darauf folgenden Winter untersucht wurden. Es zeigt sich, dass die Anteile belasteter Individuen auf Höfen im Winter (26,0% ±15,7%) signifikant höher waren als im vorangegangenen Herbst (4,1% ±5,5%; paired samples t-test: N=13; t=5,145; p<0,001). Im Herbst 2012 (1,7% ±2,8%) waren signifikant weniger Tiere belastet, als im Winter (2012) davor (21,5% ±16,7%; paired samples t-test: N=6; t=-2,263; p=0,042). Dies könnte damit zusammenhängen, dass zwischen der Fangaktion im Herbst und dem darauf folgenden Winter halb so viel Zeit lag wie vom Winter zum darauf folgenden Herbst (Herbst zu Winter: 3 Monate und Winter zu Herbst: 6 Monate). Brodifacoum-Konzentrationen über 1.000 ng/g fanden sich nur in Leberproben aus dem Winter 2012 und auch dort nur in geringem Anteil (4,1% ±5,2%).

Rückstände während und nach der Bekämpfung

Entfernung

In allen vier Untersuchungszeiträumen stieg der Anteil unbelasteter Individuen mit der Entfernung (Abb. 9). Zusammengefasst zeigte sich, dass im Herbst (dicht: 42,3%; mittel: 18,2%; fern: 8,5%) Tiere aus dem dichten Bereich signifikant höhere Anteile an Brodifacoum-Rückständen aufwiesen als Tiere aus dem mittleren und fernen Bereich (einfaktorielle ANOVA: $N=15$ Höfe je Transektabschnitt; $F=7,526$; $p=0,002$; PostHoc Test mit Bonferroni-Korrektur: dicht-mittel: Differenz: 24,2%, $p=0,031$; dicht-fern: Differenz: 33,9%, $p=0,002$; mittel-fern: Differenz: 9,7%, $p=0,863$). Im Winter 2012 ergab sich ein ähnliches Bild (dicht: 64,2%; mittel: 32,3%; fern: 10,4%). Allerdings muss die geringe Stichprobengröße aus dem Winter 2013 bei der Bewertung der Aussagekraft dieser Werte berücksichtigt werden (einfaktorielle ANOVA: $N=13$ Höfe je Transektabschnitt; $F=9,017$; $p<0,001$; PostHoc Test mit Bonferroni-Korrektur: dicht-mittel: Differenz: 31,9%, $p=0,011$; dicht-fern: Differenz: 53,8%, $p<0,001$; mittel-fern: Differenz: 21,8%, $p=0,073$).

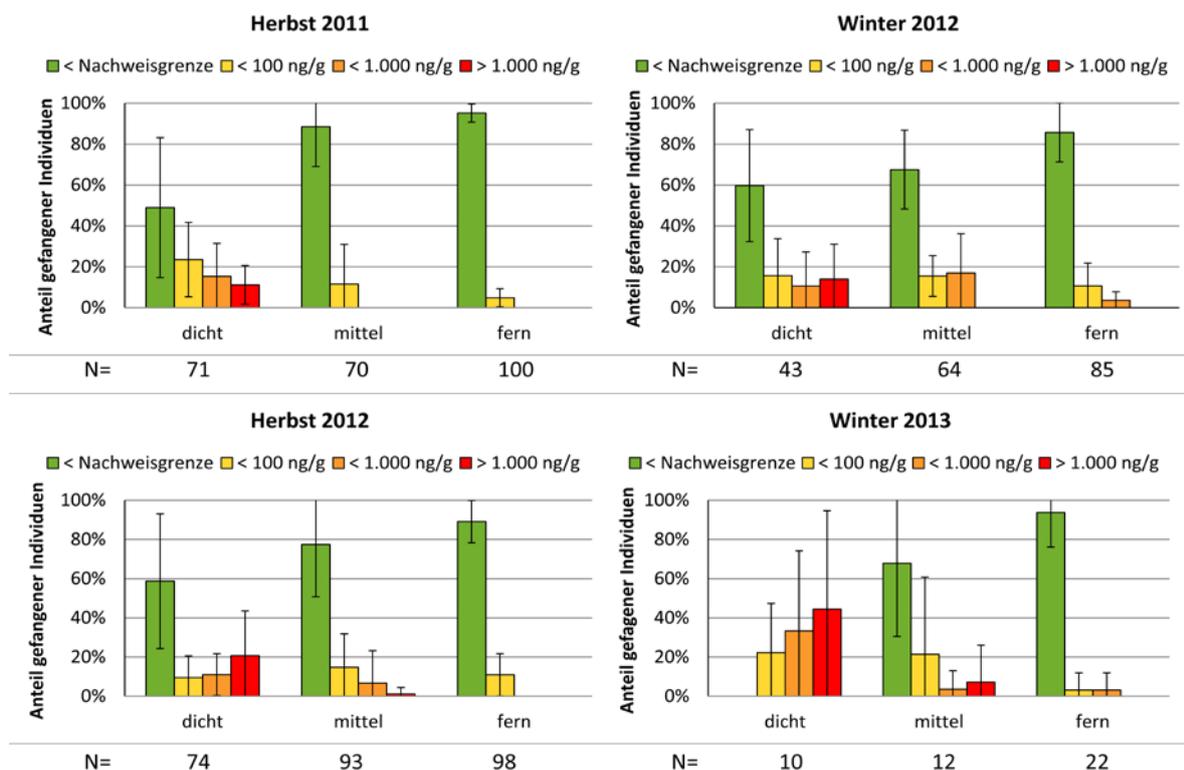


Abb. 9 Brodifacoum-Rückstände in Kleinsäugetieren in Abhängigkeit der Entfernung zum Anwendungsort auf Bauernhöfen im Münsterland; Sessions während und nach der Anwendung zusammengefasst; für vier verschiedene Fangaktionen (Herbst 2011, Winter 2012, Herbst 2012 und Winter 2013); Mittelwerte der Höfe \pm SD; Klassen von Rückstandskonzentrationen (farblich markiert)

Rückstandskonzentrationen über 1.000 ng/g fanden sich fast ausschließlich im dichten Transektabschnitt. Nur zwei Tiere (eins im Herbst 2012 und eins im Winter 2013) wiesen im mittleren Transektabschnitt solche Konzentrationen auf; im fernen Abschnitt gab es in keinem Tier Brodifacoum-Rückstände >1.000 ng/g. Die mittleren Brodifacoum-Konzentrationen der Leberproben von Tieren aus den verschiedenen Transektabschnitten

sowie der Median und die maximal gefundene Konzentration der positiv getesteten Individuen sind in Tab. 7 dargestellt.

Tab. 7 Brodifacoum-Konzentrationsangaben [ng/g] positiv getesteter Kleinsäuger in den verschiedenen Transektabschnitten in dichter, mittlerer und ferner Distanz zu Köderboxen mit Brodifacoumköder auf Bauernhöfen im Münsterland

Transektabschnitt	$\bar{x} \pm SD$	Median	Max. Konz
Dicht	3.096 \pm 5.908	293	31.125
Mittel	372 \pm 1.553	38	10.640
Fern	79 \pm 158	23	766

Auswertung der Fangsessions

Im Folgenden werden sich die Darstellungen auf den dichten Transektabschnitt beschränken, in dem die meisten Rückstände gefunden wurden (siehe Abschnitt zuvor). Bisher wurden die zwei Fangsessions (während und nach der Rodentizidanwendung) zusammengefasst betrachtet, es existierten aber Unterschiede beim Anteil belasteter Individuen zwischen den Sessions. Abb. 10 zeigt die Rückstandsmuster der ersten drei Fangaktionen während (Session 2) und nach der Anwendung (Session 3) wobei der Winter 2013 aufgrund einer zu geringen Stichprobe nicht dargestellt ist.

Das Auftreten von Konzentrationen über 1.000 ng/g unterschied sich zwar nicht signifikant zwischen den beiden Sessions (vor und während), zeigte aber die Tendenz, dass hohe Konzentrationen in der Session 2 (20,0 \pm 26,4%) häufiger auftraten als in Session 3 (7,5 \pm 12,1%) (Wilcoxon-Rangtest: N=14 (ohne Winter 2013); Z=-1,737; p=0,082). Konzentrationen unter 100 ng/g kamen dagegen signifikant seltener in der zweiten Session (8,8 \pm 11,6%) als in der dritten Session vor (27,5 \pm 37,5%) (Wilcoxon-Rangtest: N=14 (ohne Winter 2013); Z=-2,159; p=0,031).

