

Thomas Strumpf¹, Jörn Strassemeyer², Peter Horney², Nadine Herwig¹, Ursula Stendel¹

Kupferverfügbarkeiten in Sonderkulturen – eine einfache Erstabschätzung des Leaching-Alterungsfaktors am Beispiel Qualitätsweinbau

Copper availability in specialty crops – a simple preliminary assessment of leaching-aging factor on the example quality viticulture

Zusammenfassung

Im Vorfeld von Zulassungsentscheidungen ist den Zulassungsbehörden Datenmaterial über die Ursachen und Auswirkungen von Kupferfestlegungen durch chemische Alterungsprozesse auf langjährig bewirtschafteten Sonderkulturflächen bereit zu stellen.

Auf der Grundlage bisher durchgeführter Freilanduntersuchungen der Regenwurmzönose bei 24 ausgewählten Weinbaubetrieben wurde mit einfachen Regressionsansätzen geprüft, ob durch Verknüpfung von schutzzielbezogenen Kupferverfügbarkeiten mit den Auswirkungen auf biologische Parameter ein Leaching-Alterungsfaktor abgeleitet werden kann.

Mit diesem Korrekturfaktor können voraussagbare Umweltkonzentrationen (PEC_{soil}) resp. PNECs bei ökologisch und/oder konventionell bewirtschafteten Böden berechnet werden. Mit dem vorliegenden Stichprobenumfang ($n = 78$) kann abgeschätzt werden, mit welcher Faktorengröße die im Qualitätsweinbau existierenden Kupferverfügbarkeiten realitätsnah abgebildet werden können.

Stichwörter: Kupfer, Weinbauböden, Belastung, Alterung der Kupferrückstände, Exposition, Erhebungen der Regenwurmzönose, Verfügbarkeit für Bodenorganismen, Biokonzentrationsfaktor, Pfad Boden/Bodenorganismen, freiwillige Risikoabschätzung, Leaching-Alterungsfaktor

Abstract

Previous to regulatory decisions data on the causes and effects of copper needs to be provided to the regulatory authorities. These data were determined considering chemical aging processes on special crop areas which have been cultivated for many years.

On the basis of previously performed field studies of earthworm coenosis on 24 vine farms it was tested with simple regression approaches, whether leaching – aging factor can be derived by linking protection goal-related copper availability with the impact on biological parameters.

This correction factor predictable environmental concentrations (PEC_{soil}) resp. PNECs can be calculated in ecological and/or conventionally managed soils. With the sampling size of this study ($n = 78$), this factor can be assessed for the time being and be used to realistically reflect the copper availability in quality viticulture.

Key words: Copper, vineyard soils, copper loads, aging of the copper residues, exposure, earthworm monitoring, bioavailability to soil organisms, bio concentration factor, pathway soil/soil organisms, voluntary risk assessment, leaching/aging factor

Institut

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Berlin¹

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Strategien und Folgenabschätzung, Kleinmachnow²

Kontaktanschrift

Dr. Thomas Strumpf, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz. Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin-Dahlem, E-Mail: thomas.strumpf@jki.bund.de

Zur Veröffentlichung angenommen

7. November 2014

Hintergrund und Zielsetzung der Untersuchungen

Kupferhaltige Pflanzenschutzmittel werden seit über 100 Jahren auf Dauerkulturf Flächen gegen Pflanzenkrankheiten, wie den Falschen Mehltau an Weinrebe und Hopfen, Kragenfäule und Obstbaumkrebs in Kern- und Steinobst, angewendet.

Hohe Aufwandmengen an Cu-haltigen Pflanzenschutzmitteln in der Vergangenheit haben zu einer Akkumulation in Böden geführt (KOMAREK et al., 2010; STRUMPF et al., 2011; JUANG et al., 2012), andererseits erfolgt bis heute ein ständiger Eintrag neuen Kupfers – wenn auch in deutlich geringeren Mengen – auf die langjährig genutzten Flächen. Dieser Umstand wäre nicht relevant, wenn sich die Toxizität von Kupfer gegenüber Bodenorganismen bei Böden mit frisch zugefügtem Kupfer und bei langjährig kontaminierten Freilandböden nicht deutlich unterscheiden würde (z.B. SCOTT-FORDSMAND et al., 2000; OORTS et al., 2006; RUYTERS et al., 2013). Dies wird auf eine Alterung der Rückstände zurückgeführt (MA et al., 2006), was auf Festlegungs- und Salzeffekten im Freiland beruht (z.B. VAN SPRANG et al., 2008) und sich expositionsseitig direkt auf die Kupferverfügbarkeiten auswirkt (z.B. WEIDENAUER, 2012).

Der Alterungseffekt erschwert die Übertragung von Schwellenwerten aus Laborversuchen auf Freilandbedingungen im Sinne einer Risikobetrachtung erheblich. In einer im Auftrag des European Copper Institute (ECI) vorgenommenen „freiwilligen Risikoabschätzung“ kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel (PSM) wurden die Kupferverfügbarkeiten in Freiland- und Laborböden in unterschiedlichen Regressionsansätzen bei unterschiedlicher Belastung auf der Basis bis 2007 vorliegender Studien zusammenfassend dargestellt (DELBEKE, 2008). Hier zeigte sich, dass zur Prognose von Konzentrationen, bis zu der sich keine Auswirkungen auf die Umwelt zeigen (PNECs), noch ein Korrekturfaktor („Leaching – Alterungsfaktor“ – L/A-Faktor) benötigt wird, der diese Akkumulation in einem Regressionsansatz neben den bioverfügbaren Anteilen bei der Berechnung gesondert berücksichtigt.

Für eine sachgerechte Abbildung von ‚worst case‘ Szenarien ist die Höhe dieses Korrekturfaktors und dessen noch ausstehende Validierung von entscheidender Bedeutung. Dieser Faktor benötigt jedoch eine weitere wissenschaftliche Begründung (SCHER, 2009).

Da das Metall und Nährelement Kupfer als natürlicher Bestandteil der Geosphäre nicht abgebaut wird, wurde es als ‚persistenter Stoff‘ eingestuft, mit der Folge, dass Expositionsszenarien ermittelt werden müssen. Dies sind quantitative oder qualitative Abschätzungen des Verhältnisses Dosis zu Konzentration eines Stoffes, welcher gegenüber einem Schutzgut exponiert ist oder sein kann.

Für eine Pflanzenschutzmittel-Bewertungsbehörde ist es wichtig, – in einem europaweit akkordierten Verfahren wie bei Kupfer – auf begutachtete Werte zurück zu greifen.

Von der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) wurde die Gewichtung des Korrekturfaktors in die Diskussion eingebracht. Diese beruht auf den in der REACH-Bewertung (Europäische

Chemikalienverordnung – ANONYM, 2006) festgelegten Vorgaben zur Datengewinnung und Risikobetrachtung. Die Berechnung der PNEC's erfolgte analog zu dieser chemikalienrechtlichen Prozedur mit Daten aus durchgeführten Studien, welche in der REACH-Bewertung angefallen sind, und Literaturbefunden (DELLANTONIO, 2012).

Im REACH Bewertungsbericht (VAN SPRANG et al., 2008) wurde dieser Faktor als 25.-Perzentil der gesamten experimentell bestimmten Leaching-Alterungsfaktoren definiert: „... *there is sufficient justification to assume that the toxicity under field conditions is less than under laboratory conditions, and a reasonable worst case generic L/A of 2.0 is proposed for all soils.*“

Die Höhe des Leaching-Alterungsfaktor von 2 wurde auch seitens der EFSA (Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit) im technischen Report „Pre-Assessment of Environmental Impact of Zinc and Copper Used in Animal Nutrition“ (MONTEIRO et al., 2010) akzeptiert, dort heißt es: „... *a reasonable worst case generic L/A [factor] of 2.0 is proposed for all soils.*“

Unter der Annahme, dass die 25.-Perzentile (wie im REACH Verfahren angewendet) ein ausreichendes Schutzniveau bieten und zugleich dem Vorsorgegedanken Rechnung tragen, kann der von der AGES vorgeschlagene Korrekturfaktor in der Höhe 2 unter konservativen Aspekten nachvollzogen werden.

