

**Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt
für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem**



**Prüfung und Bewertung der
Bioakkumulationsneigung
von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen**

**Evaluation and assessment of bioaccumulation of
active ingredients of plant protection products**

Fachgespräch am 16. Juni 1992 in Braunschweig

bearbeitet von
Dr. Axel Wilkening
und
Herbert Köpp

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik

Heft 290

Berlin 1993

*Herausgegeben
von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem*

Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
Seelbuschring 9-17, D - 12105 Berlin

ISSN 0067-5849

ISBN 3-489-29000-3

Die Deutsche Bibliothek – CIP-Einheitsaufnahme

Wilkening, Axel:

Prüfung und Bewertung der Bioakkumulationsneigung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen: Fachgespräch am 16. Juni 1992 in Braunschweig = Evaluation and assessment of bioaccumulation of active ingredients of plant protection products / bearb. von Axel Wilkening und Herbert Köpp. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik. Hrsg. von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem. – Berlin; Hamburg: Parey [in Komm.], 1993

(Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem; H. 290)

ISBN 3-489-29000-3

NE: Köpp, Herbert; PT: Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft <Berlin; Braunschweig>:

Mitteilungen aus der...

© Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funk- sendung, der Wiedergabe auf photomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der Fassung vom 24. Juni 1985 zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungs- pflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtsgesetzes.

1993 Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, Seelbuschring 9-17, 12105 Berlin
Printed in Germany by Arno Brynda, Berlin

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

A. Wilkening	Vorwort	7
H. Kohsiek	Grußwort.	8
1. Teil	<u>Grundsatzreferate</u>	9
R. Nagel	Bioakkumulation in aquatischen Systemen - Prüfung und Bewertung	10
M. Roth	Prüfung und Bewertung der Akkumulationsneigung von Elementen in wirbellosen Tieren von Waldökosystemen.	50
B. Streit	Biologisch-ökophysiologische Grundlagen für die Prüfung der Bioakkumulation im terrestrischen Bereich.	59
E. Dorn	Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation aus Sicht eines Pflanzenschutzmittelherstellers.	68
I. Schuphan	Nahrungsketten-Toxizität von Pflanzenschutzmitteln an Parasitoiden.	82
2. Teil	<u>Gegenwärtiger Stand der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation im Zulassungsverfahren</u>	86
H.-G. Nolting	Einführung	87
H. Köpp und D. Heimann-Detlefsen	Bioakkumulation in aquatischen Organismen.	92
G. Joermann	Bioakkumulation in Vögeln und Säugetieren	98
C. Kula	Möglichkeiten der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation von Pflanzenschutzmitteln durch Regenwürmer.	104

H. Rothert und R. Forster		
	Möglichkeiten der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen bei Nutzorganismen und Bienen	112
S. Gericke	Bedeutung von Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen für die toxikologische Bewertung von Pflanzenschutzmitteln	117
P. Apel und Ch. Franke		
	Stellenwert der Bioakkumulation bei der Abschätzung von Aus- wirkungen auf den Naturhaushalt	127
Abschlußdiskussion	131
Liste der Teilnehmer/innen	135
Anhang I	H. Weber, W. Pflüger, R. Grau: The Use of Test Data from the Registration of Agrochemicals to Determine the Toxicological and Ecological Relevance of Bioaccumulation.	142

CONTENTS

Page

A. Wilkening	Preface	7
H. Kohsiek	Welcome address	8
Part 1	<u>Papers on basic principles</u>	9
R. Nagel	Bioaccumulation in aquatic systems - testing and evaluation	10
M. Roth	Examination and assessment of the bioaccumulation potential of elements in invertebrate animals of forest ecosystems	50
B. Streit	Biological and ecophysiological aspects for testing bioaccumulation in the terrestrial environment	59
E. Dorn	Testing and evaluation of bioaccumulation from an industry point of view	68
I. Schuphan	Food-chain toxicity of plant protection products on parasits	82
Part 2	<u>Evaluation and assessment of bioaccumulation in the authorization procedure at the present time</u>	86
H.-G. Nolting	Introduction	87
H. Köpp und D. Heimann-Detlefsen	Bioaccumulation in aquatic organisms	92
G. Joermann	Bioaccumulation in birds and mammals	98
C. Kula	Possibilities for testing and evaluation of bioaccumulation of plant protection products in earthworms	104

H. Rothert und R. Forster	
	Possibilities for testing and evaluation of bioaccumulation of plant protection products in beneficial organisms and honey bees 112
S. Gericke	The importance of metabolism and residue studies for the toxicological evaluation of pesticides 117
P. Apel und Ch. Franke	
	Significance of bioaccumulation in the overall assessment of effects on the environment. 127
Final discussion	131
List of participants	135
Annex I	
	H. Weber, W. Pflüger, R. Grau: The Use of Test Data from the Registration of Agrochemicals to Determine the Toxicological and Ecological Relevance of Bioaccumulation. 142

VORWORT

A. Wilkening

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik, Koordinierungsgruppe

Bei der Entscheidung über die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln durch die Biologische Bundesanstalt (BBA) wird auch die Neigung der in den Mitteln enthaltenen Wirkstoffe zur Bioakkumulation beurteilt. Es ergab sich die Frage, ob die zur Zeit vorliegenden Unterlagen und Prüfverfahren die notwendige Bewertung des Prüfbereiches Bioakkumulation gewährleisten.

Das Fachgespräch sollte der Beratung der an der Prüfung beteiligten Behörden dienen. Andererseits wollten die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA), das Bundesgesundheitsamt (BGA) und das Umweltbundesamt (UBA) ihre derzeitige Vorgehensweise bei der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation darstellen und mit den anwesenden Fachkollegen und -kolleginnen kritisch diskutieren.

Im 1. Teil der Veranstaltung erfolgte nach jedem Vortrag eine kurze Diskussion. Im 2. Teil wurde bei der Vorstellung des gegenwärtigen Standes der Prüfung und Bewertung darauf, zugunsten einer am Ende der Veranstaltung durchgeführten Abschlusdiskussion, verzichtet.

GRUSSWORT

H. Kohnsiek

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Leiter der Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik

Sehr geehrte Damen und Herren,

stellvertretend für den Präsidenten der Biologischen Bundesanstalt (BBA), Herrn Prof. Klingauf, begrüße ich sie herzlich zu diesem Fachgespräch über die Prüfung und Bewertung der Bioakkumulationsneigung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen.

In § 15 des Pflanzenschutzgesetzes von 1986 steht, daß Pflanzenschutzmittel zugelassen werden können, wenn das Pflanzenschutzmittel bei bestimmungsgemäßer und sachgerechter Anwendung oder als Folge einer solchen Anwendung, keine sonstigen Auswirkungen, insbesondere auf den Naturhaushalt, hat, die nach dem Stande der wissenschaftlichen Erkenntnisse nicht vertretbar sind. Der Vertretbarkeitsgesichtspunkt spielt hier eine große Rolle.

Der Naturhaushalt ist definiert als seine Bestandteile Boden, Wasser, Luft, Tier- und Pflanzenarten und das Wirkungsgefüge zwischen ihnen. Über dieses Wirkungsgefüge wollen wir uns in den nächsten Stunden unterhalten. Wir möchten hiermit den Stand des Wissens zu dem Thema präsent machen. 1990 hat ein UBA-Workshop stattgefunden. Bereits 1987 gab es einen Forschungsbericht der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Daneben gab es eine Reihe nationaler und internationaler Veranstaltungen, die sich mit dem Thema Bioakkumulation befaßt haben.

Wir haben gemeint, daß es nun 1992 wieder an der Zeit sein könnte, den Stand des Wissens zu hinterfragen.

Ich bedanke mich besonders bei den Gastrednern, die bereit sind, hier das Wort zu ergreifen. Mein Dank gilt auch den Mitarbeitern der Abteilung, von denen der Anstoß kam, eine solche Tagung durchzuführen. Hervorheben möchte ich Herrn Dr. Wilkening, der die Last der Vorbereitung zu tragen hatte. Ich möchte mich auch bei Herrn Dr. Rothert bedanken, der die Gesprächsleitung übernommen hat. Dies ist sicherlich keine leichte Aufgabe.

Ich hoffe, daß wir eine angeregte Diskussion haben werden. Ich darf jetzt ihnen, Herr Rothert, den Vorsitz übergeben und wünsche der Veranstaltung einen erfolgreichen Verlauf.

1. Teil

Grundsatzreferate

Bioakkumulation in aquatischen Systemen - Prüfung und Bewertung

Roland Nagel

1. Definition

Unter der Bioakkumulation versteht man die Anreicherung von Umweltchemikalien in Organismen, wobei die Prozesse der Biomagnifikation von denen der Biokonzentration unterschieden werden. Als Biokonzentration wird die unmittelbare Aufnahme von Substanzen aus dem Medium bezeichnet. Diese kann beispielsweise bei Fischen über die Kiemen oder über die Haut erfolgen. Die Biomagnifikation beschreibt die Aufnahme von Chemikalien mit der Nahrung.

2. Allgemeine Bedeutung

Kaum ein Aspekt der ökotoxikologischen Bewertung von Umweltchemikalien ist so populär, wie die Anreicherung von Chemikalien in der Nahrungskette. Das Modell wurde aufgrund der Beobachtung entwickelt, daß die Rückstände von Umweltchemikalien in Organismen mit der trophischen Stufe korreliert werden können. Dies zeigte beispielsweise die erste Untersuchung dieser Art von *Woodwell* und Mitarbeitern aus dem Jahr 1967, die die DDT-Belastung in 40 Organismen im Ästuar des Carmens River untersuchten. Die Vorstellung beruht auf der Annahme, daß Umweltchemikalien, die mit der Nahrung aufgenommen und nicht metabolisiert werden, nicht ausgeschieden werden können und somit akkumulieren. Unterstellt man weiterhin als ökologische Faustregel, daß die Biomasse von trophischer Stufe zu trophischer Stufe um den Faktor 10 abnimmt, dann werden die Befunde plausibel, wonach Substanzen innerhalb der Nahrungsnetze angereichert werden können. Diese Bioakkumulation kann, wie das Beispiel der polychlorierten Biphenyle zeigt, zu einer erheblichen Belastung auch der menschlichen Muttermilch führen.

3. Stellung der Bioakkumulation im Rahmen der ökotoxikologischen Risikobewertung von Chemikalien

Bei der Bewertung der Bioakkumulation müssen zwei Aspekte unterschieden werden. Aus der Anreicherung von Fremdstoffen in Organismen, die für den menschlichen Verzehr bestimmt sind, ergibt sich eine Belastung für den Menschen. Bei der Bewertung dieser Belastung werden mit Methoden der Säugertoxikologie duldbare Aufnahmemengen ermittelt und gegebenenfalls Höchstmengen festgelegt. Dies soll hier nicht diskutiert werden. Vielmehr soll der ökotoxikologische Aspekt der Bioakkumulation behandelt werden. Dabei stellt sich die Frage, welche Konsequenzen sich aus der Anreicherung für die Organismen selbst ergeben und welchen Stellenwert die Bioakkumulation bei der ökotoxikologischen Bewertung von Chemikalien einnimmt. Bei dieser Bewertung werden der Exposition (die gemessene oder abgeschätzte Konzentration einer Chemikalie in den Umweltkompartimenten Boden, Wasser und Luft) gemessene Effektkonzentrationen

gegenübergestellt. Aus dem Abstand der beiden Konzentrationen ergibt sich das Risiko. Die Bioakkumulation steht bei dieser Betrachtungsweise als eigenständiger Parameter "zwischen" Exposition und Effektkonzentration und wird auch im Rahmen des Chemikaliengesetzes und des Pflanzenschutzgesetzes als eigenständige Größe bei der Bewertung angesehen.

3.1. Bioakkumulation nach Chemikaliengesetz und Pflanzenschutzgesetz

Das Akkumulationspotential einer Substanz wird aufgrund ihrer Lipophilie abgeschätzt, wobei als Deskriptor für diese physiko-chemische Eigenschaft der Verteilungskoeffizient Oktanol-Wasser (P) verwendet wird. Bei einem $\log P$, kleiner als 2,7 bzw. 3,0 ist nach der derzeitigen Vollzugspraxis von Chemikaliengesetz bzw. Pflanzenschutzgesetz kein Hinweis auf eine Bioakkumulation gegeben. Ist der $\log P$ eines Pflanzenschutzmittels größer als 3,0, dann wird unmittelbar ein Akkumulationstest mit Fischen durchgeführt. Dieser Test ist nach dem Chemikaliengesetz erst in Stufe 1 vorgesehen, doch kann er bei Substanzen mit einem $\log P$ größer als 2,7 auch in der Grundstufe durchgeführt werden, wenn noch weitere Faktoren erfüllt sind.

Bei etwa 50 % der Pflanzenschutzmittel und der Substanzen, die dem Chemikaliengesetz unterliegen, ist der $\log P$ größer als 3,0 bzw. 2,7 (Beek, 1991).

Bei dieser Vorgehensweise wird folglich für etwa die Hälfte aller Chemikalien, ausgehend von einer physiko-chemischen Eigenschaft, das Bioakkumulationspotential mittels der Biokonzentration in Fischen geprüft. Die der Bewertung zugrunde liegenden Daten sind also in der Regel Biokonzentrationsfaktoren, die bei Fischen ermittelt wurden. Ob dieses Verfahren zulässig ist und welche Probleme dabei bestehen, soll im Folgenden diskutiert werden. Zuvor sollen jedoch die bei der Anreicherung von Chemikalien in Fischen beteiligten Prozesse vorgestellt werden.

4. Toxikokinetik in Fischen

Die Vorgänge, die der Bioakkumulation bei Fischen zugrunde liegen, wurden in zahlreichen Arbeiten untersucht (Übersicht bei Nagel 1988, Connell 1990). Die Anreicherung ergibt sich aus den Interaktionen von Aufnahme, Verteilung, Bindung und Speicherung, Metabolisierung und Ausscheidung (Abb. 1).

4.1 Aufnahme

Bei Fischen kann eine Aufnahme von Fremdstoffen über die Kiemen, den Magen-Darm-Trakt und die Haut erfolgen. Oft werden die Kiemen als der einzige signifikante Aufnahmeort angesehen, was sich in mathematischen Modellen niederschlägt, bei denen die Geschwindigkeit der Aufnahme aus der Extraktionseffizienz der Kieme berechnet wird (z.B. Neely 1979, Spacie & Hamelink 1982, McKim et al. 1986, Barber et al. 1988). Saarikoski et al. (1986) zeigten jedoch, daß vom Guppy ein Viertel des insgesamt aufgenommenen Pentachlorphenols und ein Drittel der Buttersäure durch die Haut aufgenommen werden.

Welche Prozesse zur Aufnahme einer Substanz beitragen, hängt von den Eigenschaften der betreffenden Verbindung ab (Barron 1990). Die Anreicherung über die Nahrung wird im Biokonzentrationstest nicht berücksichtigt.

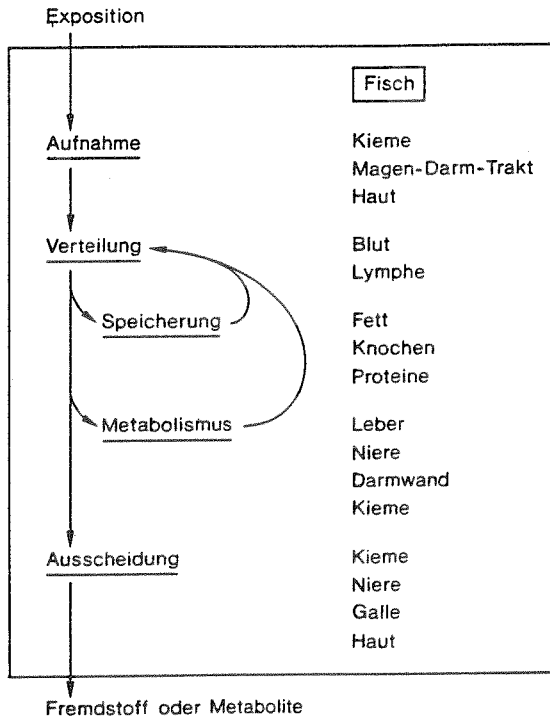


Abb. 1: Die wichtigsten fremdstoff-kinetischen Wege und Prozesse bei Fischen (aus Nagel 1988)

4.2 Verteilung und Speicherung

Die Verteilung von Fremdstoffen in einem Fisch erfolgt über das Blutgefäßsystem und die Lymphe, lipophile Substanzen können dabei an Plasmaproteine gebunden werden (Übersicht bei Walker 1975 und Nagel 1988). Wichtig für die Bewertung der Bioakkumulation ist die Tatsache, daß sich die Substanzen nicht gleichmäßig in den Geweben verteilen. Die Unterschiede in den Verteilungsfaktoren einzelner Organe sind besonders für lipophile Substanzen oft sehr groß.

Tabelle 1 zeigt die Organverteilung verschiedener Phenolderivate beim Zebraabrbiling. Die Ergebnisse (Trenz 1984) sind deshalb besonders aussagekräftig, weil hier die Organverteilung im Gleichgewicht von Aufnahme und Elimination bestimmt wurde. Die Anreicherung in der Leber und im Darmtrakt ist stärker und im Muskel gering. Auffallend ist die starke Akkumulation von Phenol im Gehirn.

Aus den Befunden zur Organverteilung ergibt sich, daß der Biokonzentrationsfaktor nur

Tab. 1: Verteilung von unterschiedlich substituierten Phenolen im Zebraabbling

	Ph	oKr	pCP	pNP	PCP
Resttier	0.93	0.82	0.70	0.80	1.00
Kieme	2.00	1.80	1.30	1.90	2.70
Gehirn	2.20	0.70	0.40	0.40	0.50
Muskel	0.50	0.40	0.30	0.16	0.20
Gonaden	1.20	1.30	1.70	1.30	1.20
Niere	n.d.	1.30	1.50	1.00	2.60
Leber	2.40	2.90	3.30	4.30	6.60
Darm	2.50	4.70	4.00	5.00	8.40

Die Werte geben den Verteilungsfaktor (VF) und nicht den BCF (!) an.

$$VF = \frac{C \text{ Organ } [\mu/g]}{C \text{ Gesamttier } [\mu/g]}$$

Ph: Phenol, oKr: o-Kresol, pCP: p-Chlorphenol, pNP: p-Nitrophenol, PCP: Pentachlorphenol

eine grobe Meßgröße für die Anreicherung einer Substanz ist und keine Rückschlüsse auf die Konzentration in einem Zielorgan zuläßt. Die relativ stärkere Anreicherung in einem Organ kann ein Hinweis sein auf den Ort der Metabolisierung oder Ausscheidung, auf den Ort der toxischen Wirkung oder lediglich auf eine unspezifische Speicherung.

Zum Verständnis der kinetischen Vorgänge und zur Bewertung der Anreicherung sollten daher die Daten zur Verteilung vorliegen. In Tabelle 2 ist exemplarisch gezeigt, daß sich bei gleicher Konzentration im Haltungswasser unterschiedliche Konzentrationen in Leber und Gonade einstellen können und zwar in Abhängigkeit von der Anreicherung und der Verteilung der Substanzen im Fisch.

4.3 Metabolisierung

Sowohl die Verteilung als auch die Ausscheidung und damit auch die Anreicherung einer

Tab. 2: Konsequenz von Biokonzentration und Verteilung von Chemikalien im Zebrabärbling auf die Konzentrationen in möglichen Zielorganen

	MW	C Wasser [mg/L]	BCF	VF Leber	VF Gonade	C [nmol/g] Leber Gonade	
Atrazin	216	0.1	7	8	4	23	13
4-Nitro- phenol	139	0.1	41	4	1.4	115	43
3,4-Dichloro- anilin	162	0.1	30	3	1	60	20
Lindan	291	0.1	798	2	2	548	548

Substanz wird dadurch bestimmt, wie und in welchem Maß sie metabolisiert wird (*Lech & Bend 1980, Kleinow et al. 1987, Hawker & Connell 1989*). Eine Übersicht über die Metabolisierungsreaktionen geben *Lech & Vodcnik (1984)*.

Charakteristisch sind Oxidation, Reduktion und Hydrolyse (Phase I - Reaktionen) und/oder Konjugation (Phase II - Reaktionen). Die Konsequenzen der Veränderungen durch Metabolisierung sind in Tabelle 3 dargestellt.

Oft kann die Metabolisierung zur Erklärung herangezogen werden, wenn der gemessene BCF geringer ist, als man aufgrund der Lipophilie erwarten kann (*Sijm & Opperhuizen 1988*). Solche Deutungen sind aber nicht immer zulässig, wie die Untersuchungen zum Metabolismus von Anilinen beim Zebrabärbling zeigen (*Zok et al. (1991)*).

Tab. 3: Konsequenzen der metabolischen Veränderung von Fremdstoffen (nach Nagel 1988)

Einfügen oder Maskieren von funktionellen Gruppen, d.h. die physiko-chemischen, aber auch die toxischen Eigenschaften können verändert werden.

Veränderung der Konzentration des Fremdstoffes in Blut, Lymphe und Geweben.

Das Molekulargewicht und die Polarität des Fremdstoffes werden häufig durch die Reaktionen der Phase II erhöht. Dadurch können zusätzliche Eliminationswege, beispielsweise die renale oder biliäre Ausscheidung eröffnet werden.

Bei der Bewertung muß das Akkumulationspotential von Ausgangssubstanz und Metaboliten berücksichtigt werden. Eine Verringerung des BCF gegenüber dem aus der Lipophilie kalkulierten Wert kann der Metabolismus nur dann bewirken, wenn die Metabolite weniger lipophil sind und/oder besser ausgeschieden werden können als die Stammsubstanz.

4.4 Ausscheidung

Die Ausscheidung von Chemikalien erfolgt bei Fischen über Kiemen, Niere und Haut und mit der Galle. Der Anteil der einzelnen Wege an der Gesamtausscheidung ist stark von den Eigenschaften der Substanz und ebenfalls vom Metabolismus abhängig. Es läßt sich für alle Wege eine Tendenz zur geringer werdenden Elimination mit steigender Lipophilie ableiten (Übersicht bei Nagel 1988).

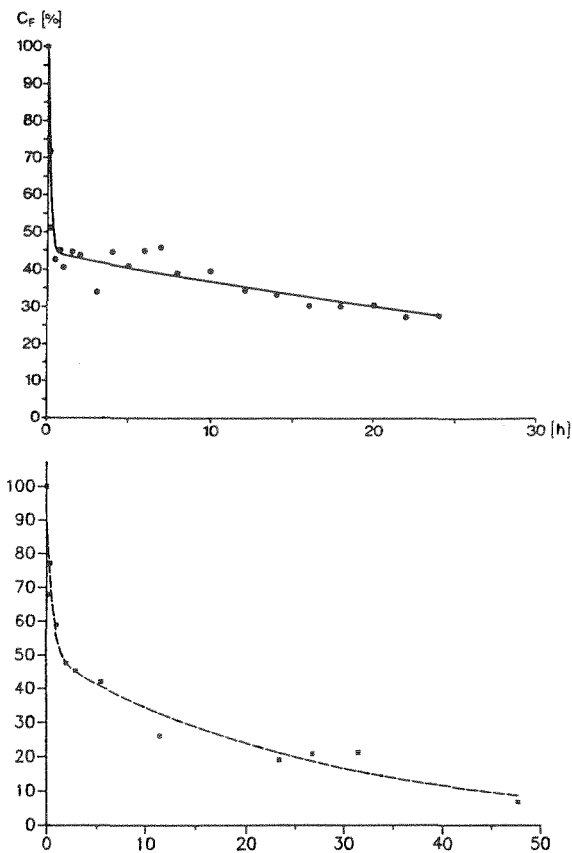


Abb. 2: Beispiele für einen biphasischen Eliminationsverlauf
oben: Elimination von Atrazin bei Dottersacklarven des Zebrafährblings (Görge & Nagel, 1990)
unten: Elimination von 2-Chloranilin beim Zebrafährbling (Kalsch et al., 1991)

Die Ausscheidungskinetik eines Fremdstoffes spiegelt folglich nicht allein die Elimination wider, sondern auch Verteilung und Metabolismus. Im Idealfall, das heißt bei lipophilen Substanzen, die durch Diffusion verteilt und ausgeschieden und nicht metabolisiert werden sowie keine spezifischen Bindungen eingehen, entspricht die Eliminationskinetik einer einfachen Exponentialfunktion. Es zeigt sich jedoch bei ausreichender Versuchsdauer und Auflösung in der Probennahme, daß deren Verlauf oft biphasisch oder noch komplexer ist. Abbildung 2 zeigt zwei Beispiele der biphasischen Elimination. Eine allgemeingültige Deutung der Verhältnisse kann nicht gegeben werden (*Zok 1986, Nagel 1988*). Zum einen können Unterschiede zwischen metabolischer und Metabolismus-unabhängiger Elimination auftreten (*Blau et al. 1975, Karara & Hayton 1989*). Eine weitere Erklärungsmöglichkeit ist die vorübergehende Bindung an Lipoproteine im Blut (*Esser 1986*). Außerdem zeigen Studien zur Organverteilung, daß die Elimination aus den Organen oft mit verschiedener Geschwindigkeit erfolgt (z.B. *Grzenda et al. 1970, McKim et al. 1986*) (siehe auch 5.2).

5. Prüfung der Biokonzentration bei Fischen

Eine Übersicht über die fünf relevanten Testvorschriften (*OECD 1981*) gibt Tabelle 4. Die OECD strebt eine umfassende Revision der Testguidelines im Sinne einer Harmonisierung an, Guideline 305 E ist bereits überarbeitet (*Caspers & Schüürmann 1991, Kristensen & Tyle 1991*). Außerdem liegen Testvorschriften der EPA (United States Environmental Protection Agency) vor.

5.1 Diskussion der methodischen Ansätze

5.1.1 Statische Bedingungen - Durchflußbedingungen

Statische Tests sind experimentell weniger aufwendig und für die Bestimmung des BCF von weniger lipophilen Substanzen geeignet (*Esser & Moser 1982*). Der Nachteil der statischen Testverfahren ist, daß bei flüchtigen oder stark lipophilen Substanzen Fehler auftreten können, weil die Wasserkonzentration stark sinkt beziehungsweise die Gleichgewichtseinstellung problematisch wird (*Ernst 1977, Renberg et al. 1985, Butte et al. 1988*). Bei Einhalten der durch die Guideline vorgeschriebenen Eignungsprüfungen ist damit aber nicht zu rechnen. Die Expertengruppe der OECD sieht einen Durchflußtest vor, wenn das statische Verfahren nicht anwendbar oder nicht valide ist (*Esser & Moser 1982*). Unter Durchflußbedingungen lassen sich genauere und besser reproduzierbare Werte bestimmen (*Davies & Dobbs 1984, Butte et al. 1988, Connell 1991*). In der Praxis werden zumeist die Guidelines 305 C und E eingesetzt (*Caspers & Schüürmann 1991, Kristensen & Tyle 1991*). Es wäre zu begrüßen, wenn mit der Harmonisierung die Wahl des Expositionsmodus reglementiert wird.

5.1.2 Gleichgewichtsmethode - Kinetische Methode

Um die Vergleichbarkeit von BCF-Werten aus Fisch- und Wasserkonzentration zu ermöglichen, ist die Gewährleistung der Gleichgewichtseinstellung erforderlich. Bei Substanzen

Tab. 4: Bestimmung von Biokonzentrationsfaktoren in Fisch/Wasser-Systemen (Butte 1991)

Fisch-Test OECD 305	experimenteller Aufwand	Berechnung des BCF	Information
Statisch (D)	gering	c_f/c_w	BCF (BCF _{8d})
Sequentiell statisch (A)	gering - mittel	c_f/c_w	BCF = $f(c_w), k_2$
Semi- statisch (B)	gering - mittel	c_f/c_w	BCF _{28d}
Durchfluß (C) - Plateau -	mittel	c_f/c_w	BCF (BCF _{56d})
Durchfluß (E) - Kinetisch -	hoch	k_1/k_2	BCF _∞ , k_1 , k_2

k_1 , k_2 : Geschwindigkeitskonstanten von Aufnahme und Elimination
 c_f , c_w : Konzentration im Fisch bzw. im Wasser

mit $BCF < 1000$ kann die Einstellung des Gleichgewichtes innerhalb von 30 Tagen erwartet werden (Davies & Dobbs 1984). Wenn die Verbindung langsam im Organismus verteilt und langsam eliminiert wird, ist aber ein großer Zeitraum für die Gleichgewichtseinstellung notwendig, (Oliver & Niimi 1984, Barron 1990, Connell 1991). Dies gilt für sehr lipophile Substanzen, aber auch für große Moleküle. Nach theoretischen Berechnungen ergibt sich für lipophile Substanzen von $\log P = 6$ mit vernachlässigbarem Metabolismus eine Zeit von 0.5 Jahren. Wird $\log P$ größer als 8 bis 10, ist zu erwarten, daß im Laufe des Lebens eines Goldfisches, einer Muschel oder einer Daphnie keine Gleichgewichtseinstellung erfolgen kann (Hawker & Connell 1985). Außerdem ist die Zeit der Gleichgewichtseinstellung konzentrationsabhängig (Oliver & Niimi 1985).