Abb. 10 Brodifacoum-Rückstände in Kleinsäugetieren von Höfen aus dem Münsterland im dichten Transektabschnitt während (Session 2) und nach (Session 3) einer Rodentizidanwendung zu drei Fangaktionen (Herbst 2011, Winter 2012, Herbst 2012); Mittelwerte der Höfe \pm SD; Klassen von Rückstandskonzentrationen (farblich markiert)

Rückstände in verschiedenen Arten

Brodifacoum-Rückstände wurden in allen untersuchten Kleinsäugertaxa gefunden. Die Taxa unterschieden sich aber hinsichtlich des Anteils Brodifacoum positiver Tiere und in der Brodifacoum-Konzentration in den Leberproben. In Abb. 11 sind die Rückstände in verschiedenen Kleinsäugertaxa im dichten Transektabschnitt für drei Untersuchungszeiträume dargestellt (Winter 2013 wurde wegen der geringen Stichprobe nicht mit dargestellt). Die Anteile sind nicht über die Höfe gemittelt.

In *Apodemus*-Arten (*A. sylvaticus* und *A. flavicollis*) fanden sich zu allen drei Fangaktionen Rückstände im dichten Transektabschnitt, die Anteile positiver Tiere schwankten dabei zwischen 29,6 und 50,0% (Abb. 11). Rückstände über 1.000 ng/g traten in 10,5 bis 25,9% der Fälle auf. *Apodemus*-Arten wurden sowohl im dichten, als auch in den anderen Transektabschnitten mit dem höchsten Fangerfolg gefangen (Abb. 12).

Hausspitzmäuse kamen im Winter 2012 im dichten Transektabschnitt nicht vor, in den beiden Herbstfängen zeigten sich aber bei vielen Individuen Brodifacoum-Rückstände (86,7% bzw. 54,5%), die z.T. über 1.000 ng/g lagen (Abb. 11). Der Fangerfolg für Hausspitzmäuse war in allen Transektabschnitten gering (Abb. 12), im mittleren und fernen Transektabschnitt wurden nur vereinzelt Tiere gefangen.

Bei den *Microtus*-Arten (*M. arvalis* und *M. agrestis*) waren die Brodifacoum-Rückstände am geringsten (ein Tier im Winter 2012 und zwei Tiere im Herbst 2012). Der Fangerfolg für *Microtus*-Arten schwankte sehr stark zwischen den Höfen, war aber generell geringer als bei *Apodemus*-Arten und Rötelmäusen.

Bei Rötelmäusen fanden sich im Herbst 2011 deutlich weniger Rückstände (30,0%) als im Winter 2012 (70,0%) und im Herbst 2012 (68,7%). Rückstände über 1.000 ng/g kamen im Herbst 2011 nicht vor. Rötelmäuse wurden nach *Apodemus*-Arten am zweithäufigsten gefangen (Abb. 12).

Sorex-Arten wurden nur selten gefangen. In etwa jedem zweiten Tier im dichten Transektabschnitt und in allen untersuchten Zeiträumen waren Brodifacoum-Rückstände vorhanden, allerdings keine über 1.000 ng/g.

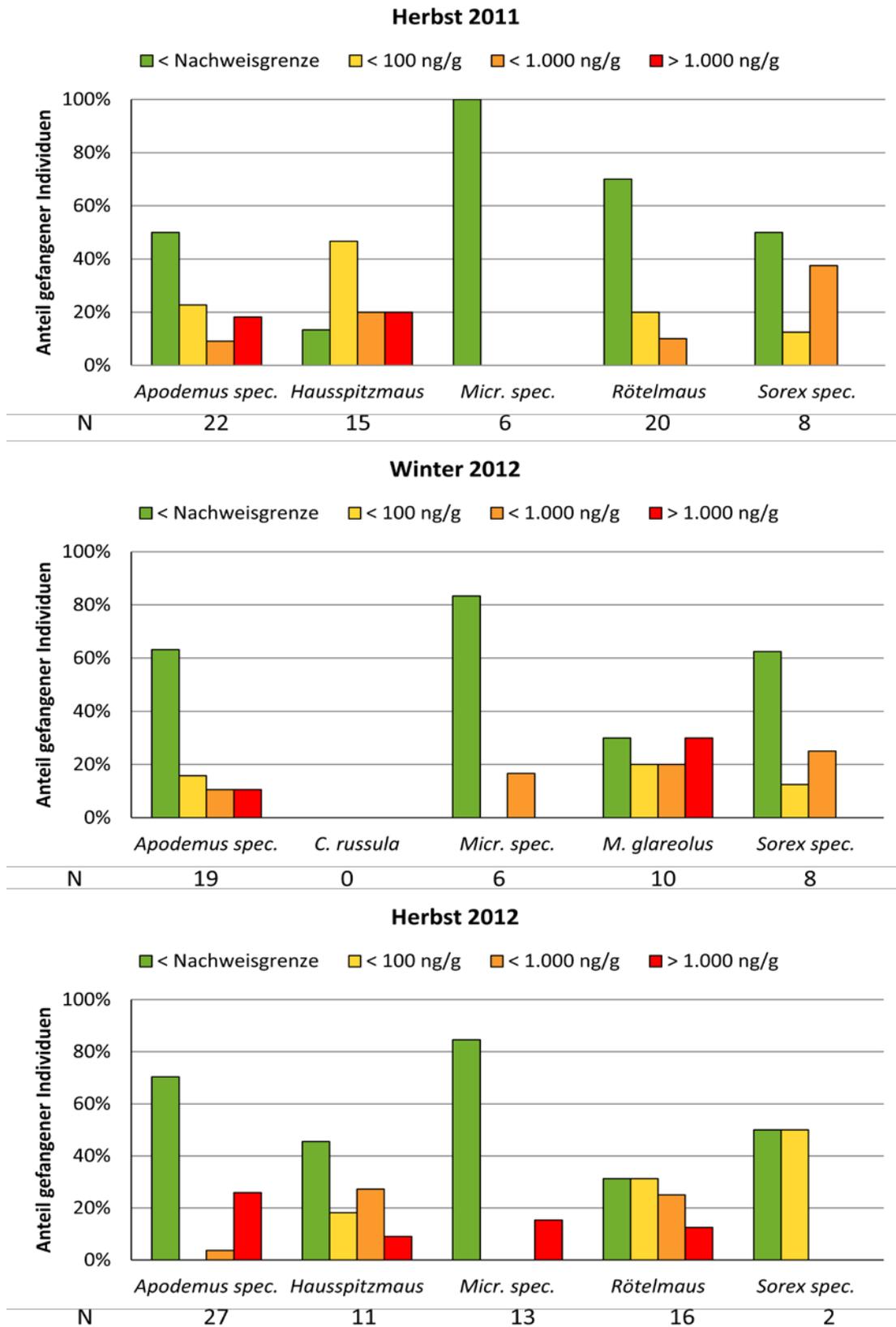


Abb. 11 Brodifacoum-Rückstände im dichten Transektabschnitt gefangener Kleinsäuger von Bauernhöfen im Münsterland, aufgeteilt nach Artgruppen, im Herbst 2011, Winter 2012 und Herbst 2012; Mittelwerte der Höfe \pm SD; Klassen von Rückstandskonzentrationen (farblich markiert)

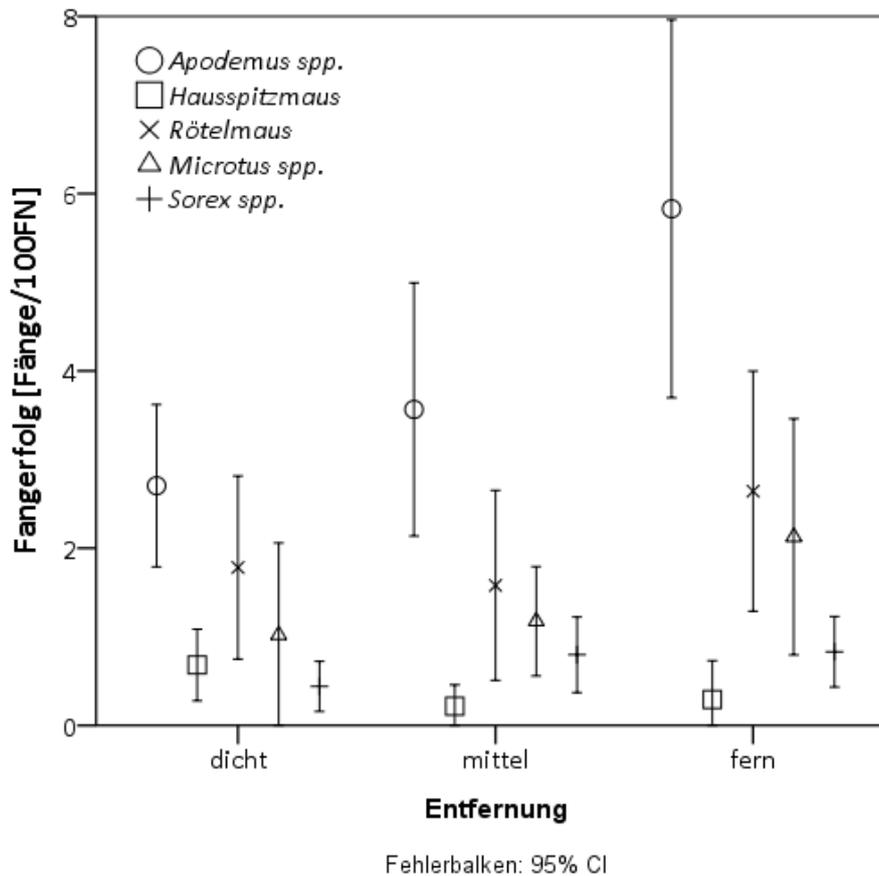


Abb. 12 Fangerfolg (Mittelwerte \pm 95% Konfidenzintervall über Höfe, N=14) für die Kleinsäugertaxa *Apodemus* spp., Rötelmaus, *Microtus* spp., Hausspitzmaus und *Sorex* spp. (Daten aus Herbst 2011, 2012 und Winter 2012 sind zusammengefasst und alle Fangsessions wurden berücksichtigt)