Aber es gibt auch Studien, in denen ein L/A-Faktor von > 3 postuliert wird (z.B. RUYTERS et al., 2013). Der L/A-Faktor wird hier über die Toxizitätsdifferenz zwischen Feldböden und Böden mit frisch zugefügtem Kupfer bei der gleichen nachteiligen Wirkung über ökotoxikologische Tests mit Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen nach normierten Verfahren abgeleitet. Fehlende Toxizität in den Feldproben erfordert hier zusätzlich eine Korrektur, die auf einer konservativen Schätzung für das 10%ige Wirkungsniveau (ED₁₀) im Feld basiert.

Daraus ergeben sich Fragen, die noch beantwortet werden müssen:

- Wie hoch ist der auf der Grundlage von Freilanduntersuchungen mit gealterten Böden definierter Bewirtschaftungshistorie ermittelte L/A-Faktor?
- Können alle ‚worst case‘ Szenarien sachgerecht mit nur einem numerischen Wert des Faktors abgebildet werden oder sollten zusätzlich weitere Parameter (s. Tab. 1) die standortspezifische Vielfalt berücksichtigen?
- Kann über die Etablierung eines Schwellenwertes – der mit hohem Sicherheitsfaktor ‚worst case‘ Expositionsszenarien berücksichtigt – auf Basis des Kupfergehalts in einem Modellextrakt den Entscheidungsträgern ein einfaches Verfahren für die Zulassung und den Vollzug vorgeschlagen werden?

Um die in der weinbaulichen Praxis existierenden Kupferverfügbarkeiten realitätsnah abbilden zu können und im Qualitätsweinbau zu einer sachgerechten Bewertung des Risikos für Bodenorganismen beizutragen, soll mit Hilfe von Freilanddaten mit Regenwurmlebensgemeinschaften der Versuch unternommen werden, die Höhe des L/A-

Tab. 1. Einflussfaktoren auf die schutzzielbezogene Kupferverfügbarkeit bei Standortböden

Bodenparameter	Bewirtschaftungsmanagement	äußere Einflüsse	Sonstiges
Gesamtgehalt	Bodenbearbeitung	Bodenfeuchte	Alterung
Boden pH	Pflanzenschutzmaßnahmen	Temperatur	(Sequestrierung)
Korngröße (Bodentextur)	Düngung	Hanglage	
Kationenaustauschkapazität	Begrünung		
organische Substanz	Kulturbewuchs		
	Flurbereinigung/-neuordnung		

Faktors abzuschätzen und das im Rahmen einer ‚freiwilligen Risikoabschätzung‘ Regressionsmodell weiter zu entwickeln. Dies soll die wissenschaftlichen Grundlagen verbreitern und damit einen Beitrag zu leisten, die Kupferverfügbarkeiten in nationalen und europäischen Rechtsetzungen zu etablieren.

Material und Methoden

Im Rahmen der Untersuchungen zu ‚langjährige Anwendung kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel bei Dauerkulturen‘ hat das Julius Kühn-Institut (JKI) umfangreiche Beprobungen zur Beschreibung der aktuellen Situation der Kupferbelastungen von Oberböden im ökologisch und/oder konventionell bewirtschafteten Qualitätsweinbau durchgeführt (Belastungserhebungen). Dies sollte als Entscheidungshilfe für die Erarbeitung von Vorschlägen für das von der EU-Kommission in den Mitgliedsländern geforderte zulassungsbegleitende Monitoring (Richtlinie 2009/37/EG vom 23. April 2009) dienen.

Unter Berücksichtigung des „Leitfadens zur Koordinierung der Monitoringaktivitäten der Untersuchungen zum Belastungszustand von landwirtschaftlich genutzten Flächen infolge von Anwendungen mit kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln – BVL“ wurden Qualitätsweinbaustandorte identifiziert, die jeweils aus mindestens einer mit Reben bestockten Prüffläche, einer seit längerem aus der Nutzung genommenen Rebfläche mit Kupferaltlast – Referenzfläche – und einer Fläche ohne anthropogene Kupferbelastung – Kontrollfläche bestehen. Diese Auswahl berücksichtigt alle belastungs- und wirkungsprägenden Hauptmerkmale und bindet zugleich alle Qualitätsweinanbaugebiete und ihre repräsentativen Standorte ein.

Inzwischen hat das JKI bei 24 ausgewählten Reblagen biologische Statuserfassungen unter Nutzung von Regenwürmern als empfindliche Indikatororganismen zur Darstellung der Auswirkungen von Kupfereinträgen auf die Bodenfruchtbarkeit (nach normierten Verfahren DIN EN ISO, 2011-09) durchgeführt. Dabei wurden Reblagen unterschiedlicher Belastung und Exposition sowie unterschiedlich langer Nutzung berücksichtigt. Auf jeder Untersuchungsfläche wurden $4 \times 0,25 \text{ m}^2$ (4 Versuchsglieder/Teilflächen), wie bereits bei RIEPERT et al. (2013) beschrieben, beprobt.

Parallel zu der biologischen Zustandserhebung der Regenwurmzönosen wurden Mischproben von jeder Teilfläche entnommen und im Labor elementanalytische Untersuchungen und Bestimmung der wichtigsten bodenkundlichen Parameter nach normierten Verfahren durchgeführt. Das verwendete Methodeninventar entspricht dem, wie es bereits bei den Belastungserhebungen im Qualitätsweinbau verwendet wurde (STRUMPF et al., 2011).

Ergebnisse und Diskussion

Multifaktorielle Beeinflussung von Kupferverfügbarkeiten

In zahlreichen Verfügbarkeitsstudien wurde bei Sonderkulturböden mittels multivariater Diskriminanzanalysen nachgewiesen, dass die Kupferverfügbarkeiten multifaktoriell beeinflusst werden (z.B. BERGER et al., 2012). Einige dieser Einzeleinflussfaktoren, die auf die schutzzielbezogene Kupferverfügbarkeit bei Freilandböden einwirken können, sind in Tab. 1 dargestellt. Diese komplexen Abhängigkeiten werden oft noch vom Alter der Rückstände (Bewirtschaftungsdauer) überlagert, weil Kupfer (II) einem Alterungsprozess (MA et al., 2006) und Sequestrierung sowie Leaching unterliegt. Da langjährig bewirtschaftete Dauerkulturfächen zudem oft heterogene Belastungsverteilungen aufweisen (z.B. WIGHTWICK et al., 2010; STRUMPF et al., 2011), erfordert die Darstellung eingetretener Wirkungen von Kupferbelastungen auf die Bodenzönose eine standortbezogene Methodenvalidierung.

Zusammenhang von Gesamt- und bioverfügbarem Kupfer

Die analysierten Kupfergehalte ($\text{Cu}_{\text{Extrakte}}$, Mittelwerte der Teilflächen) der gewählten 30 Prüfflächen decken bei der vorliegenden Studie einen Bereich zwischen 15 und 250 mg Cu/kg Boden (TM) ab, während die gemittelte Flächenbelastung der in Nachbarschaft liegenden 24 Referenzflächen eine Belastung zwischen 10 und 325 mg Cu/kg Boden (TM) abbilden. Die Bewirtschaftungsdauer dieser Flächen liegt nach Auskunft der Bewirtschafter zwischen 20 und > 100 Jahren, während die seit ≥ 10 Jahren brachliegenden Referenzflächen vorher 20 bis > 90 Jahre weinbaulich genutzt wurden.

In den Voruntersuchungen wurde festgestellt, dass bei Gesamtgehalten von 2 bis 774 mg Cu/kg Boden (TM)

der Zusammenhang zwischen regenwurmverfügbarem Kupfer im CaCl_2 -Extrakt ($\text{Cu}_{\text{CaCl}_2}$) bzw. pflanzenverfügbarem Kupfer im NH_4NO_3 -Extrakt ($\text{Cu}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$) und den Gesamtgehalten (Cu_{ges}) offenbar von mehreren Einflussgrößen abhängig ist (STRUMPF und STRASSEMAYER, 2012).