Es ergibt sich also, daß auch bei Verwendung von Test 305 C die Einstellung des Gleichgewichtes problematisch sein kann. Hawker & Connell (1985) schlagen vor, auch "BCF"-Werte unter Nicht-Gleichgewichtsbedingungen (für Substanzen mit P zwischen 2 und 6,5) zu Vergleichen heranzuziehen, wenn eine definierte Expositionszeit eingehalten wird (vgl. Freitag et al. 1982, auch OECD Guideline 305 D). Das ist jedoch nur dann möglich, wenn das zugrundeliegende kinetische Modell (siehe 5.2) bei den Substanzen identisch ist.

Bei der kinetischen Methode (Branson et al. 1975, entsprechende Guideline 305 E) wird der BCF aus den Geschwindigkeitskonstanten von Aufnahme und Elimination berechnet. Die Geschwindigkeitskonstante der Aufnahme erhält man aus der Anreicherungskinetik

unter Einbeziehung der Geschwindigkeitskonstanten der Elimination, welche direkt aus der Eliminationskinetik errechnet werden kann. Wenn bei langen Versuchszeiten wachsende Tiere verwendet werden, muß dabei die Wachstumsverdünnung berücksichtigt werden (*Branson et al. 1985*). Man geht davon aus, daß die Akkumulation der Substanz im Testorganismus durch ein Einkompartimentmodell mit Eliminationskinetik erster Ordnung beschrieben werden kann. Ist dies in der Realität nicht der Fall, so ist die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten der Aufnahme mit dieser Methode nicht korrekt. Die Validität der Berechnung wird bei der Überarbeitung der Guidelines überprüft (*Kristensen & Tyle 1991*).

5.2 Modelle und mathematische Beschreibung der Biokonzentration

Zur Beschreibung der Biokonzentration wurden die in der Pharmakokinetik verwendeten Kompartimentmodelle eingeführt (*Blau et al. 1975, Moriarty 1975, Nagel & Urich 1980*). Eine Übersicht über Möglichkeiten der mathematischen Beschreibung, die in erster Linie auf Kompartimentmodellen beruhen, geben *Spacie & Hamelink (1982)*.

Die Elimination von Chemikalien aus aquatischen Organismen wird von den meisten Autoren an eine Reaktionskinetik erster Ordnung angepaßt, der ein Einkompartimentmodell zugrunde liegt (Übersicht bei *Connell 1988a und Smith et al. 1990*). Dieser Ansatz trifft im Idealfall zu, das heißt bei lipophilen Substanzen, die nicht metabolisiert werden, wenn hier die Biokonzentration im Prinzip als Verteilung zwischen Wasser und Lipidphase des Fisches erfolgt (*Connell 1988a*). In der Praxis zeigt die Eliminationskinetik vieler Verbindungen, daß die Verhältnisse komplizierter sind, so daß andere Modelle die Daten besser beschreiben.

Die Realisierung von Zwei- bzw. Mehrkompartimentsystemem bei der Biokonzentration hat Konsequenzen für die Bewertung. Der Biokonzentrationsfaktor selbst ändert sich nicht wesentlich in Abhängigkeit vom Modellierungsansatz (*Kristensen & Tyle 1991*). Das gilt zumindest dann, wenn die Eliminationsphase unter Gleichgewichtsbedingungen gestartet wird (*Butte 1991*). Jedoch ergeben sich Unterschiede, wenn der Verbleib einer Chemikalie in einem Lebewesen bewertet werden soll (*Nagel 1988, Butte 1991*). Erfolgt nämlich die Elimination aus einem zweiten Kompartiment sehr langsam, so kommt es bei Einkompartimentmodellierung zu einer falschen Einschätzung der Retention. Dieser Aspekt muß bei der Bewertung berücksichtigt werden.

5.3 Fazit

Bei der Prüfung der aktuellen Methoden haben sich die folgenden kritischen Aspekte ergeben:

1. Es besteht die Gefahr, daß zu niedrige Biokonzentrationsfaktoren gemessen werden, weil die Bioverfügbarkeit von der angenommenen Konzentration im Wasser abweicht. Das gilt in besonderem Maße für lipophile Substanzen.

2. Es besteht die Gefahr, daß bei Anwendung eines Einkompartimentmodells eine Verbindung mit niedrigem BCF als unbedenklich bewertet wird, auch wenn aus einem zweiten Kompartiment nur sehr langsam eliminiert wird.
3. Die Vergleichbarkeit von Ergebnissen aus unterschiedlichen Labors kann nicht vorausgesetzt werden.

6. Quantitative Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (QSAR)

Für Substanzen, die in der Grundstufe des Chemikaliengesetzes zugelassen werden sollen, wird der Biokonzentrationsfaktor aus deren physiko-chemischen Eigenschaften abgeschätzt. Auch im Vollzug des Pflanzenschutzgesetzes sowie in der Gesetzgebung anderer Länder spielt die Abschätzung des BCF eine wichtige Rolle. Quantitative Struktur-Aktivitäts-Beziehungen werden außerdem dafür eingesetzt, bei Screening-Programmen möglicherweise umweltgefährdende Substanzen zu finden (z.B. *Gillett 1983*).

6.1 Kennzeichen von Substanzen mit hohem Akkumulationspotential

Das Bioakkumulationspotential von Umweltchemikalien beruht auf charakteristischen Merkmalen (*Connell, 1988b, 1990, Nendza 1991*), welche in der Struktur und in physiko-chemischen Eigenschaften verankert sind (s. Tab. 5). Enthält eine Verbindung einen hohen Anteil an aliphatischen und aromatischen C-C-Bindungen, an C-H- und C-Halogen-Bindungen, so hat sie erwartungsgemäß eine hohe Lipophilie sowie eine hohe Stabilität in biotischen und abiotischen Systemen. Dagegen ist die Bioakkumulation von leicht abbaubaren, sehr flüchtigen oder chemisch instabilen Substanzen gering (*Esser & Moser 1982, van Gestel et al. 1985*). Bei instabilen Substanzen akkumulieren jedoch möglicherweise ihre Abbauprodukte.

Tab. 5: Strukturelle Kennzeichen akkumulierender Substanzen

-
- aliphatische und aromatische Reste, in stabilen Bindungen substituiert, keine funktionellen Gruppen
 - mittlere bis hohe Lipophilie (im log P - Bereich 2 bis 6 steigend, ab 6 abfallend)
 - geringe Wasserlöslichkeit (kleiner als 18 $\mu\text{mol/L}$)
 - mittleres bis hohes Molekulargewicht (Bereich 100 bis 500)
 - molekularer Durchmesser nicht zu hoch (Grenze etwa bei 9,5 Å)
 - hohe Stabilität und geringe Abbaubarkeit (Bodenpersistenz im Bereich von Jahren)
 - sehr geringer Ionisationsgrad
-

6.2 Parameter der Quantitativen Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Die Beziehung des Biokonzentrationsfaktors zu physiko-chemischen Eigenschaften ist mit Einschränkungen auch quantitativ. Das geht aus Quantitativen Struktur-Aktivitäts-Beziehungen hervor. Als Parameter zur Abschätzung der Bioakkumulation wird hauptsächlich die Lipophilie eingesetzt, gemessen durch den Verteilungskoeffizient im System Oktanol/Wasser; der Abschätzung liegen log P - log BCF - Beziehungen zugrunde.

6.2.1 Linearer Bereich in der log BCF - log P - Beziehung

Der lineare Zusammenhang zwischen log BCF und log P ist durch viele Untersuchungen experimentell belegt. Die Beziehung kann durch eine Gleichung der Form:

$$\log \text{BCF} = a \log P + b$$

beschrieben werden, wobei a und b empirisch bestimmte Konstanten sind. Mackay (1982) leitet die lineare Beziehung aus dem Fugazitätsmodell ab. Der lineare Bereich wird zwischen log P-Werten von 1 bis 3 und 5,5 bis 7 angesetzt (Veith et al. 1979, Esser 1986, Isnard & Lambert 1988, Connell 1990, Kristensen & Tyle 1991). Für die Biokonzentration von 14 chlorierten Nitrobenzolen bei der Regenbogenforelle ergab sich jedoch keine Korrelation zwischen log P und log BCF (Niimi et al. 1989).

Die Werte von a und b ergeben sich durch die Auswahl der Testsubstanzen und die Wahl des Testorganismus sowie durch experimentelle Gegebenheiten. Im Idealfall ist für lipophile, nicht abbaubare Substanzen die Steigung a der Geraden gleich 1, und der Achsenabschnitt b entspricht dem Logarithmus des Fettgehaltes des Testorganismus (Connell 1988a). Wird der BCF auf den Lipidgehalt bezogen, ist b im Idealfall 0. Das setzt voraus, daß Oktanol ein ideales Surrogat für den Lipidanteil im Organismus ist. In der Praxis sind die Werte der Konstanten sehr unterschiedlich. Für a liegen die Werte zwischen 0.46 (Veith et al. 1980) und 1.02 (Saarikoski & Viluksela 1982), für b zwischen -1.82 (Saarikoski & Viluksela 1982) und 0.32 (Gobas & Mackay 1987). Abbildung 3 zeigt sechs ausgewählte Regressionsgeraden zusammen mit 132 BCF-Werten aus verschiedenen Quellen (Nendza 1991).

6.2.2 Nichtlinearer und gesamter Bereich der log BCF - log P - Beziehung

Bei einigen Untersuchungen zeigte sich, daß der log BCF im superlipophilen Bereich (etwa ab log P = 6) mit steigender Lipophilie nicht mehr linear ansteigt (Könemann & van Leeuwen 1980, Spacie & Hamelink 1982, Brooke et al. 1986, Anliker & Moser 1987, Gobas et al. 1989). Es werden verschiedene Kurvenverläufe, z.B. sigmoide oder parabolische Kurven angenähert (Übersicht bei Esser 1986). Die parabolische Beziehung kann durch eine polynomische Gleichung beschrieben werden (Connell & Hawker 1988).

Drei Beispiele von Kurven, die auch den nichtlinearen Bereich berücksichtigen, sind in Abbildung 4 dargestellt. Die markierte Kurve (*) zeigt ein alternatives Konzept zu den üblichen QSARs: Nendza (1991) schlägt eine "Worst-case-Kurve" vor, die nicht durch

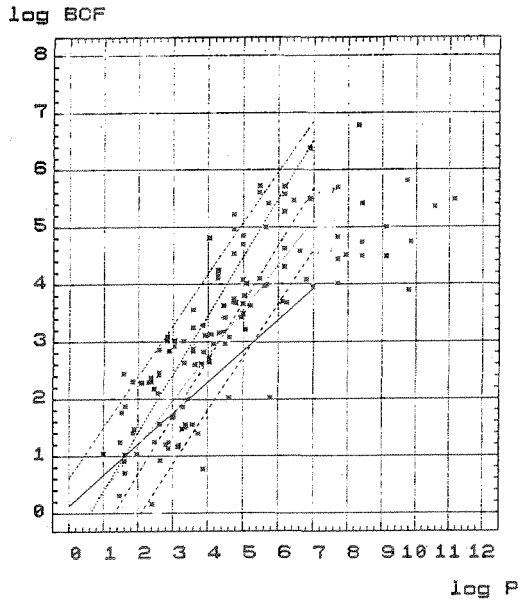


Abb. 3: Vergleich von 132 BCF-Werten mit linearen $\log P - \log BCF$ Korrelationen (nach Nenzda, 1991)

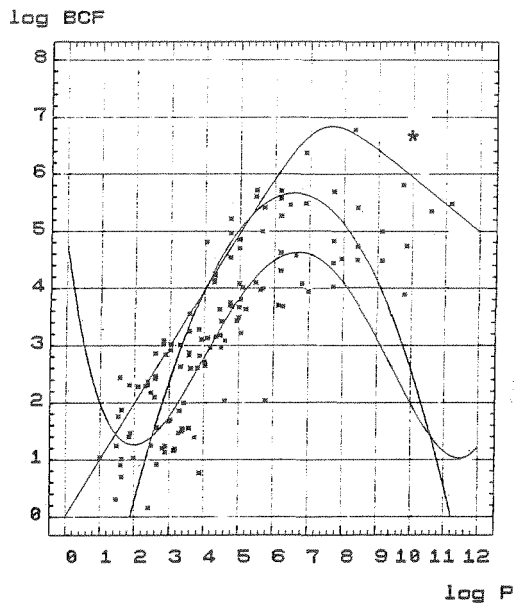


Abb. 4: Vergleich von 132 BCF-Werten mit nicht-linearen $\log P - \log BCF$ Korrelationen (nach Nenzda, 1991)

Regression gebildet wird, sondern eine Abschätzung des größtmöglichen Akkumulationspotentials bei gegebener Lipophilie erlaubt. Dieses Konzept gibt eine größere Sicherheit bei der Abschätzung des BCF, da Mittelwerte im Einzelfall weit überschritten werden können.

6.2.3 Hydrophyle Substanzen

Es wird angegeben, daß der BCF im unteren Bereich der $\log P - \log BCF$ -Kurve größer als erwartet ist (*Spacie & Hamelink 1982, Hawker 1990a*). Die Untersuchung von *Nagel (1988)* belegt diesen Befund nicht, denn die beiden hydrophilsten der 29 untersuchten Substanzen, Harnstoff und Methanol ($\log P = -1.56$ bzw. -0.7), werden gut durch die Gerade repräsentiert. Allerdings ist die QSAR-Abschätzung des BCF von hydrophilen Substanzen mit besonders großer Unsicherheit verbunden. *Geen et al. (1984)* zeigten in einem Literaturvergleich, daß Berechnungen des BCF für das Insektizid Acephat aus der Wasserlöslichkeit bzw. aus dem Verteilungskoeffizient eine 400fache Schwankungsbreite aufweisen, wobei in zwei Fällen der an der Forelle experimentell ermittelte Wert unterschätzt und in acht Fällen überschätzt wurde. Die Validität von QSAR-Modellen ist für Substanzen mit $\log P < 3$ bzw. $2,7$ aber besonders wichtig, weil im Vollzug des Chemikaliengesetzes und des Pflanzenschutzgesetzes für diesen Bereich der Verteilungskoeffizient anstelle des BCF zur Bewertung herangezogen wird.

6.3 Fazit

Der Ansatz von QSAR-Konzepten aus dem Verteilungskoeffizienten beruht auf Annahmen, die nur begrenzt Gültigkeit haben: Zum einen wird ein Gleichgewichts- und Verteilungsmodell zugrunde gelegt, welches die biologischen Vorgänge stark vereinfacht. Zum anderen wird angenommen, daß Oktanol ein angemessenes Surrogat für die Lipidfraktion des Organismus ist (Übersicht bei *Hawker & Connell, 1989*), vgl. *Chiou (1985)*, was nicht unumstritten ist (*Dobbs & Williams 1983, Opperhuizen et al. 1988, Hawker 1990b*).

Die Variabilität der aufgestellten $\log BCF - \log P$ -Beziehungen und der hohe Fehler beim Einsatz von QSARs führen zu dem Schluß, daß die Abschätzung des Biokonzentrationsfaktors aus dem Verteilungskoeffizienten für eine Bewertung der Bioakkumulation kritisch ist. Die "Worst-case-Kurve" bietet aber Vorteile vor den üblichen, durch Regression ermittelten Funktionen. *Caspers & Schüürmann (1991)* regten an, QSARs nicht global, sondern für einzelne Substanzklassen getrennt anzuwenden.

7. Fragen der Extrapolation

Um eine ökotoxikologische Bewertung von Bioakkumulationsfaktoren durchführen zu können, muß die Übertragbarkeit sowohl auf andere Organismen als auch auf die Situation im Freiland geprüft werden.

7.1 Extrapolierung zwischen Organismen

7.1.1 Fisch - Fisch

Die Testguidelines (OECD 1981) geben Empfehlungen für die Wahl des Testorganismus, schreiben jedoch keine Art vor. Es ist aber bekannt, daß direkt oder indirekt artbedingte Parameter, wie Größe der Fische, deren Lipidgehalt, die Wassertemperatur und der Salzgehalt des Wassers, den Biokonzentrationsfaktor bestimmen können. Es liegen einige vergleichende Untersuchungen zur Biokonzentration bei verschiedenen Fischarten vor. Davies & Dobbs (1984) fanden in einem Literaturvergleich an 5 Species (*Pimephales promelas*, *Lepomis macrochirus*, *Lepomis cyanellus*, *Salmo gaidneri* und *Salvelinus fontinalis*) z. T. erhebliche Schwankungen (bis zu Faktor 15 bei 1,2,4-Trichlorbenzol). Da unterschiedliche Quellen verwendet wurden, können die Differenzen jedoch auch andere Ursachen haben. Roberts & Fisher (1985) bestimmten unter vergleichbaren Bedingungen den BCF von Kepone bei zwei marinen Fischen. Bei *Brevoortia tyrannus* (21700 bis 60200) waren die Werte etwa 10mal so hoch wie bei *Menidia menidia* (2300 bis 9750). Auch in anderen Studien wurden speziesabhängig etwa 10fache Unterschiede im Biokonzentrationsfaktor des Fungizides Carbendazim (Palawski & Knowles 1986), des Insektizides Fenitrothion (Takimoto et al. 1987) beziehungsweise des Herbizides Fluridon (West et al. 1983) gefunden.

Die Variabilität kann bei Beziehung auf den Lipidgehalt zum Teil erniedrigt werden (Langer 1983, Geyer et al. 1985). Im konkreten Fall kann ein BCF aber nicht auf eine andere Fischart übertragen werden, obwohl die Extrapolation von Art zu Art noch am ehesten möglich erscheint.

7.1.2 Fische - andere Tiergruppen

Connell (1991) hat für stabile, lipophile chlorierte Kohlenwasserstoffe gezeigt, daß im Vergleich zu den log BCF - log P -Beziehungen, die für den Fisch vorliegen, eine außergewöhnlich gute Übereinstimmung für Daphnie, Mollusken, Polychaeten und Oligochaeten und Mikroorganismen besteht. Bei diesen Korrelationen muß jedoch die Auswahl der Testsubstanzen berücksichtigt werden. Wie groß die Unterschiede im BCF für aquatische Organismen sein können, zeigen exemplarisch die Daten in Tabelle 6.

Unterschiede im Bioakkumulationsverhalten in verschiedenen Organismen werden von den Autoren auf unterschiedlichen Lipidgehalt (Geyer et al. 1985) oder unterschiedliches Metabolisierungspotential (Lech & Bend 1980, Hawker & Connell 1986, Foster & Crosby 1986) oder auch Größenunterschiede (Davies & Dobbs 1984, Barron 1990) zurückgeführt. Welcher der Parameter in welchem Maße beteiligt ist, ist im Einzelfall schwer abzuschätzen. Bei der Extrapolation zwischen Tiergruppen spielt wahrscheinlich der Metabolismus eine entscheidende Rolle.

Nach dem bisherigen Erkenntnisstand kann ein allgemeines Konzept für die Extrapolation zwischen Tiergruppen nicht erstellt werden.

7.2 Determinanten der Bioakkumulation unter Umweltbedingungen

Laborexperimente werden unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Die Situation in der Umwelt ist jedoch variabel, und zahlreiche Parameter müssen für die Übertragung berücksichtigt werden. Beispielsweise können Expositionsdauer und -konzentrationen sowie Außenbedingungen wie die Temperatur, pH-Wert und Salzgehalt sich ändern (abhängig von der Jahreszeit o.ä.). Nicht nur adulte Tiere, sondern alle Entwicklungsstadien werden exponiert. Die Bioverfügbarkeit kann durch Bindung an Partikel oder Assoziation an gelöste Wasserbestandteile beeinflusst sein. Neben der Biokonzentration können die Organismen auch über die Nahrung belastet werden. Außerdem sind sie nicht nur Einzelsubstanzen, sondern zumeist einer komplexen Fremdstoffmatrix ausgesetzt.

7.2.1 Bioverfügbarkeit unter Umweltbedingungen

Die Bioverfügbarkeit ist ein sehr wichtiger Aspekt, der bei der Expositionsabschätzung berücksichtigt werden muß. *Baughman & Lassiter (1978)* geben eine Übersicht über Vorgänge, welche die Bioverfügbarkeit aus dem Wasser beeinflussen: Ionisierung saurer oder

Tab. 6: Vergleichende Untersuchungen zur Biokonzentration von zwei Umweltchemikalien

Fenitrothion <i>Takimoto et al. 1987b</i> "MBR", analog BCF		Abate <i>Stöhr 1976</i> BCF, Kinetische Methode	
<u>Fische</u>		<u>Fische</u>	
<i>Salmo gaidneri</i>	249	<i>Poecilia reticulata</i>	630
<i>Oryzias latipes</i>	540		
<i>Mugil cephalus</i>	30	<u>Krebse</u>	
		<i>Assellus aquaticus</i>	520
<u>Krebse</u>		<u>Insekten</u>	
<i>Daphnia pulex</i>	71	<i>Chironomus spec.</i>	1950
<i>Palaemon paucidens</i>	6		
<u>Mollusken</u>		<u>Mollusken</u>	
<i>Cipangopaludina jap.</i>	18	<i>Unio pictorum</i>	220
<i>Physa acuta</i>	53	<i>Anodonta cygnea</i>	160
		<i>Lymnea stagnalis</i>	1630
<u>Algen</u>		<u>Anneliden</u>	
<i>Chlorella vulgaris</i>	51	<i>Tubifex tubifex</i>	4500
<i>Nitzschia closterium</i>	102		

MBR = Verhältnis maximaler Biokonzentration

basischer Verbindungen, Hydrolyse, Photolyse, mikrobieller Abbau, Flüchtigkeit, Sorption.

Besonders eingehend wurden in den letzten Jahren die Vorgänge untersucht, die dem Gleichgewicht zwischen freier, bioverfügbarer und gebundener Substanz zugrunde liegen. Neben der Sorption an Sedimente findet auch eine Bindung an Wasserbestandteile statt, und zwar an gelöstes organisches Material, vor allem aquatischen Humus, oder an suspendierte Partikel. Eine Literaturübersicht geben *Loskill und Nagel, 1991*.

7.2.2 Bioakkumulation in definierten Gemischen

Es gibt einige Anhaltspunkte dafür, daß die Biokonzentration bei simultaner, multipler Exposition der Biokonzentration bei Einzelexposition entspricht (*Veith et al. 1979, Galassi & Calamari 1983*). Es gibt aber auch Hinweise auf Interaktionen bei physiologischen Vorgängen, die das kinetische Verhalten der Substanzen beeinflussen könnten, zum Beispiel die Induktion von Enzymen des Fremdstoffmetabolismus oder physikochemische Interaktionen zwischen Verbindungen (Übersicht bei *Linder et al. 1984*).

Schütz (1985) fand bei Golddorfen Interaktionen bei der Bioakkumulation von chlorierten aromatischen Verbindungen. In einem Gemisch aus Pentachlorphenol, Hexachlorbenzol und Lindan war die Akkumulation von Pentachlorphenol erhöht, wobei die Substanz metabolisches Zwischenprodukt der beiden anderen Verbindungen ist. Die Akkumulation von Hexachlorbenzol war dagegen bei Anwesenheit von Pentachlorphenol und Lindan stark vermindert, *Schütz* führte dies auf eine Steigerung des Metabolismus zurück. *Buchert (1988)* zeigte beim Zebrafisch ebenfalls Interaktionen in der Kinetik von Hexachlorbenzol, Pentachlorphenol und Phenol, wobei hier allerdings der Biokonzentrationsfaktor für Pentachlorphenol unter dem Einfluß von Hexachlorbenzol niedriger als in den Vergleichsversuchen war. Phenol wurde unter Einwirkung von Hexachlorbenzol stärker angereichert. *Buchert* kam aufgrund der vorliegenden Befunde zu dem Schluß, daß die synergistischen oder antagonistischen Effekte bei der kombinierten Gabe von Fremdstoffen vieldeutig sind und sich einer monokausalen Betrachtungsweise entziehen.

7.2.3 Andere Determinanten

Sijm (1991) hat die Faktoren diskutiert, welche die Bioakkumulation unter Freilandbedingungen beeinflussen können. Neben den bereits genannten Parametern sind dies Wachstum der Tiere, Fütterung und der Faktor Zeit. Bei wachsenden Organismen können "Ausdünnungseffekte" die Bioakkumulation herabsetzen (*Hamelink 1977*), was in einigen Modellen berücksichtigt wird (*Norstrom et al. 1976, Roberts et al. 1979, Branson et al. 1985*). Aus der kinetischen Modellierung geht hervor, daß das Wachstum unter Freilandbedingungen zu einer Verdünnung um den Faktor 2 bis 5 führen kann (*Thomann 1989*). Er kam zu der Feststellung, daß im Freiland viele Faktoren in nicht vorhersehbarem Ausmaß auf die Biokonzentration wirken.

7.3 Extrapolation auf die Situation in der Umwelt

Verschiedene Aspekte des Problem der Übertragung auf die Umweltsituation können gleichzeitig untersucht werden durch den Einsatz natürlicher Expositionsmedien im Experiment oder durch Freilandexposition, durch Modellökosystemstudien sowie durch Vergleich von Labordaten mit Rückstandswerten.

7.3.1 Exposition in natürlichem Wasser und Freilandexposition

Die Ergebnisse von Untersuchungen, bei denen natürliches Expositionswasser verwendet wurde, lassen keine allgemeinen Schlüsse zu. *Lewis & Wee (1983)* ermittelten beim Sonnenbarsch in Quellwasser mehr als doppelt so hohe Bioakkumulationsfaktoren von kationischen Tensiden wie in Flußwasser. *Butte et al. (1988)* führten Flußwasserversuche mit Phenolen im Vergleich zu Laborerexperimenten durch. Es ergaben sich nur zum Teil übereinstimmende BCF-Werte (3-Nitrophenol, Pentachlorphenol, Hexachlorphenol), aber auch niedrigere (Phenol, 4-*tert.* Butylphenol) oder höhere Werte (2,4,6-Trichlorphenol, Dinoterb, Tetrabrombiphenol A). *Ensenbach & Nagel (1991)* untersuchten die Biokonzentration von Lindan, 3,4-Dichloranilin, Phenol und 4-Nitrophenol (log P - Bereich zwischen 1.5 und 3.7) beim Zebraabrling unter Verwendung von Leitungswasser und Rheinwasser und fanden keine Unterschiede. *Jones et al. (1989)* exponierten juvenile Dickkopfelritzen in Käfigen dem Wasser des Hudson River. Die gemessenen Biokonzentrationsfaktoren für Polychlorierte Biphenyle entsprachen den Ergebnissen aus Laborexperimenten.

7.3.2 Modellökosysteme

Die Methodik der Modellökosysteme (z.B. *Metcalf et al. 1973, 1975*, Übersicht bei *Kenaga & Goring 1980*) und Mesokosmos-Studien ist ein sinnvoller Ansatz, der zwischen Laborexperiment und Freiland vermitteln kann. Jedoch kann die Interpretation problematisch sein (*Esser 1986, Duffus 1986*). Die einflußnehmenden Parameter sind schwer zu definieren und es ist schwierig, die Gleichgewichtseinstellung abzuschätzen. Dadurch kann erklärt werden, wenn BCF-Werte, die im Einzelversuch bestimmt worden sind, größer sind als Modellökosystem-Werte. Beispielsweise ist die relativ geringe Anreicherung eines PCB in einem Laborbach-Modellökosystem (*Lynch et al. 1982*) darauf zurückzuführen, daß das Gleichgewicht in der 30tägigen Expositionsphase nicht erreicht war. In anderen Fällen sind die Übereinstimmungen recht gut. Tabelle 7 zeigt einen Vergleich zwischen den ökologischen Magnifikationsfaktoren, die im Modellökosystem (*Lu & Metcalf 1975*) ermittelt wurden, und den Ergebnissen aus Biokonzentrationstests. Modellökosysteme können zudem für die Expositionsabschätzung hilfreich sein (siehe *Francis et al. 1985*).

7.3.3 Bioakkumulation im Freiland

Aus Rückständen in Organismen und gemessener Wasserkonzentration läßt sich ein Frei-

Tab. 7: Vergleich der Akkumulation im aquatischen Modellökosystem mit der Biokonzentration

Testsubstanz	Ökologischer Magnifikationsfaktor <i>Lu & Metcalf</i> (1975) ¹⁾	Biokonzentrationsfaktor	
		<i>Nagel</i> (1988) ²⁾	<i>Isnard & Lambert</i> (1988) ³⁾
Anilin	6	3	
Chlorbenzol	650	105	447
DDT	16.950	12.800	29.512
Hexachlorbenzol	1.166	1.761	7.762
Nitrobenzol	29	15	
Pentachlorphenol	296	940	776

¹⁾Moskitofisch ²⁾Zebraabärbling ³⁾Zusammenstellung aus verschiedenen Quellen

land-Biokonzentrationsfaktor ermitteln, der mit dem BCF aus Laborexperimenten verglichen werden kann. Entsprechende Daten sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Da die Bioakkumulation unter Freilandbedingungen durch unkontrollierbare Faktoren bestimmt wird, ist es nicht erstaunlich, daß Unstimmigkeiten auftreten. Auffällig ist jedoch, daß die Akkumulation im Freiland wesentlich höher sein kann als der BCF es erwarten läßt. Dies gilt für stark lipophile Substanzen, zum Beispiel für DDE und γ -Chlordan. Insbesondere bei diesen Verbindungen könnte jedoch die Aufnahme aus der Nahrung eine wesentliche Rolle spielen. Die Differenzen könnten aber auch auf Unzulänglichkeiten in den Methoden zurückzuführen sein. *Geyer et al. (1990)* sammelten Daten zur Bioakkumulation von Octachlordibenzo-p-Dioxin und stellten fest, daß BCF-Werte aus Laborexperimenten im allgemeinen wesentlich niedriger sind als Ergebnisse aus Freilandexposition. In diesem Fall sind die Unstimmigkeiten auf falsch eingeschätzte Bioverfügbarkeit zurückzuführen, weil im Experiment Konzentrationen oberhalb der Wasserlöslichkeit eingesetzt wurden. Biomagnifikation sowie methodische Schwierigkeiten können gleichermaßen auch zur Erklärung der höheren PCB-Konzentration in Fischen des Lake Ontario herangezogen werden (*Oliver & Niimi 1988*).