Rückstände zur Rattenbekämpfung nicht angewandter Rodentizidwirkstoffe

Rückstände von anderen Wirkstoffen als Brodifacoum (das für die Bekämpfung verwendet wurde) waren gemittelt über die Höfe zu maximal 3,6% (Bromadiolon) in den Proben zu finden (Tab. 8). Eine Ausnahme bildete Chlorphacinon, welches im Herbst 2011 in 14,7% der Proben vorhanden war. Chlorphacinon war bis zum 30. Juni 2010 als Pflanzenschutzmittel für die Anwendung gegen Feldmäuse zugelassen, es könnte sich daher evtl. um Restbestände gehandelt haben, die für die Feldmausbekämpfung eingesetzt wurden. Einige Wirkstoffe (Coumatetralyl, Difenacoum und Flocoumafen; Tab. 6) waren in weniger als 2% der Proben vorhanden. Auffällig war das Auftreten von Warfarin, das regelmäßig in Proben gefunden wurde, die auch Wirkstoffe des im Projekt angewandten Rodentizids Brodifacoum aufwiesen.

Vor den Anwendungen von Brodifacoum in den Bekämpfungsaktionen wurde in keiner der Proben Warfarin nachgewiesen. Bei den Fangaktionen im Herbst 2011 und im Winter 2012, in denen Warfarinnachweise vermehrt auftraten, wurde in 1,1% der Fälle Warfarin nachgewiesen, wenn Brodifacoum nicht nachweisbar war (N=529), in 1,5% der Proben, wenn Brodifacoum in Konzentrationen unter 100 ng/g nachgewiesen wurde (N=67), in 21,9% der Proben, wenn Brodifacoum in Konzentrationen zwischen 100 und 1.000 ng/g vorkam (N=32) und bei Brodifacoum-Konzentrationen über 1.000 ng/g in 66,7% der Proben (N=15). Dieser Trend bestätigte sich auch in den Rattenproben aus dem Herbst 2011. Die Warfarinkonzentration in den Rattenproben korrelierte signifikant

positiv mit der Brodifacoum-Konzentration (Spearman-Rangkorrelation: $N=54$; $R=0,757$; $p<0,001$). Da Warfarin im Herbst 2012 nur sehr selten (unter 1%) auftrat und im Winter 2013 nicht in den Proben zu finden war (Tab. 8), liegt die Vermutung nahe, dass es sich um eine Verunreinigung des Köders handelte.

Tab. 8 Vorkommen zur Rattenbekämpfung nicht angewandter Rodentizidwirkstoffe gemittelt über die Höfe¶Tiere aus allen Fangsessions und Entfernungen; Anteil [%] \pm SD (Brom.=Bromadiolon; Chlor.=Chlorphacinon; Couma.=Coumatetralyl; Difen.=Difenacoum; Difet.=Difethialon; Flocou.=Flocoumafen; Warf.=Warfarin)

	Brom.	Chlor.	Couma.	Difen.	Difet.	Flocou	Warf.
Herbst 2011							
<100ng/g		14,7 \pm 8,9	0,9 \pm 1,5	1,5 \pm 1,5	2,8 \pm 3,1	0,8 \pm 1,4	2,0 \pm 1,8
>100<1.000ng/g		2,8 \pm 1,6		0,5 \pm 0,8	0,3 \pm 0,7		0,9 \pm 2,2
>1.000ng/g							0,3 \pm 0,7
Winter 2012							
<100ng/g	0,3 \pm 0,9	0,4 \pm 1,0	0,4 \pm 1,0			0,2 \pm 0,6	3,3 \pm 3,9
>100<1.000ng/g							0,9 \pm 1,5
>1.000ng/g							
Herbst 2012							
<100ng/g	1,9 \pm 1,7	0,7 \pm 1,6	0,3 \pm 0,8	0,3 \pm 0,8	0,6 \pm 1,1	0,3 \pm 0,8	0,5 \pm 1,6
>100<1.000ng/g				0,3 \pm 0,8			0,3 \pm 0,7
>1.000ng/g							
Winter 2013							
<100ng/g	3,6 \pm 5,1	0,6 \pm 1,8	1,0 \pm 3,0				
>100<1.000ng/g							
>1.000ng/g							

6.2.3 Brodifacoum-Rückstände in Kleinsäugertaxa und Häufigkeit der Taxa in der Schleiereulennahrung

Die Häufigkeit von Brodifacoum-Rückständen in einem Kleinsäugertaxon (aus allen Entfernungen und den Sessions während und nach der Anwendung) wurde dem Vorkommen dieser Taxa in der Schleiereulennahrung gegenübergestellt (Abb. 13). Ein Datenpunkt (Mittelwert über die Höfe) stellt jeweils eine Fangaktion dar. Die Daten aus dem Winter 2013 wurden wegen geringem Fangerfolg nicht einbezogen. Der Wert für den Anteil einer Art an der Schleiereulennahrung ergab sich aus der Nahrungsanalytik der Gewölle, die in den Monaten der Rodentizidanwendung gesammelt wurden (Herbst: Oktober/November; Winter: Februar/März). Es wurden nur Höfe berücksichtigt, auf denen auch eine AR-Anwendung stattfand.

Hausspitzmäuse wiesen häufig AR-Rückstände auf, waren aber nur selten (3-6%) in der Schleiereulennahrung zu finden. Im Gegensatz dazu stellten *Microtus*-Arten den häufigsten Nahrungsbestandteil der Schleiereule dar (33-49%), wiesen aber die geringste Belastung durch Rodentizide auf. Rötelmäuse waren selten (max. 12%) in den Gewölle zu finden, wurden aber bis zu 42% positiv auf Brodifacoum getestet und z.T. kamen in Proben von dieser Art Konzentrationen über 1.000 ng/g vor (siehe vorherigen Abschnitt). Ähnlich verhielt es sich bei *Sorex*-Arten, die etwas häufiger in der Schleiereulennahrung

vertreten waren (max. 19%), aber selten und geringe Brodifacoum-Rückstände aufwiesen (max. 32% und immer <1.000 ng/g). Bei *Apodemus*-Arten hingegen waren bis zu 26% der Individuen mit Brodifacoum mit z.T. hohen Konzentrationen belastet und *Apodemus*-Arten hatten einen hohen Anteil an der Schleiereulennahrung (bis zu 28%).

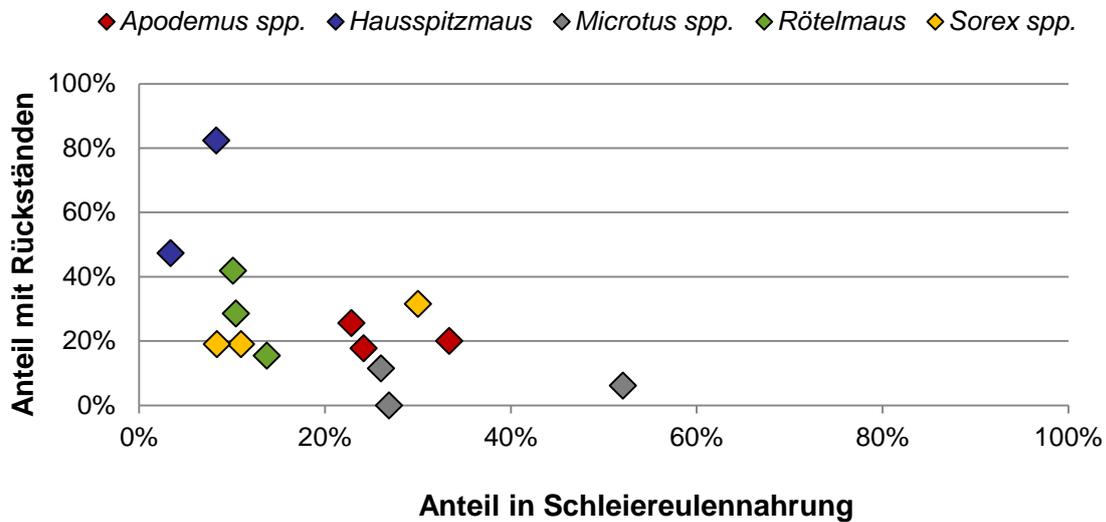


Abb. 13 Gegenüberstellung des Anteils an Individuen mit Brodifacoum-Rückständen bei gefangenen Kleinsäufern im Münsterland und dem Auftreten der entsprechenden Art in der Schleiereulennahrung im gleichen Zeitraum. Dargestellt ist der Zusammenhang pro Art (farbliche Unterscheidung) jeweils für den Herbst 2011, Winter 2012 und den Herbst 2012; y-Achse: Anteil an Individuen mit Brodifacoum-Rückständen; x-Achse: Anteil, den eine Kleinsäugerart in der Schleiereulennahrung ausmacht

6.3 Die Ermittlung der Effekte der saisonalen und jährlichen Variabilität der Nagerdichten auf das Risiko von sekundären Rodentizidrückständen in Prädatoren

6.3.1 Rückstände in Füchsen

Die insgesamt 265 untersuchten Fuchsleberproben stammten aus den Jahren 2012 und 2013. Der Anteil belasteter Individuen pro Landkreis unterschied sich nicht zwischen den Jahren (T-test: 2012: N=9; 2013: N=7; $t=-0,323$; $p=0,751$).