In Abb. 1 wurden die Ergebnisse der Voruntersuchung und die der vorliegenden Studie zusammengefasst. Aufgrund der Unterschiedlichkeit der Standorte zeigen die ermittelten bioverfügbaren Kupferanteile ($\text{Cu}_{\text{CaCl}_2}$ und $\text{Cu}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$) im Boden aller analysierten Flächen keine gute lineare Korrelation ($R^2 < 0,6$) mit den Kupfer-Gesamtgehalten. Für eine detaillierte Analyse der Abhängigkeiten (z.B. Multiregressionsanalyse) müssten weitere Bodenparameter und -eigenschaften berücksichtigt werden.

Auch bei getrennter Betrachtung der einzelnen Flächentypen (Abb. 2) ist kein wesentlich besserer Zusammenhang zwischen bioverfügbarem Kupfer und dem Bodengesamtgehalt nachzuweisen. Unterschiedliche Bewirtschaftungsszenarien verbunden mit unterschiedlicher Pflanzenschutzintensität (von langjährig – intensiv bis ohne Kupfereinträge) hätten deutlichere Unterschiede der Bestimmtheitsmaße erwarten lassen.

Bei einer verfeinerten Expositionsabschätzung mittels multivariater Diskriminanzanalyse unter Einbindung mehrerer Bodenparameter konnten keine klaren Zusammenhänge zwischen den Kupfer-Bodengesamtgehalten und den regenwurmverfügbaren Kupfergehalten im CaCl_2 -Extrakt nachgewiesen werden (z.B. STRUMPF und STRASSEMAYER, 2012). Ein wesentlicher Einflussfaktor ist der Boden pH-Wert. Die in dieser Studie untersuchten Weinbergsböden zeigen in der Regel pH-Werte $> 6,5$. In einer vergleichbaren Studie (BRUN et al., 1998) wurde berichtet, dass bei pH-Werten von $\geq 6,4$ der Zusammenhang zwischen Gesamtkupfergehalten und CaCl_2 -extrahierbarem Kupfer deutlich an Bestimmtheit verliert.

Um reale Expositionen und die damit verbundenen Auswirkungen gegenüber wichtigen Indikatoren der Bodengüte realistisch abbilden zu können, müssen für die Expositionsabschätzung Daten mit gealterten Freilandböden ausgewertet werden. Dies kann zum Beispiel durch Verknüpfung von Bodengesamt- und/oder Modellextraktgehalten mit gemessenen Kupfergehalten in den gesammelten Regenwürmern von langjährig bewirtschafteten Qualitätsweinbaustandorten unter Berücksichtigung der berechneten Biokonzentrationsfaktoren erfolgen.

Beschreibung der Kupferverfügbarkeit unter Berücksichtigung von Biokonzentrationsfaktoren

Der Biokonzentrationsfaktor (BCF) ist ein Maß für den Transfer der Elemente vom Boden in die Bodenorganismen (Pfad Boden/Bodenorganismus) und ihrer Anreicherung in den Bodenorganismen (CORTET et al., 1999; PEIJUNENBURG und JAGER, 2003). Er ergibt sich nach Gleichung 1 aus dem Quotienten des Elementgehaltes im Regenwurm ($\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}$) und dem Elementgehalt im Modellextrakt des Bodens ($\text{Cu}_{\text{Extrakt}}$: Königswasser, NH_4NO_3 , CaCl_2) am Standort der Erhebung.

$$\text{Gleichung 1: } BCF = \frac{\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}}{\text{Cu}_{\text{Extrakt}}}$$

Die Verwendung von BCF's, hat den Vorteil, dass alle Faktoren, die die Verfügbarkeit am Standort beeinflussen, sich im Ergebnis in konkreten Kupfergehalten in der Gruppe der Lebensformtypen der Regenwurmzönose widerspiegeln und so über die modellhaft bestimmten Extraktgehalte direkt in die Berechnung einfließen.

In einem vereinfachten Regressionsansatz wurde geprüft, ob eine Risikoabschätzung über verfügbare Kupfer-

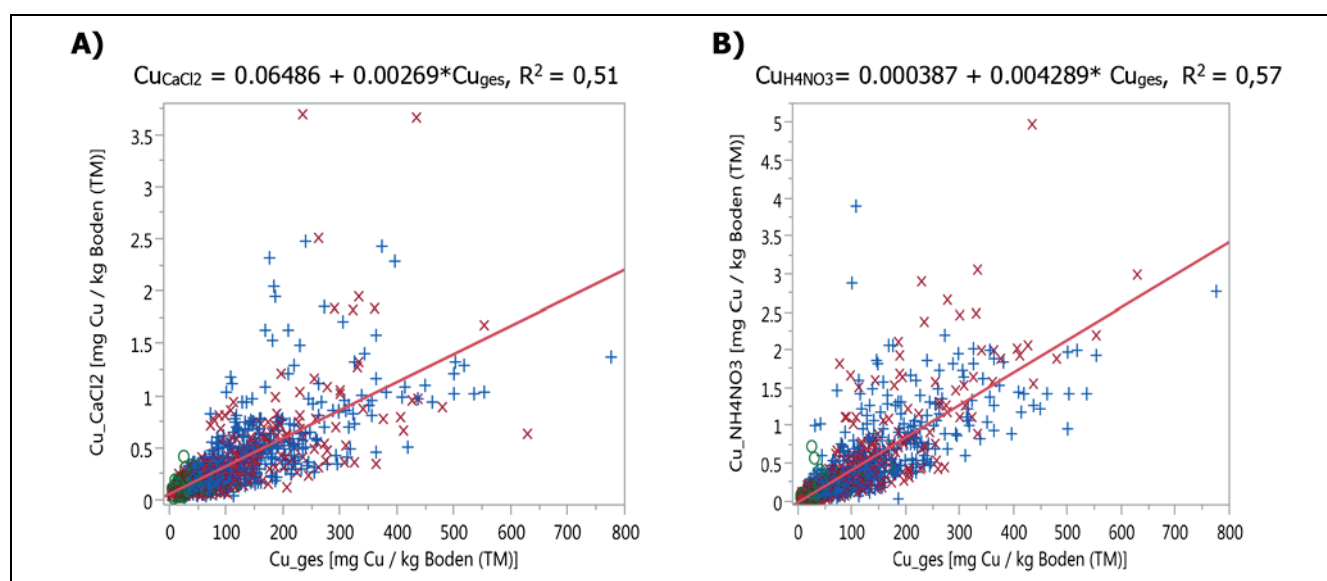


Abb. 1. Lineare Abhängigkeiten der Cu-Gehalte (A: CaCl_2 -Extrakt und B NH_4NO_3 -Extrakt) vom Cu-Gesamtgehalt (Cu_{ges}) aller analysierten Bodenproben ($n = 1155$) der Prüf- (+, blau) Referenz- (x, rot) und Kontrollflächen (o, grün) für den Bodenhorizont bis 20 cm.

