

Tagungsbeitrag zu: Gemeinsame Sitzung  
Kommission III DBG und Fachgruppe 4  
Bundesverband Boden  
Titel der Tagung: Boden und Standortquali-  
tät – Bioindikation mit Regenwürmern  
Veranstalter: DBG, BVB, Fachhochschule  
Osnabrück  
Termin und Ort: 25.-26. Februar 2010, Os-  
nabrück  
Berichte der DBG (nicht begutachtete onli-  
ne Publikation)  
<http://www.dbges.de>

## Regenwurmtests in der Ökotoxikologie

Kerstin Hund-Rinke<sup>1</sup>

### Zusammenfassung

Zur Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden haben sich unter anderem Regenwurmtests etabliert. Dabei stehen drei Testsysteme mit den Endpunkten Mortalität, Reproduktion und Fluchtverhalten zur Verfügung. Alle Verfahren sind mittlerweile als genormte Methodenvorschrift verfügbar. Darüber hinaus werden zahlreiche Biomarker berichtet, die jedoch für die Bodenbeurteilung bislang noch nicht ausreichend validiert sind.

**Schlüsselworte:** Bodenbewertung, Regenwürmer, ökotoxikologische Testsysteme

### Einleitung

Zur Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden wurden ökotoxikologische Testsysteme weiterentwickelt, die ursprünglich für die Erfassung intrinsischer Stoffeigenschaften etabliert wurden. Bei einem der Testorganismen handelt es sich um den Kompostwurm *Eisenia fetida* bzw. *Eisenia andrei*. Verschiedene Testsysteme mit unterschiedlichen Endpunkten stehen zur Verfügung, die im Folgenden vorgestellt werden und deren Empfindlichkeit aufgezeigt wird. Ferner wird auf Besonderheiten bei der Bodenbeurteilung eingegan-

gen. Darüber hinaus wird der Aspekt der Bioverfügbarkeit der Schadstoffe beleuchtet und Beispiele aus der Praxis vorgestellt. Zuletzt wird noch kurz auf weitere potentielle Endpunkte eingegangen, die bislang für die Bodenbeurteilung jedoch noch nicht routinemäßig einsetzbar sind.

### Standardisierte Testsysteme mit Regenwürmern in der Bodenbeurteilung

Im Gegensatz zu Monitoring-Untersuchungen im Freiland wird bei den ökotoxikologischen Testsystemen, die im Labor durchgeführt werden, auf Tiere aus Laborzuchten zurückgegriffen. Es wird hierbei der Kompostwurm *Eisenia fetida* bzw. *Eisenia andrei* verwendet. Um Informationen darüber zu erhalten, ob die Lebensraumfunktion von Böden durch das Vorliegen von Schadstoffen eingeschränkt ist, werden diese Tiere in die zu beurteilenden Böden eingesetzt und ihre Reaktion detektiert. Ein Rückschluss von dem Gesamtgehalt an Schadstoffen auf eine potentielle Schädigung ist in der Regel nicht möglich, da aus dem Gesamtgehalt keine Informationen zu der Verfügbarkeit der Schadstoffe möglich ist, die für das Auftreten von Effekten jedoch entscheidend ist. In Abhängigkeit der chemisch-physikalischen Bodeneigenschaften und dem Schadstoffspektrum im Boden kann eine große Diskrepanz zwischen beiden Parametern liegen. Darüber hinaus spielt das Alter der Kontamination eine entscheidende Rolle. Während bei einem frischen Schadensfall die Schadstoffe weitestgehend verfügbar sind, nimmt der verfügbare Anteil mit zunehmender Dauer der Kontamination infolge von Festlegung und Abbau leicht abbaubarer Anteile ab. Dadurch steigt die Diskrepanz zwischen Gesamtgehalten und verfügbaren Anteilen. Hier können ökotoxikologische Testsysteme eine entscheidende Zusatzinformation liefern.

Drei standardisierte Testsysteme stehen zur Verfügung:

#### Mortalitätstest:

- Richtlinie OECD 208 bzw. DIN ISO 11268-1
- Testparameter: Überlebensrate

<sup>1</sup> Dr. Kerstin Hund-Rinke, Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie, Auf dem Aberg 1, 57392 Schmallenberg.

- Testdauer: 14 d
- Reproduktionstest
- Richtlinie OECD 222 bzw. DIN ISO 11268-2
  - Testparameter: Anzahl der Nachkommen
  - Testdauer: 56 d
- Verhaltenstest
- Richtlinie DIN ISO 17512-1
  - Testparameter: Fluchtverhalten
  - Testdauer: 2 d

Naturgemäß weist der Mortalitätstest die geringste Empfindlichkeit auf, da es sich hierbei um die größtmögliche Schädigung handelt, die ein Organismus erfahren kann. Die Sensitivität des Fluchtverhaltens ist häufig im Bereich der Empfindlichkeit des Reproduktionstests oder sogar darüber. Die Sensitivität dieses Verhaltensparameters macht deutlich, dass Regenwürmer über gut ausgeprägte Sensoren verfügen, mit denen anorganische und organische Schadstoffe wahrgenommen werden und die Würmer diesen ausweichen können.