Bei weniger lipophilen Substanzen ergibt sich eine recht gute Einschätzung der Bioakkumulation im Freiland durch den BCF.

7.4 Biokonzentration - Biomagnifikation

Bei aquatischen Organismen sind sowohl Biomagnifikation als auch Biokonzentration beteiligt (zur Übersicht vgl. *Farrington 1989, Connell 1990, Loskill und Nagel 1991*). Die relative Bedeutung ist dabei abhängig von der Lebensweise des Organismus und von

Tab. 8: Übertragung des Biokonzentrationsfaktors auf Freilandbedingungen
(Die Werte sind zum Teil gerundet)

Substanz, (Spezies, Quellen)	BCF	BCF _F	BCF _F /BCF
1,2,4-TriCB (a)	1 300	1 200	0.9
1,2,3,4-TetraCB (a)	5 200	7 700	1.5
α-Hexachlorcyclohexan(a)	1 600	700	0.5
Lindan (a)	1 200	1 000	0.8
Pentachlortoluol (a)	6 800	23 000	3.4
2,5,2'-TriCB (a)	81 000	590 000	7.3
2,5,2',5'-TetraCB (a)	200 000	1 900 000	9.7
2,3,2',3'-TetraCB (a)	49 000	240 000	5.0
γ-Chlordan (a)	16 000	76 000	4.8
α-Chlordan (a)	28 000	1 400 000	50
p,p'DDE (a)	81 000	18 000 000	220
DDT (b)	25 000	195 000	7.8
Pentachlorphenol (c)	10 000	1 000	10
Pentachlorphenol (d)	750 - 1 250	1 000	≤ 1
Chloronitrofen (e)	420 - 8 000	1 160	≤ 6.9
Benthiocarb (e)	20 - 100	170	≤ 0.6

BCF_F = "Freiland-Biokonzentrationsfaktor"

CB = Chloriertes Biphenyl

Species, Quellen:

a: Regenbogenforelle (Oliver & Niimi 1985)

b: Sonnenbarsch (BCF_F: Niethammer et al. 1984, BCF: Bishop & Maki 1980)

c: verschiedene Spezies (BCF_F: Fox & Joshi 1984, BCF: Kobayashi 1978 und Nagel 1988)

d: verschiedene Spezies (BCF_F: Paasivirta et al. 1985, BCF siehe b)

e: verschiedene Spezies (Watanabe et al. 1984)

den Eigenschaften der Substanz. Biomagnifikationsfaktoren sind um Größenordnungen kleiner als Biokonzentrationsfaktoren. Nach einer Berechnung von Opperhuizen (1991) ergibt sich, daß für kleine Fische die Anreicherung über die Nahrung nur dann signifikant ist, wenn die Konzentration in der Nahrung um 5 Größenordnungen über der Wasserkonzentration liegt.

Man kann also davon ausgehen, daß die Aufnahme durch die Nahrung besonders bei langlebigen Organismen und stark lipophilen Substanzen mit einem log P zwischen 5 und

7 und geringer Eliminationsgeschwindigkeit signifikant sein kann (Anderson et al. 1987, Gunke 1987, Thomann 1989, Connell 1990). Bei superlipophilen Substanzen ($\log P$ größer als 7) nimmt die Bedeutung der Biomagnifikation für Fische ab (Gobas et al. 1986, Thomann 1989). Sie kann aber für Detritusfresser und aquatische Säugetiere auch bei solchen Substanzen bedeutsam sein.

7.5 Fazit

Unter Umweltbedingungen wirken viele Parameter auf die Bioakkumulation unterschiedlich stark und quantitativ nicht abschätzbar. Trotz einiger Übereinstimmungen zwischen Labor-, Modell- und Freilandbefunden ist eine Freilandmodellierung, die der Vielschichtigkeit gerecht wird, nicht möglich. Der Biokonzentrationsfaktor ist daher nicht auf die Situation im Freiland übertragbar und Rückstände können wesentlich höher sein. Bei stärker lipophilen Substanzen kann dies mit einer Anreicherung über die Nahrung erklärt werden. Stephan (1985) schlägt zur Bewertung der Bioakkumulation die Bestimmung von Bioakkumulationsfaktoren vor, die auch an die Nahrung adsorbierte Substanzanteile erfassen, bei Fütterung bis zur Gleichgewichtseinstellung. Die Biomagnifikation ist jedoch bei kleineren Fischen und weniger lipophilen Substanzen als unwesentlich einzuschätzen.

Besondere Probleme ergeben sich bei der Interspezies-Extrapolation. Zwar ist im Idealfall eine gute Übertragbarkeit gegeben (Connell 1991). In der Realität ergeben sich jedoch oft große Differenzen, auch wenn eine Standardisierung durch Beziehung auf den Lipidgehalt vorgenommen wird. Zudem muß im Falle einer artspezifischen Anreicherung mit unerwartet hoher Akkumulation gerechnet werden. Als Konsequenz ergibt sich ein höherer Informationsbedarf. Kristensen & Tyle (1991) fordern für die ökotoxikologische Bewertung der Bioakkumulation weitere Test-Guidelines, zum Beispiel für benthische Organismen, bei denen Biomagnifikation über Sedimente erfolgen kann.

8. Bewertung der Bioakkumulation

8.1 Akkumulation und Toxizität

Für die Bewertung der Bioakkumulation ist die Deutung des Zusammenhangs zwischen Akkumulation und Toxizität erforderlich. Ein Zusammenhang kann aus der Tatsache abgeleitet werden, daß zahlreiche und sehr unterschiedliche Wirkungen von Chemikalien mit der Lipophilie in Beziehung gesetzt werden können (Übersicht bei Hansch 1971).

8.1.1 Korrelationen zwischen akuter Toxizität für Fische und der Lipophilie

Setzt man die akute Toxizität von Chemikalien, die einer Substanzgruppe angehören, mit der Lipophilie der Verbindungen in Beziehung, so ergibt sich in vielen Fällen eine Gerade mit negativer Steigung, wenn $\log P$ gegen $\log LC_{50}$ für Fische aufgetragen wird. Eine Korrelation gilt im allgemeinen für strukturell ähnliche Stoffe, zum Beispiel für Phenole (Saarikoski & Viluksela 1982), Aniline (Hermens et al. 1984), Nitrobenzole (Deneer et

al. 1987). Man nimmt daher an, daß für alle Substanzen, die durch eine Gerade repräsentiert werden, die Giftigkeit auf dem gleichen Wirkmechanismus beruht.

Könemann (1980, 1981a,b) erarbeitete einen Zusammenhang zwischen der LC 50 beim Guppy und P für 50 sehr unterschiedliche Industriechemikalien. Im log P - Bereich zwischen -1.5 und 6 ist die log LC 50 - log P - Funktion linear, bei stärker lipophilen Substanzen nimmt die Änderung in der Giftigkeit ab. Die Entsprechung zur log P - Abhängigkeit des log BCF ist bemerkenswert. Der Wirkmechanismus der Verbindungen (chlorierte Alkane, Alkene, Benzole und Alkylbenzole, Alkohole, Ketone und Ether) wurde als Narkose beschrieben (Veith et al. 1983). Die anästhesierende Wirkung beruht auf der Einlagerung in Membranen, auch des Nervensystems. Das führt zu Schwellung der Membranen und Interaktionen an Ionenkanälen und anderen integrierten Proteinen, wodurch Aktionspotentiale blockiert werden (Seemann 1972). Diese Vorgänge sind unspezifisch und prinzipiell allen Verbindungen zuzuordnen, die eine gewisse Lipophilie aufweisen (vgl. Veith et al. 1985). Eine höhere Toxizität deutet auf einen anderen Wirktyp hin, der diese unspezifische Wirkung überdeckt. Die log P - log LC 50 - Kurve für die apolaren, unspezifisch wirkenden Narkotika stellt somit eine Mindesttoxizität dar.

Auch für Substanzgruppen mit anderem Wirktyp ist der Zusammenhang zwischen log LC 50 und log P gut belegt (Übersicht bei McKim & Schmieder 1991). Generell muß jedoch gesagt werden, daß die Lipophilie einer Substanz kein Maß für ihre akute Giftigkeit ist. Das bedeutet, daß von einem bekannten log P oder Biokonzentrationsfaktor nicht auf die akute Giftigkeit geschlossen werden kann. Dies gilt auch, wenn man an Stelle der letalen Konzentrationen im Haltungswasser, die letalen Dosen ermittelt.

McKim & Schmieder (1991) berechnen zusätzlich die inneren toxischen Konzentrationen, anhand derer die Giftigkeit für ein Tier unabhängig von Kinetik und Bioverfügbarkeit erfaßt werden kann. Diese inneren Konzentrationen entsprechen gemessenen LBBs ("Lethal body burdens"), werden aber mit Hilfe von standardisierten QSARs abgeschätzt (TBRE = "Toxicity/bioconcentration based residue estimates"). Ein Vergleich mit den experimentell ermittelten Daten ergab prinzipiell Übereinstimmungen, zum Teil sind TBRE-Werte etwas höher. Bei der Auftragung gegen log P ergab sich, daß die inneren toxischen Konzentrationen für Substanzen gleicher Wirkung unabhängig von der Lipophilie sind.

Damit zeigt sich, daß der Zusammenhang zwischen Lipophilie und akuter Toxizität, angegeben als LC 50, nicht die Interaktionen am Wirkort reflektiert, sondern ausschließlich die kinetischen Vorgänge, durch welche die Dosis am Wirkort bestimmt wird. Die Giftigkeit einer Substanz ist also in den untersuchten Fällen unabhängig von der Lipophilie. Strukturabhängige Toxizitätsunterschiede sind bei spezifischen Wirkungen eher in den elektronischen und topologischen Eigenschaften eines Moleküls zu sehen, das heißt in seiner Reaktivität oder Bindungsfähigkeit an den spezifischen Angriffspunkt, z.B. an ein Enzym.

8.1.2 Akute und chronische Toxizität

Aus den Arbeiten von McKim & Schmieder (1991) ergibt sich, daß weitere Untersuchun-

gen zum Einfluß der Expositionsdauer und des gewählten Endpunktes notwendig sind. Es ist zu klären, ob die Aussagen, die über den Zusammenhang zur akuten Toxizität erarbeitet wurden, auf subakute oder chronische Wirkungen übertragen werden können. Dies würde natürlich voraussetzen, daß chronische Daten zur Verfügung stehen. Die wenigen vorliegenden Ergebnisse aus vollständigen Life-Cycle-Tests mit Fischen reichen dazu nicht aus.

8.2 Bewertung der Bioakkumulation unabhängig von Toxizitätsdaten

Aus den dargestellten Ergebnissen wird deutlich, daß bei Fischen kein direkter Zusammenhang zwischen Bioakkumulation und akuter Toxizität besteht. Die Akkumulation bestimmt die toxische Dosis im Organismus, jedoch nicht die Wirkung. Werden Wirkungen anhand von Effektkonzentrationen erfaßt (im Gegensatz zu inneren toxischen Konzentrationen), so sind auch die kinetischen Vorgänge in die Messung der Toxizität integriert. Folglich könnte geschlossen werden, daß Bioakkumulation als Kriterium für die ökotoxikologische Bewertung keine Relevanz hat.

Nach Auffassung von *Frische et al. (1979)* ist jedoch die Bildung von Depots in Organismen auch ohne anerkannte Schadwirkung bedenklich. Durch Akkumulation können biologische Senken entstehen, wodurch die Persistenz in der Umwelt erhöht wird. Außerdem können die Substanzen bei Hunger freigesetzt werden und toxische Wirkschwellen überschreiten. Einen Hinweis auf solche Vorgänge gibt eine Studie von *Boon & Duinker (1985)*: bei belasteten Seezungen stieg die PCB-Konzentration, bezogen auf den Lipidgehalt, im Hungerzustand signifikant an. Auch *Kenaga (1982b)* und *Mearns (1985)* geben daher der Bioakkumulation einen hohen Stellenwert bei der Bewertung.

Ein weiterer Aspekt ist eine potentielle Gefährdung von Prädatoren durch belastete Nahrung. *Broekhuizen & De Ruiter-Dijkman (1988)* zeigen einen Zusammenhang zwischen PCB-Rückständen in niederländischen Fischottern und einer Reduktion der Fortpflanzungsfähigkeit. Insbesondere bei Vögeln sind Schädigungen als Folge des Transfers durch die Nahrung nachgewiesen worden (*Übersicht bei Hoffman et al. 1990*). Wird der Mensch als Schutzziel in die Betrachtung eingeschlossen, erhält die Bioakkumulation ein besonderes Gewicht (vgl. *Loehr & Krishnamoorthy 1988*).

8.3 Schwellenwerte und Klassifizierungskonzepte

Als Grenzwert der Bioakkumulation wird allgemein ein Biokonzentrationsfaktor von 100 angegeben, und die Bioakkumulation von Substanzen mit kleinerem BCF wird als vernachlässigbar betrachtet (*Van Gestel et al. 1985, Esser 1986, Irmer et al. 1986, Anliker 1986, Kristensen & Tyle 1991*). Man geht davon aus, daß bei diesen Substanzen die Biokonzentration aus P oder aus der Wasserlöslichkeit abgeschätzt werden kann, und log P-Werte von höchstens 1000 werden akzeptiert (*Frische et al. 1979, Esser & Moser 1982, Van Gestel et al. 1985, Esser 1986, Anliker & Moser 1987, Anliker et al. 1988*).

In einigen Studien wurde eine Bewertung der Bioakkumulation für einzelne Substanzen

durchgeführt. Es wurden auch hier solche Verbindungen als ungefährlich bewertet, deren BCF geringer als 100 war (Lewis & Wee 1983, Call et al. 1984, Krijgsheld & Van der Gen 1986, Brown 1987, Ying et al. 1989). Van Leeuwen et al. (1986) bewerten die Bioakkumulation von Zineb und Ziram mit BCF-Werten < 100 als gering, weisen aber darauf hin, daß weitaus höhere Konzentrationen in einzelnen Organen (z.B. Leber) vorliegen. Das Carbamat-Insektizid Ro 16-1294 wurde trotz eines BCF von 300 als umweltverträglich eingestuft, da die schnelle Elimination eine Persistenz in Organismen im Freiland unwahrscheinlich macht (Schaefer et al. 1985).

Von einigen Autoren wurden darüber hinaus Klassifizierungskonzepte vorgeschlagen (Maki 1980, 1986; Bro-Rasmussen & Christiansen 1984; van Gestel et al. 1985; Plewa et al. 1989). Wegen der Fehlermöglichkeiten in Methoden und Extrapolation scheint eine eng gefaßte Skalierung jedoch wenig hilfreich zu sein.

8.4 Bioakkumulation im Gesamtkonzept der Bewertung

Die Bewertung der Umweltgefährlichkeit von Chemikalien erfolgt durch den Vergleich von Zeit und Länge der Einwirkung (Expositionsabschätzung) mit den meßbaren Effekten (Kenaga 1982a, Irmer et al. 1986). Kristensen & Tyle (1991) ordnen die Bioakkumulation als einen rein expositionsbezogenen Parameter in das Gesamtkonzept der ökotoxikologischen Bewertung ein.

Die wirkungsunabhängige Umweltrelevanz und der direkte Bezug zum Lebewesen rechtfertigen jedoch auch eine getrennte Bewertung (z.B. Mearns 1985). Meerkamp van Embden (1992) hält sogar eine Anwendungsbeschränkung oder eine Produktionseinstellung für zwingend erforderlich, "wenn sich, ein durch Bioakkumulation bedingter, kontinuierlicher Anstieg der Stoffkonzentration im jeweiligen Umweltkompartiment über den "steady state" hinaus, bestätigt".

Diese konsequente Umsetzung des Vorsorgeprinzips ist sehr zu begrüßen. Doch was bedeutet dies konkret? Kann beispielsweise ein Pflanzenschutzmittel mit einem BCF bei Fischen von 300 nur aufgrund dieses Wertes nicht zugelassen werden? Dieser Wert muß nach meiner Auffassung in Beziehung zu anderen kinetischen Daten wie Organverteilung, Metabolismus und Elimination gesetzt werden und muß selbstverständlich im Kontext mit den Wirkungsdaten und dem Verteilungs- und Abbauverhalten der Substanz in der Umwelt bewertet werden. Das Potential einer Substanz zur Biokonzentration ist so gesehen kein cut off - Kriterium, sollte jedoch als eine ernste "Warnlampe" angesehen werden.

Dies gilt umsomehr, da bei der Extrapolation von der Biokonzentration in Fischen auf andere aquatische Organismen und auf die Situation in der Umwelt noch viele offenen Fragen bestehen. Es soll nochmals betont werden, daß sich die meisten Konzepte bei der Bewertung der Bioakkumulation auf P-Werte oder Biokonzentrationsfaktoren für Fische stützen. Es hat sich jedoch gezeigt, daß bei der Bewertung der Bioakkumulation terrestrische Organismen ebenfalls berücksichtigt werden müssen (Loskill und Nagel, 1991), doch stehen die hierfür notwendigen Testvorschriften noch nicht zur Verfügung.

Danksagung: In das Manuskript sind Teile des Forschungsberichtes "Entwicklung von Kriterien zur Bewertung der Bioakkumulation für den Vollzug ChemG/PflSchG" eingearbeitet worden. Das Vorhaben war vom Umweltbundesamt gefördert worden. (siehe auch Loskill und Nagel 1991)

9. Literatur

- Anderson, J.; Birge, W.; Gentile, J.; Lake, J.; Rodgers, J. & Swartz, R. (1987): Biological effects, bioaccumulation, and ecotoxicology of sediment-associated chemicals.
In: Dickson, K.L., Maki, A.W., & Brungs, W.A. (eds.): Fate and Effects of Sediment-Bound Chemicals in Aquatic Systems. SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) Special Publication Series, 6th Pelletton Workshop, Florissant, Colorado, Pergamon Press, Elmsford, New York, Oxford, 267-296.
- Anliker, R. (1986): Organic colorants - interpretation of mammalian-, geno-, and eco- toxicity data in terms of potential risks.
In: Richardson M. (ed.); Toxic Hazard Assessment of Chemicals; The Royal Society of Chemistry Burlington House, London W1V 0BN 1986, 166-188.
- Anliker, R. & Moser, P. (1987): The limits of bioaccumulation of organic pigments in fish: their relation to the partition coefficient and the solubility in water and octanol.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 13, 43-52.
- Anliker, R.; Moser, P. & Poppinger, D. (1988): Bioaccumulation of dyestuffs and organic pigments in fish. Relationships to hydrophobicity and steric factors.
Chemosphere 17 (8), 1631-1644.
- Barber, M.C.; Suarez, L.A. & Lassiter, R.R. (1988): Modelling bioconcentration of nonpolar organic pollutants by fish.
Environ. Toxicol. Chem. 7 (7), 545-558.
- Barron, M.G. (1990): Bioconcentration.
Environ. Sci. Technol. 24, 1621-1618.
- Baughman, G.L. & Lassiter, R.R. (1978): Prediction of environmental pollutant concentration.
In: Cairns, J. jr., Dickson, K.L. and Maki, A.W. (eds.): Estimating the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Life. ASTM (American Society for Testing and Materials) Special Technical Publication 657. Philadelphia, Pa., 35-54.
- Beek, B. (1991): Introduction.
In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 3-5

- Bishop, W.E. & Maki, A.W. (1980): A critical comparison of two bioconcentration test methods.
In: Eaton, J.G., Parrish, P.R. and Hendricks, A.C. (eds.): Aquatic Toxicology. ASTM (American Society for Testing and Materials) Special Technical Publication 707. Philadelphia, Pa., 61-77.
- Blau, G.E.; Neely, W.B. & Branson, D.R. (1975): Ecokinetics. AICHe Journal 21 (5), 854-861.
- Boon, J.P. & Duinker, J.C. (1985): Kinetics of polychlorinated biphenyl (PCB) components in juvenile sole (*Solea solea*) in relation to concentrations in water and to lipid metabolism under conditions of starvation.
Aquat. Toxicol. (Amst.) 7 (1-2), 119-134.
- Branson, D.R.; Blau, G.E.; Alexander, H.C. & Neely, W.B. (1975): Bioconcentration of 2,2',4,4'-tetrachlorobiphenyl in rainbow trout as measured by an accelerated test.
Trans. Am. Fish. Soc. 104, 785-792.
- Branson, D.R.; Takahashi, I.T.; Parker, W.M. & Blau, G.E. (1985): Bioconcentration kinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rainbow trout.
Environ. Toxicol. Chem. 4 (6), 779-788.
- Broekhuizen, S. & De Ruiter-Dijkman, E.M. (1988): Otters *Lutra lutra* met PCB's: De Zeehondjes van het Zoete Water? (Otters *Lutra lutra* with PCBs: Freshwater Seals?).
Lutra 31 (1), 68-78.
- Brooke, D.N.; Dobbs, A.J. & Williams, N. (1986): Octanol:water partition coefficients (P): Measurement, estimation, and interpretation; particularly for chemicals with $P > 10^5$.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 11, 251-260.
- Bro-Rasmussen, F. & Christiansen, K. (1984): Hazard assessment - a summary of analysis and integrated evaluation of exposure and potential effects from toxic environmental chemicals.
Ecol. Model. 22 (1-4), 67-84.
- Brown, D. (1987): Effects of colorants in the aquatic environment.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 13 (2), 139-147.

- Buchert, D. (1988): Synergismen und Antagonismen in dem pharmakokinetischen Verhalten und dem Metabolismus von Fremdstoffen beim Zebraäbrbling (*Brachydanio rerio*). Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- Butte, W.; Paul, C.; Willig, A. & Zauke, G.P. (1988): Beziehungen zwischen der Struktur von Phenolen und ihrer Akkumulation gemessen im Flow-Through Fisch-Test (OECD No. 305 E). Umweltbundesamt, Berlin..
- Butte, W. (1991): Mathematical description of uptake, accumulation and elimination of xenobiotics in a fish/water system. In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 29-42.
- Call, D.J.; Brooke, L.T.; Kent, R.J.; Poirier, S.H.; Knuth, M.L.; Shubat, P.J. & Slick, E.J. (1984): Toxicity, uptake, and elimination of the herbicides alachlor and dinoseb in freshwater fish. J. Environ. Qual. 13 (3), 493-498.
- Caspers, N. & Schüürmann, G. (1991): Bioconcentration of xenobiotics from the chemical industry's point of view. In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 81-98.
- Chiou, C.T. (1985): Partition coefficients of organic compounds in lipid-water systems and correlations with fish bioconcentration factors. Environ. Sci. Technol. 19, 57-62.
- Connell, D.W. & Hawker, D.W. (1988): Use of polynomial expressions to describe the bioconcentration of hydrophobic chemicals by fish. Ecotoxicol. Environ. Saf. 16(3), 242-257.
- Connell, D.W. (1988 a): Bioaccumulation behaviour of persistent organic chemicals with aquatic organisms. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 102, 117-154.
- Connell, D.W. (1988 b): Quantitative structure-activity relationships and the ecotoxicology of chemicals in aquatic systems. ISI Atlas Sci. Anim. Plant. Sci. 1 (3-4), 221-225.
- Connell, D.W. (1990): Bioaccumulation of Xenobiotic Compounds. CRC Press, Inc., Boca Raton. 219 pp..

- Connell, D.W. (1991): Extrapolating test results on bioaccumulation between organism group.
In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 133-150.
- Davies, R.P. & Dobbs, A.J. (1984): The prediction of bioconcentration in fish.
Water Res. 18, 1253-1262.
- Deneer, J.W.; Sinnige, T.L.; Seinen, W. & Hermens, J.L.M. (1987): Quantitative structure-activity relationships for the toxicity and bioconcentration factor of nitrobenzene derivatives towards the guppy (*Poecilia reticulata*).
Aquat. Toxicol. (Amst.) 10 (2-3), 115-129.
- Dobbs, A.J. & Williams, N. (1983): Fat solubility - a property of environmental relevance?.
Chemosphere 12 (1), 97-104.
- Duffus, J.H. (1986): Interpretation of Ecotoxicity.
In: Richardson M. (ed.); Toxic Hazard Assessment of Chemicals; the Royal Society of Chemistry Burlington House, London W1V 0BN 1986, 98-117.
- Ensenbach, U. & Nagel, R. (1991): Toxicokinetics of xenobiotics in zebrafish - comparison between tap- and river water.
Comp. Biochem. Physiol. 100 (1/2), 49-54.
- Ernst, W. (1977): Determination of the bioconcentration potential of marine organisms. - A steady state approach. I: Bioconcentration data for seven chlorinated pesticides in mussels (*Mytilus edulis*) and their relation to solubility data.
Chemosphere 11, 731-740.
- Esser, H.O. & Moser, P. (1982): An appraisal of problems related to the measurement and evaluation of bioaccumulation.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 6, 131-148.
- Esser, H.O. (1986): A review of the correlation between physicochemical properties and bioaccumulation.
Pestic. Sci. 17 (3), 265-276.
- Farrington, J.W. (1989): Bioaccumulation of hydrophobic organic pollutant compounds.
In: Levin, S.A. et al. (eds.), Ecotoxicology: Problems and Approaches, Springer-Verlag New York, Berlin, 279-314.

- Foster, G.D. & Crosby, D.G. (1986): Xenobiotic metabolism of p-nitrophenol derivatives by the rice field crayfish (*Procambarus clarkii*).
Environ. Toxicol. Chem. 5 (12), 1059-1070.
- Fox, M.E. & Joshi, S.R. (1984): The fate of pentachlorophenol in the bay of Quinte, Lake Ontario
J. Great Lakes Res. 10 (2), 190-196.
- Francis, B.M.; Lampman, R.L. & Metcalf, R.L. (1985): Model ecosystem studies of the environmental fate of five herbicides used in conservation tillage.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 14 (6), 693-704.
- Freitag, D.; Geyer, H.; Kraus, A.; Viswanathan, R.; Kotzias, D.; Attar, A.; Klein, W. & Korte, F. (1982): Ecotoxicological profile analysis.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 6, 60-81.
- Frische, R.; Klöpffer, W. & Schönborn, W. (1979): Bewertung von organisch-chemischen Stoffen und Produkten in bezug auf ihr Umweltverhalten - chemische, biologische und wirtschaftliche Aspekte.
Umweltbundesamt, Berlin..
- Galassi, S. & Calamari, D. (1983): Toxicokinetics of 1,2,3 and 1,2,4 trichlorobenzenes in early life stages of *Salmo gairdneri*.
Chemosphere 12 (11-12), 1599-1603.
- Geen, G.H.; McKeown, B.A. & Oloffs, P.C. (1984): Acephate in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): acute toxicity, uptake, elimination.
J. Environ. Sci. Health Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes 19 (2), 131-155.
- Geyer, H.; Scheunert, I. & Korte, F. (1985): Relationship between the lipid content of fish and their bioconcentration potential of 1,2,4-trichlorobenzene.
Chemosphere 14 (5), 545-555.
- Geyer, H.J.; Scheunert, I.; Muir, D.C.G. & Kettrup, A. (1990): Comparison of the octachlorodibenzo-p-dioxin (OCDD) bioaccumulation potential in aquatic biota estimated by different methods.
In: Hutzinger, O. and H. Fiedler (eds.): Toxicology, Environment, Food, Exposure - Risk: Organohalogen Compounds, Vol. 1: Dioxin '90 - EPRI-Seminar; Bayreuth, Ecoinforma Press, 1990.

- Gillett, J.W. (1983): A comprehensive prebiological screen for ecotoxicologic effects.
Environ. Toxicol. Chem. 2 (4), 463-476.
- Gobas, F.A.P.C.; Shiu, W.Y.; Mackay, D. & Opperhuizen, A. (1986):
Bioaccumulation of PCDD's and OCDF in fish after aqueous and dietary exposure.
Chemosphere 15 (9-12), 1985-1986.
- Gobas, F.A.P.C. & Mackay, D. (1987): Dynamics of hydrophobic organic chemical bioconcentration in fish.
Environ. Toxicol. Chem. 6 (7), 495-504.
- Gobas, F.A.P.C.; Clark, K.E.; Shiu, W.Y. & Mackay, D. (1989):
Bioconcentration of polybrominated benzenes and biphenyls and related superhydrophobic chemicals in fish: role of bioavailability and elimination into the feces.
Environ. Toxicol. Chem. 8 (3), 231-245.
- Görge, G. & Nagel, R. (1990): Kinetics and Metabolism of 14 C-Lindane and 14 C-Atrazine in Early Life Stage of Zebrafish (*Brachdanio rerio*)
Chemosphere 21 (9), 1125-1137
- Grzenda, A.R.; Fort Paris, D. & Taylor, W.J. (1970): The uptake, metabolism and elimination of chlorinated residues by goldfish (*Carassius auratus*) fed a 14 C-DDT contaminated diet.
Trans. Am. Fish. Soc. 99, 385-396.
- Gunkel, G. (1987): Mechanismen der Aufnahme und Verteilung von organischen Schadstoffen in aquatischen Organismen.
In: Lillielund, K.; de Haar, U.; Elster, H.-J.; Karbe, L.; Schwoerbel, I. & Simonis, W. (eds.): Bioakkumulation in Nahrungsketten. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 39-68..
- Hamelink, J.L. (1977): Current bioconcentration test methods and theory.
In: F.L. Mayer & L.E. Hamelink: Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation American Society for Testing and Materials.
- Hansch, C. (1971): Quantitative structure-activity relationships in drug design.
In: Ariens, E.J. (ed): Drug Design. Academic Press, New York and London, 271-342..