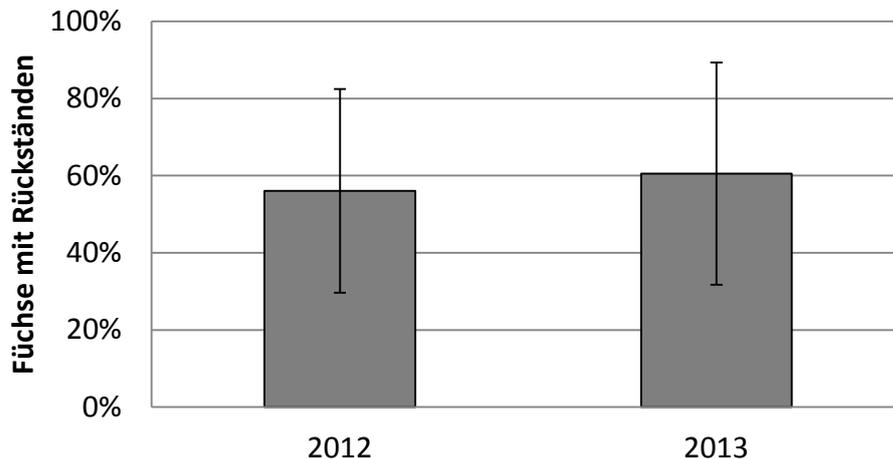


Abb. 14 Füchse mit AR-Rückständen aus dem deutschlandweiten Monitoring aus den Jahren 2012 (9 Landkreise; Massenvermehrung der Feld- und Rötelmaus) und 2013 (7 Landkreise; keine Kleinsäuger-Massenvermehrungen) als Mittelwerte über Landkreise \pm SD

6.3.2 Nahrungsbestandteile in der Schleiereulenbeute

Gewölle wurden für alle Monate zwischen März 2011 und Januar 2013 ausgewertet, bis auf April und Juni 2011, da aus diesen Monaten nicht genügend Gewölle vorhanden waren. Über den angegebenen Zeitraum wurden 1.708 Gewölle gesammelt und die Kleinsäugerzusammensetzung bestimmt. Insgesamt konnten 6.034 Beuteindividuen identifiziert werden.

Microtus-Arten (v.a. Feldmäuse, in geringerem Anteil Erdmäuse) machten insgesamt den größten Anteil der Schleiereulennahrung aus und waren zu allen Jahreszeiten vorhanden (Abb. 15). Besonders hoch war der Anteil von Juli bis Oktober. Im Feldmaus-Massenvermehrungsjahr 2012 erreichte er bis zu 65%, etwa 10% mehr als im Jahr zuvor. Im November 2011 wurden deutlich weniger Feldmäuse in den Gewölle gefunden und im Februar bis April 2012 war der Anteil mit knapp 20% am niedrigsten. *Microtus* Arten wiesen von allen Kleinsäugertaxa am wenigsten Rückstände auf.

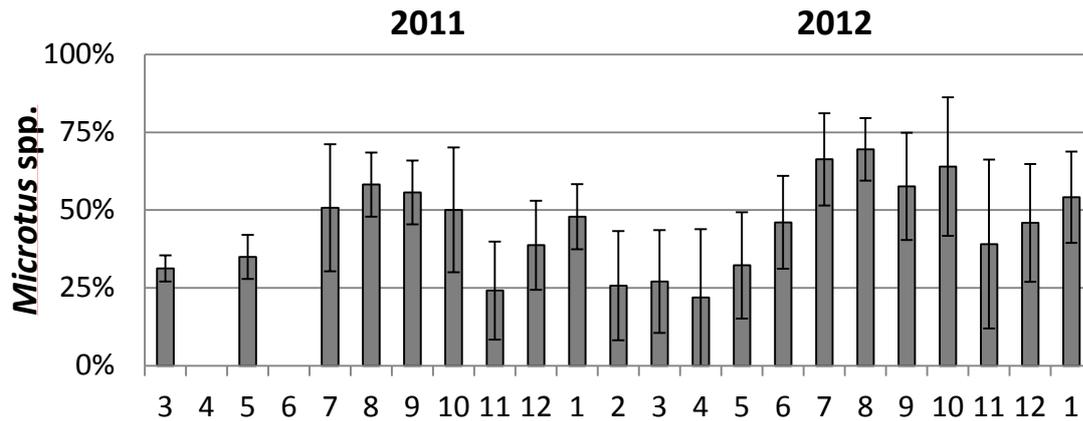


Abb. 15 Anteil von *Microtus*-Arten an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

Apodemus-Arten waren auch in allen Monaten Bestandteil der Schleiereulennahrung (Abb. 16). Ihr Anteil war im Herbst und im Frühjahr am höchsten. Im Jahr 2012 waren die Anteile an der Beute im Frühjahr besonders hoch und der Anteil von Juli bis August besonders gering. In dieser Zeit fanden sich die höchsten Anteile der Feldmaus an der Beute. Von Oktober bis Februar, wenn Ratten vermehrt auf den Höfen bekämpft werden, lag der Anteil an *Apodemus*-Arten bei 10-30%. Im November, als die Anteile an der Schleiereulenbeute mit 20-30% besonders hoch waren, scheint es am wahrscheinlichsten, dass Rodentizide von *Apodemus*-Arten an Schleiereulen weiter gegeben werden könnten.

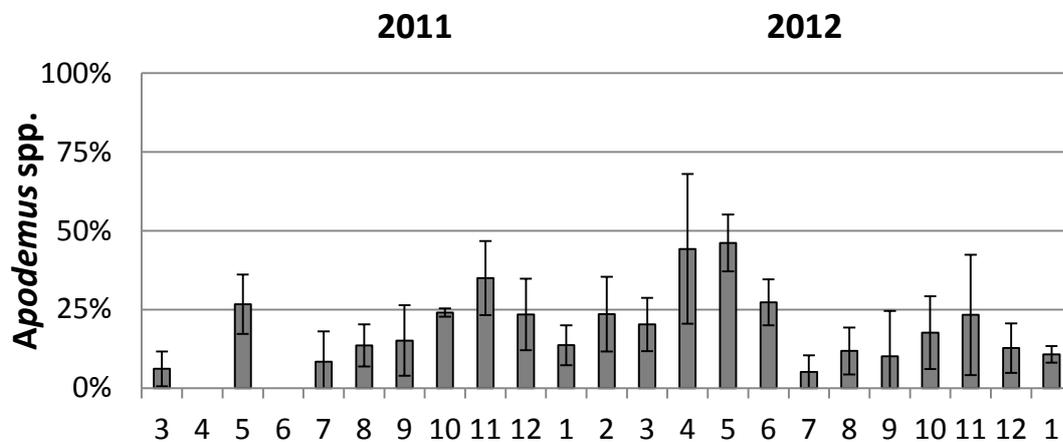


Abb. 16 Anteil von *Apodemus*-Arten (*A. sylvaticus* und *A. flavicollis*) an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

Sorex Arten traten am meisten im späten Winter in der Schleiereulensbeute auf (Abb. 17) und machten 10-50% der Schleiereulennahrung aus.