Während bei der Chemikalienbeurteilung Substanzen zum Boden in definierten Konzentrationen zugesetzt werden und somit auch eine identische, unbelastete Kontrollprobe als Bezugsgröße zur Verfügung steht, ist dies bei der Beurteilung des Bodenzustandes nicht der Fall. Häufig liegt keine Bodenprobe mit vergleichbaren chemisch-physikalischen Eigenschaften aber ohne Kontamination vor. In diesen Fällen wird empfohlen, einen Boden mit höherem Sandanteil (ca. 70 %) als Bezugsgröße heranzuziehen. Für die Bewertung von Bodenproben wurden für jedes Testsystem Schwellenwerte festgelegt, die eine eingeschränkte Lebensraumfunktion anzeigen. Für Regenwürmer gilt beispielsweise eine Mortalitätsrate von > 20 %, eine Reproduktionsrate von < 50 % bzw. ein Fluchtverhalten von > 80 % als Indikator im Vergleich zu einem unbelasteten Bezugsboden für eine Einschränkung der Lebensraumfunktion.

Ein Beispiel für eine Beurteilung von Böden zeigt Tabelle 1.

**Tabelle 1: Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden für Regenwürmer mit verschiedenen Testsystemen**

| Böden                                           | Mortalität | Reproduktion | Fluchtverhalten |
|-------------------------------------------------|------------|--------------|-----------------|
| L 1 (Belastung mit 11 g/kg MKW, Ni, Zn, Cu, Cr) | -          | +            | +               |
| L 2 (MKW: 5 g /kg MKW)                          | -          | +            | +               |
| I 1 (MKW-Belastung: 2 g/kg)                     | -          | +            | +               |
| I 2 (MKW-Belastung: 0,8 g/kg)                   | -          | -            | +               |
| G 1 (PAK-Belastung: 2,2 g/kg)                   | +          | +            | +               |
| G 2 (PAK-Belastung: 1,1 g/kg)                   | -          | -            | +               |

Neben der Erfassung des bioverfügbaren Anteils über ökotoxikologische Testsysteme werden auch Ansätze zur Erfassung des verfügbaren Anteils über spezifische Extraktionsverfahren und chemische Analytik verfolgt. Als Vorteil wird der in der Regel geringere Zeit- und Arbeitsaufwand angeführt. Noch wurde die Spezifität für einzelne Schadstoffgruppen jedoch nicht gelöst. Ferner sind die einzelnen Expositionspfade der Organismen zu berücksichtigen. Für Regenwürmer bedeutet dies, dass der Expositionspfad über das Bodenporenwasser, der als der dominante sowohl für organische als auch für anorganische Schadstoffe angesehen wird, simuliert werden muss. Welche Rolle dabei speziell dem gelösten organischen Material (DOM) zukommt, ist noch nicht geklärt. Darüber hinaus werden mit dieser gezielten chemischen Analytik wiederum nur einzelne Schadstoffe erfasst. Der Vorteil der Biotests - die Erfassung aller toxischen Substanzen einschließlich deren Metabolite - kann damit nicht abgedeckt werden.

### *Biomarker*

In der Literatur werden auch weitere Endpunkte beschrieben, mit denen eine Schädigung der Lebensraumfunktion beschrieben wird. Hierbei handelt es sich um Biomarker, wie beispielsweise Enzymaktivitäten, molekulare Veränderungen, die lyso-

somale Enzymstabilität oder immunologische Reaktionen. Svendsen et al. (2004) führen Kriterien auf, anhand derer die Eignung von Biomarkern bei der Bodenbewertung beurteilt werden können. Dabei werden Parameter wie die ökologische Relevanz des Indikators, das Auftreten von Konzentrations-Wirkungsbeziehungen, die Spezifität für Schadstoffe sowie Störfaktoren (z.B. Alter, Gewicht, pH, Nährstoffangebot) genannt. Ein wichtiges Kriterium für die Anwendung von Biomarkern im Rahmen der Bodenbewertung ist darüber hinaus auch der Beurteilungsmaßstab für die Ergebnisse. Es gilt zu definieren, ab wann eine Abweichung eine Einschränkung in der Lebensraumfunktion anzeigt. Hier ist noch umfangreicher Forschungsbedarf gegeben. So schließen van Gestel et al. (2009) in einer umfassenden Studie zum Vergleich von Biomarkeruntersuchungen (Neutralrot-Test) in Labortests und Freilandhebungen bei Regenwürmern *"Effects at the biochemical level therefore did not result in a reduced functioning of earthworm communities."*

Somit gilt bislang immer noch, dass die "klassischen" standardisierten Testsysteme zur Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden über ökotoxikologische Untersuchungen in Laborexperimenten gegenüber Biomarkeruntersuchungen zu bevorzugen sind.

Svendsen C., Spurgeon D.J., Hankard PIK., Weeks J.M. (2004): A review of lysosomal membrane stability measured by neutral red retention: is it a workable earthworm biomarker? *Ecotox. & Environ. Safety* 57, 20-29.

Van Gestel C.A.M., Koolhaas, J.E., Hamers T., van Hoppe M., van Rooy M., Korsman C. Reinecke S.A. (2009): Effects of metal pollution on earthworm communities in a contaminated foodplain area: linking biomarker, community and functional responses: *Environ.Poll.* 157, 895-903.