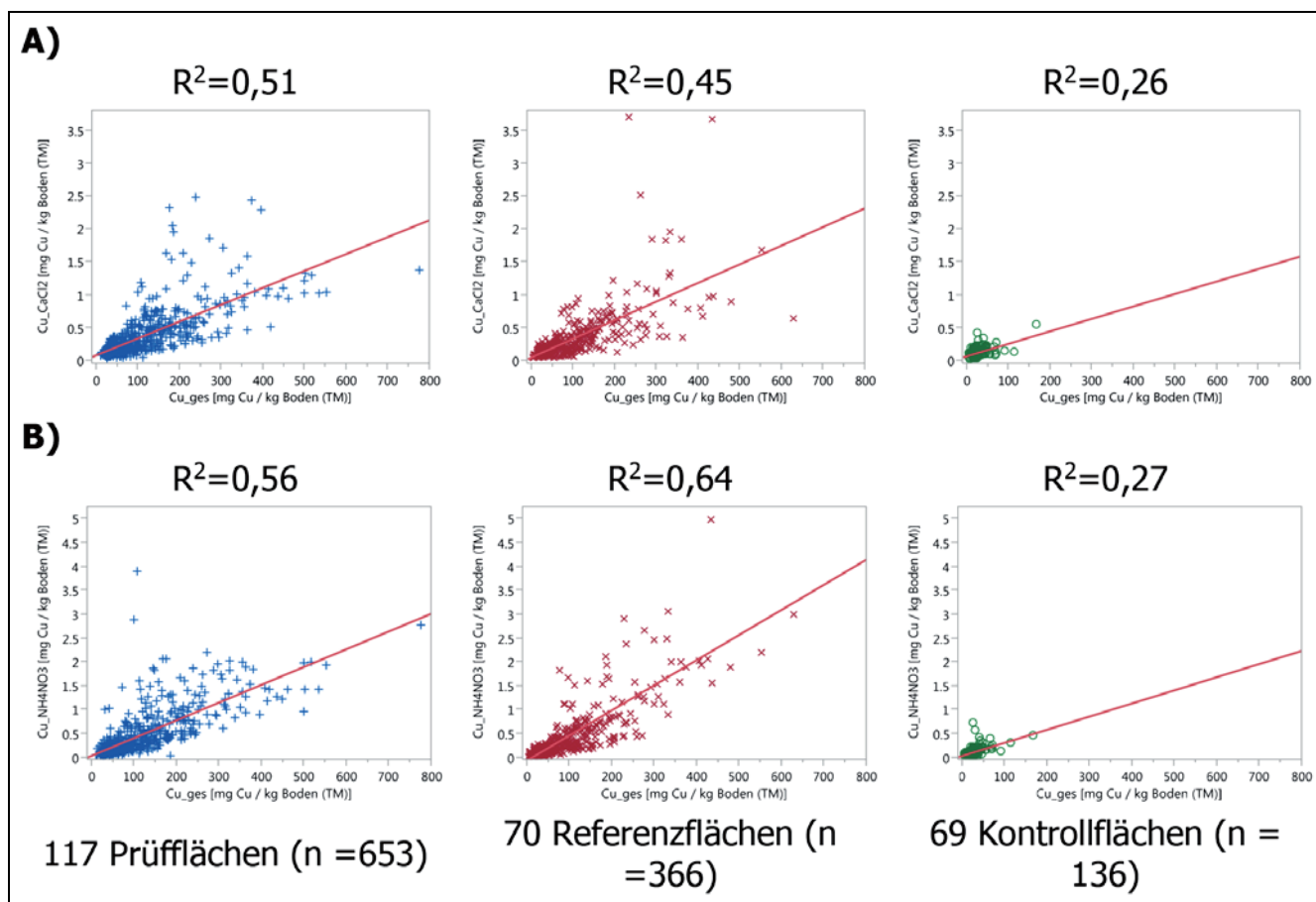


Abb. 2. Lineare Abhängigkeiten der Cu-Gehalte (A: CaCl_2 -Extrakt und B NH_4NO_3 -Extrakt) vom Cu-Gesamtgehalt (Cu_{ges}) aller analysierten Bodenproben ($n = 1155$) der Prüf- (+, blau) Referenz- (x, rot) und Kontrollflächen (o, grün) für den Bodenhorizont bis 20 cm.

gehalte in Modellextrakten (CaCl_2 -Extrakt und NH_4NO_3 -Extrakt) in Verbindung mit gemessenen Kupfergehalten in der Regenwurmzönose für den Pfad Boden/Bodenorganismen bei ökologisch und konventionell bewirtschafteten Böden möglich ist (STRUMPF et al., 2013). Dies basierte auf der Annahme, dass der Anteil bioverfügbaren Kupfers auf der Summe aller Einzeleinflussfaktoren (Tab. 1) beruht und diese zu standortspezifischen Verfügbarkeiten (Expositionen) führen, welche sich in den bestimmten Gehalten in den Bodenextrakten wieder finden.

Es wurde schon darauf hingewiesen, dass die Untersuchungsfläche in Bezug auf die verfügbarekeitsprägenden Einzeleinflussfaktoren klein strukturiert und damit einhergehend zwischen den gewählten Versuchsgliedern (Teilflächen) starke Schwankungen auftreten können (RIEPERT et al., 2013). Diese führen sowohl bei chemischen (physiko-chemische Bodenparameter, Bodengesamt- und bioverfügbare Kupfergehalte) als auch bei biologischen Kenndaten (Gesamt- und Abundanzverteilung auf Lebensformen, Artenvielfalt, Biomasse) zu starken Streuungen zwischen und innerhalb der Teilflächen. Um methodisch bedingte ‚Ausreißer‘ zu eliminieren und praxisangelegte Wertepaare bei der Verknüpfung der Expositionskonzentration mit der Effektseite zu erzeugen, erschien es deshalb sinnvoll, auf der Grundlage von ge-

mittelten Werten für jede Teilfläche bzw. Untersuchungsfläche Risikoabschätzungen vorzunehmen.

Abb. 3 fasst das Ergebnis des Vergleichs der beiden verwendeten Extraktionsverfahren (CaCl_2 - und NH_4NO_3 -Extrakt) zur Prognose des Kupferanreicherungsverhaltens in Regenwürmern auf Basis der berechneten BCF's unter Einbeziehung von 24 Qualitätsweinbaubetrieben mit 78 Beprobungsflächen (Prüf-, Referenz- und Kontrollflächen) zusammen. Für die Auftragung in Abb. 3 wurden für jede Teilfläche – die gemittelten Gehaltswerte in den ausgelesenen Regenwürmern, der berechnete BCF der Regenwurmzönose sowie die entsprechenden Kupfergehalte im Bodenextrakt verwendet.

Die Prüfung unterschiedlicher Regressionsansätze ergab, dass durch eine Verknüpfung berechneter Biokonzentrationsfaktoren (BCF's) mit bioverfügbaren Kupferanteilen ($\text{Cu}_{\text{Extrakt}}$) von langjährig bewirtschafteten (gealterten) Weinbaustandortböden eine Möglichkeit gegeben scheint, schutzzielbezogene Kupferverfügbarkeiten modellhaft zu beschreiben. Die größte Übereinstimmung konnte bei Annahme eines doppelt logarithmischen Zusammenhangs zwischen BCF und $\text{Cu}_{\text{Extrakt}}$ erreicht werden. Dabei zeigt sich, dass die Korrelation des BCF zum NH_4NO_3 -Extrakt (mit $R^2 = 0,83$) deutlich enger ist als die zum CaCl_2 -Extrakt (mit $R^2 = 0,68$).

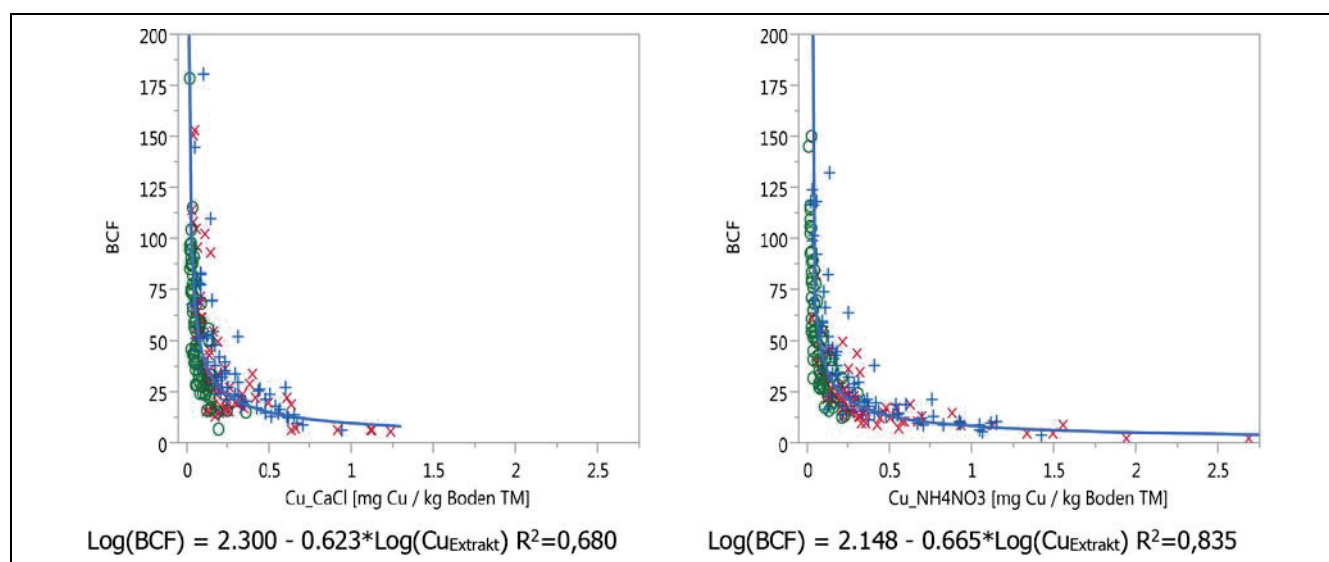


Abb. 3. Doppelt logarithmischer Zusammenhang zwischen den Kupfergehalten im Bodenextrakt und den auf der Basis von Extraktgehalten berechneten Biokonzentrationsfaktoren der Regenwurmzönose von Prüf- (+, blau) Referenz- (x, rot) und Kontrollflächen (o, grün), n = 229.