- Hawker, D.W. & Connell, D.W. (1985): Relationships between partition coefficient, uptake rate constant, clearance rate constant and time to equilibrium for bioaccumulation.
Chemosphere 14 (9), 1205-1219.
- Hawker, D.W. & Connell, D.W. (1986): Bioconcentration of lipophilic compounds by some aquatic organisms.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 11, 184-197.
- Hawker, D.W. & Connell, D.W. (1989): Factors affecting bioconcentration of trace organic contamination in waters.
Water Sci. Technol. 21 (2), 147-150.
- Hawker, D.W. (1990 a): The partition mechanism.
In: Connell, D.W.: Bioaccumulation of Xenobiotic Compounds. CRC Press, Inc., Boca Raton. pp. 75-95..
- Hawker, D.W. (1990 b): Description of fish bioconcentration factors in terms of solvatochromic parameters.
Chemosphere 20 (5), 467-477.
- Hermens, J.; Leeuwangh, P. & Musch, A. (1984): Quantitative structure-activity relationships and mixture toxicity studies of chloro- and alkyl-anilines at an acute lethal toxicity level to the guppy (*Poecilia reticulata*).
Ecotoxicol. Environ. Saf. 6, 302-310.
- Hoffman, D.J.; Rattner, B.A. & Hall, R.J. (1990): Wildlife toxicology.
Environ. Sci. Technol. 24 (3), 276-283.
- Irmer, H.; Kühn, R.; Hansen, P.-D. & Ternel, J. (1986): Zur Bewertung der "Umweltverträglichkeit" gefährlicher Stoffe im aquatischen Bereich.
Bundesgesundheitsblatt 29 (19), 317-321.
- Isnard, P. & Lambert, S. (1988): Estimating bioconcentration factors from octanol-water partition coefficient and aqueous solubility.
Chemosphere 17 (1), 21-34.
- Jones, P.A.; Sloan, R.J. & Brown, M.P. (1989): PCB congeners to monitor with caged juvenile fish in the upper Hudson River.
Environ. Toxicol. Chem. 8 (9), 793-803.
- Kalsch, W.; Urich, K. & Nagel, R. (1991): Uptake, bioconcentration and elimination of anilines in zebra fish.
Chemosphere 22 (3-4), 351-363

- Karara, A.H. & Hayton, W.L. (1989): A pharmacokinetic analysis of the effect of temperature on the accumulation of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in sheepshead minnow.
Aquat. Toxicol. (Amst.) 15 (1), 27-36.
- Kenaga, E.E. & Goring, C.A.I. (1980): Relationship between water solubility, soil sorption, octanol-water partitioning, and concentration of chemicals in biota.
In: Eaton, J.G., Parrish, P.R. and Hendricks, A.C. (eds.): ASTM (American Society for Testing and Materials) Special Technical Publication 707. Philadelphia, Pa. 78-115..
- Kenaga, E.E. (1982 a): Predictability of chronic toxicity from acute toxicity of chemicals in fish and aquatic invertebrates.
Environ. Toxicol. Chem. 1 (4), 347-358.
- Kenaga, E.E. (1982 b): Review: the use of environmental toxicology and chemistry data in hazard assessment: progress, needs, challenges.
Environ. Toxicol. Chem. 1 (1), 69-79.
- Kleinow, K.M.; Melancon, M.J. & Lech, J.J. (1987): Biotransformation and induction: implications for toxicity, bioaccumulation and monitoring of environmental xenobiotics in fish.
Environ. Health Perspect. 71, 105-120.
- Kobayashi, K. (1978): Metabolism of pentachlorophenol in fishes.
In: Pentachlorophenol, Ranga Rao (ed.), Proceedings of Symposium, Pensacola, Florida, June 27-29, 1977, 89-105.
- Könemann, H. & Van Leuwen, K. (1980): Toxicokinetics in fish: accumulation and elimination of six chloro-benzenes by guppies.
Chemosphere 9, 3-19.
- Könemann, H. (1981 a): Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies. Part 1: Relationship for 50 industrial pollutants.
Toxicology 19, 209-221.
- Könemann, H. (1981 b): Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: a proposal for a quantitative approach and experimental results.
Toxicology 19, 229-238.

- Krijgheld, K.R. & Van der Gen, A. (1986): Assessment of the impact of the emission of certain organochlorine compounds on the aquatic environment. Part II: Allylchloride, 1,3- and 2,3-dichloropropene.
Chemosphere 15 (7), 861-880.
- Kristensen, P. & Tyle, H. (1991): Assessment of bioaccumulation.
In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 189-228.
- Langer, D. (1983): Die Bedeutung der Randbedingungen in einem Fischtest zur Beurteilung der Bioakkumulation von Lindan, untersucht am Beispiel der Aufnahmekinetik von Lindan.
Dissertation, Fachbereich Biologie, Universität Hamburg, zitiert nach Lillelund (1987).
- Lech, J.J. & Bend, J.R. (1980): Relationship between biotransformation and the toxicity and fate of xenobiotic chemicals in fish.
Environ. Health Perspect. 34, 115-131.
- Lech, J.J. & Vodcnik, M.J. (1984): Biotransformation of chemicals by fish: an overview.
In: Rand G.M., and Petrocelli Ph.D. (eds.); Fundamentals of Aquatic Toxicology Methods and Application; Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 526-557.
- Lewis, M.A. & Wee, V.T. (1983): Aquatic safety assessment for cationic surfactants.
Environ. Toxicol. Chem. 2 (1), 105-118.
- Linder, G.; Bergman, H.L. & Meyer, J.S. (1984): Constituent bioconcentration in rainbow trout *Salmo gairdneri* exposed to a complex chemical mixture.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 33 (3), 330-338.
- Loehr, R.C. & Krishnamoorthy, R. (1988): Terrestrial bioaccumulation potential of phenolic compounds.
Hazard. Waste Hazard. Mater. 5 (2), 109-119.
- Loskill, R. & Nagel, R. (1991): Entwicklung von Kriterien zur Bewertung der Bioakkumulation für den Vollzug ChemG/PflSchG
Forschungsbericht 10603092, Umweltbundesamt Berlin, 116 pp.

- Lynch, T.R.; Johnson, H.E. & Adams, W.J. (1982): The fate of atrazine and a hexachlorobiphenyl isomer in naturally-derived model stream ecosystems.
Environ. Toxicol. Chem. 1 (2), 179-192.
- Mackay, D. (1982): Correlation of bioconcentration factors.
Environ. Sci. Technol. 16, 274-278.
- Maki, A.W. (1980): Design and conduct of hazard evaluation programs for the aquatic environment.
In: Jolley, R.L.; Brungs, W.A. & Cumming, R.B. (eds.): Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects, 3. Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, Mich., 949-960..
- Maki, A.W. (1986): Design and application of hazard evaluation programs for the aquatic environment.
In: Llyod, W.E. (Ed.): Safety evaluation of drugs and chemicals. Hemisphere Publishing Company.
- McKim, J.M.; Schmieder, P.K. & Erickson, R.J. (1986): Toxicokinetic modeling of 14 C-pentachlorophenol in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Aquat. Toxicol. (Amst.) 9 (1), 59-80.
- McKim, J.M. & Schmieder, P.K. (1991): Bioaccumulation: does it reflect toxicity?.
In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 161-188.
- Mearns, A.J. (1985): Biological Implications of the management of waste materials: the importance of integrating measures of exposure, uptake, and effects.
In: Cardwell, R.D.; Purdy, R. & Bahner, R.C. (eds.): Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium. ASTM (American Society for Testing and Materials) Special Technical Publication 854. Philadelphia, Pa., 335-343.
- Meerkamp van Embden, I.C. (1992): Grundlagen einer umweltverträglichen Stoffwirtschaft - Ökologische Bewertungskriterien, Enquete-Kommission "Chemiepolitik"
Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung, ecomed verlag, Landsberg, 86-89.
- Metcalf, R.L.; Kapoor, I.P.; Lu, P.-Y.; Schuth, C.K. & Sherman, P. (1973): Model ecosystem studies of the environmental fate of six organochlorine pesticides.
Environ. Health Perspect. 4, 35-44.

- Metcalf, R.L.; Sanborn, J.R.; Lu, P.-Y. & Nye, D. (1975): Laboratory model ecosystem studies of the degradation and fate of radiolabeled tri-, tetra- and pentachlorobiphenyl compared with DDE.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 3, 151-165.
- Moriarty, F. (1975): Exposure and residues.
In: Moriarty, F. (ed.): Organochlorine Insecticides: Persistent Organic Pollutants. Academic Press, London, pp. 29-72..
- Nagel, R. & Urich, K. (1980): Kinetic studies on the elimination of different substituted phenols by goldfish (*Carassius auratus*).
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 24, 374-378.
- Nagel, R. (1988): Umweltchemikalien und Fische - Beiträge zu einer Bewertung.
Habilitationsschrift, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz..
- Neely, W.B. (1979): Estimating rate constants for the uptake and clearance of chemicals by fish.
Environ. Sci. Technol. 13, 1506-1510.
- Nendza, M. (1991): QSARs of bioconcentration: Validity assessment of log P ow /log BCF correlations.
In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 43-66.
- Niethammer, K.R.; White, D.H.; Baskett, T.S. & Sayre, M.W. (1984): Presence and biomagnification of organochlorine chemical residues in oxbow lakes of northeastern Louisiana.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13, 63-74.
- Niimi, A.J.; Lee, H.B. & Kisson, G.P. (1989): Octanol/water partition coefficients and bioconcentration factors of chloronitrobenzenes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Environ. Toxicol. Chem. 8 (9), 817-823.
- Norstrom, R.J.; McKinnon, A.E. & deFreitas, A.S.W. (1976): A bioenergetics-based model for pollutant accumulation by fish. Simulation of PCB and methylmercury residue levels in Ottawa River yellow perch (*Perca flavescens*).
J. Fish. Res. Board Can. 33, 248-267.
- OECD (1981): Guidelines for Testing of Chemicals.
Organisation for Economic Co-Operation and Development, Paris.

- Oliver, B.G. & Niimi, A.J. (1984): Rainbow trout bioconcentration of some halogenated aromatics from water at environmental concentrations.
Environ. Toxicol. Chem. 3 (2), 271-277.
- Oliver, B.G. & Niimi, A.J. (1985): Bioconcentration Factors of Some Halogenated Organics for Rainbow Trout: Limitations in Their Use for Prediction of Environmental Residues.
Environ. Sci. Technol. 19, 842-849.
- Oliver, B.G. & Niimi, A.J. (1988): Trophodynamic analysis of polychlorinated biphenyl congeners and other chlorinated hydrocarbons in the Lake Ontario Ecosystem.
Environ. Sci. Technol. 22 (4), 388-397.
- Opperhuizen, A.; Serne, P. & Van der Steen, J.M.D. (1988): Thermodynamics of fish/water and octan-1-ol/water partitioning of some chlorinated benzenes.
Environ. Sci. Technol. 22 (3), 286-292.
- Opperhuizen, A. (1991): Bioconcentration and biomagnification: is a distinction necessary?
In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 67-80.
- Paasivirta, J.; Heinola, K.; Humppi, T.; Karjalainen, A.; Knuutinen, J.; Mäntykoski, K.; Paukku, R.; Piilola, T.; Surma-Aho, K.; Tarhanen, J.; Welling, L. & Vihonen, H. (1985): Polychlorinated phenols, guaiacols and catechols in the environment.
Chemosphere 14 (5), 469-491.
- Palawski, D.U. & Knowles, C.O. (1986): Toxicological studies of benomyl and carbendazim in rainbow trout, channel catfish and bluegills.
Environ. Toxicol. Chem. 5 (12), 1039-1046.
- Plewa, M.J.; Minear, R.A.; Ades-McInerney, D.; Thomas, D.L. & Miller, G.D. (1989): A computerized degree of hazard assessment for evaluation of wastes: an innovative aid to management of residuals.
Water Sci. Technol. 21 (8-9), 821-831.
- Renberg, L.; Tarkpea, M. & Linden, E. (1985): The use of the bivalve *Mytilus edulis* as a test organism for bioconcentration studies. I. Designing a continuous-flow system and its application to some organochlorine compounds.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 9, 171-178.

- Roberts, J.R.; deFreitas, A.S.W. & Gidney, M.A.J. (1979): Control factors on uptake and clearance of xenobiotic chemicals by fish. In: Animals as Monitors of Environmental Pollutants. National Research Council of Canada, Ottawa, Ontario, 3-13..
- Roberts, M.H. jr. & Fisher, D.J. (1985): Uptake and clearance rates for kepone in two marine fish species. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 14 (1), 1-6.
- Saarikoski, J. & Viluksela, M. (1982): Relation between physiochemical properties of phenols and their toxicity and accumulation in fish. Ecotoxicol. Environ. Saf. 6 , 501-512.
- Saarikoski, J.; Lindström, R.; Tyynel, M. & Viluksela, M. (1986): Factors affecting the absorption of phenolics and carboxylic acids in the guppy (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicol. Environ. Saf. 11 (2), 158-173.
- Schaefer, C.H.; Wilder, W.H.; Dupras, E.F. jr. & Stewart, R.J.(1985): Efficacy and chemical persistence of two highly active carbamate developmental inhibitors. J. Agric. Food Chem. 33 (6), 1045-1048.
- Schütz, W. (1985): Untersuchungen Über die Akkumulation und Elimination einzelner chlorierter Kohlenwasserstoffe und deren Gemische bei Süßwasserfischen, appliziert über das Wasser und mit der Nahrung. Umweltplanung und Umweltschutz, Schriftenreihe der Hessischen Landesanstalt für Umwelt 25, 220 pp.
- Seeman, P. (1972): The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. Pharmacol. Rev. 24, 583 ff..
- Sijm, D.T.H.M. & Opperhuizen, A. (1988): Biotransformation, bioaccumulation and lethality of 2,8- dichlorodibenzo-p-dioxin: A proposal to explain the biotic fate and toxicity of PCDD's and PCDF's. Chemosphere 17 (1), 83-99.
- Sijm, T.H.M. (1991): Extrapolating the laboratory results to environmental conditions. In: Nagel, R. & Loskill, R. (eds.); Bioaccumulation in Aquatic Systems; VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, 151-160.

- Smith, A.D.; Bharath, A.; Mallard, C.; Orr, D.; McCarty, L.S. & Ozburn, G.W. (1990): Bioconcentration kinetics of some chlorinated benzenes and chlorinated phenols in American flagfish, *Jordanella floridae* (Goode and Bean).
Chemosphere 20 (3-4), 379-386.
- Spacie, A. & Hamelink, J.L. (1982): Alternative models for describing the bioconcentration of organics in fish.
Environ. Toxicol. Chem. 1, 309-320.
- Stephan, C.E. (1985): Are the "guidelines for deriving numerical national water quality criteria for the protection of aquatic life and its uses" based on sound judgments?
In: Cardwell, R.D.; Purdy, R. & Bahner, R.C. (eds.): Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium. ASTM (American Society for Testing and Materials) Special Technical Publication 854. Philadelphia, Pa., 515-526..
- Stöhr, L. (1976): Aufnahme, Anreicherung und Abgabe des Insektizids ABATE bei verschiedenen tierischen und pflanzlichen Organismen.
Diplomarbeit, Universität Mainz.
- Takimoto, Y.; Ohshima, M. & Miyamoto, J. (1987): Comparative metabolism of fenitrothion in aquatic organisms III. Metabolism in the crustaceans *Daphnia pulex* and *Palaemon paucidens*.
Ecotoxicol. Environ. Saf. 13 (1), 126-134.
- Thomann, R.V. (1989): Bioaccumulation model of organic chemical distribution in aquatic food chains.
Environ. Sci. Technol. 23 (6), 699-707.
- Trenz, R. (1984): Kinetik und Organverteilung ausgesuchter Modellschubstanzen beim Zebrafährbling (*Brachydanio rerio*).
Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- van Gestel, C.A.M.; Otermann, K. & Canton, J.H. (1985): Relation between water solubility, octanol/water partition coefficients and bioconcentration of organic chemicals in fish: a review.
Regul. Toxicol. Pharmacol. 5 (4), 422-431.
- Van Leeuwen, C.J.; Van Hameren, P.; Bogers, M. & Griffioen, P.S. (1986): Uptake, distribution and retention of zineb and ziram in rainbow trout *Salmo gairdneri*.
Toxicology 42 (1), 33-46.

- Veith, G.D.; DeFoe, D.L. & Bergstedt, B.V. (1979): Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish.
J. Fish. Res. Board Can. 36, 1040-1048.
- Veith, G.D.; Macek, K.J.; Petrocelli, S.R. & Carroll, J. (1980): An evaluation of using partition coefficients and water solubility to estimate bioconcentration factors for organic chemicals in fish.
In: Eaton, J.G., Parrish, P.R. and Hendricks, A.C. (eds.): Aquatic Toxicology. ASTM (American Society for Testing and Materials). Philadelphia, Pa., 116-129..
- Veith, G.D.; Call, D.J. & Brooke, L.T. (1983): Structure-toxicity relationships for the fathead minnow *Pimephales promelas*: narcotic industrial chemicals.
Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40, 743-748.
- Walker, C.H. (1975): Variations in the intake and elimination of pollutants.
In: Moriarty, F. (ed.): Organochlorine Insecticides: Persistent Organic Pollutants. Academic Press, London, pp. 73-130..
- Watanabe, N.; Nakamura, T.; Watanabe, E.; Sato, E. & Ose, Y. (1984): Bioconcentration potential of polydimethylsiloxane (PDMS) fluids by fish.
Environ. Pollut. 44, 227-301.
- Werner, A.F. & Kimerle, R.A. (1982): Uptake and distribution of C 12 alkylbenzene in bluegill (*Lepomis macrochirus*).
Environ. Toxicol. Chem. 1 (2), 143-146.
- West, S.D.; Burger, R.O.; Poole, G.M. & Mowrey, D.H. (1983): Bioconcentration and field dissipation of the aquatic herbicide fluridone and its degradation products in aquatic environments.
J. Agric. Food Chem. 31 (3), 579-585.
- Woodwell, G.M.; Wurster, C.F. jr. & Isaacson, P.A. (1967): DDT residues in an East Coast estuary: a case of biological concentration of a persistent insecticide.
Science 156, 821-824.
- Ying, Xu; Lay, J.P. & Zhang, Y. (1989): Uptake and transfer of 14 C-simetryne through the laboratory freshwater food chain.
Chin. J. Oceanol. Limnol. 7 (1), 10-16.
- Zok, S. (1986): Eliminationskinetiken bei Wassertieren.
Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.

Zok, S.; Görge, G.; Kalsch, W. & Nagel, R. (1991): Bioconcentration, toxicity, and metabolism of anilines in the zebrafish *Brachydanio rerio*.

The Science of the Total Environment 109/119, 411-421.

Diskussion zu dem Vortrag von Nagel

Ebing eröffnet die Diskussion und stellt heraus, daß der Biokonzentrationsfaktor (BCF) für sich allein genommen wenig aussagekräftig ist. Es kommt auf die Konzentration der jeweiligen Substanz in jedem einzelnen Medium an sowie auf Wirkungen, die dort entfaltet werden. Auch sind die Löslichkeiten von Testsubstanzen in Gegenwart weiterer anderer Stoffe variabel. Ferner variieren die experimentellen Bezüge: z. B. BCF bezogen auf Frisch- oder Trockengewicht.

Becker resümiert die für ihn entscheidenden Fragestellungen aus dem eben gehortem Vortrag:

1. Übertragbarkeit Labor/Freiland,
2. Übertragbarkeit auf andere aquatische Organismen,
3. Übertragbarkeit der Fragestellung auf den terrestrischen Bereich,
4. BCF als Stoffeigenschaft und
5. Umsetzung der vorliegenden Daten.

Rothert schlägt vor, diese Fragestellungen in der Abschlufdiskussion aufzugreifen.

Künast wundert sich über die geringe Divergenz der organospezifisch aufgeschlüsselten Anreicherungs-faktoren unter der Berücksichtigung der sehr unterschiedlichen Gewebetypen. Er fragt, ob sich die Faktoren ausschließlich durch physikalische Loslichkeitseffekte erklären lassen. Auf Grundlage der wenigen vorliegenden Ergebnisse möchte Nagel noch keine Interpretation vornehmen. Dorn hält die mit Nitrophenolen und Anilinen erhaltenen Ergebnisse aufgrund des Dissoziationsverhaltens dieser Stoffe für schwer interpretierbar und fragt, ob nicht besser inerte Stoffe verwendet werden sollten. Dieser Einwand ist nicht von der Hand zu weisen. Auch Nagel hält Nitrophenole und Aniline für QSAR-Betrachtungen für nicht besonders gut geeignet. Er weist aber darauf hin, daß die Versuchsergebnisse nicht isoliert betrachtet werden, sondern im Zusammenhang mit anderen untersuchten Stoffen stehen, so daß die vorgetragenen Schlußfolgerungen vertretbar erscheinen.

In einer weiteren Frage an den Vortragenden möchte Dorn wissen, warum die Experimente nicht nach Erreichen der Plateaubildung abgebrochen werden können. Nagel hält jedoch gerade die Auswertung der Eliminationskinetik für gut geeignet, um zusätzliche Angaben über das Verhal-

ten des untersuchten Stoffes zu erhalten. Pflüger stellt die eigenständige Bedeutung von BCF und Bioakkumulation bei der Bewertung eines Stoffes in Frage, weil keine Korrelation zur akuten Toxizität gegeben ist. Für Nagel ist die eigenständige Bedeutung der Bioakkumulation bei der Bewertung von Chemikalien eine Tatsache. Er verweist auf das Chemikaliengesetz. Doch müssen auch nach seiner Meinung die gefundenen Werte zu den Ergebnissen anderer ökotoxikologischer Untersuchungen in Beziehung gesetzt werden.

Smolka fragt nach der Bedeutung der Biomagnifikation im Verhältnis zur Biokonzentration im aquatischen Bereich. Nagel antwortet, daß die Biomagnifikation im Verhältnis zur Biokonzentration vernachlässigbar gering ist, wenn die Organismen in der Lage sind, die Chemikalie direkt aus dem Wasser aufzunehmen.

M. Roth

**Universität Ulm
Abteilung Ökologie und Morphologie der Tiere**

Prüfung und Bewertung der Akkumulationsneigung von Elementen in wirbellosen Tieren von Waldökosystemen

Als Wirkstoffe oder Begleitkomponenten von Pflanzenschutzmitteln werden auch heute noch verschiedene Metalle in Böden eingetragen und für Nahrungsketten potentiell verfügbar gemacht.¹ So dienen Kupfer und Zinn in verschiedenen Formulierungen als Fungizid.^{1,2} Gekoppelt an organische Liganden wird Zinn außerdem zur Bekämpfung von Mollusken und Arthropoden eingesetzt.² Calcium-, Aluminium- und Zinkverbindungen, die Phosphorwasserstoff entwickeln, wirken als Rodentizide.¹ Pflanzenschutzmittel, die Arsen, Selen oder Quecksilber enthalten, sind nach der Verordnung über Anwendungsverbote für Pflanzenschutzmittel vom 27.7.1988 in Deutschland verboten oder wie Thallium-I-sulfat nur noch eingeschränkt zugelassen.³

Die an Nährsubstraten und Raumstrukturen reiche Humusschicht von Böden stellt für zahlreiche Organismen permanent oder zumindest temporär den Lebensraum dar. Abgesehen von Protozoen und Pilzen, besiedeln vor allem Invertebraten dieses Substrat mit hoher Arten- und Individuenfülle.^{4,5,6,7,8,9} Als Glieder verschiedener Nahrungsketten tragen sie wesentlich zum "Funktionieren" von Ökosystemen bei. Eine besondere Rolle spielen dabei in allen Landökosystemen der gemäßigten Breiten wirbellose Tiere, die sich direkt oder indirekt vom organischen Bestandesabfall ernähren. So wirken die Saprophagen beispielsweise entscheidend an der Bereitstellung von Nährstoffen für die Primärproduzenten und am Elementkreislauf in Ökosystemen mit. Auch am Transport von Elementen in Nahrungsketten terrestrischer Invertebraten sind Streuzersetzer beteiligt. Mit ihren hohen Populationsdichten bilden viele Saprophage die Nahrungsgrundlage für epigäische Raubarthropoden.

Untersuchungen an Streuzersettern und deren Räuber, die in einem Fichtenbestand (U1) in Süddeutschland durchgeführt wurden, erbrachten z.T. erhebliche Unterschiede in der Akkumulationsneigung von Elementen, in Abhängigkeit von der trophischen Stellung der Arten und vom essentiellen Charakter der Elemente.¹⁰

Akkumulationsneigung essentieller Elemente in terrestrischen Invertebraten

Wie Studien an zahlreichen wirbellosen Tieren belegen, sind viele Invertebraten in der Lage ihre Nährelementgehalte - in Abhängigkeit vom "physiologischen Entwicklungszustand" (Entwicklungsstadium, Alter, Geschlecht) - über weite Konzentrationsbereiche des Außenmediums konstant zu halten.^{11,12,13,14,15,16} Nach Untersuchungen an Streuzersettern (Lumbricidae, Diplopoda, Tipulidae) und epigäischen Raubarthropoden (Carabidae, Staphylinidae, Araneae) in U1 gilt dies z.B. für die Gehalte an P, Na, K, Mg, Ca, Zn, Cu oder Fe. So lagen die Variationskoeffizienten (= relative Standardabweichung der Elementgehalte einzelner Individuen vom artspezifischen Mittelwert) bei diesen Makro- und Mikronährstoffen teilweise weit unter 30 % (Abb. 1). Relativ hoch waren dagegen die Streuungen zwischen einzelnen Individuen einer Art bei Elementen, die keine physiologische Funktion ausüben oder die sogar toxisch wirken (z.B. Pb, La, Al, Cd, s. Abb. 1). Hinweise auf die Regulation der Gehalte essentieller Elemente erbrachten bereits frühere Untersuchungen über die Standortsabhängigkeit der Elementgehalte von Borkenkäfern.¹⁷

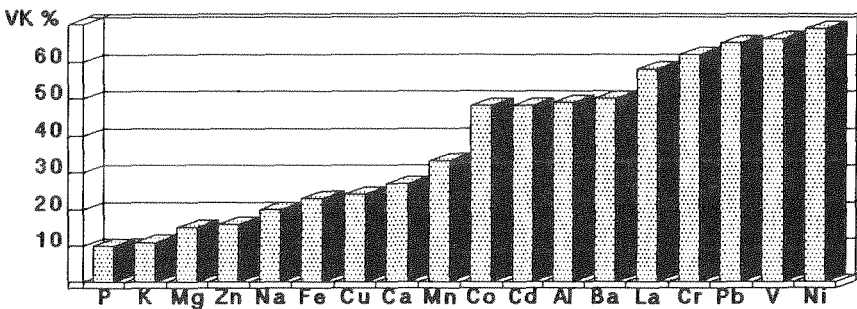


Abb. 1 Intraspezifische Variabilität der Elementgehalte - durchschnittliche Werte der relativen Standardabweichung (% VK) der Elementgehalte einzelner Individuen vom artspezifischen Mittelwert (nach Untersuchungen an Anneliden und Arthropoden von U1)

Diese - wahrscheinlich physiologisch kontrollierte - Homöostase des Nährelementspiegels wirkt sich auch auf das Verhalten von Elementen beim Transport durch Nahrungsketten aus: die Akkumulationsneigung essentieller Elemente in Streuzersettern und ihren Räubern (und wahrscheinlich in vielen terrestrischen Invertebraten) wird vom physiologischen Bedarf der Tiere und von der Verfügbarkeit der Nährstoffe im Nährsubstrat bestimmt.

In bodensauren Fichtenbeständen mit geringer Basensättigung des Bodens und vernachlässigbaren atmogenen Einträgen sind, im Vergleich zum physiologischen Bedarf der Tiere, meist nur geringe Nährelementgehalte in pflanzlichen Kompartimenten vorhanden.

Streuzersetzer und auch andere Primärkonsumenten müssen deshalb ihren Bedarf an vielen essentiellen Elementen durch Akkumulation decken.

So zeigten in U1 alle Streuzersetzer, trotz der relativ großen systematischen Diversität, weitgehend dasselbe Akkumulationsmuster. Lumbriciden, Collembolen, Diplopoden, Enchytraeiden, Nematoceren und Oribatiden, die wichtigsten Primär- und Sekundärzersetzer in bodensauren Wäldern, reicherten die für Tiere essentiellen Elemente Na, P, K, Cu, Zn und Mg teilweise in erheblichem Umfang aus der Nadelstreu an (Abb. 2). Die Akkumulationsfaktoren (A_r^*) lagen bei diesen Elementen deutlich über 1,0. Die höchsten Anreicherungen traten bei allen Streuzesetzern für Na auf ($A_r \leq 54$), einem Element, das von Pflanzen in weitaus geringeren Konzentrationen zur Aufrechterhaltung der Lebensfunktionen benötigt wird, als von Tieren.