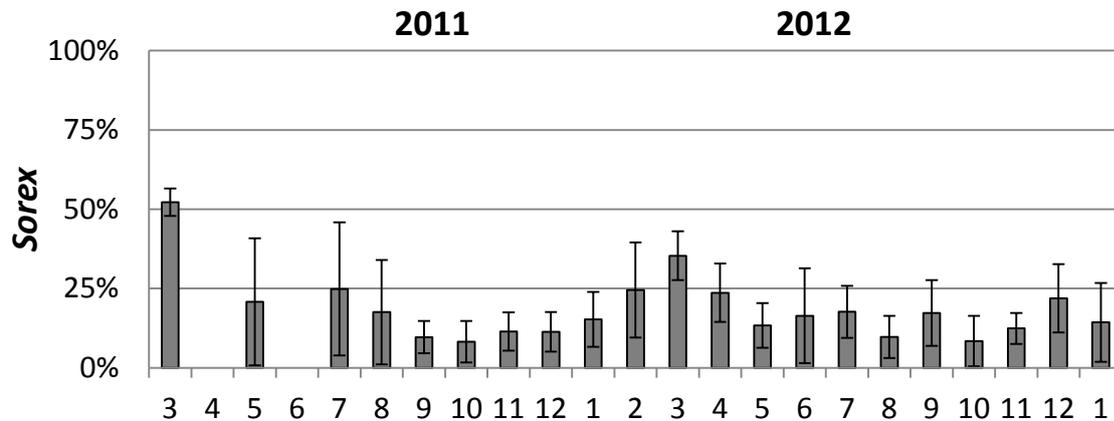


Abb. 17 Anteil von *Sorex*-Arten (*S. araneus*, *S. coronatus* und *S. minutus*) an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

Obwohl bei Rötelmäusen (Abb. 18) 2012 deutschlandweit eine Massenvermehrung auftrat, stieg der Anteil an Rötelmäusen in der Schleiereulennahrung in diesem Zeitraum nicht an. Rötelmäuse machten generell nur 5 bis 15% der Schleiereulennahrung aus und kamen vor allem in den späten Herbst- und Wintermonaten in der Schleiereulensbeute vor (Abb. 18). Der Anteil war im Sommer besonders gering.

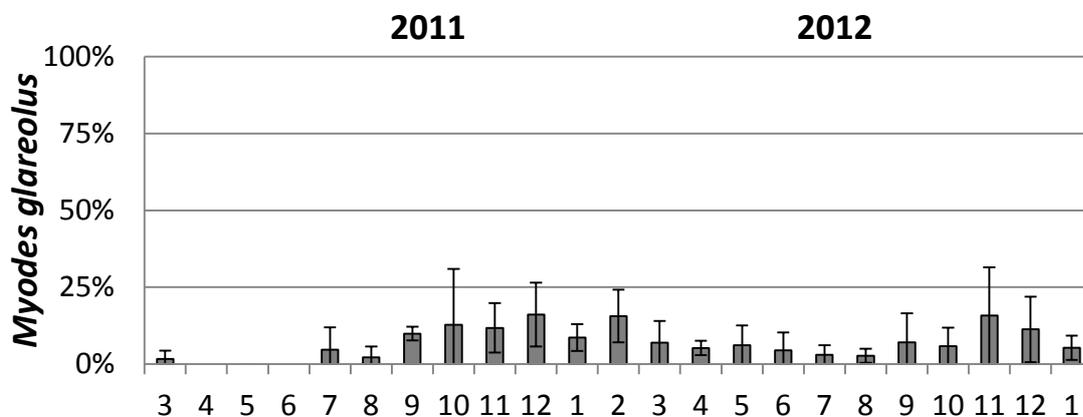


Abb. 18 Anteil von Rötelmäusen an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

Hauspitzmäuse aus dem Hofbereich wiesen z.T. sehr hohe Rückstandskonzentrationen auf, waren aber nur in geringem Umfang in der Schleiereulennahrung vertreten (Abb. 19). Allerdings kamen Spitzmäuse vermehrt in den Monaten (Oktober bis Februar) in den Gewölle vor (5-17%), in denen Ratten vermehrt bekämpft werden.

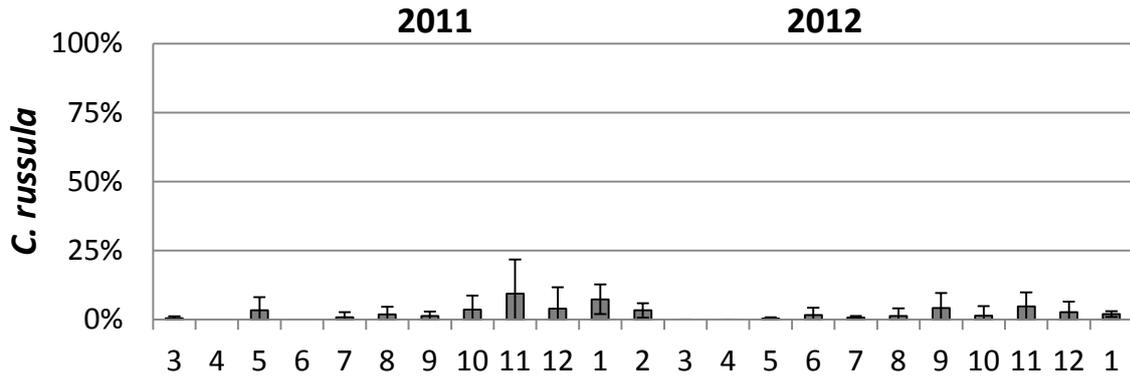


Abb. 19 Anteil von Hausspitzmäusen an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

Zielarten (Wanderratten und Hausmäuse) kamen in der Schleiereulennahrung das ganze Jahr über nur in sehr geringen Anteilen vor (Abb. 20 und Abb. 21). In Gewölle aus den Frühjahrs- und Sommermonaten wurden keine Rattenreste in den Gewölle gefunden, Hausmäuse kamen im Frühjahr nicht vor und machten ansonsten maximal 1,5% der Nahrungszusammensetzung der Schleiereule aus.

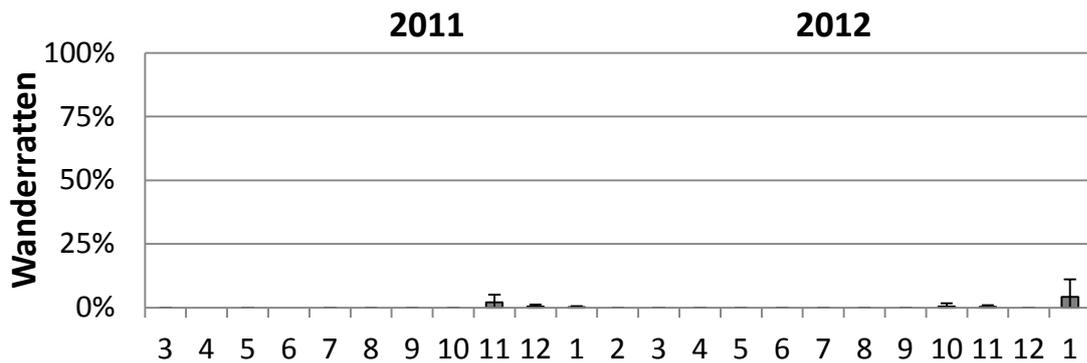


Abb. 20 Anteil von Wanderratten (*R. norvegicus*) an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

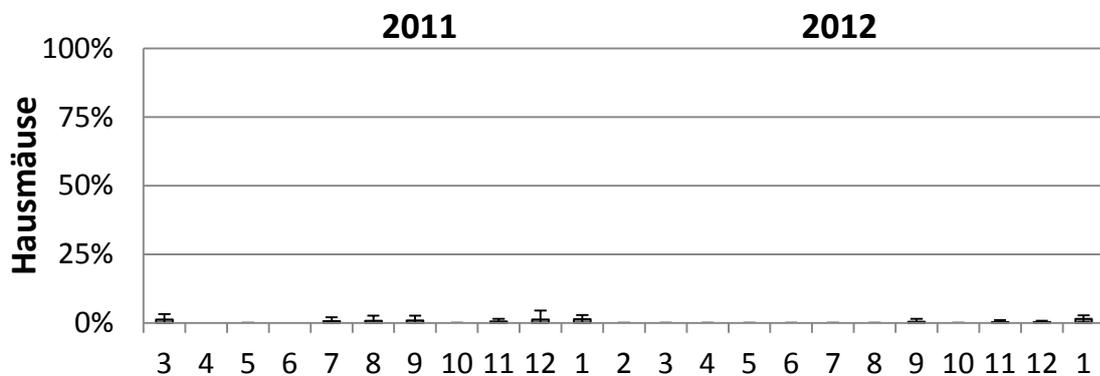


Abb. 21 Anteil von Hausmäusen (*M. musculus*) an der Schleiereulennahrung von März 2011 bis Januar 2013; Mittelwerte \pm SD über 2-7 Höfe im Münsterland, auf denen mehr als 5 Gewölle und mehr als 10 Beuteindividuen pro Monat gefunden wurden

Schlussfolgerungen

61% der deutschlandweit gesammelten Fuchsleberproben waren mit AR belastet. SGARs waren häufiger nachweisbar als FGARs. Dies kann sowohl an der Menge der eingesetzten Mittel als auch an der höheren Persistenz der SGARs liegen. In dieser Untersuchung konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass SGAR-Rückstände in Füchsen mit der GV korreliert sind, so dass von einem Bezug zur SGAR-Anwendungsintensität ausgegangen werden kann. Dies legt auch die Vermutung nahe, dass die Füchse die AR-Wirkstoffe durch den Biozideinsatz im ländlichen Umfeld aufgenommen haben.