Dementsprechend werden die Ergebnisse vorangegangener Studien bestätigt, dass das NH_4NO_3 -Extrakt, welches nach der BBodSchV (ANONYM, 1999) pflanzenverfügbares Kupfer beschreibt, zur Darstellung des regenwurmverfügbaren Kupfers besser geeignet ist, als das nach DIN CEN, 2007 beschriebene regenwurmverfügbare Kupfer im CaCl_2 -Extrakt.

In Tab. 2 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Kupfergehalte im Bodenextrakt ($\text{Cu}_{\text{Extrakt}}$), der Kupfergehalte der Regenwürmer ($\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}$) und der berechneten BCF's zusammengefasst. Die BCF's wurden zuerst für die einzelnen Teilflächen und anschließend die Mittelwerte je Flächentyp berechnet.

Bei den untersuchten Prüf- und Referenzflächen liegen die im Königswasser (KW) ermittelten Kupfergesamtge-

halte bei den langjährig ökologisch und/oder konventionell bewirtschafteten Prüfflächen und den im Durchschnitt seit mehr als 10 Jahren nicht mehr Weinbaulich genutzten Referenzflächen (Brachen) in der gleichen Größenordnung. Bei der Belastungserhebung in deutschen Qualitätsweinbaugebieten wurden für den Bodenhorizont 0 bis 20 cm (entspricht der Ausgrabungstiefe der Regenwürmer) im Mittel Gesamtgehalte bei Prüfflächen in Höhe von 102 mg Cu/kg Boden (TM) und bei Referenzflächen in Höhe von 100 mg Cu/kg Boden (TM) gefunden (STRUMPF et al., 2011). Die Mittelwerte der in dieser Studie untersuchten Stichprobe liegen bei Prüf- bzw. Referenzflächen mit 102 bzw. 96 mg Cu/kg Boden (TM) in diesem Bereich, was zeigt, dass höher belastete Flächen bei der modellhaften Ableitung des L/A-Faktors nicht unterrepräsentiert sind.

Tab. 2. Analysierte Kupfergehalte der Regenwürmer ($\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}$ bezogen auf Frischmasse – FM), Kupfergehalte im Bodenextrakt ($\text{Cu}_{\text{Extrakt}}$) für drei Extraktionsmethoden (Königswasser, CaCl_2 und NH_4NO_3) und die daraus berechneten BCF's (24 Betriebe, 78 Untersuchungsflächen) mit Standardabweichung (SD)

Probenahmen		Cu-Regenwurm [mg Cu/kg RW (FM)]		Cu-Extrakt [mg Cu/kg Boden (TM)]						BCF berechnet mit $\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}(\text{FM})$					
		Druck ¹⁾		KW		CaCl_2		NH_4NO_3		KW		CaCl_2		NH_4NO_3	
Teilflächen															
Typ	n ²⁾	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Prüffläche	88	6,7 ^a	3,1	106 ^a	78	0,24 ^{a+}	0,19	0,34 ^{a*}	0,34	0,09 ^a	0,05	43 ^{a+}	30	36 ^{a+}	30
Referenz	70	5,7 ^b	2,8	96 ^a	75	0,24 ^{a+}	0,26	0,40 ^{a*}	0,46	0,08 ^a	0,07	45 ^{a+}	39	27 ^{b*}	34
Kontrolle	71	2,9 ^c	1,2	28 ^b	16	0,08 ^{b+}	0,06	0,07 ^{a+}	0,06	0,13 ^b	0,09	58 ^{a+}	52	88 ^{c*}	155

¹⁾ Loftfields Druckaufschluss-System (65%ige HNO_3) mit anschließender Kupferbestimmung im Regenwurmgewebe mittels ICP-OES; Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant verschieden. Unterschiedliche Symbole zeigen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Extraktionsverfahren ($p \leq 0,05$, SAS Students t-test).

²⁾ Da bei einzelnen Teilflächen keine Würmer gefunden wurden, ist die Anzahl der berücksichtigten Bodenproben niedriger als in Abb. 2 dargestellt ist.

Bei den gewählten Kontrollflächen mit geringen Gesamtgehalten [≤ 40 mg Cu/kg Boden (TM)] – welche in der Größenordnung der Hintergrundgehalte des Standorts liegen – sind die Kupfergehalte in den Modellextrakten niedrig. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass das Kupfer hier geogenen Ursprungs ist und – fest eingebaut in die Bodenmatrix – nur wenig verfügbar vorliegt. Diese Flächen wurden nach Auskunft der beteiligten Betriebe niemals Weinbaulich genutzt und haben keine ‚frischen‘ Kupfergaben erhalten.

Bei Betrachtung der Mittelwerte beider Modellextrakte für die Prüf- und Referenzflächen zeigt sich, dass im NH_4NO_3 -Extrakt tendenziell höhere Mittelwerte bestimmt werden als im CaCl_2 -Extrakt. Trotz der starken Streuung der einzelnen Werte lassen sich signifikante Unterschiede der Mittelwerte (t-Test, mit einem Vertrauensbereich von 95%) feststellen.

Bei Bezug auf Gesamtgehalte ist die Cu-Anreicherung im Gewebe der Regenwürmer gering (BCF's KW deutlich < 1). In den höher belasteten Prüf- und Referenzflächen liegt der Anreicherungsfaktor im Mittel sogar unter dem für Regenwürmer von Kontrollflächen bestimmten Wert. Wird bei Berechnung des BCF's der CaCl_2 -Extrakt verwendet, lassen sich statistisch keine Unterschiede zwischen Prüf-, Referenz- und Kontrollfläche nachweisen. Bei Verwendung des NH_4NO_3 -Extraktes unterscheiden sich die gemittelten BCF-Werte der drei Flächentypen signifikant voneinander. Der Anreicherungsfaktor für Regenwürmer (BCF) in den Prüf- und Referenzflächen ist im Mittel signifikant kleiner als in den Kontrollflächen. Ist dies einer verringerten Bioverfügbarkeit durch Alterung des Kupfers geschuldet? Eine steigende Kupferexposition führt nicht zu der erwarteten Kupferanreicherung in den Lumbriciden, was auf deren Anpassung an die Standortbedingungen hindeutet.

Die chemischen Ursachen dieses Phänomens und die Auswirkungen auf Regenwurmzönosen sind noch völlig unklar und bedürfen noch weiterer Aufklärung. Auf der Effektseite wurde von RIEPERT et al. (2013) berichtet, dass aus der Nutzung genommene Flächen auch nach längerer Zeit (> 10 Jahre) nicht in dem Maße wiederbesiedelt werden, dass die Artenvielfalt und Abundanz derjenigen naturnaher Kontrollflächen entspräche. Dies steht im Einklang mit anderen Literaturbefunden (MA, 2005), dass die Wiederbesiedlungsrate kontaminierter Flächen niedrig ist und die Kupfergehalte in Regenwürmern hinter der Erwartung zurück bleiben. Dies wird einem Meidungsverhalten während der Besiedlung zugeschrieben, welches bei Laboruntersuchungen sowohl mit frisch zudotiertem als auch festgelegtem ‚alten‘ Kupfer im Meidungs-/Fluchtest für Regenwürmer (DIN ISO, 2008) nachgewiesen wird.