Die Abhängigkeit der Akkumulationsneigung vom physiologischen Bedarf der Tiere wird auch bei Calcium deutlich. Für die meisten Saprophagen liefert die Nadelstreu ausreichend Calciumionen zur Aufrechterhaltung Calcium-gesteuerter Stoffwechselfunktionen. Nur Diplopoden, die Ca-salze zur Inkrustierung ihres Exoskelettes verwenden, müssen ihren erhöhten Bedarf durch Akkumulation decken (Abb. 2).

Auch bei räuberischen Arthropoden wird das Akkumulationsmuster essentieller Elemente im wesentlichen vom physiologischen Bedarf der Tiere und vom Nährstoffangebot in den Beutetieren gesteuert. Die Gehalte vieler essentieller Elemente werden aber bereits durch die Streuzersetzer oder andere Primärkonsumenten - teilweise durch Akkumulation - auf

* A_r = Elementgehalte^o der Tiere/Elementgehalte^o des Nährsubstrats, ^o($\mu\text{g/g}$ Trockengewicht)

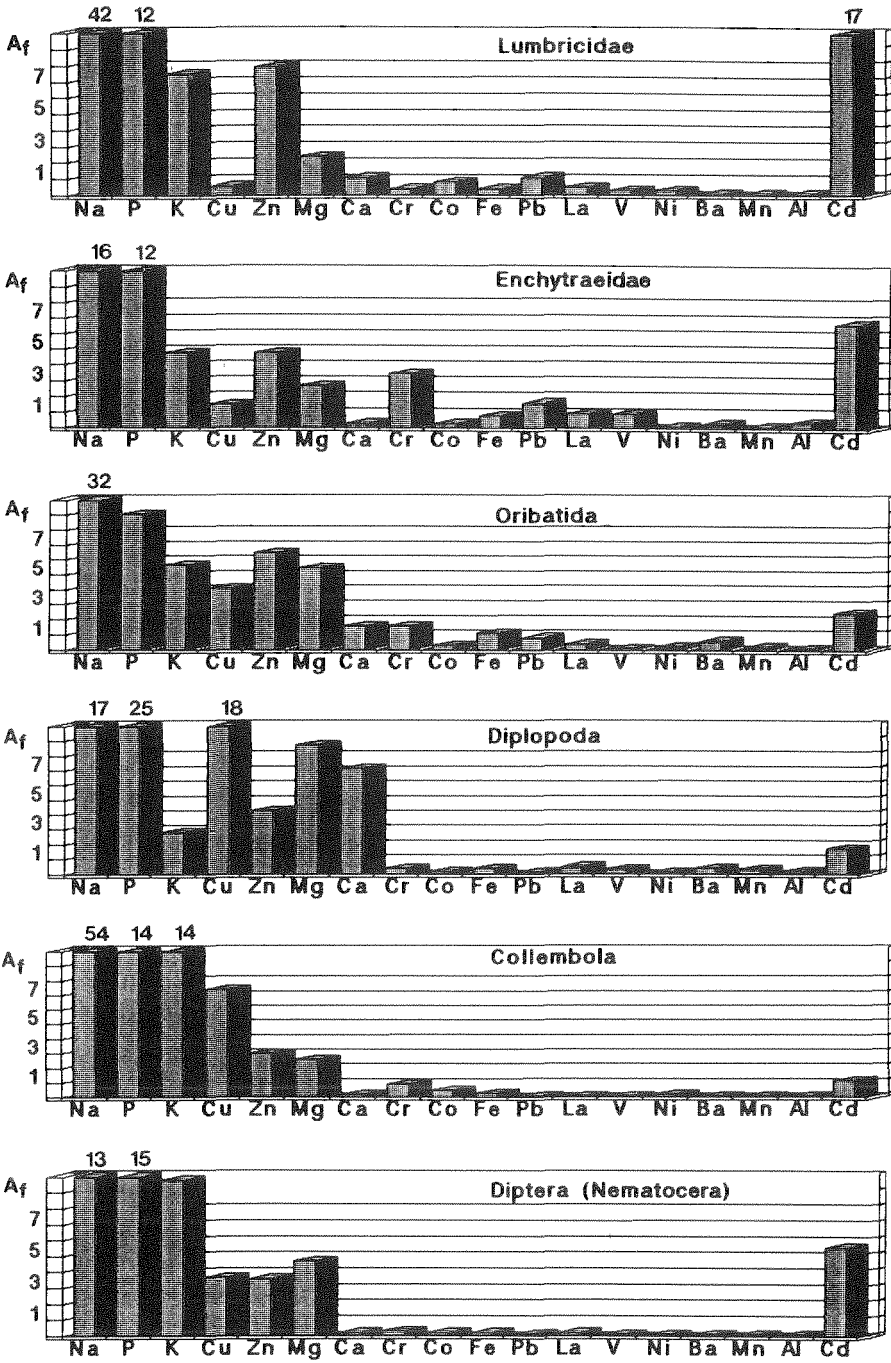


Abb. 2 Akkumulationsfaktoren (A_f) von Elementen in saprophagen Invertebraten von U1

ein Niveau gebracht, das den physiologischen Erfordernissen der meisten Zoophagen entspricht. So wurden bei räuberischen Coleopteren in U1 keine Akkumulationen beobachtet. Wie bei *Carabus granulatus* schwankten die A_i essentieller Elemente auch bei allen anderen Carabiden und Staphyliniden um 1,0 (Abb. 3)

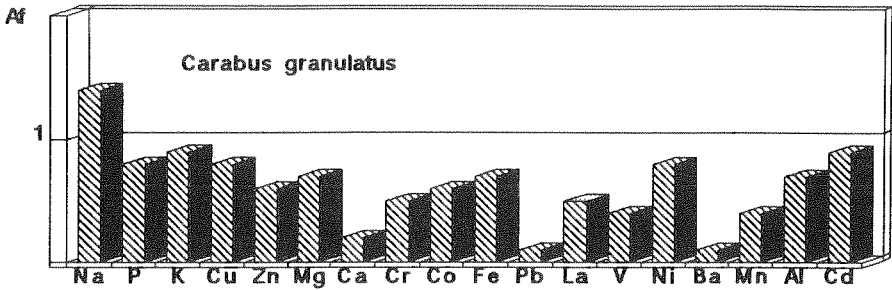


Abb. 3 Akkumulationsfaktoren (A_i) von Elementen in *Carabus granulatus*

Ein differenzierteres Bild ergab sich dagegen für die Spinnen. Wie *Robertus lividus* und *Robertus neglectus* akkumulierten alle Araneen in U1 die essentiellen Elemente Cu und Zn (Abb. 4). Die Anreicherung von Cu und wahrscheinlich auch von Zn in Spinnen steht sicherlich in Zusammenhang mit ihrem - im Vergleich zu Streuzersetzern oder räuberischen Coleopteren - erhöhten Cu-Bedarf. Innerhalb der analysierten Invertebraten sind Spinnen die einzigen Tiere, die Cu-haltiges Hämocyanin zum Sauerstofftransport in der Hämolymphe benutzen.

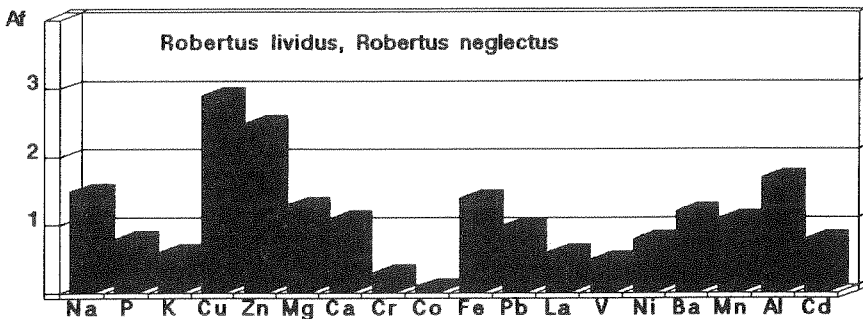


Abb. 4 Akkumulationsfaktoren (A_i) von Elementen in *Robertus* sp. von U1

Akkumulationsneigung potentiell toxischer Elemente in terrestrischen Invertebraten

Die Akkumulationsneigung potentiell toxischer Elemente* in terrestrischen Invertebraten wird von zahlreichen Faktoren bestimmt.

Abgesehen von der direkten Adsorption atmo-gen eingetragener Elemente, gelangen Metalle hauptsächlich durch Aufnahme über die Wurzeln in pflanzliche Kompartimente und stehen dann für Nahrungsketten zur Verfügung. Für die Integration von Elementen in den Stoffhaushalt der Biozönose spielen deshalb bodenchemische Standortfaktoren (z.B. pH-Werte, Redoxpotentiale, Kationenaustauscherkapazitäten, Komplexierungspotentiale), die über die Immobilisierung von Elementen oder die Bildung ökologisch wirksamer Verbindungen entscheiden, eine große Rolle.

So ist die hohe Festlegung an Huminsäuren in Böden sicherlich ein Grund für die geringe Akkumulationsneigung von Pb in Streuzersettern (Abb. 2).^{10,18,19} Unter physiologischen Bedingungen werden die hochmolekularen Pb-Huminstoffkomplexe von vielen Saprophyten wahrscheinlich nur in geringem Umfang aufgeschlossen. Das an diese Substanz - oder auch an anorganische Liganden gebundene Pb - passiert den Darm und wird größtenteils mit den Faeces wieder ausgeschieden. Nur in extrem sauren Böden mit starker Bleibelastung fand Ireland in Regenwürmern Pb-Gehalte, die über den Substratkonzentrationen lagen.²⁰

Auch für räuberische Arthropoden ist Pb wahrscheinlich nur in eingeschränktem Umfang verfügbar. Dementsprechend gering ist die Akkumulationsneigung von Pb in zoophagen Araneen und Coleopteren von U1 (Abb. 3 und 4). Viele Beutetiere speichern Pb im Intestinaltrakt oder in den Exkretionsorganen in Form stoffwechselneutraler, unlöslicher Granula, die vorwiegend aus Ca(Mg)-ortho- und -pyrophosphaten bestehen.²⁰ Alle Araneen, Carabiden und die großen Staphyliniden verdauen ihre Beute extraintestinal. Die Nahrung wird durch Enzyme präoral verflüssigt und dann aufgesaugt. Die Pb-haltigen intrazellulären Granula können dabei von den Verdauungsenzymen der Räuber wahrscheinlich nicht in physiologisch verwertbare Verbindungen überführt werden.

* z.B. Pb, La, Cd; auch für V, Ni und Al sind bei wirbellosen Tieren bisher zumindest keine physiologischen Funktionen bekannt

Ein weiterer Faktor, der die Bioakkumulationsneigung potentiell toxischer Elemente beeinflußt, ist die chemische Ähnlichkeit mit essentiellen Elementen. Das gilt sicherlich für das, im Verhältnis zu Pb, wesentlich mobilere Cd. Cadmium konkurriert in biologischen Systemen in hohem Maße mit Zn und Ca.²¹ Die chemische Ähnlichkeit von Cd mit Makro- und Mikronährstoffen und die bei Cd fehlende physiologisch kontrollierte Homöostase führen wahrscheinlich bei einigen Invertebraten zu einer überproportionalen Aufnahme von Cd und damit zur Akkumulation (Abb.2)

Die Bedeutung artspezifischer Entgiftungsmechanismen für die Akkumulationsneigung potentiell toxischer Metalle wird beim Vergleich von Anneliden und Arthropoden deutlich. Sehr hohe Anreicherungen an Cd findet man beispielsweise in solchen Invertebraten, die toxische Metalle durch Speicherung in intrazellulären, stoffwechselneutralen Granula entgiften. So zeigten Lumbriciden, die in Form ihres Chloragoggewebes ein umfangreiches Speicherorgan für Schwermetalle besitzen, die höchsten Anreicherungen an Cd (Abb. 2). Arthropoden (Insekten, Arachniden) können sich dagegen bei der Häutung von hohen Schwermetallgehalten befreien. Zahlreiche Untersuchungen belegen, daß sie toxische Elemente mit den Exuvien abgeben.²²

Literatur

1. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Braunschweig (1991): Pflanzenschutzmittel-Verzeichnis 1991.
2. E. Merian (1986): Metalle in der Umwelt - Verteilung, Analytik und biologische Relevanz. VCH Weinheim.
3. H. Hörath (1991): Giftige Stoffe - Gefahrstoffverordnung. Wiss. Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.
4. W. Funke (1991): Tiergesellschaften in Wäldern - ihre Eignung als Indikatoren für den Zustand von Ökosystemen. KfK-PEF 84.
5. V. Huhta, E. Karpinnen, M. Nurminen, A. Valops (1967): Effects of silvicultural practicies upon arthropod, annelid and nematode populations in coniferous forest soil. Ann.Zool.Fenn.4: 87-143.

6. C.O. Nielsen (1949): Studies on soil microfauna II. The soil inhabiting nematodes. *Natura Jutlandica* 2: 1-131.
7. M. Nurminen (1967): Ecology of enchytraeids (Oligochaeta) in Finish coniferous forest soils. *Ann.Zool.Fenn.* 4: 147-157.
8. K. Strenzke (1952): Untersuchungen über die Tiergemeinschaften des Bodens. *Zoologica Stuttgart* 37 (194): 1-173.
9. U. Thiede (1977): Untersuchungen über die Arthropodenfauna in Fichtenforsten (Populationsökologie, Energieumsatz). *Zool.Jb.Syst.* 104: 137-202.
10. M. Roth-Holzapfel (1991): Elementanalytische Untersuchungen an Anneliden und Arthropoden eines Fichtenbestandes. *KfK-PEF* 86.
11. G.W. Bryan (1967): Zinc regulation in freshwater crayfish (including some comparative copper analyses). *J.exp.Biol.* 46: 281-296.
12. P.J. Coughtrey, M.H.Martin (1976): The distribution of Pb, Zn, Cd and Cu within the pulmonate mollusc *Helix aspersa* Müller. *Oecologia* 27: 65-74.
13. M.P. Ireland (1979): Metal accumulation by the earthworm *Lumbricus rubellus*, *Dendrobaena veneta* and *Eiseniella tetraedra* living in heavy metal polluted sites. *Environ.Pollut.* 19: 201-206.
14. S.P. Hopkin, M.H. Martin (1983): Heavy metals in the centipede *Lithobius variegatus* (Chilopoda). *Environ.Poll.(Series B)* 6: 309-318.
15. S.L. White, P.S. Rainbow (1984): The regulation of zinc concentration in *Palaemon elegans* (Crustaceae: Decapoda): Zinc flux and the effects of temperature, zinc concentration and moulting. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 16: 135-147.
16. S.H. Kay, W.T. Haller (1986): Heavy Metal Bioaccumulation and Effects on Waterhyacinth Weevils, *Neochetina eichhorniae*, Feeding on Waterhyacinth, *Eichhornia crassipes*. *Bull.Environ.Contam.Toxicol.* 37: 239-245.
17. M. Roth-Holzapfel, W. Funke (1990): Element content of bark-beetles (*Ips typographus* Linne, *Trypodendron lineatum*; Scolytidae): A contribution to biological monitoring. *Biol.Fertil.Soils* 9: 192-198.
18. E. E. Hildebrand (1974): Die Bindung von Immissionsblei in Böden. *Freiburger Bodenkundliche Abhandlungen* 4

19. S.H. Hopkin (1989): Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier, London.
20. M.P. Ireland (1975): Distribution of lead, zinc and calcium in *Dendrobaena rubida* (Oligochaeta) living in soil contaminated by base metal mining in Wales. *Comp.Biochem.Physiol.* 52B: 551-555.
21. W. Fulkerson, H.E. Goeller (1973): Cadmium - The dissipated element. ORNL-NSF-EP-21. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee.
22. V.M. Emets, A.V. Zhulidov (1981): Trace Element Content of Colorado Beetles at Different Stages of Development After Feeding on Food Plants Having Different Metal Contents. *Doklady Akademii Nauk SSSR.* Vol 262 (3): 743-745.

Diskussion zu dem Vortrag von Roth

Die Aufnahme der Elemente in Abhängigkeit vom physiologischen Bedarf der untersuchten Organismen stellt für Rothert den wesentlichen Unterschied zu den Aufnahmemechanismen im Wasser dar. Auf Nachfrage von Streit erläutert Roth, daß die vorgetragenen Bioakkumulationsfaktoren auf das Trockengewicht der Tiere bezogen sind. Dorn ist hinsichtlich der Fragestellung des Fachgesprächs an Daten zu organischen Verbindungen interessiert. Dazu hat Roth Versuche geplant. Es liegen aber noch keine Ergebnisse vor.

Bruno Streit

Fachbereich Biologie, J.W. Goethe - Universität, Frankfurt am Main

Biologisch-ökophysiologische Grundlagen für die Prüfung der Bioakkumulation im terrestrischen Bereich

1. Einleitung

Prüfstrategien und geeignete Testorganismen zur Prüfung der Bioakkumulation im terrestrischen Bereich haben von geeigneten Konzepten und Modellen auszugehen und die Diversität biologischer Aufnahmemechanismen ebenso zu berücksichtigen (z.B. Streit 1989) wie die Vielfalt chemischer Verbindungen und Interaktionen im Ökosystem (z.B. Streit 1992a). Unter der Annahme, daß Prüfverfahren möglichst weitreichende Aussagen erlauben sollen und Testorganismen nicht nur aufgrund der Praktikabilität im Umgang, sondern auch aufgrund möglichst charakteristischer Aufnahme-, Speicher- und Biotransformationseigenschaften gewählt werden sollten, scheint eine (wenngleich stark vereinfachte) Übersicht über die Vielfalt terrestrischer Lebensformen angebracht.

Die folgende Übersicht soll an ausgewählten Beispielen auf die Vielfalt einiger dieser Eigenschaften hinweisen, aber viele andere Aspekte, z.B. ökotoxikologisch relevante Unterschiede im Metabolismus, nicht berücksichtigen. Auch wenn damit die vorgeschlagene Untergliederung teilweise etwas willkürlich und überzeichnet erscheint, da es eine Vielzahl an Übergängen und Modifikationen im Bereich terrestrischer Organismen gibt, so erlaubt sie doch meines Erachtens eine konzeptionelle Unterscheidung zwischen verschiedenen Chemikalien-Organismen-Interaktionen und damit auch Ansatzmöglichkeiten für Prüfstrategien.

2. Zur biologisch-ökophysiologischen Diversität terrestrischer Organismen

Terrestrische Organismen bestehen teilweise aus Vertretern, die in aquatischen Mikrohabitaten leben (Protozoa, Rotatoria, Tardigrada) oder aber sich aufgrund ihrer sehr durchlässigen Haut nur in feuchter Umgebung aufhalten können (z.B. Lumbricidae, Enchytraeidae, Gastropoda, manche Arthropodenlarven). Diese haben im allgemeinen, ähnlich wie viele "primäre" Wassertiere (d.h. solche, die nicht aus terrestrisch lebenden Vorfahren

Auch das pflanzliche Wurzelsystem, das an die selektive Aufnahme verschiedener Ionen angepaßt ist, verhält sich grundsätzlich ähnlich. Sowohl die Wurzelzellen der Landpflanzen generell, wie auch ihre symbiontischen Mykorrhizapilze, die in vielen Fällen die Funktion der Stoffaufnahme übernommen haben, unterliegen leicht einer passiven Aufnahme lipophiler Verbindungen und Metalle. Allerdings ist die Mobilität der Stoffe innerhalb der Pflanzen sehr unterschiedlich ausgeprägt. Eine ausführliche Darstellung der Aufnahmemechanismen und der Bioakkumulation der Metalle bei höheren terrestrischen Pflanzen haben wir kürzlich an anderer Stelle gegeben (Streit & Stumm 1992).

Den "membranösen" oder "dünnhäutigen" Formen stehen jene (vorwiegend metazoischen) Formen gegenüber, die eine relativ dickhäutige, undurchlässige Hautstruktur haben und Schadstoffe aus der Umwelt primär über die (orale) Ingestion aufnehmen. Beispielhaft für diese Gruppe stehen - zumindest als Adultformen - viele Arthropoden (Spinnentiere, Tausendfüßler, Hundertfüßler, Insekten) sowie die Amniota unter den Wirbeltieren (Reptilien, Vögel, Säugetiere). Je nach geographischen Regionen (die sich von feuchten Wald- bis trockenen Grasbiomen erstrecken können) und lokalem Vorkommen (Leben innerhalb oder oberhalb des Erdbodens) ist der Anteil der dünn- bzw. dickhäutigen Formen sehr unterschiedlich. Viele Tiere führen auch Stratenwechsel durch (z.B. von einer anfänglichen Lebensweise im Boden überwechselnd zu einer in der Vegetationsschicht) und kombinieren dies mit einer Verdickung der Hautstruktur (z.B. durch eine Sklerotisierung bei manchen Insekten nach der Verpuppung). Diese "dickhäutigen" Tiere zeigen im allgemeinen langsamere Aufnahmeraten sowie oft auch verlangsamte Eliminationsraten im Vergleich zu "dünnhäutigen" Tieren. Die Bedeutung der Nahrungsbelastung für die Schadstoffanreicherung im konsumierenden Tier, d.h. der Nahrungskettenpfad der Aufnahme, ist bei diesen Formen daher quantitativ und bezüglich der Kinetik der Akkumulationsprozesse bedeutsamer als bei den Feuchtluft- und Wassertieren im Boden.

Während mathematisch formulierbare, quantitative Input-Output-Modelle für Fische verschiedentlich erstellt worden sind (Erickson & McKim 1990, Streit et al. 1991) und aus ausgewählten Säuger- und Vögeluntersuchungen ein guter Überblick über die Input- und Outputraten sowie den Metabolismus für verschiedene Klassen von Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen besteht, fehlen solche Modelle weitgehend für die (heterogene) Gruppe der endo- und epigäischen Bodentiere und ihre Vernetzung im terrestrischen Ökosystem. Die folgenden Hinweise sind als beispielhafte und rudimentäre Angaben zur Aufnahme, Bindung und Elimination zu verstehen, die diskutierten Mechanismen teilweise als Hypothesen.

3. Ausgewählte Ergebnisse und Schlußfolgerungen

Ein terrestrisches System mit Darstellungen zur Vernetzung der Stoff-Flüsse zwischen Boden und Grundwasser sowie zwischen Strukturteilen und Wasserphase (durch Adsorptions- und Desorptionsprozesse) ist in der Abbildung 2 (links) wiedergegeben. Rechts daneben sind einige Hauptlebensweisen charakterisiert ("endogäisch": in der Erde lebend,

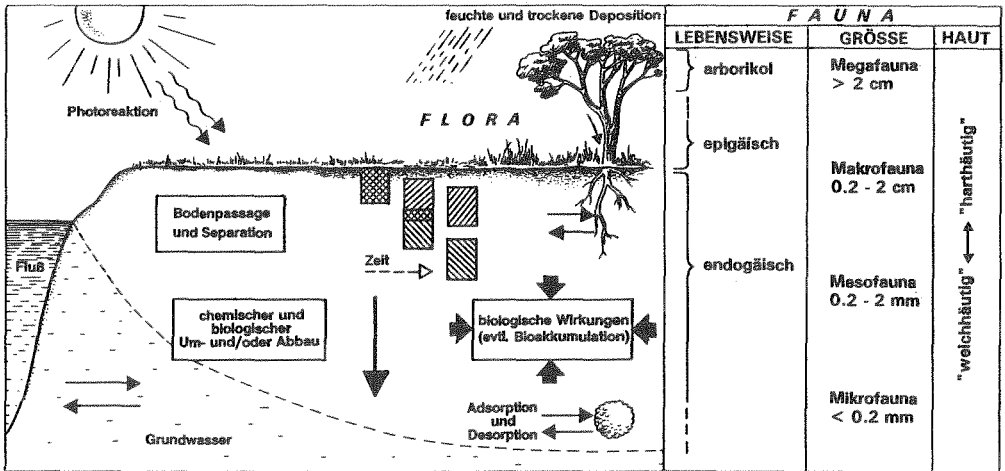


Abb. 2. Terrestrisches System mit Darstellung der Vernetzung der Stoff-Flüsse zwischen terrestrischen und Grundwasserbereichen. Rechts sind einige Hauptlebensweisen charakterisiert ("-kol"), klassische Körpergrößeneinteilungen, wie sie v.a. für Bodenorganismen verbreitet sind, sowie ökophysiologische Hauptkategorien bezüglich der Stoffpermeabilität durch die Haut. (teilweise nach Streit 1992b).

"epigäisch": über der Erdoberfläche lebend, sowie als spezielle Form die baumbewohnende "arborikole" Lebensweise). Die angegebenen Körpergrößeklassen entsprechen einer klassischen Einteilung, die v.a. für Bodentiere in Anwendung ist und teilweise auch auf unterschiedliche ökophysiologische Typen hinweist: so sind die Vertreter der Mikrofauna weitgehend an das Leben in den Wasserfilmen angepasst, während es unter den übrigen Gruppen gleichermaßen "dünnhäutige" und "dickhäutige" Formen gibt. Beispielsweise sind schon unter den Mesozoa viele Hornmilben (Oribatida oder Cryptostigmata) stark "gepanzert".

Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffe sind teilweise hydrophil (ionale Verbindungen; Metallanteile, soweit nicht mit lipophilem Rest verbunden), teilweise lipophil (Phosphorsäure-

ester, Chlorkohlenwasserstoffe, Organozinnverbindungen). Als Beispiel für ein - bei Pflanzenschutzmitteln in der BRD allerdings nicht eingesetztes - Modellmetall sei die Aufnahme- und Eliminationskinetik von Cadmium, das sich im Ökosystem praktisch nicht mit lipophilen Liganden verbindet, für Regenwürmer der Art *Lumbricus rubellus* in der Abbildung 3 dargestellt. Die aus der Darstellung ersichtliche rasche Aufnahme und nur langsame Abgabe nach beendeter Kontamination ist auch für weitere Metalle gefunden worden; eine starke Bindung an bestimmte Proteine ist hier zum großen Teil für die geringe Elimination verantwortlich (Streit et al. 1990). Grundsätzlich ist die Aufnahme bei Lumbriciden über die Haut wie über das Darmsystem möglich, wobei die prozentuale Bedeutung dieser beiden Pfade für verschiedene biologisch-ökologische Bedingungen und Stoffklassen zur Zeit kaum abgeschätzt werden kann.

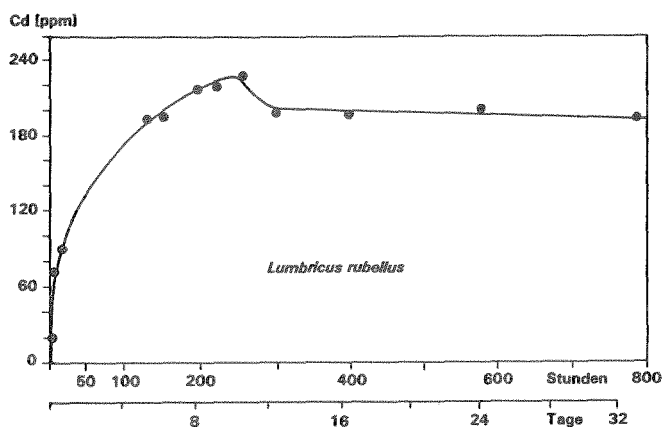


Abb. 3. Cadmium-Anreicherung und Elimination beim Regenwurm; leicht schematisiert. Die Würmer wurden in Erde gehalten, die einem organischen Anteil von 3% Kohlenstoff an der Trockenmasse entsprach. Die künstliche Kontamination wurde mittels CdSO_4 -Hydrat auf 60 ppm eingestellt. Nach 10½ Tagen wurden die Würmer in unkontaminierte Erde umgesetzt. (Weitere Angaben in Streit et al. 1990)

Lipophile Verbindungen werden bei "dünnhäutigen Tieren", ähnlich wie bei Süßwasserorganismen, ebenfalls leicht aufgenommen, allerdings in aller Regel auch wieder rascher abgegeben, da die Fettlöslichkeit auf einer viel geringeren Bindungsstärke durch van der Waals-Kräfte beruht, nicht auf einer der Proteinbindung der Metalle vergleichbaren Bindung; daher kann auch eine Desorption unter dekontaminierten Bedingungen rascher erfolgen. Hinzu kommt gegebenenfalls eine Biotransformation (Metabolisierung) mit Abbau oder Umwandlung in eine hydrophile Verbindung und Ausschleusung über das Exkretionssystem.

Für "primäre" Wassertiere gilt, daß lipophile Verbindungen quantitativ überwiegend über ihre Oberfläche in den Körper gelangen und daß der Anteil, der über kontaminierte Nahrung in den Körper gelangt, meist nicht bedeutsam ist für die Geschwindigkeit der Bioakkumulation. Allerdings ist der quantitative Anteil der über Ingestion erfolgenden Aufnahme im Vergleich zu dem über direkte Hautaufnahme auch für diese aquatischen Organismen speziell bei sehr hohen p_{ow} -Werten (Logarithmus des n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten) von über ca. 6 zur Zeit nicht klar. Diese Einschränkung müssen wir auch für die "dünnhäutigen" Tiere im terrestrischen System machen, zu denen u.a. wohl praktisch die gesamte Mikrofauna, daneben aber auch Vertreter bis zur Megafauna (Schnecken, Regenwürmer) gehören.