AR-Leberkonzentrationen sind hinsichtlich der toxikologischen Effekte schwierig zu interpretieren, weil es kaum gesicherte Erkenntnisse gibt, inwieweit Rückstände der unterschiedlichen AR-Wirkstoffe in den Lebern der verschiedenen Nichtzielarten mit einer biologischen Wirkung korreliert sind (Sage *et al.* 2010). Beispielsweise stehen bei Füchsen, die mit Bromadiolon-vergifteten Nagern gefüttert wurden, die Bromadiolon-Leberkonzentrationen (gemessen 25 Tage nach der Wirkstoffaufnahme) nicht in direktem Zusammenhang mit kritischen Störungen der Blutgerinnung (Sage *et al.* 2010). Auch wenn kein Zusammenhang mit den Bromadiolon-Leberkonzentrationen bestand, traten bei allen Füchsen Blutgerinnungsstörungen auf und 2 Füchse mit äußeren Blutungen mussten mit Vitamin K behandelt werden. Bei diesen Füchsen betrug die Bromadiolon-Leberkonzentrationen 2.110 bzw. 2.540 ng/g (Sage *et al.* 2010). Da die Halbwertszeiten der SGARs in der Leber mehrere hundert Tage betragen (Erickson and Urban 2004), können AR-Leberkonzentrationen lange nach der Wirkstoffaufnahme zum Nachweis von Rückständen dienen.

In Untersuchungen von Totfunden aus dem Freiland wurden AR- Leberkonzentrationen von 800-6.900 ng/g mit AR-Vergiftungen von Füchsen in Zusammenhang gebracht (Berny *et al.* 1997). Der Vergleich mit diesen Untersuchungen legt nahe, dass es sich bei den AR-Rückständen in den von uns untersuchten Füchsen hauptsächlich um subletale Konzentrationen handelte. So traten bei sieben der 265 untersuchten Füchse Bromadiolon-Konzentrationen über 800 ng/g auf, jedoch niemals Rückstände von über 2.000 ng/g.

Der von uns gefundene Median von 52 ng/g Bromadiolon-Leberkonzentration liegt in einem Bereich, in dem ein Effekt des Rückstands auf das Tierwohl unwahrscheinlich ist. Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei den Brodifacoum-Rückständen, wo sechs von 265 untersuchten Füchsen Brodifacoum-Leberkonzentrationen über 800 ng/g (Median=63 ng/g) aufwiesen.

Die Rückstandsanalyse bei tot gefundenen Eulen und Greifvögeln aus Deutschland zeigte, dass einige dieser Tiere mit ARs in Kontakt kamen. Rückstände traten vor allem in Mäusebussarden, Rotmilanen und Schleiereulen auf. Es handelt sich bei diesen drei Arten um Nahrungsspezialisten, die sich hauptsächlich von Kleinsäugern ernähren. Es ist daher naheliegend, dass das Expositionsrisiko solcher Arten höher ist als von Arten, die sich von einem breiteren Nahrungsspektrum ernähren (z.B. Habicht (*Accipiter gentilis*), Turmfalke (*Falco tinnunculus*) und Steinkauz (*Athene noctua*)).

Kritische Leberkonzentrationen von SGARs liegen nach Newton *et al.* (1999) bei minimal ca. 200 ng/g AR-Leberkonzentration (bis 1.720 ng/g in experimenteller Untersuchung an Schleiereulen). Verglichen mit diesen Konzentrationen können die Werte aus unserer Studie, mit einer Ausnahme, ebenfalls als subletal eingestuft werden.

Nichtzielkleinsäuger verschiedener Arten in Hofumgebung konsumierten in Köderboxen ausgelegten Brodifacoum-Köder, so dass es zu Primärvergiftungen kam. Tiere mit Leberkonzentrationen (>1.000 ng/g) des ausgelegten Wirkstoffs Brodifacoum fanden sich regelmäßig, aber fast ausschließlich in dichter Hofumgebung. Auch der Anteil an Individuen mit Rückständen war in dichter Hofumgebung deutlich höher als in weiterer Entfernung. Primärvergiftungen sind demnach sehr eng mit dem direkten Anwendungsort assoziiert und vor allem in diesem Bereich ist das Risiko von Primär- und Sekundärvergiftungen während der Köderanwendung gegeben.

Der Zusammenhang von Leberkonzentrationen und toxikologischen Effekten der Wirkstoffe bei Kleinsäugetieren ist bisher ebenfalls kaum untersucht. LD_{50} Werte für die orale Aufnahme von Brodifacoum liegen bei ca. $0,44$ mg/kg Körpergewicht (Cuthbert *et al.* 2011). Die LD_{50} Werte für *Apodemus*-Arten und Rötelmäuse sind nicht publiziert. LD_{50} -Werte für Wanderratten liegen zwischen $0,42$ und $0,56$ mg/kg (weibliche und männliche Tiere)(EPA 1998). Ratten zeigen nach einmaliger Gabe einer halben LD_{50} nach einem Tag Leberrückstände von 1.107 ng/g (EPA 1998). Überträgt man dies auf Hausmäuse so würden bei einer einmaligen Aufnahme der LD_{50} Dosis Leberkonzentrationen von etwa 2.000 ng/g zu erwarten sein. Subletale Effekte wären schon bei geringeren Konzentrationen zu erwarten, daher haben wir 1.000 ng/g als Schwelle für toxikologisch relevante AR-Leberkonzentrationen gewählt. Dies ist aber nur ein grober Anhaltspunkt, da die Sensibilität der hier untersuchten Arten davon abweichen könnte und zwischen der Leberkonzentration und auftretenden biologischen Effekten kein linearer Zusammenhang bestehen muss.

In einer Studie, in der Rückstände in Kleinsäugetieren nach einer Bromadiolon-Pflanzenschutzanwendung gegen Schermäuse (*Arvicola terrestris*) gemessen wurden, betragen die Bromadiolon-Leberkonzentrationen in Schermäusen ca. 15.000 ng/g und in Feldmäusen ca. 2.500 ng/g (Sage *et al.* 2008). In unserer Studie wurden Individuen gefangen, die Brodifacoum-Leberkonzentrationen über 10.000 ng/g aufwiesen. Diese Tiere hatten wahrscheinlich eine deutlich höhere Menge als die LD_{50} aufgenommen und damit eine letale Dosis konsumiert; auch wenn Bromadiolon und Brodifacoum nicht direkt vergleichbar sind. Der größte Anteil der untersuchten Kleinsäuger trug allerdings AR-Rückstände, die deutlich niedriger als die o.g. Werte und somit vermutlich subletal waren.

Brodifacoum-Rückstände in Leberproben von Tieren, die im Winter vor der Anwendung des Köders gefangen wurden, belegen die bekannte Persistenz des Wirkstoffs Brodifacoum. Rückstände anderer, auf den untersuchten Höfen zur Rattenbekämpfung nicht angewandter Rodentizidwirkstoffe, wurden nur selten gefunden, was die dichte Assoziation von Brodifacoum-Rückständen und Anwendungsort bestätigt.

Individuen mit Brodifacoum-Rückständen über 1.000 ng/g wurden häufiger kurz nach Anwendungsbeginn (während Session) gefunden und weniger nach Anwendungsende. Bei Anwendungsende war der Anteil an Tieren mit AR-Konzentrationen unter 100 ng/g höher. Es ist zu vermuten, dass zu diesem Zeitpunkt die ursprünglich hoch belasteten Individuen bereits verendet waren, so dass nach Beendigung der Bekämpfung das Risiko für Sekundärvergiftungen gering war. Eine Schädnerbekämpfung sollte daher schnell und effektiv erfolgen, um den Expositionszeitraum mit erhöhtem Risiko für Nichtzielarten möglichst kurz zu halten.

Brodifacoum-Rückstände konnten in allen untersuchten Arten nachgewiesen werden. Besonders betroffen waren neben den Nagetierarten (Waldmäuse und Rötelmäuse) auch Hausspitzmäuse, obwohl diese Art als insektivor gilt. Auch andere Spitzmausarten wiesen Rückstände des ausgebrachten Rodentizids auf, allerdings in geringeren Konzentrationen als die zuvor genannten Arten.

Apodemus-Arten waren regelmäßig in den Gewöllen von Schleiereulen zu finden. Der Expositionsweg für die Sekundärvergiftung von Schleiereulen während einer Brodifacoum-Anwendung auf Bauernhöfen über *Apodemus*-Arten scheint daher am wahrscheinlichsten. *Microtus*-Arten, die besonders häufig von der Schleiereule erbeutet wurden, waren selten belastet und dürften deshalb höchstens über die Akkumulation über einen langen Zeitraum als Expositionspfad fungieren.