Ableitung des Leaching-Alterungsfaktors (L/A-Faktor)

Mit der Alterung des Kupfers erfolgen im Laufe der Zeit Festlegungsprozesse, welche sich expositionseitig direkt auf die Kupferverfügbarkeiten auswirken. Die bei der Ermittlung der Auswirkungen auf Regenwurmzönosen bestimmten Datensätze spiegeln das Ergebnis einer lang-

jährigen Anwendung kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel wider, welche sich effektseitig in mannigfaltigen Wirkungen, darunter akuten und chronischen und subletalen Effekten bis auf Populationsebene manifestieren.

Durch Korrelation der BCF mit bioverfügbaren Kupferanteilen im Modellextrakt soll der Versuch unternommen werden einen Alterungsfaktor abzuschätzen, der wiederum eine realistische Bewertung von Umweltkonzentrationen ermöglichen soll. Der Vorteil der Verwendung von realitätsnahen experimentellen Freilanddaten von allen deutschen Qualitätsweinanbaugebieten liegt darin, dass hier sowohl standortspezifische Kupfergehalte in der Regenwurmzönose als auch die direkt auf die Regenwürmer einwirkenden mobilen Kupferanteile inklusive das auf Alterung zurückzuführende Verfügbarkeitsdefizit im Boden mit einfließen.

Man kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht ausschließen, dass mit fortschreitender Bewirtschaftung der Flächen sich die Beiträge der Einzelfaktoren zur ‚Gesamtverfügbarkeit‘ untereinander verschieben und einige dieser Faktoren dominanter werden – z.B. Festlegungsprozesse mit einhergehender Minderung der Kupfer-Gesamtverfügbarkeit, was aber im Endeffekt keinen Einfluss auf die gemessene ‚Gesamtverfügbarkeit‘ hat.

Weil die Expositionskonzentration in Zusammenhang mit der Anreicherung von Kupfer im Gewebe von Lumbriciden steht, können in einem einfachen Regressionsansatz die Kupferverfügbarkeiten in den Extrakten mit den analysierten Regenwurmgehalten des Standorts verknüpft werden (Pfad Boden/Bodenorganismen). Das in tiefere Bodenschichten verlagerte Kupfer (was durch Leachingprozesse herausgelöst werden kann) und sein bioverfügbarer Anteil geht hier in die Abschätzung ein, da Gewebegehalte des anözischen Lebensformtyps der Regenwurmzönose miterfasst werden – hier unter der Annahme einer Exposition von Kupfer über die Haut. Unberücksichtigt bleibt, dass eine Kupferanreicherung über die gesamte Vegetationsperiode erfolgt (Beprobungszeitpunkt) und bei höheren Bodengehalten verstärkt aktive oder passive Regelungsmechanismen (bedarfsorientierte Aufnahme, Ausschleusung oder Detoxifikation, Meidung) einwirken, die die Gewebegehalte limitieren könnten.

Verknüpft man die flächenbezogenen Mittelwerte des Kupfers in Regenwurmzönosen mit den gemittelten Boden- und Modellextraktgehalten und den daraus berechneten BCF's kann der L/A-Faktor für jede Lage auf der Grundlage der im Qualitätsweinbau real existierenden Kupferverfügbarkeiten nach Gleichung 2 abgeschätzt werden.

$$\text{Gleichung 2:} \quad LA_Faktor = \frac{BCF_{Kontrollfläche}}{BCF_{Prüffläche}}$$

$$\text{bzw.} \quad LA_Faktor = \frac{BCF_{Kontrollfläche}}{BCF_{Referenzfläche}}$$

Bei der Abschätzung wird berücksichtigt, dass der durchschnittliche Wassergehalt der Regenwürmer sowohl artspezifisch (z.B. POKARZHEVSKII et al., 2000) als auch in Abhängigkeit von den Standortbedingungen von 65 bis

90% variieren kann (z.B. LEE, 1985). Da sich die Kupfergehalte auf Trockenmasse (TM) des Bodens beziehen, wurden die analysierten durchschnittlichen internen Cu-Gehalte in Würmern noch mit dem Faktor 4 multipliziert, um die Berechnung des L/A-Faktors bei gleichem Bezug durchführen zu können. Dies beruht auf der vereinfachten Annahme, dass im Wurm im Mittel 25% Trockenmasse (TM) vorhanden ist. Die berechneten L/A-Faktoren sind als Mittelwerte in Tab. 3 dargestellt.

Höher belastete Sonderkulturböden sind dort existent, wo eine langjährige Bewirtschaftung mit kupferhaltigen PSM mit einher gehender Alterung der Cu-Rückstände stattgefunden hat. Prüf- und Referenzflächen werden seit über 100 Jahren bewirtschaftet und das in den Boden eingetragene Kupfer unterliegt seitdem – trotz jährlich neuer Zufuhr ‚frischen‘ Kupfers, wenn auch heute mit deutlich geringeren Aufwandsmengen als in der Vergangenheit – gleichermaßen einem Alterungsprozess. Unterschiede sind nur bei der Anwendung kupferhaltiger PSM zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten vorhanden, welche nur auf den bewirtschafteten Dauerkulturflächen (Prüfflächen) erfolgt.

Subtrahiert man den berechneten L/A-Faktor der Prüfflächen von dem analog berechneten L/A-Faktor der Referenzflächen desselben Extrakts, so erhält man aus der Differenz den Anteil ‚nicht gealterten‘ Kupfers, der direkt in das Biokonzentrations-/Anreicherungsverhalten bei Lumbriciden eingeht.

Die Exposition des Schutzguts Bodenorganismus hängt von der Menge bioverfügbaren Kupfers ab und drückt sich im Biokonzentrations-/Anreicherungsverhalten aus. Die in den naturnahen Kontrollflächen ermittelten Gesamt- und bioverfügbaren Kupferanteile ($\text{Cu}_{\text{CaCl}_2}$, $\text{Cu}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$) sind geringer als bei den langjährig mit Kupfer belasteten Prüf- und Referenzflächen (s. Tab. 2). Geringere Verfügbarkeiten führen nach Gleichung 1 zu höheren BCF-Werten. Die BCF Werte der Kontrollflächen sind deshalb größer als bei den Prüf- und Referenzflächen (Tab. 3).

Das Phänomen höherer Kupferbelastung bei geringer Verfügbarkeit auf langjährig bewirtschafteten Sonderkulturflächen ist nur erklärbar durch Kupfer-Festlegungs-

prozesse (Alterung/Sequestrierung). Das auf den Kontrollflächen vorhandene (geogene) Kupfer unterlag stets Alterungsprozessen. Zudem wurde auf diesen Flächen niemals Kupfer aufgebracht, weshalb der aus 23 beprobten Kontrollflächen berechnete mittlere BCF als Ausgangswert für die Ableitung des L/A-Faktors dient.

Die gemittelten BCF's von Prüf- und Referenzflächen zeigen bei den verwendeten Modellextrakten nur beim $\text{Cu}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$ Unterschiede, die sich bei den berechneten L/A-Faktoren (Tab. 3) widerspiegeln. Die Höhe der berechneten L/A-Faktoren steigt in der Reihenfolge CaCl_2 -Extrakt < KW-Extrakt < NH_4NO_3 -Extrakt.

Ein Alterungsfaktor von rund 1 sagt aus, dass auf den Weinanbauflächen keine Alterung stattfindet. Unter Berücksichtigung der realen Standortverfügbarkeiten bei Verwendung des CaCl_2 -Extraktes wird bei Prüfflächen ein Korrekturwert von 1,5 und bei den Referenzflächen von 1,7 abgeschätzt. Die relativ geringen L/A-Faktoren sowie das für den CaCl_2 -Extrakt ermittelte mittlere Bestimmtheitsmaß (R^2) von $\sim 0,68$ in Abb. 3 bestätigen die These, dass bei Verwendung des CaCl_2 -Extrakts die aus Alterung des Kupfers resultierenden Verfügbarkeitsdefizite nicht angemessen erfasst werden.