Daß "dickhäutige" Tiere, selbst aus dem Bereich der Mesofauna, oft weniger direkt und schnell auf Schwermetallbelastung reagieren, ist beim Vergleich der Empfindlichkeit zwischen Regenwürmern der Art *Octolasion cyaneum* und Oribatiden an anderer Stelle gezeigt worden (Streit 1984).

Bei Tieren, die keine permeablen Hautbezirke in direktem Kontakt zur Bodenlösung haben, sind (wenn von der gasförmigen Aufnahme über Tracheen oder Lungen bei Wirbeltieren bzw. Arthropoden abgesehen wird) die orale Aufnahme und verschiedene Wege der Ausscheidung oder Metabolisierung entscheidende, die Gesamtkinetik und Bioakkumulation bestimmende Größen.

Höhere Pflanzen sind der Belastung und Bioakkumulation nicht nur über das Wurzelsystem, sondern in besonders hohem Maße (aufgrund ihrer großen Oberfläche) auch über die atmosphärische trockene und feuchte Deposition ausgesetzt. Sie haben eine Kutikula, die aufgrund ihrer Wachsschicht zum sparsamen Wasserhaushalt der Pflanze beiträgt, infolge ihrer Lipophilie allerdings permeabel für fettlösliche Verbindungen ist (Riederer 1991). Daneben sind die Stomata potentielle Eintrittspforten für verschiedene Arten von Umweltchemikalien.

Wie verläuft die Bioakkumulation bei "dickhäutigen" Tieren, wie sie vorzugsweise in Arthropoden- und Amnioten-Nahrungsketten verwirklicht ist? In der Abbildung 4 wird ein Beispiel der Belastung einer natürlichen Nahrungskette durch Organochlorverbindungen dargestellt. Es wurden dabei im Raume Schlüchtern (Hessen) Eichenlaub (*Quercus robur*) gesammelt und zwei Folgekonsumenten bezüglich ihrer Belastung untersucht. Als Primärkonsumenten wurden Raupen (*Tortrix viridana*, *Operophtera brumata*, *Erannis defoliaria*) analysiert, als Sekundärkonsumenten Eier und Jungvögel der Kohlmeise (*Parus major*), wobei

im letzteren Falle jeweils frisch abgestorbene Individuen im Frühjahr (Ende der 1980er Jahre) gesammelt wurden (nach Winter & Streit 1992). Die Höhe der Rückstandswerte in Bezug zur Trocken- oder Frischmasse (der Bioakkumulationsfaktor) erhöhte sich von der einen zur nächsten trophischen Ebene um größenordnungsmäßig den Faktor 10, wobei allerdings der Übergang von Eichenlaub zu Raupen auch mit einer nahezu gleich starken Zunahme des prozentualen Fettanteils verbunden war. Beim Übergang Raupe zu Kohlmeise ist jedoch auch der fettbezogene Rückstand stark ansteigend. Das Muttertier gibt offensichtlich (passiv über das Verteilungsgleichgewicht bezüglich der Fettlöslichkeit) eine hohe Menge an Chlorkohlenwasserstoffen aus dem Körperfett in die Eier ab. Wieweit diese hohen Rückstandswerte für die erhöhte Sterblichkeit an den Untersuchungsstandorten mitbeteiligt sind, läßt sich zur Zeit nicht sagen. Während der Wachstumsphase der Jungvögel reduzierte sich deren Konzentration wieder infolge eines "Verdünnungseffektes" durch die zusätzlich angelegte Biomasse und durch die Verminderung des Fettanteils.

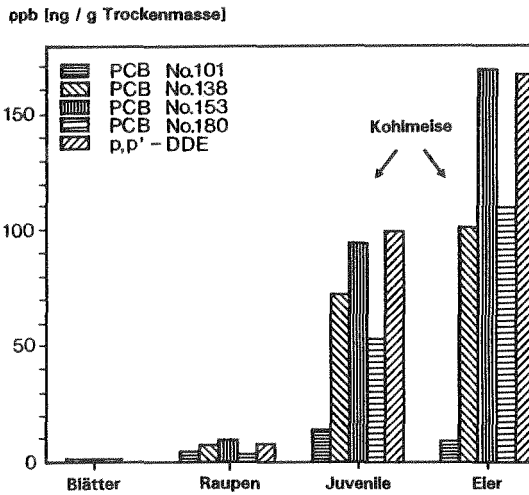


Abb. 4. Bioakkumulation (Biomagnifikation) stark lipophiler Verbindungen in der Nahrungskette Eichenlaub - Raupen - Kohlmeise. Dargestellt sind die Konzentrationen in ppb (ng Substanz pro g Trockenmasse) für die fünf bedeutsamsten Organochlorverbindungen. Durch einen "Verdünnungseffekt" im wachsenden Jungtier vermindert sich die ursprüngliche höhere Konzentration der Eier etwas. (nach Winter & Streit 1992).

Auch für Nahrungsketten dieser Art ist es zur Zeit nicht möglich, den Verlauf der Konzentrationen von Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen in den verschiedenen trophischen Ebenen und im Lebenszyklus der Arten in Abhängigkeit bestimmter Stoffeigenschaften

darzustellen. Hierzu zählen der p_{ow} -Wert oder auch andere Parameter der *Struktur-Wirkungsbeziehungen* (QSAR, "*quantitative structure-activity relationships*"). Dadurch ist es gegenwärtig auch problematisch, gefundene Rückstandswerte zu "erklären", wie z.B. diejenigen bei den (bekanntermaßen durch verschiedenen Umweltstreß gefährdeten) Fledermäusen, wo die Rückstandswerte deutlich höher als bei den Kohlmeisen liegen (z.B. Nagel et al. 1991 für Niedersachsen). Erst die Kombination beispielhafter experimenteller und theoretischer Untersuchungen einzelner Nahrungsnetzbeziehungen und der Entwicklung geeigneter, auf diesen Modellen basierender Testkonzepte stellt eine geeignete Grundlage dar, um optimale Prüfstrategien zu entwickeln.

Literatur

- Erickson, R.J. & McKim, J.M. (1990). A model for exchange of organic chemicals at fish gills: flow and diffusion limitations. - *Aquat. Toxicol.* 18, 175 - 198.
- Nagel, A., Winter, St., Streit, B. (1991): Die Belastung niedersächsischer Fledermäuse mit Chlorkohlenwasserstoffen. - *Naturschutz Landschaftspfl. Niedersachs.* 26: 143 - 150.
- Riederer, M. (1991): Die Kutikula als Barriere zwischen terrestrischen Pflanzen und der Atmosphäre. - *Naturwissenschaften* 78: 201 - 208.
- Streit, B. (1984): Effects of high copper concentrations on soil invertebrates (earthworms and oribatid mites): Experimental results and a model. - *Oecologia (Berlin)* 64: 381 - 388.
- Streit, B. (1989): Zum Problem der Bioindikatoren aus zoologisch-ökologischer Sicht. - *Veröff. des 14. Basler geomethodischen Colloquiums. Geomethodica* 14: 19 - 45.
- Streit, B. (1992a): Bioaccumulation processes in ecosystems. - *Invited Review Paper. Experientia* 48: (in press).
- Streit, B. (1992b): *Lexikon Ökotoxikologie. XIX + 731 S. 1. korrigierter Nachdruck (erweiterte Neuauflage für 1993 in Vorb.). - VCH, Weinheim.*
- Streit, B., Krüger, Ch., Lahner, G., Kirsch, S., Hauser, G., Diehl, B. (1990): Aufnahme und Speicherung von Schwermetallen durch Regenwürmer in verschiedenen Böden. - *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* 2(1): 10 - 13.
- Streit, B., Siré, E.-O., Kohlmaier, G.H., Badeck, F.-W., Winter, St. (1991): Modelling ventilation efficiency of teleost fish gills for pollutants with high affinity to plasma proteins. - *Ecol. Modelling* 57: 237 - 262.

- Streit, B., Stumm, W. (1992): Chemical properties of metals and the process of bioaccumulation in terrestrial plants. - [In:] B. Markert, ed.: Plants as Biomonitors. Indicators for heavy metals in the terrestrial environment. - VCH Publisher, Inc., Weinheim, New York. (in press)
- Winter, St., Streit, B. (1992): Organochlorine compounds in a three-step terrestrial food chain. - Chemosphere (in press).

Danksagung: Der Stiftung Volkswagenwerk sei für ihre langjährige Unterstützung gedankt.

Diskussion zu dem Vortrag von Streit

In der Diskussion schlägt Roth vor, neben der Dünn- und Dickhäutigkeit von Organismen weitere Gruppen hinsichtlich ihrer Entwicklungsstadien gesondert zu betrachten. Beispielhaft führt sie das Phänomen der Häutung an. Sobhani fragt nach dem Einfluß von Bodenfeuchte und pH-Wert auf die Bioakkumulation. Streit bejaht diesen Zusammenhang und erläutert, daß zumindest bei ionisierenden Stoffen in Abhängigkeit vom pH-Wert die Permeabilität von Membranen beeinflusst werden kann. Die Bodenfeuchte hat direkten Einfluß auf die Löslichkeit von Chemikalien und damit auf die Konzentrationsverhältnisse. Nagel weist darauf hin, daß Umweltchemikalien häufig schwache Basen oder schwache Säuren sind. Ionen diffundieren schlechter durch Biomembranen als ungeladene Substanzen. Daher gilt allgemein, daß für Säuren im sauren Bereich und für Basen im basischen Bereich die Voraussetzung für eine Diffusion gegeben ist, weil die Stoffe in diesem Bereich ungeladen vorliegen. Zur Abhängigkeit von der Bodenfeuchte weist er auf Untersuchungsergebnisse (z. B. von Scheunert zum Übergang von Substanzen vom Boden in die Pflanze) hin, die eine stärkere Korrelation zwischen Wasserlöslichkeit und Aufnahme als zwischen Lipophilie und Aufnahme gezeigt haben. Das hängt damit zusammen, daß nur in Wasser gelöste Substanzen verfügbar für die Aufnahme über die Wurzeln sind. Dies sollte auch bei der Aufnahme von Chemikalien durch Bodenlebewesen über Biomembranen gelten.

Dr. Dorn
Hoechst AG, Produktentwicklung, Ökologie I

Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation aus Sicht eines Pflanzenschutzmittelherstellers

Diskussionsbeitrag einer
Projektgruppe des Industrieverbandes Agrar
Industrieverband Agrar
Karlstraße 21, 6000 Frankfurt (M)

ZUSAMMENFASSUNG

Wenn Vortests mit einer lipophilen Substanz eine erhöhte Bioakkumulationsneigung anzeigen, kann das Ausmaß und die Kinetik des Anreicherungsprozesses mit geeigneten Stellvertreterorganismen abgeklärt werden. Um eine potentielle Verstärkung der toxischen Wirkung durch die Bioakkumulation in Geweben richtig zu erfassen, müssen die relevanten toxikologischen Wirksamkeitsprüfungen bis zum Erreichen der Konzentrationsplateaus ausgedehnt werden. Auf diese Weise ist der Anreicherungsprozeß kausal mit dem Kriterium der niedrigsten toxischen Wirkungsschwelle verknüpft. Dies gilt sowohl für die direkte Biokonzentration aus dem Wasser wie für die Biomagnifikation in der Nahrungskette. Nun kann diese niedrigste Wirkungsschwelle mit der realistischen höchsten Umweltkonzentration verglichen werden. Auf diesem Weg wird die Relevanz der Bioakkumulation mitbewertet, weil sie in angemessener Weise in den toxikologischen Wirkungsversuch eingebaut ist.

1. Einleitung

Durch den Prozeß der Bioakkumulation kann eine lipophile Substanz in einem exponierten Organismus in einer höheren Konzentration auftreten als in dem Medium, in dem der Organismus lebt bzw. als in dem Futter, das ein Organismus aufnimmt. Daher muß die Information erarbeitet werden, mit der man den Verlauf, das Ausmaß sowie kausale Folgen der Bioakkumulation beurteilen und nicht vertretbare Auswirkungen verhindern kann. In die Betrachtung muß zusätzlich einfließen, ob nach Bioakkumulation eine hohe Konzentration über längere Zeit in einem Organismus bleibt und dieser als Beutetier eine Gefährdung für die nächste trophische Stufe darstellt.

2. Ziel der Ausführung

Es wird ein stufenweises Verfahren vorgeschlagen, mit dem man ein durch die Bioakkumulation verstärktes Schädigungspotential für exponierte Organismen erkennen kann. Dabei wird erläutert, wie die vorhandenen Daten aus einem Zulassungsantrag für Pflanzenschutzmittel genutzt werden können (Biologische Bundesanstalt, 1990). Es soll auch dargestellt werden, wann möglicherweise kritische Konsequenzen aus der Bioakkumulation aus den Standardstudien nicht erkannt werden können und daher gezielt untersucht werden sollten.

Die Ausführungen beschränken sich auf Aspekte der Bioakkumulation bei tierischen Organismen. Der Mensch ist in der vorliegenden Betrachtung nicht einbezogen. Der folgende Vorschlag beruht auf dem Stand der Test-erfahrungen und kann mit zunehmender wissenschaftlicher Erkenntnis modifiziert und weiterentwickelt werden.

3. Definitionen (nach D.W. Connell, 1988) und Parameter der Bioakkumulation

Bioakkumulation = Biokonzentration plus Biomagnifikation

Biokonzentration: Anreicherung eines Fremdstoffes im Organismus (z.B. Fisch) aus dem Medium (z.B. Wasser) heraus.

Biomagnifikation: Anreicherung eines Fremdstoffes in einem Organismus (z.B. Fischadler) aus der Nahrung (z.B. Fisch) heraus.

Relevante Parameter zur Beschreibung des Bioakkumulationsvorgangs:

- a) BCF (Quotient aus Konzentration im Organismus und im Medium) am Konzentrationsplateau, nachdem sich das Gleichgewicht zwischen Aufnahme und Ausscheidung eingestellt hat.
- b) Zeit bis zum Erreichen des Plateaus. Aus praktischen Gründen bewertet man häufig die Zeit für das Erreichen von 90 % des Plateaus.
- c) Kinetik der Ausscheidung nach Absetzen der Fremdschubstanz.

Im folgenden muß klar zwischen verschiedenen Mechanismen, die zu Anreicherungen führen unterschieden werden.

- A) Anreicherungsprozesse, die allein durch hohe Lipophilie und den Verteilungskoeffizienten der inerten, unmetabolisierten Substanz verursacht werden.
- B) Anreicherungsprozesse, bei denen die Substanz mit dem Gewebe reagiert. In Versuchen mit radioaktiver Prüfsubstanz führt das zu einem allgemein erhöhten Gehalt an Radioaktivität im Gewebe. Ein solcher Mechanismus gibt sich häufig durch eine langsame Plateaueinstellung und langsame bzw. unvollständige Ausscheidung zu erkennen und daran, daß auch in weniger lipophilen Geweben wie Muskeln relativ hohe Radioaktivitätsgehalte im Vergleich zum Fettgewebe beobachtet werden. In diesem Fall steht aber die Substanz nicht in einem Verteilungsgleichgewicht! Das Verhalten von solchen Substanzen muß in spezifisch angepaßten Sonderversuchen von Fall zu Fall untersucht werden.
- C) Das Anreicherungsverhalten der im Organismus gebildeten Metaboliten, deren chemische und physikalische Eigenschaften von denen der Ausgangssubstanz verschieden sind.

Im folgenden soll nur von (A) die Rede sein.

4. Prinzip der Bewertung

Auch für die Bewertung der Bioakkumulation muß die unter ungünstigen Bedingungen relevante Exposition mit der toxischen Wirkungsschwelle verglichen werden. Die Bioakkumulation kann zwar in separaten Versuchen beschrieben werden, muß dann aber kausal mit den Parametern Exposition und toxische Wirkungsschwelle verknüpft werden. Für die Abschätzung der subchronischen und chronischen Exposition müssen Bioverfügbarkeit und Abbaugeschwindigkeit mit berücksichtigt werden.

Die Versuche der toxikologischen Wirkungstests müssen so angelegt werden, daß während des Versuchszeitraums das Plateau im jeweiligen Organismus erreicht werden kann. Der Prozeß der Bioakkumulation ist dann ein Teil der Exposition und somit des toxikologischen Wirkungstestes.

Es gibt davon unabhängig auch verzögerte toxische Wirkungen, selbst wenn das Plateau längst erreicht ist. Aber das ist ein spezifischer Wirkungsaspekt, keine Besonderheit, die mit Akkumulation korreliert. Dieses Phänomen muß unabhängig von der Akkumulation abgeklärt werden. Ebenso müssen die geeigneten toxikologischen Testergebnisse berücksichtigt werden, wenn die Situation einer chronischen Exposition vorliegt.

In diesem Zusammenhang sind die bewertungsrelevanten Meßdaten

- Wasserlöslichkeit, K_{ow} , K_{oc} ,
- Biokinetik an Fischen, Ratten, Hühnern mit der Höhe des Konzentrationsplateaus, der Zeit bis zur Einstellung des Plateaus, der Kinetik der Ausscheidung sowie dem Metabolisierungsweg der Fremdschubstanz in den Organismen,
- toxische Wirkungsschwellen aus akuten, subchronischen und chronischen toxikologischen Versuchen an Algen, Daphnien, Fischen, Säugern, Vögeln, Regenwürmern und Mikroorganismen,
- geschätzte Umweltkonzentration und ihre Bioverfügbarkeit,
- Abbaugeschwindigkeit in der Umwelt und in Organismen.

Die bewertungsrelevanten Schutzgüter sind

- aquatische und terrestrische Organismen und die zugehörigen Lebensgemeinschaften mit den verschiedenen trophischen Stufen.

Eine abschließende Klassifizierung oder Bewertung der Bioakkumulationsneigung von Substanzen in einem Zulassungsprozedere allein nach der Höhe der BCF-Werte oder den Halbwertszeiten der Ausscheidung ohne Verknüpfung mit dem Einfluß auf die toxische Wirkung ist zufällig und kausal nicht ableitbar. Solche Konzepte sind zwar leicht handhabbar und übersichtlich, aber ökologisch/toxikologisch nicht begründbar und sollten deshalb in der Toxikologie und Ökotoxikologie weltweit nicht angewendet werden.

Stufenkonzept der Akkumulations-Prüfung:

Da schon mit einfachen Prüfungen (Bestimmung des Verteilungskoeffizienten K_{ow}) erkannt werden kann, ob Bioakkumulation möglich ist, endet in einem gestuften Vorgehen die Prüfung vieler Substanzen auf dieser Stufe.

In anderen Fällen werden weiterführende Tests zur Quantifizierung der Bioakkumulation nötig. Dieser Bereich ist der Schwerpunkt des Beitrages. Für die "Triggerwerte" von K_{ow} , BCF oder DT-50 wurden unten international häufig zitierten Zahlenwerte verwendet, die in der Regel Konventionen darstellen.

5. Repräsentative und relevante Expositionsszenarien

Mit folgenden, voneinander abgrenzbaren Umwelt-Szenarien lassen sich die wichtigsten Expositionen mit nachfolgender potentieller Akkumulation beschreiben und beurteilen.

- a) Im aquatischen Lebensraum mit den Stellvertreterorganismen Alge, Fischnährtier (z.B. Daphnie) und Fisch können diese Organismen aus dem Medium Wasser Substanzen akkumulieren. Aus diesem Lebensraum können weiterhin fischfressende Räuber (z.B. Fischadler oder Fischotter) kontaminierte Fische als Nahrung zu sich nehmen.

Wasser --> Fische --> Fischfresser
 Daphnien
 Algen
 Bakterien

- b) Im Lebensraum Boden, der nach PSM-Behandlung kontaminiert ist, können Organismen durch direkten Kontakt Rückstände aufnehmen und ggf. akkumulieren. So hat z.B. der Regenwurm durch seine Lebensweise einen intensiven Kontakt mit dem Boden und könnte Substanzen aus dem Boden bzw. dem Porenwasser heraus direkt akkumulieren.

In der nachfolgenden Nahrungskette könnten z.B. der Maulwurf oder Vögel kontaminierte Regenwürmer aufnehmen.

Boden --> Bodenorganismus (z.B. Regenwurm)--> regenwurm-fressendes Tier

Wenn von den in den Szenarien (a) und (b) genannten Organismen die nachfolgend aufgelisteten Daten direkt oder indirekt ermittelt worden sind, kann der Einzeleinfluß der Akkumulation auf das Schädigungspotential der Substanz abgeschätzt werden.

- Bioverfügbare Expositionshöhe unter ungünstigen Bedingungen.
- die Zeit für das Erreichen des Plateaus, Akkumulationsparameter BCF, Ausscheidungskinetik nach Beenden der Exposition.
- Niedrigste toxikologische Schwellenwerte aus geeigneten Toxizitätsversuchen mit ausreichend langer Dauer, die die spezifischen Substanzeigenschaften berücksichtigen.

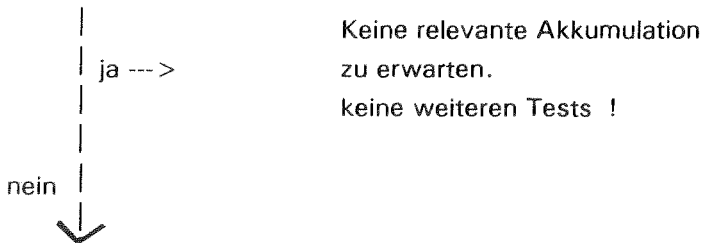
6. **Stufenkonzept für die Akkumulationsprüfung;**
Entscheidungsbaum für die Bewertung

I. **Relevant für alle oben genannten Lebensräume:**

(1) ? Liegt ein Potential zur Akkumulation in Organismen vor ?

(2) ! Wasserlöslichkeit und $P_{O/W}$ messen !

? $P_{O/W}$ kleiner als 1000 ?



(3) ! Ermitteln der Biokonzentration an Fischen !

II. Weiterführender Entscheidungsbaum für spezifische Umweltszenarien

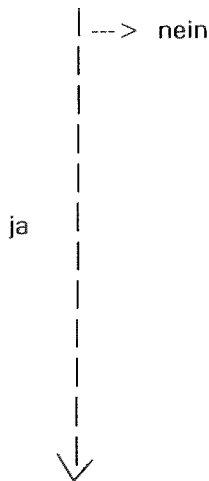
II.a) Lebensraum Wasser (einschl. Räuber, die sich von aquat. Lebewesen ernähren):

(4) ? Dauert die Plateaeinstellung im Akkumulationsversuch mit Fischen länger als die geprüfte Zeitspanne in den Tests zur Fischtoxizität (21 Tage Testdauer) ?

und

(5) ? liegt der BCF (als Maß der Bioakkumulationsneigung) am Plateau oberhalb von 1000 ?

(6)

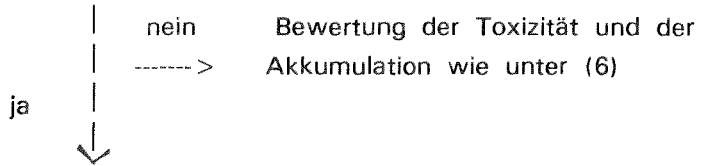


Keine weiteren Versuche; die subchronischen toxikologischen Wirkungsschwellen können mit der längerfristig auftretenden bioverfügbaren Expositionshöhe (EEC) verglichen werden. Eine zusätzliche Biomagnifikation im Lebensraum Wasser, z.B. von Alge über Daphnie zum Fisch hat für PSM keine Relevanz, da sich das Konzentrationsgleichgewicht Fisch/Wasser schnell einstellt.

(7) ! Ggf. ergänzende Versuche, z.B. Dauer der Fischtoxizitätsprüfung mit dem gleichen toxikologischen Endpunkt auf mindestens die Testzeit verlängern, die für die Plateaeinstellung erforderlich ist ! Diese verlängerten Fischtoxizitätsversuche sind jedoch nicht sinnvoll und daher nicht erforderlich, wenn die Substanzkonzentrationen in Oberflächengewässern (EEC) aufgrund des Anwendungsszenarios deutlich unter der bekannten NOEC aus dem 21-Tage-Fischversuch liegen.

(8) ? Ist die NOEC durch die Testverlängerung signifikant verändert ?

(9) !



Wenn auf dieser Teststufe eine abschließende Bewertung des ökologischen Gesamtwirkungspotentials noch nicht möglich ist, so ist n i c h t der Einzeleinfluß der Bioakkumulationsneigung dafür verantwortlich, sondern ein verzögert wirkender Toxizitätsmechanismus, der abgeklärt werden muß. Auch hier gilt, daß kritische Parameter z.B. aus einem Reproduktionsversuch erst dann verläßlich bestimmt sind, wenn die Testdauer für die Einstellung des Konzentrationsplateaus ausreichte.

Die Fragen einer verzögerten Wirkung und ihrer ökologischen Relevanz sollten in speziellen Sonderversuchen wiederum in einem stufenweisen Vorgehen abgeklärt werden.

II.b) Gefährdungspotential für Wirbeltiere, die sich von kontaminierten Fischen ernähren

(10) ! Abschätzen der Exposition für terrestrische Organismen:

Bioverfügbare EEC im Wasser multipliziert mit BCF (Fisch)

= Konzentration im Fisch;

Berücksichtigung des Nahrungsfaktors (d.h. Dosis in mg/kg Körpergewicht unter Berücksichtigung des Anteils der Fischnahrung an der Gesamtnahrung und der täglichen Menge, die pro kg Körpergewicht verzehrt wird) führt zu

- a) einem Wert für die akute Exposition und
- b) einem Wert für die chronische Exposition, wenn zusätzlich Abbau und Adsorption an Sediment, Rückstandsbildung im Fisch, Metabolisierung im Fisch und Ausscheidung berücksichtigt werden.

(11) ! Abschätzung der NOELs für die akute und subchronische Toxizität der Stellvertreterarten (z.B. Ratte für Säugetiere, Wachtel für Vögel).

(12) ? Risikoabschätzung:

Liegen die Expositionsobergrenzen für Räuberorganismen unter den Toxizitätsuntergrenzen bei Berücksichtigung von tatsächlichem und bioverfügbarem Expositionsverlauf sowie der Ernährungsweise der jeweiligen Art?

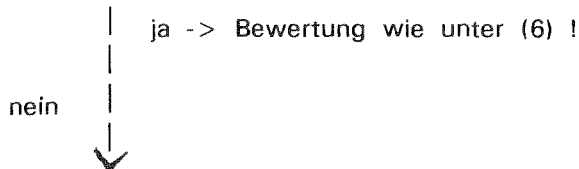
und

(13) ? Sind die abgeschätzten bzw. gemessenen Konzentrationsplateaus in Ratte, Wiederkäuer, Huhn bzw. Fisch früher als in 14 Tagen erreicht?

(Bei Fischen wird diese Frage in dem Bioakkumulationsversuch direkt gemessen. Bei den anderen genannten Organismen kann das Plateau aus der täglichen Aufnahme und der Ausscheidungsgeschwindigkeit rechnerisch abgeschätzt werden.)

und

(14) ? ist der BCF (Fisch) < 1 000 ?



! Wegen des Verdachtes auf eine verzögerte und relevant hohe Bioakkumulation müssen die Toxizitätstests mit den betroffenen Stellvertreterorganismen mindestens auf die Zeitspanne ausgedehnt werden, bis das Konzentrationsplateau erreicht ist. Im Fall von Ratten als Testorganismen liegt in den meisten Fällen der verlängerte Toxizitätstest (30 Tage, 90 Tage, chronisch) vor und sollte dann für eine Wiederholung der Bewertung analog wie unter (6) beschrieben, berücksichtigt werden.

II.c) Lebensraum Boden

Diskussion des Expositionsszenarios für Regenwürmer:

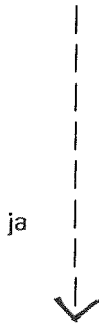
(15) ! Im Regenwurmtest werden toxikologische Werte bestimmt, basierend auf der allgemeinen Toxizität plus gegebenenfalls gewebespezifischer Anreicherung.

(16) ? Gibt es aus Versuchen mit Wirbeltieren (z.B. aus dem Biokonzentrationsversuch mit Fischen oder von Biokinetik-Versuchen mit Warmblütern wie Ratte, Wiederkäuer oder Huhn) Hinweise auf ein langsames (z.B. > 14 Tage) Erreichen des Plateaus ?

und

? ist die Substanz über längere Zeit im Boden bioverfügbar ?

(17) !



Die Bewertung kann durch Vergleich von NOEC und EEC im Boden vorgenommen werden. !
Es ist nicht zu erwarten, daß aufgrund der Bioakkumulation bei länger andauernden Tests mit gleichem toxikologischem Endpunkt eine tiefere NOEC auftritt.

(18) ! Verlängerter subchronischer Regenwurmtoxizitätstest (bzw. Freilandversuch) !

(19) ! Das Ergebnis wird wie unter (17) bewertet !

Szenario für Biomagnifikation:

Kontaminierte Regenwürmer werden von anderen Tieren gefressen (z.B. von Vögeln, Säugern). Für solche Organismen besteht immer dann eine potentielle Gefährdung, wenn eine Substanz vom Regenwurm aus dem behandelten Boden in für sie toxischen Konzentrationen angereichert wird.