Feldmäuse kamen in der Schleiereulennahrung im Juli und August 2012 etwa um 10% häufiger vor als im Vorjahr. Das Risiko einer sekundären Belastung von Schleiereulen sollte mit dem Anstieg an Feldmäusen in der Nahrung sinken, weil Feldmäuse kaum AR-Rückstände trugen. Da der Feldmausanteil in der Schleiereulennahrung in NRW im Feldmaus-Massenvermehrungsjahr 2012 aber nur gering anstieg, schien in diesem Fall allerdings das Risiko einer AR-Aufnahme durch Eulen nicht wesentlich vermindert gewesen zu sein. In anderen Bundesländern mit höheren Feldmaus-Populationsdichten könnten diesbezüglich deutlichere Effekte auftreten. Auch die Rötelmaus-Massenvermehrung im gleichen Jahr spiegelte sich nicht in der Schleiereulennahrung im Münsterland wider. Generell war ihr Anteil in der Schleiereulennahrung gering. Rötelmäuse scheinen für die Schleiereule eher eine untergeordnete Rolle zu spielen und stellen somit eher ein geringes Risiko einer AR-Aufnahme durch Eulen dar. Da Hausspitzmäuse nur selten in Gewöllen gefunden wurden und *Sorex*-Arten nur Rückstandskonzentrationen unter 1.000 ng/g aufwiesen, scheint das Gefährdungspotenzial durch diese Arten eher gering.

Generell zeigte sich, dass saisonale Schwankungen in der Beutezusammensetzung von Schleiereulen auftraten. Der Feldmausanteil war in den Sommermonaten besonders hoch. Das Risiko für die Schleiereule, in diesen Monaten AR aufzunehmen, scheint daher gering. Da aber in den späten Herbstmonaten und im Winter der Anteil an Waldnagern in der Schleiereulennahrung stieg, könnte sich dadurch die AR-Exposition erhöhen, weil manche Waldnager in diesem Zeitraum häufigere und höhere AR-Rückstände aufwiesen als Feldmäuse.

Anhand von Leberproben eine abschließende Einschätzung biologischer Effekte von AR-Wirkstoffrückständen auf biologische Effekte bei Individuen oder gar ökologische Effekte auf Populationen abzuleiten, war nicht Ziel dieses Vorhabens. Mit dem bestehenden Kenntnisstand ist das auch nicht möglich, weil die erforderlichen Informationen zum Zusammenhang LD₅₀ - Leberkonzentration - Wirkung für die wenigsten AR-Wirkstoffe und Ziel-/Nichtzielarten bekannt sind.

Die Erkenntnisse aus diesem Projekt stellen eine wichtige Grundlage für die Beurteilung von Risiken bei der Anwendung von ARs und der Betrachtung von Risikominimierungs-Strategien dar.

7 Projektbezogene Publikationen

Broll A., Esther A., Schenke D., Jacob J. (2013) Residues of anticoagulant rodenticides in small non-target mammals and foxes in Germany. In Huitu, O. & Henttonen, H. (eds). The 9th European Vertebrate Pest Management Conference – Abstracts. Seite 19.

Broll A., Esther A., Schenke D., Jacob J. (2013) Rückstände von antikoagulanten Rodentiziden in Nichtzielarten. Jahrestagung Fachausschuss Rodentizidresistenz, 28. February 2013, Münster

Schenke D., Broll A., Esther A., Jacob J., Schmolz E. (2013) Analysis of anticoagulant rodenticides in liver using solid supported liquid extraction and LC-ESI/MS/MS. 23rd Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC Europe), 12-16 May 2013, Glasgow, Scotland

Broll A., Esther A., Schenke D., Jacob J. (2012) Rodenticide residues in non-target small mammal species and their occurrence in owl pellets. Berichte aus dem Julius Kühn-Institut 167: 26

Broll A., Esther A., Schenke D., Schmolz E., Jacob J. (2012) Anticoagulant rodenticides in non-target biota in Germany: residues in non-target small mammals. Workshop Environmental monitoring in biocides in Europe – from prioritisation to measurements, 5-6 November 2012, Berlin, Germany, Abstracts: 20

Broll A., Jacob J., Schenke D., Esther A. (2012) Rattengift in der Nahrungskette – besteht ein Risiko für Eulen und Greifvögel?, Seminar Schutz für Falke, Milan, Bussard und Co. - Greifvogelvergiftungen erkennen und bekämpfen, Akademie für Natur- und Umweltschutz Baden-Württemberg, 18./19. April 2012, Mössingen

Broll A., Esther A., Schenke D., Jacob J. (2012) Antikoagulante Rodentizide in Nicht-Zielarten, Jahrestagung Fachausschuss Rodentizidresistenz, 22. März 2012, Münster

Broll A., Esther A., Schenke D., Jacob J. (2011) Anticoagulant rodenticides: exposure and residues in non-target species. Julius-Kühn-Archiv 432: 145.

Broll A., Jacob J., Schenke D., Esther A. (2011) Rückstände antikoagulanter Rodentizide in Nicht-Zielarten. 144. Jahresversammlung der Deutschen Ornithologen-Gesellschaft, 29. September-4. Oktober, Potsdam, Tagungsband: 103

Broll A., Jacob J., Schenke D., Esther A. (2011) Exposure to anticoagulant rodenticides and residues in non-target species. 41st Annual Conference of GFÖ, 5-9 September 2011, Oldenburg, Book of Abstracts: 256-257

Broll A., Esther A., Jacob J., Schenke D. (2011) Rückstände von antikoagulanten Rodentiziden in Nicht-Zielarten: Projektvorstellung, Expertenworkshop Feldmäuse in der Agrarlandschaft, 4. Mai 2011, Bernburg

Broll A., Esther A., Jacob J., Schenke D. (2011) Rückstände von als Rodentizid ausgebrachten Antikoagulanzen in wildlebender Biota, Jahrestagung Fachausschuss Rodentizidresistenz, 2. März 2011, Münster

Broll A., Esther A., Jacob J., Schenke D. (2011) Rückstände von als Rodentizid ausgebrachten Antikoagulanzen in wildlebender Biota, Fachtagung Gefährdung und Schutz des Steinkauzes in Deutschland, 26.-27. März 2011, Metelen

Esther A., Jacob J., Schenke D. (2011) Rodentizidrückstände in Nicht-Zielarten.
Eulenrundblick, Band 61, Seite 120

Esther A., Jacob J., Schenke D. (2010) Rodentizidrückstände in Nicht-Zielarten. 7.
Internationales Symposium Populationsökologie von Greifvogel-und Eulenarten, 21-24
Oktober 2010, Halberstadt

8 Quellenverzeichnis

- Albert, C. A., L. K. Wilson, P. Mineau, S. Trudeau and J. E. Elliott (2010). "Anticoagulant rodenticides in three owl species from Western Canada, 1988-2003." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58(2): 451-459.
- Berny, P. J., T. Buronfosse, F. Buronfosse, F. Lamarque and G. Lorgue (1997). "Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone, a 4-year survey." *Chemosphere* 35(8): 1817-1829.
- Bontzorlos, V. A., S. J. Peris, C. G. Vlachos and D. E. Bakaloudis (2005). "The diet of barn owl in the agricultural landscapes of central Greece." *Folia Zoologica, International Journal of Vertebrate Zoology*.
- Brakes, C. R. and R. H. Smith (2005). "Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning." *Journal of Applied Ecology* 42(1): 118-128.
- Bryja, J., J. Nesvadbova, M. Heroldova, E. Janova, J. Losik, L. Trebaticka and E. Tkadlec (2005). "Common vole (*Microtus arvalis*) population sex ratio: biases and process variation." *Canadian Journal of Zoology* 83: 1391-1399.
- Burn, A. J., I. Carter and R. F. Shore (2002). "The threats to birds of prey in the UK from second-generation rodenticides." *Aspects of Applied Biology*(67), 203-212.
- Campbell, R. W., D. A. Manuwal and A. S. Harestad (1987). "Food habits of the Common Barn-Owl in British Columbia." *Canadian Journal of Zoology* 65(3): 578-586.
- Christensen, T. K., P. Lassen and M. Elmeros (2012). "High exposure rates of anticoagulant rodenticides in predatory bird species in intensively managed landscapes in Denmark." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 63(3): 437-444.
- Coeurdassier, M., C. Poirson, J. P. Paul, D. Rieffel, D. Michelat, D. Reymond, P. Legay, P. Giraudoux and R. Scheifler (2012). "The diet of migrant Red Kites *Milvus milvus* during a Water Vole *Arvicola terrestris* outbreak in eastern France and the associated risk of secondary poisoning by the rodenticide bromadiolone." *Ibis* 154(1): 136-146.
- Cox, P. R. and R. H. Smith (1990). "Rodenticide ecotoxicology: Assessing non target population effects." *Functional Ecology* 4: 315-320.
- Cuthbert, R. J., P. Visser, H. Louw and P. G. Ryan (2011). "Palatability and efficacy of rodent baits for eradicating house mice (*Mus musculus*) from Gough Island, Tristan da Cunha." *Wildlife Research* 38(3): 196-203.
- Dowding, J. E., E. C. Murphy and C. R. Veitch (1999). "Brodifacoum residues in target and non-target species following an aerial poisoning operation on Motuihe Island, Hauraki Gulf, New Zealand." *New Zealand Journal of Ecology* 23(2): 207-214.
- Eadsforth, C. V., A. Gray and E. G. Harrison (1996). "Monitoring the exposure of barn owls to second-generation rodenticides in Southern Eire." *Pesticide Science* 47: 225-233.
- Eason, C. T., E. C. Murphy, G. R. G. Wright and E. B. Spurr (2002). "Assessment of risks of brodifacoum to non-target birds and mammals in New Zealand." *Ecotoxicology* 11(1): 35-48.
- EPA (1998). "Reregistration Eligibility Decision (RED): Rodenticide Cluster." EPA738-R-98-007.