Im internationalen Normungsgeschehen (ISO TC 190 Soil Quality) für die umweltbezogene Verfügbarkeit gilt die CaCl_2 -Extraktion als ein Modell für die Bodenfauna (DIN CEN, 2007), welches bis heute nicht wissenschaftlich begründet wurde. Aus Studien mit Labor- und/oder Freilandböden ist bekannt, dass bei Gehalten < 100 mg Cu/kg Boden (TM) ein Zusammenhang zwischen Wurmgehalten und CaCl_2 -Extrakt-Gehalten besteht (z.B. JANSSEN et al., 1997; VAN GESTEL, 2008), der bei höheren Bodengesamtgehalten zunehmend verloren geht. Diese Studie zeigt, dass die aus dem normierten Verfahren gewonnenen Datensätze zur Ableitung des L/A-Faktors nicht geeignet sind, weshalb mit dem CaCl_2 -Extrakt die Exposition von Regenwurmzönosen nicht zufriedenstellend modelliert und prognostiziert werden kann.

Der Zusammenhang zwischen den Kupfergehalten in Regenwurmzönosen und den Kupferanteilen im NH_4NO_3 -Extrakt ist mit einem Bestimmtheitsmaß R^2 von $\sim 0,83$

Tab. 3. Vergleich der gemittelten L/A-Faktoren von Prüf- und Referenzflächen bei Verwendung von Bodenextraktgehalten mit berechneten BCF's bei einem Stichprobenumfang von 24 Betrieben und 78 Untersuchungsflächen

Probenahmen		$\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}$ [mg Cu/kg RW (TM)]		BCF berechnet mit $\text{Cu}_{\text{Regenwurm}}(\text{TM})$						LA-Faktor					
Typ	Anzahl	Druck		KW		CaCl_2		NH_4NO_3		KW		CaCl_2		NH_4NO_3	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Prüffläche	30	26,8	10,9	0,32	0,16	156	92	133	101	1,8 ⁺	1,0	1,5 ⁺	1,1	3,1*	2,4
Referenz	25	24,2	12,1	0,32	0,26	154	137	100	103	1,7 ⁺	0,5	1,7 ⁺	1,1	3,7*	2,9
Kontrolle	23	11,6	4,5	0,50	0,28	200	149	303	317	–	–	–	–	–	–

Mittelwerte mit unterschiedlichen Symbolen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Extraktionsverfahren ($p \leq 0,05$, SAS Students t-test) ($p \leq 0,05$, SAS Students t-test).

(s. Abb. 3) sehr viel enger als bei Verwendung des CaCl_2 -Extrakts. Der berechnete L/A-Faktor in Höhe von 3,1 bei den Prüfflächen und 3,7 bei Referenzflächen ist aber höher als bei Verwendung des CaCl_2 -Extrakts.

Der Wert des mit diesem einfachen Regressionsansatz erhaltenen L/A-Faktors von 3,7 für Referenzflächen (Weinbrachen) sollte jedoch nicht überschätzt werden, weil hier trotz eines höheren Kupfermittelwertes im NH_4NO_3 -Extrakt keine höhere Anreicherung des Kupfers im Regenwurmgewebe nachweisbar ist (Tab. 2). Die Ursachen bedürfen noch einer Aufklärung.

Beide Extraktionsverfahren scheinen für die Abschätzung des L/A-Faktors wenig geeignet zu sein. Unter Verwendung des CaCl_2 -Extraktes ist der L/A-Faktor eher unterschätzt und bei Verwendung des NH_4NO_3 -Extrakts eher überschätzt.

Bei Verwendung von –Kupfergesamtgehalten (KW) beträgt der Korrekturfaktor bei den Prüfflächen ~ 1,8 und bei Referenzflächen ~ 1,7. Die Höhe des L/A-Faktors steht hier in direktem Zusammenhang mit der berücksichtigten breiten Schichtung der Belastung und der Bewirtschaftungshistorie der ausgewählten Reblagen.

Es bleibt festzuhalten, dass mit gemittelten Datensätzen ein Korrekturfaktor für Festlegungsprozesse unter Verwendung der KW-Extrakte abgeschätzt werden kann, der dem bereits vorgeschlagenen Wert von 2 sehr nahe kommt. Die in der Literatur beschriebenen Alterungseffekte wurden oft an zu dotierten Laborböden mit Singlepezies untersucht (z.B. SMOLDERS et al., 2009). Der in dieser Studie auf Grundlage von Anreicherungs-faktoren in Lumbriciden ermittelte Korrekturfaktor erfolgte im Gegensatz dazu unter Verwendung von Daten, die auf Feldflächen des Qualitätsweinbaus in Deutschland ermittelt wurden und berücksichtigt dementsprechend standort-spezifische Einflussgrößen, welche reale Expositionsszenarien widerspiegeln.

Schlussfolgerungen

Der in dieser Studie im Königswasser-Extrakt ermittelte L/A-Faktor liegt bei den in Bewirtschaftung befindlichen Reblflächen knapp unter der Größenordnung des von der EFSA akzeptierten und von der AGES vorgeschlagenen L/A-Faktors von 2.

Unter Verwendung der Modellextrakte für regenwurm-verfügbares Kupfer ($\text{Cu}_{\text{CaCl}_2}$) und pflanzenverfügbares Kupfer ($\text{Cu}_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$) wurden unterschiedliche Korrekturfaktoren berechnet. Um validierte Entscheidungshilfen für die Zulassungsbehörden hinsichtlich der Berechnung realistischer Bodenkonzentrationen im Rahmen der confirmatory data im EU Bewertungsprozesse zu erarbeiten, müssen noch weitere Daten auf Basis der Bioverfügbarkeit erhoben werden.

Das hohe Bestimmtheitsmaß $R^2 \sim 0,83$ beim NH_4NO_3 -Extrakt, welches bei der Korrelation von Kupfergehalten im Bodenextrakt mit Biokonzentrationsfaktoren der Regenwurmzönose erreicht wird, zeigt, dass die Risiken auf die Bodenzönose am besten unter Verwendung dieses

Extrakts bewertet werden können. So werden die enorme Standortvielfalt und die unterschiedlichen Parameter, welche die Bioverfügbarkeit von Kupfer beeinflussen, berücksichtigt und zugleich standortbezogene Risikobewertungen ermöglicht.

Mit dem aus den bisherigen Studien resultierenden Wissensfortschritt zu Verbleib, Verhalten und Exposition kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel in Sonderkulturböden und ihren Auswirkungen auf die Bodenqualität wird vorgeschlagen, Nutzen-Risiko-Bewertungen auf der Grundlage von Maßnahmewerten im NH_4NO_3 -Extrakt für den Pfad Boden/Bodenorganismen in den EU Bewertungsprozess einzuführen.

Danksagung

Die Untersuchungen wurden ab August 2012 durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Bereich des Bundesprogramms Ökologischer Landbau, Forschungs- und Entwicklungsprojekte – F/E-Projekte (ANONYM, 2011) mit dem Vorhaben „Auswirkungen von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln auf die Bodenfruchtbarkeit unter Nutzung von Regenwürmern als Indikatoren am Beispiel Weinbau“ gefördert (2812NA010).

Literatur

- ANONYM, 1999: Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) vom 12. Juli 1999, BGBl. I S. 1554.
- ANONYM, 2006: Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission. Abl. L 396, S. 1 vom 30. Dezember 2006.
- ANONYM, 2011: RL des BMELV zur Förderung von F-/E-Vorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer für eine nachhaltige Erzeugung, Verarbeitung und Vermarktung von landwirtschaftlichen Produkten vom 7. Juli 2011.
- BERGER, E., G. DERSCH, A. DELLANTONIO, O. DUBOC, K. MANNER, B. MÖBES-HANSEN, M. STEMMER, 2012: Kupfer als Pflanzenschutzmittel – Strategie für einen nachhaltigen und umweltschonenden Einsatz. Abschlussbericht des Forschungsprojektes Nr. 100537 im Auftrag von BMLFUW und den 9 österreichischen Bundesländern. AGES, Wien (online im Internet, URL: http://www.ages.at/uploads/media/Abschlussbericht_CuCSM_2012_approbiert_01.pdf).
- BRUN, L.A., J. MAILLET, J. RICHARTE, P. HERRMANN, J.C. REMY, 1998: Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. Environ. Pollut. 102, 151-161.
- CORTET, J., A. GOMOT-DE VAUFLERY, N. POINSOT-BALAGUERA, L. GOMOT, C. TEXIER, D. CLUZEAU, 1999: The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. Eur. J. Soil Biol., 35(3) 115-134.
- DELBEKE, K., 2008: European Union Risk Assessment Report: Voluntary Risk Assessment of Copper, Copper II sulphate pentahydrate, Copper(I)oxide, Copper(II)oxide, Dicopper chloride trihydroxide; Summary of the Terrestrial Effects Chapter: PNEC derivation for copper in the terrestrial environment: a summary, European Copper Institute (ECI), Juni 2008, pp.20, (Berichterstatte Italien). https://echa.europa.eu/.../vra_summary_4_pnec_en.rtf, (Stand: 23.06.2014).
- DELLANTONIO, A., 2012: Risikobewertung für Bodenorganismen. Fachtagung „Kupfer im Pflanzenschutz“ Vortrag. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit/AGES, Wien, 26. September 2012. <http://www.ages.at/ages/ages-akademie/>