(20) ! Erste Bewertungsstufe:

Basierend auf den verfügbaren Literaturdaten darf angenommen werden, daß Regenwürmer Fremdsubstanzen aus dem Boden um in aller Regel nicht mehr als den Faktor 0,2 - 10 anreichern (Connell u. Markwell, 1990; Ebing et al., 1984).) (Höhere Faktoren ergeben sich bei Bezug auf das Porenwasser; der Bezugswert für Regenwürmer ist jedoch die Konzentration im behandelten Boden).

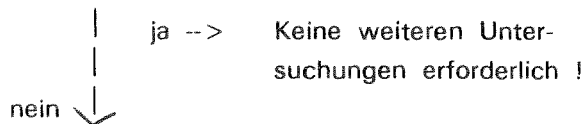
(21) ! Berechnung der Konzentration im Boden unter Berücksichtigung der Aufwandmenge (z.B. Annahme einer Verteilung auf 2,5 cm Bodenschicht). Ggf. Berücksichtigung des Bedeckungsgrades und des Abbaus im Boden.

! Annahme der 10-fach höheren Konzentration im Regenwurm !

! Berücksichtigung des Nahrungsfaktors (= Berücksichtigung des Anteils der Regenwürmer an der täglichen Gesamtnahrung und des relativen Gewichts der Nahrung pro kg Körpergewicht) und Berechnung der akuten bzw. subchronischen Dosis für Vögel und Säuger !

! Vergleich dieser Dosishöhe mit dem zugehörigen NOEL für Vögel und Säuger !

(22) ? Ist der NOEL für Regenwurmfresser höher als die Exposition ?



(23) ! Experimentelle Bestimmung der tatsächlichen Bioakkumulation Regenwurm/Boden mit der spezifischen Substanz !

(24) ! Wiederholung der tatsächlichen Expositionsabschätzung und Risikobewertung für Vögel/Säuger analog (21) und (22) !

(25) ? Ist die Gefährdung von Vögeln/Säugetieren nach (24) immer noch wahrscheinlich ?

und

- Bei Änderung der Daten- oder Wissensbasis kann das Prozedere beibehalten werden. Es müssen nicht politische, z.B. nach dem dekadischen System zufällig festgelegte Sicherheitsfaktoren geändert werden.
- Es werden bei Gefährdungen mögliche Gegenmaßnahmen identifiziert, über die durch anwendungstechnische Maßnahmen oder Einschränkungen (z.B. Pufferzonen, Herausnahme von Kulturen aus der Registrierung) die Exposition für Nicht-Ziel-Organismen auf ein vertretbares Maß erniedrigt werden kann.

8. Literatur

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundesrepublik Deutschland (1990). Richtlinien für die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren, Teil I, 1-2, Antrag auf erstmalige/erneute Zulassung eines Pflanzenschutzmittels - Anleitung zum Ausfüllen -; Hrsg.: Abt. für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik der BBA; Saphir Verlag, 3171 Ribbesbüttel, S. 1-48

Connell, D. W.; (1988): Bioaccumulation behaviour of persistent organic chemicals with aquatic organisms, Rev. Env. Contam. Tox., 101, 117-154

Connell, D.W. und Markwell, R. D. (1990): Bioaccumulation in the soil to earthworm system. Chemosphere 20, 91-100

Ebing, W.; Pflugmacher, J. und Haque, A.; (1984): Der Regenwurm als Schlüsselorganismus zur Messung der Bodenbelastung mit organischen Fremdchemikalien Ber. Ldw. 62, 222-225

Diskussion zu dem Vortrag von Dorn

Auf Nachfrage von Köpp bestätigt Dorn, daß er nicht die absolute Höhe des BCF im Fisch werten will, sondern lediglich die Zeit bis zum Erreichen des Plateaus in Beziehung zu der Toxizitätsschwelle über diese Zeit. Nach Ansicht von Köpp fehlt bei einer derartigen Bewertung die Expositionsabschätzung in der Umwelt. Insbesondere die Persistenz einer Chemikalie würde nicht berücksichtigt. Diesen Aspekt hebt auch Apel hervor. Weiterhin hält sie die Plateauhöhe allein für kein geeignetes Kriterium, weil viele Substanzen nicht vollständig eliminiert werden und sehr lange im Organismus verbleiben können. Apel plädiert dafür, die Bioakkumulation zwar mit der Toxizität zu verknüpfen, sie aber dennoch als eigenständige Stoffeigenschaft zu betrachten. Dies auch vor dem Hintergrund, daß chronische Effekte durch Langzeitbelastungen mit den im Organismus verbliebenen Substanzen kaum nachweisbar sind. Dorn räumt ein, daß chronische Expositionen auch mit chronischen Toxizitätsstudien untersucht werden müssen.

Nagel weist darauf hin, daß die Berechnung der Halbwertszeit in Abhängigkeit von der Kinetik mathematisch korrekt durchgeführt werden muß, um zu exakten Werten zu gelangen. Immer wenn die Eliminationskinetik besser mit einem 2-Kompartimentmodell beschrieben werden kann oder muß, ist die üblicherweise durchgeführte Berechnung der Aufnahmekonstante mathematisch falsch. In der Konsequenz wird dann auch das Erreichen des Plateauwertes falsch berechnet. Weiterhin hält Nagel die von Dorn vorgeschlagene Konsequenz aus der Bioakkumulationsstudie, nämlich im Prinzip eine erweiterte Studie zur akuten Toxizität mit einem verlängerten Letalitätstest über 21 Tage durchzuführen, für falsch.

Pflüger sieht bei der Prüfung der Bioakkumulation zwei ganz verschiedene Aspekte im Vordergrund. Erstens die Toxizität der Chemikalie für den geprüften Organismus und zweitens die Rückstände in dem geprüften Organismus und seine Funktion in der Nahrungskette. Dabei führen wir mit dem erreichten Plateauwert eine Risikoabschätzung durch. Die Eliminationsvorgänge hält er für nachrangig. Auch Becker hält diese Prüfphilosophie für bedenkenswert. Im Grunde wird eine "verzögerte Toxizität" untersucht. Abschließend weist er auf die große Wissenslücke im Bereich der Bioakkumulation in terrestrischen Organismen hin.

Schuphan stellt einige eigene Ergebnisse aus dem von Becker angesprochenen Bereich vor (siehe folgendes Kapitel). Er hat Untersuchungen mit Pieris-Larven und der Nahrungskette: Futterpflanze/Schadorganismus/ Nützling durchgeführt. C¹⁴-markierte Pflanzenschutzmittelwirkstoffe (Monolinuron, Hexachlorbenzol, Lindan und Parathion) wurden auf Kohl appliziert und die Radioaktivität verfolgt. Die Metabolisierung wurde nicht betrachtet. Die Ergebnisse und ökotoxikologische Bewertungen sind auf den folgenden Seiten dargestellt. Bei Lindan war z. B. das Spinnverhalten gestört. Als Fazit führt er aus, daß unter Umständen Rückstände vom Schädling toleriert werden, die aber den Nützling schädigen.

Nahrungsketten-Toxizität von Pflanzenschutzmitteln an Parasitoiden (Kurzbeitrag)

Prof. Dr. Ingolf Schuphan

Lehrstuhl für Biologie V, Ökologie/Ökotoxikologie/Ökochemie

RWTH-Aachen, 5100 Aachen, Worringerweg 1

Zur Beurteilung der Nahrungsketten-Toxizität von Pflanzenschutzmitteln an Parasitoiden entwickelten wir eine Standardmethode mit dem Großen Kohlweißling (*Pieris brassicae*) als Schädling (Wirt) und der Kohlweißlings-Brackwespe (*Apanteles glomeratus*) als Endoparasitoid (Nützling). Wirsingkohl (*Brassica oleracea*) stellte die unterste Trophiestufe dar.

Parasitierte (oder nichtparasitierte) *Pieris*-Raupen werden während ihres letzten Larvenstadiums (L5) etwa 5 Tage lang mit kontaminierten Kohlblättern gefüttert. Um die Nahrungsketten-Toxizität auf die Nützlinge als auch auf die nichtparasitieren Schädlinge zu erfassen, wird die Fähigkeit der Nützlinge und Schädlinge untersucht, das Imaginalstadium zu erreichen. Anhand der Sterblichkeitsdaten werden jeweils diejenigen wirksamen Konzentrationen eines Teststoffes bestimmt, die den Entwicklungserfolg des untersuchten Testorganismus in Vergleich zur Kontrolle um 50% reduziert (EC_{50}).

Die Ergebnisse der Tabelle 1 zeigen im Falle des Lindans, daß die EC_{50} für *Apanteles* und einen weiteren Puppenparasiten *Pteromalus* (Nützlinge) weit unter 50% des EC_{50} Wertes für die unparasitierten *Pieris*-Larven (Schädling) liegen.

Tab. 1: Nahrungsketten-Toxizität von Lindan und Parathion in der Nahrungskette *Brassica* - *Pieris* - *Apanteles* (Larvenparasitoid) / *Pteromalus* (Puppenparasitoid)

	Compound	LINDANE	PARATHION
Pieris	lethal range (mg/kg)	>0.63 (0.84*)	>0.41 (0.45*)
	sublethal range (mg/kg)	0.04 - 0.63	-
	no-visible-effect range(mg/kg)	<0.04	≤ 0.41
	mortality at 0.5 mg/kg (%)	0.0	30.0
	EC_{50} (95% confidence limits) (mg/kg)	1.26 (1.06 - 1.50)	0.55 (0.52 - 0.60)
Apanteles	mortality at 0.5 mg/kg (%)	56.0	24.4
	EC_{50} (95% confidence limits) (mg/kg)	0.45 (0.39 - 0.54)	0.56 (0.55 - 0.57)
Pteromalus	mortality at 0.5 mg/kg (%)	53.2	13.1
	EC_{50} (95% confidence limits) (mg/kg)	0.48 (0.47 - 0.49)	0.68 (0.67 - 0.77)

mg/kg = mg active ingredient/kg cabbage leaves; * lowest concentration tested exhibiting host (pest) mortality

Weitergehende Versuche zeigten, daß z.B. bei einer Lindan- Applikation von 0,5 mg/kg Kohlblätter die unparasitierte *Pierislarve* während ihres L5-Stadiums knapp 40% des aufgenommenen Lindans in die Vorpuppe überführt (Rest wird durch den Kot und Verflüchtigung abgegeben). Setzt man diesen Lindan-Anteil gleich 100% so befinden sich nach der Metamorphose knapp die Hälfte (47%) im Kohlweißling-Falter, die andere Hälfte wird mit dem Schlüpfkot (Meconium) ausgeschieden.

Im Falle der parasitierten L5-Larven befindet sich zum Ende der Nahrungsaufnahme durch den Wirt ein vergleichbarer Anteil von knapp 40% in dem Wirt/Parasit-System. Setzt man ebenfalls diesen Lindan-Anteil gleich 100%, so mißt man in den sich herausbohrenden Nützlingslarven 63% des Lindans (im sterbenden Wirt 37%). Den Lindan-Gehalt in den *Apanteles*-Larven erneut auf 100% gesetzt ergibt nach Kokonspinnen und Verpuppung der Nützlingslarven in den schlüpfenden *Apanteles*-Brackwespen einen transferierten Anteil von knapp 20%. Der Rest von 80% verbleibt in den leeren Konkons (Abb.1).

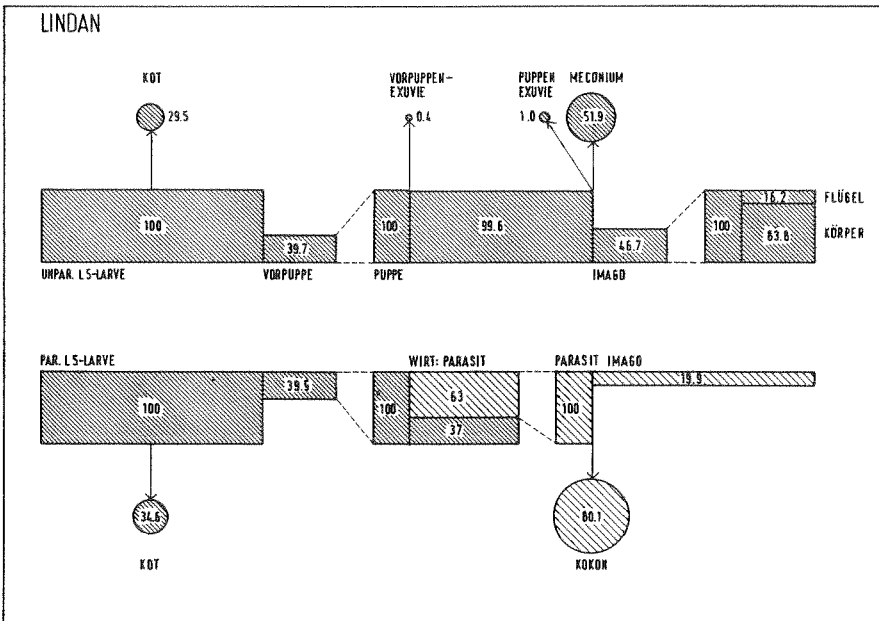


Abb.1: Lindan-Transferaten (%) in unparasitierten (oben) und parasitierten *Pieris*-Larven bzw. im Wirt-Parasit System *Pieris-Apanteles*

Dieses Beispiel zeigt, daß aus der Wirtslarve der größte Anteil (63%) in die Nützlingslarven übergeht. Diese Transferrate hatte bereits bei Lindangehalten von 0,5 mg/kg Kohl (Höhe von auftretbaren Rückstandsgehalten) beim Nützling zur Folge, daß die sich aus dem Wirt herausgebohrten *Apanteles* Larven z.T. nicht mehr in der Lage waren vor der Verpuppung einen Kokon zu spinnen oder sich zu verpuppen! Die festgestellten Biomagnifikationsdaten zeigen im Gesamtsystem *Brassica - Pieris - Apanteles* eindeutig die höchsten Werte von 4,7 (Bezug Kohl - *Apanteles*-Larven) und von 4,2 (Bezug *Pieris*-Wirtslarve - *Apanteles*-Larve) (Abb.2).

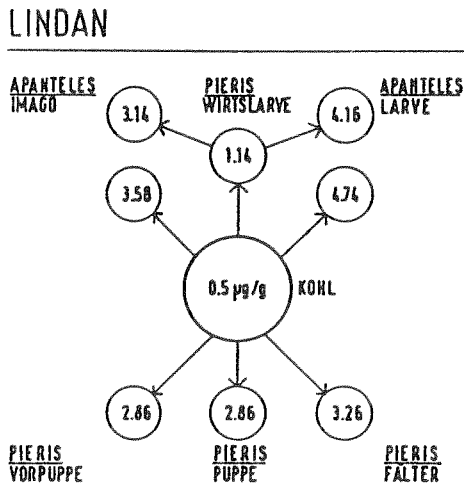


Abb.2: Biomagnifikations-Faktoren in der Nahrungskette *Brassica - Pieris - Apanteles* (FG)

Als Schlußfolgerung hieraus resultiert, daß Pflanzenschutzmittel- Anteile auf Pflanzen in gängigen Bereichen der Rückstandshöchstmengen-Verordnung ohne erkennbare Schäden durchaus vom Schädling (hier *Pieris*) vertragen werden, der Nützling (hier *Apanteles*) jedoch in der Nahrungskette bereits nachhaltig geschädigt werden kann.

Dies unterstreicht, bei Bioakkumulationsbetrachtungen im Rahmen der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln, die in Routinetests erhaltenen Toxizitätsdaten mit Nützlingen gegebenenfalls mit einem Faktor zu multiplizieren, der eventuell am Verteilungskoeffizienten des Wirkstoffes orientiert ist. Dazu wären einige flankierende Untersuchungen sicher lohnenswert.

Literatur

HOFFMANN, E. und I. SCHUPHAN (1986): Ökochemisches Verhalten und öko-toxikologische Wirkung von Lindan, Parathion, Monolinuron und Hexachlorbenzol nach chronischer Aufnahme im Schädlings-Nützlingspaar Großer Kohlweißling (*Pieris brassicae* L.) und Kohlweißlings-Brackwespe (*Apanteles glomeratus* L.).- Zeitschrift für angewandte Entomologie 102 , 154-164

WOLF-ROSKOSCH, F. and I. SCHUPHAN (1990): A model for testing the food chain toxicity of low-level concentrations of pesticides in host-parasitoid-systems.- Pesticides and Alternatives: In: Innovative Chemical and Biological Approaches to Pest Control, Ed. John E. Casida, Elsevier Science Publishers, S. 183-194

Diskussion zu dem Vortrag von Schuphan

Ebing vermutet, daß die beobachteten subletalen Effekte nicht dem Wirkstoff zugeordnet werden können, weil aus anderen Studien ein hoher Metabolisierungsgrad im Endglied des Versuchsystems vermutet werden muß. Schuphan erläutert, daß aufgrund des Übergangs der Fettanteile von der Lymphe der Kohlweißlingsraupe in die *Apanteles*-Larven bei der Parasitierung durchaus ein hoher Anteil des Ausgangswirkstoffes in den Larven enthalten sein könnte. Im Imago mag die Metabolisierung dann weiter fortgeschritten sein. Heitefuß hält das von Schuphan vorgestellte Untersuchungssystem für ein interessantes Modell, doch bezweifelt er im Einzelfall die Übertragbarkeit auf Praxisbedingungen im Freiland. Schuphan weist darauf hin, daß die untersuchten Substanzen verschiedene Wirkstoffklassen repräsentieren sollten und Praxisrelevanz kein Kriterium bei der Auswahl gewesen ist. Künast ist der Meinung, daß die subletale Wirkung bei Nützlingen auch im direkten Nützlingstest untersucht werden kann.

2. Teil

Gegenwärtiger Stand der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation im Zulassungsverfahren

H.-G. Nolting

**Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung**

Einführung

Nach § 15 Pflanzenschutzgesetz (PflSchG) erteilt die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft einem Antragsteller die Zulassung für ein Pflanzenschutzmittel, wenn der Antrag den Anforderungen des § 12 entspricht und die Prüfung des Pflanzenschutzmittels ergibt, daß

1. das Pflanzenschutzmittel nach dem Stande der wissenschaftlichen Erkenntnisse und der Technik hinreichend wirksam ist,
2. die Erfordernisse des Schutzes der Gesundheit von Mensch und Tier beim Verkehr mit gefährlichen Stoffen nicht entgegenstehen
und
3. das Pflanzenschutzmittel bei bestimmungsgemäßer und sachgerechter Anwendung oder als Folge einer solchen Anwendung
 - a) keine schädlichen Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch und Tier und auf Grundwasser hat und
 - b) keine sonstigen Auswirkungen, insbesondere auf den Naturhaushalt, hat, die nach dem Stande der wissenschaftlichen Erkenntnisse nicht vertretbar sind.

Der Zulassungsantrag muß die zum Nachweis der Zulassungsvoraussetzungen erforderlichen Unterlagen und Proben enthalten. Die umfangreichen Anforderungen werden in der Pflanzenschutzmittelverordnung vom 28. Juli 1987 präzisiert. In zahlreichen nationalen Richtlinien der Biologischen Bundesanstalt und z. T. auch in internationalen Richtlinien wird näher erläutert, nach welchen Methoden die Prüfunterlagen zu erarbeiten sind.

Hierbei ergibt sich die Frage, ob die im Rahmen des Zulassungsverfahrens bislang vorgelegten Unterlagen ausreichen, den Prüfbereich Bioakkumulation zu bewerten oder ob weitere, noch näher zu spezifizierende Unterlagen in Zukunft vom Antragsteller gefordert werden müssen. Diese Frage sollte in diesem Fachgespräch geklärt werden. Es sollte erörtert werden, welche Unterlagen zur Prüfung der Bioakkumulation notwendig sind. Daran schließt sich sofort die Frage an, nach welchen Kriterien die Biologische Bundesanstalt sowie die Einvernehmensbehörden Bundesgesundheitsamt und Umweltbundesamt die zur Bioakkumulation eingereichten Unterlagen bewerten.

In den verschiedenen Prüfbereichen sind folgende Entscheidungen möglich:

- Zulassung ohne Einschränkungen,
- Zulassung unter Erteilung von Auflagen,
- Bestimmte Anwendungsgebiete werden bei der Zulassung nicht vorgesehen,
- Entscheidung über Zulassung von Nutzen/Risikoabwägung abhängig,
- Keine Zulassung des Mittels (Ausschlußkriterium vorhanden).

Es sollte eine Klärung herbeigeführt werden, welche dieser fünf möglichen Entscheidungen für den Bereich Bioakkumulation zu treffen sind. Zur Erläuterung mögen die Bewertungen der Unterlagen zum Verbleib im Boden und zur Versickerungsneigung und möglichen Belastung des Grund- und Trinkwassers dienen.

Zur Bewertung des Verbleibs im Boden

Bei der Bewertung wird unterschieden zwischen der Persistenz, d. h. den verbleibenden Rückständen an Wirkstoff und/oder relevanten Metaboliten im Boden und den Abbauebenen - insbesondere hinsichtlich der Bildung gebundener Rückstände.

Hinsichtlich der Persistenz ist folgende Vorgehensweise angezeigt:

Sofern bei Laborabbauuntersuchungen im Boden ein DT-90-Wert (Zeit, in der die Anfangskonzentration um 90 % vermindert wird) von über 100 Tagen festgestellt wird und keine Freilandversuche durchgeführt werden, ist keine Zulassung möglich. Wenn allerdings bei Freilandversuchen, die in aller Regel angelegt werden, nach einem Jahr noch mehr als 10 % Wirkstoff und/oder relevante Metaboliten im Boden vorhanden sind und ein maximaler Wirkstoffaufwand von mehr als 300 g/ha für die Anwendung auf unbewachsenem Boden bzw. mehr als 600 g/ha für die Anwendung auf bewachsenem Boden vorgesehen ist, kann keine Zulassung erfolgen, vorbehaltlich einer Nutzen/Risikoabwägung.

Wenn bei Metabolismusstudien im Labor mehr als 70 % gebundene Rückstände nach 100 Tagen auftreten, kann auch keine Zulassung erfolgen, vorbehaltlich einer Nutzen/Risikoabwägung. Es ergibt sich somit, daß die Persistenz im Boden nicht automatisch zu einer Zulassungsverweigerung führt, sondern daß erst nach einer Nutzen/Risikoabwägung darüber entschieden werden kann, ob die Versagung der Zulassung notwendig ist.

Anders ist die Vorgehensweise bei der Bewertung des Eintrags in das Grundwasser. Hierfür sind letztendlich die Ergebnisse von Lysimeterstudien entscheidend. Zeigen solche Lysimeterstudien, daß z. B. der Wirkstoff in einer Konzentration von gleich oder mehr 0,1 µg/l (Mittelwert für die Dauer des Versuchs) im Sickerwasser gefunden wird, wird keine Zulassung erteilt. Dies gilt auch,

wenn z. B. bei den Versuchen relevante Metaboliten in einer Konzentration von 0,1 µg/l oder mehr - gleichfalls als Mittelwert für die Dauer des Versuchs - im Sickerwasser gefunden wird, deren Unschädlichkeit für das Grundwasser nicht belegt werden kann. Im Gegensatz zu den Bewertungskriterien hinsichtlich des Verbleibs im Boden kann somit die Prüfung des Versickerungsverhaltens zu einem sogenannten Ausschlußkriterium führen, d. h. es wird sich in diesen Fällen keine Nutzen/Risikoabwägung an die Bewertung der Ergebnisse anschließen.*)

Welcher Weg ist nun bei der Betrachtung der Bioakkumulation zu beschreiten? Können in diesem Zusammenhang Nutzen/Risikoabwägungen durchgeführt werden oder müssen negative Ergebnisse zu einer Zulassungsverweigerung führen?

Nachfolgend wird eine von den Herren Joermann, Köpp und Wilkening erarbeitete Vorgehensweise und die entsprechende Bewertung dargestellt, die zum Bereich Bioakkumulation möglich erscheint (Vergleiche Ablaufschema).

Eine Prüfung hinsichtlich der Bioakkumulation erfolgt bei allen Pflanzenschutzmitteln. Die erforderlichen Untersuchungen sind in folgenden Richtlinien erläutert:

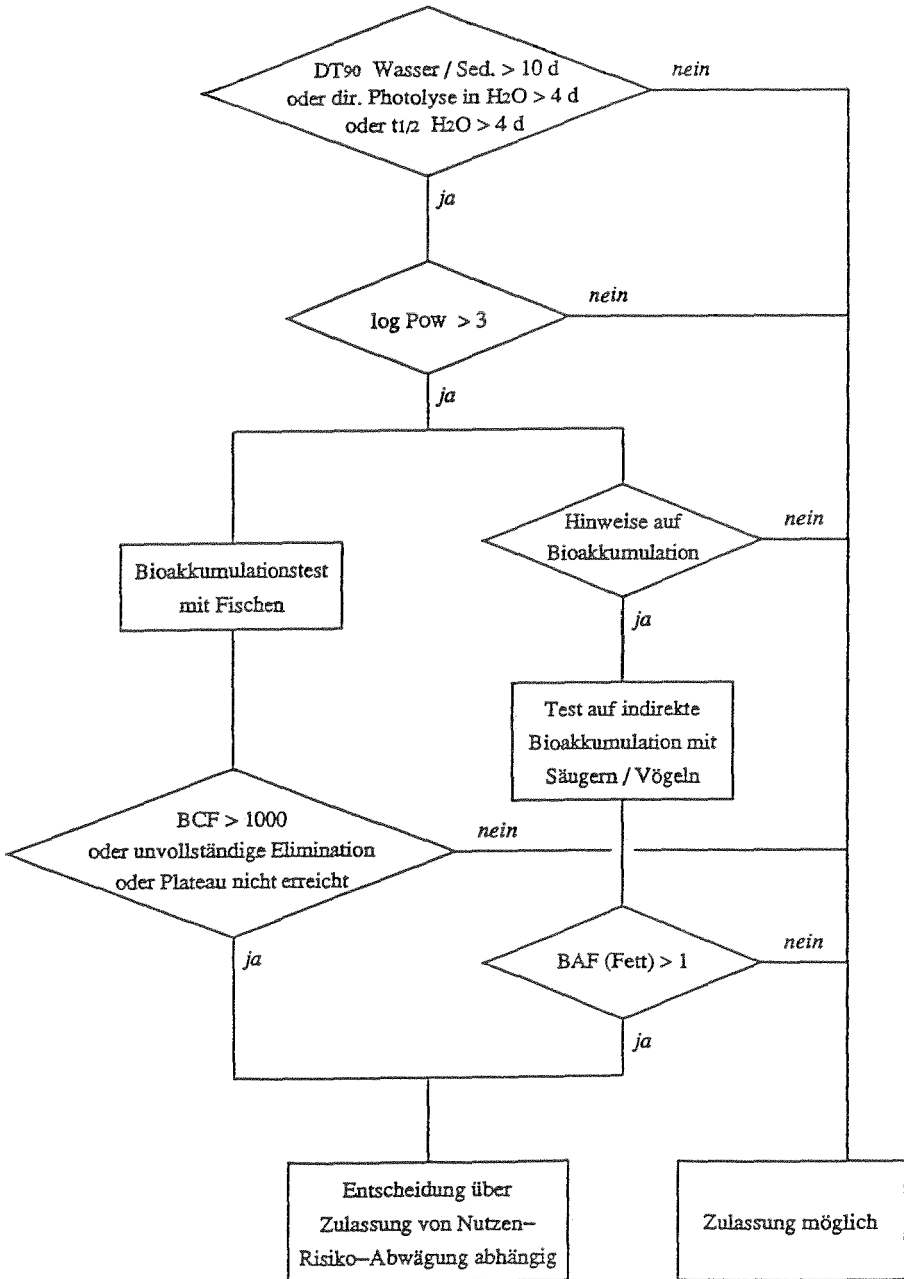
- BBA Richtlinie IV, 5-1: Abbaubarkeit und Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Wasser/Sediment-System
- BBA Merkblatt Nr.55: Prüfung des Verhaltens von Pflanzenbehandlungsmitteln im Wasser
- OECD Draft Test Guideline: Phototransformation of chemicals in water
- OECD Test Guideline 305 E: Bioaccumulation - Flow through fish test

Die Prüfung soll stufenweise erfolgen. Sie beinhaltet z. T. Elemente aus anderen Prüfbereichen. In allen Schritten werden neben dem Wirkstoff auch die relevanten Metaboliten betrachtet. Die Prüfung erfolgt in drei Stufen. In einer Eingangsstufe wird die Beständigkeit in Wasser und Luft betrachtet. Wenn ein Wirkstoff in der Umwelt sehr unbeständig ist, kann ein Akkumulationspotential ausgeschlossen werden. Dies wird angenommen, wenn im Wasser/Sediment-System die DT-90-Zeiten in beiden Teilen des Systems kürzer als 10 Tage sind oder wenn die Halbwertzeiten für die Hydrolyse und für die direkte Photolyse im reinen Wasser kürzer als 4 Tage sind. Eine Bioakkumulation ist weiterhin bei den Wirkstoffen auszuschließen, die nach aktuellen EG- oder OECD-Richtlinien als biologisch leicht abbaubar einzustufen sind. Falls Zweifel an einer schnellen Abbaubarkeit bestehen, muß in einer zweiten Stufe weitergeprüft werden.

*) Die hier nur sehr kurz vorgestellten Bewertungsgrundsätze sind in den Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft als Heft 285 Berlin 1992 "Criteria for assessment of plant protection products in the registration procedure" veröffentlicht.