- Erickson, W. and D. Urban (2004). "Potential risks of nine rodenticides to birds and nontarget mammals: a comparative approach." United States Environmental Protection Agency: 1-225.
- Fisher, P., C. T. Eason, C. E. O'Connor, C. H. Lee, G. B. Smith and S. Endepols (2003). Coumatetralyl residues in rats and hazard to barn owls. Rats, mice and people: rodent biology and management. G. R. Singleton, L. A. Hinds, C. J. Krebs and D. M. Spratt. Canberra, Australian Centre for International Agricultural Research: 457-460.
- Fisher, P., C. O'Connor, G. Wright and C. T. Eason (2003). "Persistence of four anticoagulant rodenticides in the livers of laboratory rats." Department of Conversation 139: 5-18.
- Fournier-Chambrillon, C., P. J. Berny, O. Coiffier, P. Barbedienne, B. Dasse, G. Delas, H. Galineau, A. Mazet, P. Pouzenc, R. Rosoux and P. Fournier (2004). "Evidence of secondary poisoning of free-ranging riparian mustelids by anticoagulant rodenticides in France: Implications for conservation of European mink (*Mustela lutreola*)." Journal of Wildlife Diseases 40(4): 688-695.
- Gemmeke, H. (1996). "Gefahren für Eulen durch vergiftete Ratten und Mäuse (Risikoabschätzung) Hazard of poisoned rats and mice to owls (risk assessment)." Populationsökologie Greifvogel- und Eulenarten 3: 337-342.
- GENESIS-Online Datenbank des Statistischen Bundesamtes, Deutschland, Erhebung von 01.03.2013; letzter Aufruf: 15.11.2013
<https://www.regionalstatistik.de/genesis/online/data;jsessionid=5D90C08BFF43716CA0CE62E1B9F289E1?operation=abruftabelleAbrufen&selectionname=116-33-4&levelindex=1&levelid=1385122675975&index=3>
- Görner, M. (1979). "Zur Verbreitung der Kleinsäuger im Südwesten der DDR auf der Grundlage von Gewölleanalysen der Schleiereule (*Tyto alba* SCOP.)." Zoologische Jahrbücher Systematik 106: 429-470.
- Gratz, N. G. (1973). "A critical review of currently used single-dose rodenticides." Bull World Health Organ 48(4): 469-477.
- Gray, A., C. V. Eadsforth, A. J. Duttan and J. A. Vaughan (1994). "The toxicity of three second-generation rodenticides to barn owls." Pesticide Science 42: 179-184.
- Hughes, J., E. Sharp, M. J. Taylor, L. Melton and G. Hartley (2013). "Monitoring agricultural rodenticide use and secondary exposure of raptors in Scotland." Ecotoxicology 22(6): 974-984.
- Jacob, J. and E. Tkadlec (2010). Rodent outbreaks in Europe: dynamics and damage. Rodent outbreaks – Ecology and impacts. G. R. Singleton, S. Belmain, P. R. Brown and B. Hardy. Los Baños, Philippines, International Rice Research Institute: 207-223.
- Jenrich, J., P. W. Löhner and F. Müller (2010). Bildbestimmungsschlüssel für Kleinsäugerschädel aus Gewöllen. Fulda, Michael Imhof Verlag.
- Langenbach, A. A. (1982). "Die Beute der Schleiereule." Falke 29(6): 193-196, 209.
- Maroni, M., C. Colosio, A. Ferioli and A. Fait (2000). "Coumarin rodenticides." Toxicology 143(1): 91-95.
- McDonald, R. A., S. Harris, G. Turnbull, P. Brown and M. Fletcher (1998). "Anticoagulant rodenticides in stoats (*Mustela erminea*) and weasels (*Mustela nivalis*) in England." Environmental Pollution 103(1): 17-23.

- Murray, M. (2011). "Anticoagulant rodenticide exposure and toxicosis in four species of birds of prey presented to a wildlife clinic in Massachusetts, 2006-2010." *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 42(1): 88-97.
- Newton, I., R. Shore, I. Wyllie, J. Birks and L. Dale (1999). "Empirical evidence of side-effects of rodenticides on some predatory birds and mammals." *Advances in Vertebrate Pest Management* 1: 347.
- Newton, I., I. Wyllie and L. Dale (1997). "Mortality causes in British Barn Owls (*Tyto alba*), based on 1,101 carcasses examined during 1963-1996." USDA Forest Service 1997 General Technical Report NC-190 Biology and Conservation of Owls of the Northern Hemisphere Second International Symposium February 5-9, 1997 Winnipeg, Manitoba, Canada: 299-307.
- Newton, I., I. Wyllie and P. Freestone (1990). "Rodenticides in British barn owls." *Environmental Pollution* 68: 101-117.
- Pelz, H. J. (2006). *Rodentizidresistenz: Verbreitung und Management. Schädlingsbekämpfung - weiterhin möglich? Wie viel Biozid braucht der Mensch?* Umweltbundesamt. Dessau, Umweltbundesamt-Texte 22. UBA Texte 22: 155-164.
- Roulin, A. (2002). "*Tyto alba* Barn Owl." *BWP Update* 4(2): 115-138.
- Sage, M., M. Coeurdassier, R. Defaut, F. Gimbert, P. Berny and P. Giraudoux (2008). "Kinetics of bromadiolone in rodent populations and implications for predators after field control of the water vole, *Arvicola terrestris*." *Science of the Total Environment* 407: 211-222.
- Sage, M., I. Fourel, M. Coeurdassier, J. Barrat, P. Berny and P. Giraudoux (2010). "Determination of bromadiolone residues in fox faeces by LC/ESI-MS in relationship with toxicological data and clinical signs after repeated exposure." *Environmental Research* 110(7): 664-674.
- SANCO (2009). "Report from the joint working group on the guidance document on risk assessment for birds & mammals." SANCO 10997/2009 Joint Working Group Report: 1-6.
- Selas, V., E. Framstad and T. K. Spidso (2002). "Effects of seed masting of bilberry, oak and spruce on sympatric populations of bank vole (*Clethrionomys glareolus*) and wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) in southern Norway." *Journal of Zoology* 258: 459-468.
- Shore, R. F., J. D. S. Birks, A. Afsar, C. L. Wienburg and A. C. Kitchener (2003). "Spatial and temporal analysis of second-generation anticoagulant rodenticide residues in polecats (*Mustela putorius*) from throughout their range in Britain, 1992-1999." *Environmental Pollution* 122(2): 183-193.
- Smith, D. G., C. R. Wilson and H. H. Frost (1972). "Seasonal food habits of barn owls in Utah." *Great Basin Naturalist* 32(4): 229-234.
- Spurr, E. B., M. J. Maitland, G. E. Taylor, G. R. G. Wright, C. D. Radford and L. E. Brown (2005). "Residues of brodifacoum and other anticoagulant pesticides in target and non-target species, Nelson Lakes National Park, New Zealand 7." *New Zealand Journal of Zoology* 32(4): 237-249.
- Spurr, E. B., C. E. O'Connor, G. A. Morriss and P. Fisher (2005). "Bait station preferences of Norway rats." *DOC Research and Development Series* 255: 1-18.

- Thijssen, H. H. W. (1995). "Warfarin-based rodenticides - mode of action and mechanism of resistance." *Pesticide Science* 43(1): 73-78.
- Thomas, P. J., P. Mineau, R. F. Shore, L. Champoux, P. A. Martin, L. K. Wilson, G. Fitzgerald and J. E. Elliott (2011). "Second generation anticoagulant rodenticides in predatory birds: Probabilistic characterisation of toxic liver concentrations and implications for predatory bird populations in Canada." *Environment International* 37(5): 914-920.
- Tosh, D. G., R. A. McDonald, S. Bearhop, N. R. Llewellyn, W. I. Montgomery and R. F. Shore (2012). "Rodenticide exposure in wood mouse and house mouse populations on farms and potential secondary risk to predators." *Ecotoxicology* 21(5): 1325-1332.
- Tosh, D. G., R. A. McDonald, S. Bearhop, N. R. Llewellyn, S. Fee, E. A. Sharp, E. A. Barnett and R. F. Shore (2011). "Does small mammal prey guild affect the exposure of predators to anticoagulant rodenticides?" *Environmental Pollution* 159(10): 3106-3112.
- Valchev, I., R. Binev, V. Yordanova and Y. Nikolov (2008). "Anticoagulant rodenticide intoxication in animals - a review." *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 32(4): 237-243.