- veranstaltungsarchiv/veranstaltungsarchiv-2012/kupfer-im-pflanzenschutz-26092012/. (Stand: 24.07.2014).
- DIN CEN, 2007: Bodenbeschaffenheit – Eluierungsverfahren für die anschließende chemische und ökotoxikologische Untersuchung von Boden und von Bodenmaterialien. Teil 2: Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 10 l/kg Trockenmasse (ISO/TS 21268-2:2007).
- DIN EN ISO 23611-1:2011-09 Bodenbeschaffenheit – Probenahme von Wirbellosen im Boden – Teil 1: Handauslese und Formalinextraktion von Regenwürmern (ISO 23611-1:2006).
- DIN ISO 17512-1:2010-06 Bodenbeschaffenheit – Vermeidungsprüfung zur Bestimmung der Bodenbeschaffenheit und der Auswirkungen von Chemikalien auf das Verhalten – Teil 1: Prüfung von Regenwürmern (*Eisenia fetida* und *Eisenia andrei*) (ISO 17512-1:2008).
- JANSSEN, R.P.T., L. POSTHUMA, R. BAERSELMAN, H.A. DEN HOLLANDER, R.P.M. VAN VEEN, W.J.G.M. PEIJNENBURG, 1997: Equilibrium partitioning of heavy metals in Dutch filed soils. II. Prediction of metal accumulation in earthworms. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**, 2479-2488.
- JUANG, K.-W., Y.-I. LEE, H.-Y. LAI, C.-H. WANG, B.-C. CHEN, 2012: Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **19**, 1315-1322, DOI: 10.1007/s11356-011-0657-3.
- KOMAREK, M., E. CADKOVA, V. CHRASTNY, F. BORDAS, J.-C. BOLLINGER, 2010: Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environment International* **36**, 138-151.
- LEE, K.E., 1985: Earthworms, Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use. Academic Press Inc., London, 411 pp., ISBN 0-12-440860-5.
- MA, Y., E. LOMBI, I.W. OLIVER, A.L. NOLAN, M.J. McLAUGHLIN, 2006: Long-term ageing of copper added to soil. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 6310-6317.
- MA, W.C., 2005: Critical body residues (CBRs) for ecotoxicological soil quality assessment: copper in earthworms. *Soil Biol. Biochem.* **37**, 561-568.
- MONTEIRO, S.C., S. LOFTS, A.B.A. BOXALL, 2010: SCIENTIFIC/TECHNICAL REPORT submitted to EFSA: Pre-Assessment of Environmental Impact of Zinc and Copper Used in Animal Nutrition (325 pp). <http://www.efsa.europa.eu/de/search/doc/74e.pdf>, (Stand: 23.07.2014).
- OORTS, K., H. BRONCKAERTS, E. SMOLDERS, 2006: Discrepancy of the microbial response to elevated Cu between freshly spiked and long-term contaminated soils. *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 845-853.
- RIEPERT, F., D. FELGENTREU, T. STRUMPF, 2013: Auswirkungen von Kupfereinträgen im Weinbau auf die Regenwurmzönose – Ergebnisse von Feldbeprobungen. *Journal für Kulturpflanzen* **65**, 440-465, DOI: 10.5073/JFK.2013.12.01.
- PEIJNENBURG, W.J.G.M., T. JAGER, 2003: Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **56**, 63-77.
- POKARZHEVSKII, A.D., N.M. VAN STRAALLEN, A.M. SEMNOV, 2000: Agar as a medium for removing soil from earthworm guts. *Soil Biol. Biochem.* **32**, 1315-1317.
- RUYTTERS, S., P. SALAETS, K. OORTS, E. SMOLDERS, 2013: Copper toxicity in soils under established vineyards in Europe: A survey. *Science of the Total Environ.* **443**, 470-477.
- SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks), 2009: Voluntary Risk Assessment Report on Copper and its Compounds, Environmental Part. https://echa.europa.eu/chem_data/transit_measures/vrar_en.asp (Stand: 13.12.2013).
- SCOTT-FORDSMAND, J.J., J.M. WEEKS, S.P. HOPKINS, 2000: Importance of contamination history for understanding toxicity of Copper to earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Annelida), using neutral-red retention assay. *Environ. Toxicol. Chem.* **19**(7), 1774-1780.
- SMOLDERS, E., K. OORTS, P. VAN SPRANG, I. SCHOETERS, C.R. JANSSEN, S.P. McGRATH, M.J. McLAUGHLIN, 2009: Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards. *Environ. Toxicol. Chem.* **28**, 1633-1642, DOI: 10.1897/08-592.1.
- STRUMPF, T., A. STEINDL, J. STRASSEMAYER, F. RIEPERT, 2011: Monitoring of total contents of copper in organically and conventionally managed soils. Part 1: Total contents in vineyard soils of German quality vine areas. *Journal für Kulturpflanzen* **63**, 131-143.
- STRUMPF, T., J. STRASSEMAYER, 2012: Bioverfügbare Kupfergehalte in ökologisch und konventionell bewirtschafteten Böden deutscher Wein-, Hopfen- und Baumobstbaugelände. Teil 5: – Bestimmung des bioverfügbaren Anteils von Kupfer und anderen Schwermetallen durch CaCl₂-Extraktion. *Journal für Kulturpflanzen* **64**, 452-468.
- STRUMPF, T., J. STRASSEMAYER, S. KRÜCK, U. STENDEL, 2013: Modellierung zu erwartender Kupfergehalte in Regenwurmzönosen mit Modellextrakten von Böden auf langjährig bewirtschafteten Weinbaustandorten; eine Bewertung von NH₄NO₃- und CaCl₂-Extrakten. *Journal für Kulturpflanzen* **65**, 479-487, DOI: 10.5073/JFK.2013.12.03.
- VAN GESTEL, C.A., 2008: Physico-chemical and biological parameters determine metal bioavailability in soils. *Sci. Tot. Environ.* **406**(3), 385-395.
- VAN SPRANG, P., M. VANGHELUWE, A. VAN HYFTE, D. HELJERICK, M.F. VANDENBROELE, F. VERDONCK, K. OORTS, K. LONG, I. DELBEKE, B. SCHOETERS, B. DWYER, B. ADAMS, 2008: European Union Risk Assessment Report (pp. 24 ff.) In: Voluntary Risk Assessment of Copper, Copper II sulphate pentahydrate, Copper(I)oxide, Copper(II)oxide, Dicopper chloride trihydroxide; Chapter 3.3 – Risk Characterisation, European Copper Institute (ECI), Juni 2008, pp.143, Berichterstatte (Italien). https://echa.europa.eu/documents/10162/.../vrar_risk_characterization_en.rt... (Stand: 23.06.2014).
- WEIDENAUER, M., 2012: Bioverfügbarkeit von gealterten Kupferrückständen in Weinbergböden. Fachgespräch: „Kupfer als Pflanzenschutzmittel“ – Berlin-Dahlem, 1. Dezember 2011. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut* **164**, 11-24.
- WIGHTWICK, A.M., S.A. SALZMAN, S.M. REICHMAN, G. ALLISON, N.W. MENZIES, 2010: Inter-regional variability in environmental availability of fungicide derived copper in vineyard soils: an Australian case study. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 449-57.