Diese zweite Prüfstufe gilt den lipophilen Eigenschaften der Wirkstoffe bzw. Metaboliten. Als Parameter wird hierfür in der Regel der n-Octanol Wasser-Verteilungskoeffizient (P_{ow}) herangezogen. Andere physikalisch-chemische Eigenschaften, z. B. Molekülgröße, Wasserlöslichkeit, Ionisierungsgrad haben ebenfalls einen Einfluß auf das Akkumulationsverhalten und müssen gegebenenfalls betrachtet werden. Wenn der $\log P_{ow}$ größer als 3 ist, muß die Bioakkumulation in Gewässerorganismen und in terrestrischen Organismen bestimmt werden (siehe Ablaufschema). Diese Prüfphilosophie wird im folgenden in den Beiträgen von Köpp und Joermann erläutert. Auch die Prüfung der Bioakkumulation führt nicht zu einem Ausschlußkriterium, sondern daß die Entscheidung über eine Zulassung von einer Nutzen/Risikoabwägung abhängig gemacht wird.

Bioakkumulation



Herbert Köpp (*), Dorothee Heimann-Detlefsen (#)

(* **Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik, Fachgruppe Biologische Mittelprüfung (jetzt Koordinierungsgruppe)**

(# **Battelle Europe, Abteilung 625**

Bioakkumulation in aquatischen Organismen

1. Einleitung

Pflanzenschutzmittel können als Folge der Anwendung durch

- Abtrift
- Abschwemmung
- Versickerung in Drän- oder Grundwasser
- Verflüchtigung oder Winderosion und anschließende Niederschläge

in Gewässer gelangen. Wirkeigenschaften wie Stabilität und Adsorptionsneigung, Applikationstechnik, Wetter bei und nach der Applikation, Jahreszeit, Art und Wachstumsstadium der behandelten Kultur, Bodenart und Geländemorphologie sind wohl die wichtigsten Faktoren, die sowohl das Ausmaß des Austrags aus der behandelten Fläche als auch die von Fall zu Fall sehr unterschiedliche quantitative Bedeutung der genannten Austragswege bestimmen.

Im Gewässer angelangt, können Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffe (auf die sich die Zulassungsprüfung im wesentlichen konzentriert) toxische Wirkungen auf Gewässerorganismen verursachen. Direkte Mortalität und relativ kurzfristig (Testdauer 2 - 21 Tage) beobachtbare subletale Wirkungen (z. B. auf Wachstum und/oder Vermehrung von Algen und Daphnien oder einige Verhaltensweisen von Fischen) werden daher mit mehreren Standardtests für jeden Wirkstoff untersucht (Anonym, 1990; Köpp, 1991). Daraus wird eine Konzentration abgeleitet, die als Folge einer Applikation des betrachteten Mittels nicht überschritten werden darf. Um dies zu erreichen, wird die Zulassung bei Bedarf mit Auflagen verknüpft, die geeignet sind, den Eintrag in Gewässer entsprechend zu reduzieren. Festzuhalten bleibt aber, daß - wie international üblich - bei der Beurteilung direkter, toxischer Wirkungen eine Belastung der Gewässer in gewisser Höhe (unterhalb der "no-observable-effect-concentration") toleriert wird.

Mit der Bewertung toxischer Wirkungen ist jedoch nur ein Teil der Risiken einer Gewässerbelastung durch Pflanzenschutzmittel und deren Wirkstoffe erfaßt. Zusätzlich zu berücksichtigen

ist der Aspekt der Bioakkumulation, der als ein von der Toxizität unabhängiges Phänomen zu betrachten und auch getrennt zu bewerten ist (Nagel 1991; McKim & Schmieder 1991; Kristensen & Tyle 1991).

2. Voraussetzungen und Folgen der Bioakkumulation

Die relevanten Prozesse hat Nagel in seinem Beitrag zu diesem Band prägnant beschrieben. Besonders wichtig für die Zulassungsprüfung sind dabei folgende Aspekte:

a) Voraussetzungen:

Ist ein Stoff lipophil, so kann er bei ausreichend langer Anwesenheit im Wasser in exponierten Organismen angereichert werden. Eine ausreichend lange Exposition kann durch relativ hohe Stabilität des Stoffes, bei weniger stabilen Stoffen aber auch durch kontinuierliche oder in kurzem zeitlichen Abstand erfolgte Freisetzung verursacht werden. Weiterhin muß der Stoff im Wasser in bioverfügbarer Form vorliegen.

b) Folgen:

Ergibt die Expositionsabschätzung für Gewässer eine Konzentration im toxischen Bereich, so überwiegt die Beurteilung dieser direkten Effekte die wesentlich schwieriger abzuschätzenden Folgen der Bioakkumulation (Kristensen & Tyle 1991). Ökotoxikologische Folgen der Anreicherung von Stoffen können sein:

* Durch die Anreicherung über eine physiologisch wirksame Schwelle hinaus werden toxische Effekte hervorgerufen. Dauert das Überschreiten der Schwelle länger als die verlängerten Toxizitätstests, so bleiben diese Effekte in den Standardtests verborgen. Dies gilt bei schnellerer Aufnahme auch dann, wenn die verursachten Effekte in den Toxizitätstest nicht beobachtet werden können (z. B. Reproduktion von Fischen).

Das Überschreiten der Wirkungsschwelle kann auch mit starker Zeitverzögerung durch physiologische Änderungen im Organismus erfolgen. Wird z. B. das Fettdepot unter Hungerbedingungen abgebaut, so gelangen darin gespeicherte Stoffe kurzfristig in hoher Konzentration in den Blutkreislauf (Boon & Duinker 1985).

* Die Anreicherung eines Stoffes in einem Organismus exponiert automatisch dessen Freßfeinde, die damit kontaminierte Nahrung aufnehmen. Im Fall aquatischer Nahrungsorganismen können die Prädatoren ebenfalls aquatische, aber auch terrestrische Organismen sein (z. B. Fischotter, Fischreiher). Damit können Organismen exponiert werden, die in der primären, rein auf Art, Ort und Menge des ausgebrachten Pflanzenschutzmittels ausgerichteten Expositionsabschätzung als nicht betroffen eingestuft wurden. Ferner kann die Anreicherung mit jedem Schritt in der Nahrungskette zunehmen (Biomagnifikation). Während dieser Prozess in aquatischen Systemen der direkten Aufnahme aus dem umgebenden Medium Wasser eher untergeordnet erscheint (Elster 1987), überwiegt er bei Organismen mit undurchlässiger Körperoberfläche (also im terrestrischen Teil von Nahrungsketten, aber auch bei von aquatischen Beutetieren lebenden Säugetieren und Vögeln; Streit 1989). Ein prominentes Beispiel ist hier die DDT/DDE-Problematik, wo die aquatischen Organismen lediglich als Transfer-schritt in der Nahrungskette dienen.

3. Aspekte der Bewertung

Die Abschätzung der Anreicherung im Freiland sowie ihrer unter 2) kurz skizzierten Folgen in der Zulassungsprüfung ist mit sehr hoher Unsicherheit verbunden (siehe Joermann in diesem Band). Juristisch ist zur Zeit unklar, ob die "symptomlose" Präsenz eines Wirkstoffes in der Umwelt eine Auswirkung auf den Naturhaushalt im Sinne des § 15 Pflanzenschutzgesetz darstellt. Es besteht jedoch kein Zweifel, daß die ökotoxikologisch als Folge einer Akkumulation möglichen (lediglich zeitlich verzögerten) Effekte ebenso eine Auswirkung im Sinne des § 15 PflSchG darstellen wie die unmittelbar auftretenden ökotoxikologischen Wirkungen. Daher unterliegen auch sie der Bewertung sowie der Vertretbarkeitsabwägung, wie sie im Pflanzenschutzgesetz für Auswirkungen auf den Naturhaushalt vorgesehen ist.

Ein direkter Nachweis wird jedoch mit den zur Verfügung stehenden Tests im Regelfall der Zulassungsprüfung kaum möglich sein. Dagegen kann das Vorhandensein eines Risikos aus der Ausprägung der Faktoren

- hohe Stabilität oder häufige Anwendung (= hohe Expositions Wahrscheinlichkeit)
- hohe Anreicherungsneigung (= BCF im Fischtest oder aus Säugetier-Metabolismusstudien)
- schlechte Elimination oder Metabolisierung (= hohe Exposition für Prädatoren)

klar abgeleitet werden. Die Bewertung muß sich daher auf die Existenz des Risikos stützen. Eine negative Bewertung und damit die Vertretbarkeitsabwägung kann auch ohne den Nachweis von Effekten erfolgen.

4. Prüfungsablauf

Im Flußdiagramm Bioakkumulation in dem Beitrag von Nolting wird der auf den unter 3) geschilderten Überlegungen basierende Vorschlag der BBA zum Prüfungsablauf skizziert. Während nach bisheriger Praxis der Bioakkumulationstest am Fisch bei einem $\log Pow > 3$ sofort erforderlich ist (Anonym, 1990), könnte künftig die Stabilität als Entscheidungskriterium vorgeschaltet werden. Die gewählten Triggerwerte orientieren sich daran, daß bei dem Großteil der bisher im Bioakkumulationstest am Fisch untersuchten Wirkstoffe binnen 4-5 Tagen der Gleichgewichtszustand (steady-state, BCF) erreicht war. Bei instabilen Stoffen erscheint das Risiko einer Bioakkumulation vernachlässigbar. Bei stabilen Stoffen könnte der $\log Pow > 3$ (in weitgehender Übereinstimmung mit internationaler Praxis) nach wie vor als Trigger für den Fischttest dienen. Substanzen mit kleinerem $\log Pow$ lassen nach den verfügbaren QSAR's (siehe nächsten Absatz) nur BCF-Werte bis zu 100 erwarten, was als vernachlässigbares Risiko angesehen wird (Nagel in diesem Band).

Zur Problematik dieses Tierversuches: In der Literatur finden sich zahlreiche Publikationen zu Korrelationen zwischen der Höhe der Anreicherung (meistens den BCF im Fisch) und dem $\log Pow$ und anderen Parameter (z.B. Molekülgröße und Ladungsverteilung) (Übersicht bei Nendza 1991). Die Genauigkeit dieser quantitativen Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (QSAR nach der englischen Bezeichnung) liegt jedoch auch innerhalb einer Gruppe chemisch verwandter Stoffe nur im Bereich einer Zehnerpotenz (Oppenhuizen 1991). Dies reicht für justitiable Entscheidungen nicht aus. Daher muß derzeit Geschwindigkeit und Höhe der Anreicherung im Fischttest bestimmt werden. Gleiches gilt für die Bestimmung von Elimination und Metabolisierung. Die Wahl eines Triggerwertes für den $\log Pow$ schließt daher sicherlich die größten Risiken aus, bietet jedoch keine absolute Sicherheit.

Die Interpretation der Ergebnisse des Fischttests dient ebenfalls dazu, die größten Risiken herauszufiltern, ohne dabei völlige Sicherheit zu bieten:

- * Der $BCF > 1000$ ist deshalb sicherlich als "Warnlampe" und Übergangslösung bis zum Vorliegen breiterer Erfahrungen zu verstehen, ohne daß z. B. ein BCF von 900 deshalb per se unbedenklich ist.
- * Das Nichterreichen des Plateaus in der Aufnahmephase deutet auf extrem hohe Lipophilie hin und ist bei Stoffen mit einem $\log Pow$ von ca. 6 und darüber zu erwarten. In diesem Bereich gelten die ansonsten linearen QSAR's nicht mehr (Nendza 1991), so daß hier eine sehr detaillierte Einzelfallbetrachtung erforderlich ist.

* Eine unvollständige Elimination deutet auf nicht weiter metabolisierbare, dauerhaft festgelegte Rückstände in den Fischen hin, was als ernsthafter Hinweis auf die Gefährdung auch der fischfressenden terrestrischen Wirbeltiere aufzufassen ist. In diesem Zusammenhang ist die fehlende Metabolitenaufklärung in der OECD Test Guideline 305 E (Bioaccumulation in Fish) ein ernstes Manko.

5. Ausblick

Ob dieser Vorschlag umgesetzt werden kann, hängt letztlich von den Verhandlungen über die "Uniform Principles" der Richtlinie 91/414/EWG ab. Offen sind derzeit auch die Triggerwerte für die Anwendungshäufigkeit, wodurch - wie oben geschildert - trotz Instabilität eine für die Anreicherung ausreichend lange Exposition eintreten kann. Sicher erscheint mir, daß die Bioakkumulation noch lange sehr kontrovers zwischen Behörden und Industrie diskutiert werden wird, da bei ihrer Bewertung wegen der noch schwierigeren Vorhersagbarkeit von Effekten ein höheres Maß an Vorsorge angelegt wird als bei den direkten Effekten.

Literatur:

Anonym: Antrag auf erstmalige/erneute Zulassung eines Pflanzenschutzmittels - Anleitung zum Ausfüllen. Richtlinie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Teil I, 1 - 2, November 1990.

Boon, J. P.; Duinker, J. C.: Kinetics of polychlorinated biphenyl (PCB) components in juvenile sole (*Solea solea*) in relation to concentrations in water and to lipid metabolism under conditions of starvation. *Aquatic Toxicology* 7 (1-2), 1985, p. 119 - 134.

Elster, H.-J.: Zusammenfassende Bewertung der Befunde. In: Lillelund, K., de Haar, U., Elster, H.-J., Karbe, L., Schwoerbel, I., Simonis, W. (Hrsg.): Bioakkumulation in Nahrungsketten. Forschungsbericht/DFG, Weinheim 1987, p. 299 - 304.

Köpp, H.: Side-effects on aquatic organisms. In: Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik: Criteria for assessment of plant protection products in the registration procedure. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem 1993, Heft 285, p. 72 - 83.

Kristensen, P.; Tyle, H.: The Assessment of Bioaccumulation. In: Nagel, R.; Loskill, R. (Hrsgb.) Bioaccumulation in Aquatic Systems. Contributions to the Assessment. Weinheim 1991, p. 189 - 228.

McKim, J.M.; Schmieder, P.K.: Bioaccumulation: Does it Reflect Toxicity? In: Nagel, R.; Loskill, R. (Hrsg.) Bioaccumulation in Aquatic Systems. Contributions to the Assessment. Weinheim 1991, p. 161 - 188.

Nagel, R.: Final Considerations. In: Nagel, R.; Loskill, R. (Hrsg.) Bioaccumulation in Aquatic Systems. Contributions to the Assessment. Weinheim 1991, p. 229 - 234.

Nendza, M.: QSARs of Bioconcentration. In: Nagel, R.; Loskill, R. (Hrsg.) Bioaccumulation in Aquatic Systems. Contributions to the Assessment. Weinheim 1991, p. 43 -66.

Opperhuizen, A.: Bioconcentration and Biomagnifikation. In: Nagel, R.; Loskill, R. (Hrsg.) Bioaccumulation in Aquatic Systems. Contributions to the Assessment. Weinheim 1991, p. 67 -80.

Streit, B.: Bioakkumulation in der Natur. Biologie in unserer Zeit 2, 1989, p. 47 - 54.

Gerhard Joermann

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung

Bioakkumulation in Vögeln und Säugetieren

1. Einleitung

In den 60iger Jahren wurde erkannt, daß sich bestimmte Umweltchemikalien in beträchtlichem Maße in Organismen anreichern. Im terrestrischen Bereich wurden besonders hohe Belastungen bei Raubvögeln wie z.B. Wanderfalken oder Sperbern gefunden. Dabei erreichten die Konzentrationen von Verbindungen wie DDE, Dieldrin oder Heptachlorepoxyd im Körper der Beutegreifer erheblich höhere Werte als im Körper ihrer Beute (ELLENBERG 1981, SHEAIL 1985).

Inzwischen werden die physiologischen und biochemischen Vorgänge bei der Aufnahme, Speicherung und Elimination von Fremdstoffen in Vögeln und Säugern besser verstanden, und aufgrund von Laborversuchen läßt sich das Anreicherungsverhalten neuer Verbindungen einigermaßen vorhersagen (WALKER 1990).

2. Aufnahme und Ausscheidung

Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln können von Vögeln und Säugern oral, dermal und inhalativ aufgenommen werden. Unter dem Aspekt der Bioakkumulation hat die orale Aufnahme vermutlich die größte Bedeutung. Die anderen Pfade tragen nach bisheriger Kenntnis nur kurzfristig nach einer Pflanzenschutzmittelanwendung zur Belastung bei, während über die Nahrung auch eine längerfristige Exposition möglich ist (WALKER 1990, DRIVER et al. 1991). Dies bedeutet, daß akkumulierende Stoffe in mehrstufigen terrestrischen Nahrungsketten gerichtet von einer trophischen Stufe zur nächst höheren weitergegeben werden.

Die Ausscheidung erfolgt bei Säugern und Vögeln im wesentlichen über die Exkreta und, bei weiblichen Tieren, mit der Milch oder mit den Eiern. Bei gleichmäßiger Exposition wird nach mehr oder

weniger langer Zeit ein Zustand erreicht, bei dem sich Zufuhr und Verlust ausgleichen, so daß die Konzentration im Körper konstant bleibt. Das Verhältnis zwischen dieser Gleichgewichtskonzentration und der Konzentration in der Nahrung wird als Bioakkumulationsfaktor (BAF) definiert. Zur Beurteilung von BAF-Werten ist anzugeben, ob sie sich auf ein bestimmtes Gewebe oder auf den ganzen Körper beziehen und ob die Konzentrationen auf Frischmasse oder Trockenmasse basieren.

3. Metabolismus und Mechanismen der Elimination

Fremdstoffe, die sich nach Resorption aus dem Verdauungstrakt im Kreislauf-System von Vögeln und Säugern befinden, unterliegen mehreren Prozessen. Sie können zum einen in unveränderter Form mit den Exkreta ausgeschieden werden; dabei nimmt allerdings die Ausscheidungsrate mit der Fettlöslichkeit stark ab. Weiterhin können Fremdstoffe, hauptsächlich in der Leber, zu polaren, leicht ausscheidbaren Verbindungen metabolisiert werden. Diese Metabolisierungskapazität ist eine Anpassung an die terrestrische Lebensweise, die eine Elimination lipophiler Substanzen ohne übermäßigen Verlust von Körperflüssigkeit ermöglicht. Schließlich können im Kreislauf zirkulierende Stoffe im Gewebe deponiert werden; dabei konzentrieren sich lipophile Substanzen besonders stark in Zellmembranen und Fettgewebe. Der Bioakkumulationsfaktor hängt nun vom Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten für die genannten Vorgänge ab. Zum Beispiel reichern sich Pyrethroide trotz hoher Affinität zum Fettgewebe nicht nennenswert im Gewebe an, weil sie sehr schnell enzymatisch abgebaut werden. DDE wird dagegen praktisch gar nicht metabolisiert, so daß hier nur die extrem langsame Ausscheidung in unveränderter Form möglich ist; entsprechend hoch ist der Bioakkumulationsfaktor für DDE (MORIARTY und WALKER 1987).

Hinsichtlich des Stoffwechsels gibt es artspezifische Unterschiede mit zwei Trends: Die Metabolisierungsrate ist bei carnivoren und piscivoren Arten in der Regel niedriger als bei herbivoren oder omnivoren Arten, und bei Vögeln meist niedriger als bei Säugetieren. Eine niedrige Metabolisierungsleistung korreliert dabei, wie oben erläutert, mit einer starken

Bioakkumulation, so daß für Raubvögel stets besonders hohe BAF-Werte gemessen werden (WALKER 1980). Insgesamt können sich die BAF-Werte bei verschiedenen Vogel- und Säugerarten um mehr als den Faktor 10 unterscheiden.

4. Auswirkungen

Um die Auswirkungen bioakkumulierender Pflanzenschutzmittel auf Vögel und Säugetiere abzuschätzen, kann zunächst der in der Ökotoxikologie übliche Ansatz gewählt werden, nämlich das Verhältnis von Toxizität und Exposition zu bestimmen. Hinsichtlich der Toxikologie weisen bioakkumulierende Stoffe keine grundsätzlich anderen Eigenschaften auf als andere Stoffe. Die Effekte lassen sich auch in der gleichen Weise testen. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß sich die Konzentration im Gewebe unter Umständen langsam aufbaut, sowohl in Toxizitätsversuchen als auch bei einer realen Exposition im Freiland. Zur Beurteilung müssen deshalb langfristige Toxizitätstests herangezogen werden. Weiterhin ist bei der Bewertung zu berücksichtigen, daß bei freilebenden Tieren zu bestimmten Jahreszeiten ein schneller Abbau von Depotfett und damit die Mobilisierung von gespeicherten Substanzen erfolgen kann. Dadurch wird im Vergleich zu Labortieren eine toxische Wirkung verstärkt.

Die Exposition, die in der Gefährdungsabschätzung meist der schwierigere Part ist, läßt sich im Falle von bioakkumulierenden Stoffen besonders schlecht vorhersehen. Die geläufigen Verfahren und Modelle schätzen die Exposition von Vögeln und Säugern gegenüber einem Pflanzenschutzmittel für die erste trophische Stufe, am Ort der Applikation und für den Zeitraum unmittelbar nach der Applikation. Bei akkumulierenden Stoffen muß die Betrachtung weiter gehen und umfassender das Verhalten und den Verbleib in der Biosphäre berücksichtigen. In den höheren Stufen der terrestrischen Nahrungskette gibt es keine andere Möglichkeit, als die Belastung Stufe für Stufe hochzurechnen, denn Modellökosysteme, die auch die Topkonsumenten einschließen, existieren nicht. Dabei multipliziert sich mit jedem Schritt die Ungenauigkeit der Expositionsschätzung.

Am ehesten ist noch das System von Fischen und fischfressenden Vögeln und Säugern überschaubar, weil es nur zwei Übergänge beinhaltet: Wasser -> Fisch -> Vogel/Säuger. Im rein terrestrischen Bereich kommen dagegen drei bis fünf Übergänge vor, z.B. Boden -> Pflanze -> phytophages Insekt -> räuberisches Insekt -> insectivorer Vogel -> Raubvogel. Außerdem ist der Anfang der Nahrungskette heterogen und unübersichtlich. Hier wird die Kette Boden -> Regenwurm -> Vogel/Säuger verhältnismäßig gut verstanden (s. den Beitrag "Möglichkeiten der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation von Pflanzenschutzmitteln durch Regenwürmer" in diesem Heft).

Häufig sind bioakkumulierende Stoffe gleichzeitig persistent und neigen dann zu weiträumiger Verteilung, was langfristig zu einer Dauereexposition aus diffusen Quellen führen kann. Wie die Erfahrung mit chlororganischen Verbindungen zeigt, können letztendlich alle Arten, ja sogar praktisch alle Individuen einer meßbaren Belastung unterliegen (COOKE et al. 1982). Solche Expositionsmuster müssen mit höheren Sicherheitsfaktoren bewertet werden als temporäre Expositionen von Teilpopulationen. Leider lassen sich solche chronischen Expositionen aus diffusen Quellen mit den üblichen Methoden kaum quantitativ vorhersagen, denn maßgeblich dafür ist nicht der Aufwand des Pflanzenschutzmittels pro ha bei einer Anwendung, sondern die ausgebrachte Gesamtmenge in einer Region über eine längere Zeit.

5. Ablauf der Prüfung im Zulassungsverfahren der BBA

In einer ersten Stufe können Wirkstoffe, die in der Umwelt sehr unbeständig sind, als unproblematisch ausgesondert werden, weil sie gar nicht in nennenswertem Maße in die Nahrungskette eintreten. Auch hydrophile Verbindungen brauchen nicht weiter betrachtet zu werden; bei einer Grenze von 3 für den logPOW wird nach aller Erfahrung kein problematischer Wirkstoff übersehen (KENAGA 1980, GARTEN und TRABALKA 1983); eine Ausnahme bilden Metalle und andere Stoffe, deren Bioakkumulationspotential primär nicht auf der Affinität zum Fettgewebe beruht, sondern die z.B. kovalent an Proteine binden.

Läßt sich nach diesen Kriterien ein Akkumulationspotential nicht ausschließen, werden die toxikokinetischen Versuche mit Labornagern und, soweit vorhanden, mit Nutztieren ausgewertet (s. WHO 1986 und den Beitrag "Bedeutung von Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen für die toxikologische Bewertung von Pflanzenschutzmitteln" in diesem Heft). Diese Studien zielen im allgemeinen nicht speziell auf die Bestimmung eines BAF-Wertes ab. Dennoch lassen sich bioakkumulierende Substanzen erkennen. Hinweise dafür sind eine geringe Metabolisierungsrate, eine hohe Affinität zum Fettgewebe, eine langsame Elimination aus Geweben und Organen sowie eine lange Dauer bis zum Plateau der Gewebekonzentration. Wenn derartige Hinweise vorliegen, dann sollte der Bioakkumulationsfaktor bestimmt werden, wenn er sich nicht aus den vorhandenen Versuchen, etwa aus Mehrfachdosisbilanzierungen, ableiten läßt. Vom Gesamtbild der Daten hängt es ab, ob für die Beurteilung weitere Versuche, z.B. mit Vögeln, notwendig sind.

Der Bioakkumulationsfaktor wird benutzt, um Expositionsschätzungen für die höheren Glieder der Nahrungskette zu entwickeln, und damit einen Expositions-/Toxizitätsvergleich zu ermöglichen. Wie oben dargestellt, ist die Exposition für die Topkonsumenten unsicher, weil mehrere Übergänge verkettet werden müssen. Wenn der Akkumulationsfaktor, bezogen auf das ganze Tier, größer als 1 ist, kann eine Magnifikation auftreten, d.h. die Belastung kann in der Nahrungskette zunehmen. Dadurch wird das Risiko für die Endglieder schlecht vorhersehbar, so daß es schwer ist, Gefährdungen auszuschließen. Viele Ökotoxikologen halten deshalb einen Akkumulationsfaktor von 1 bei Vögeln und Säugern für die Grenze der Vertretbarkeit. Deshalb wurde dieser Wert in die Bewertungsgrundsätze der BBA aufgenommen (BBA 1992). Da bei einigen Tierarten der BAF-Wert höher ist als bei Laborarten, muß ein entsprechender Sicherheitsfaktor vorgesehen werden. Wenn BAF-Werte allerdings, wie bei lipophilen organischen Substanzen üblich, auf das Fettgewebe bezogen werden, dann ist ein Sicherheitsfaktor bereits enthalten, weil dann die BAF-Werte für das ganze Tier, oder genauer, für die Teile des Körpers, die von einem Prädator gefressen werden, geringer sind.

6. Literatur

- BBA (1992): Bewertung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch. Berlin-Dahlem 284.
- COOKE, A.S., BELL, A.A. und HAAS, M.B. (1982): Predatory birds, pesticides and pollution. Institute of Terrestrial Ecology, Huntingdon, 74 S.
- DRIVER, C.J., LIGOTKE, M.W., VanVORIS, P., McVEETY, B.D., GREENSPAN, B.J. und DROWN, B.D. (1991): Routes of uptake and their relative contribution to the toxicological response of northern bobwhite (*Colinus virginianus*) to an organophosphate pesticide. *Env. Toxicol. Chem.* 10: 21-33.
- ELLENBERG, H. (Bearb.) (1981): Greifvögel und Pestizide - Versuch einer Bilanz für Mitteleuropa. *Ökologie der Vögel* 3 (Suppl.), 420 S.
- GARTEN, C.T. und TRABALKA, J.R. (1983): Evaluation of models for predicting terrestrial food chain behavior of Xenobiotics. *Environ. Sci. Technol.* 17: 590-595.
- KENAGA, E.E. (1980): Correlation of bioconcentration factors of chemicals in aquatic and terrestrial organisms with their physical and chemical properties. *Environ. Sc. Technol.* 14: 553-556.
- MORIARTY, F. und WALKER, C.H. (1987): Bioaccumulation in food chains - a rational approach. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 13:208-215.
- SHEAIL, J. (1985): Pesticides and nature conservation - the British experience 1950-1975. *Monographs on Science, Technology, and Society* 4, Clarendon Press, Oxford, 276 S.
- WALKER, C.H. (1980): Species variations in some hepatic drug metabolizing enzymes. *Progr. Drug Metabolism* 5: 113-164.
- WALKER, C.H. (1990): Kinetic models to predict bioaccumulation of pollutants. *Functional Ecol.* 4: 295-301.
- WHO (1986): Principles of toxicokinetic studies. *Environmental Health Criteria* 57. World Health Organization, Genf.

C. Kula

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik,
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung, Braunschweig

Möglichkeiten der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation
von Pflanzenschutzmitteln durch Regenwürmer

Possibilities for testing and evaluation of bioaccumulation of
plant protection products in earthworms

1. EINLEITUNG

Betrachtet man die Bioakkumulation im terrestrischen Bereich, so ist festzustellen, daß in den höheren trophischen Stufen Fremdstoffe nicht aus dem umgebenden Medium, sondern auf dem Weg der Nahrung von Tier zu Tier transferiert werden. Diese Vorgänge lassen sich schwer quantifizieren, wenn man nicht die Mechanismen an den Anfängen dieser Nahrungsketten bzw. Nahrungsnetze kennt.

Einen Anfangspunkt terrestrischer Nahrungsketten bilden die Regenwürmer. Sie sind für ca. 200 Wirbeltierarten der palaearktischen Region Bestandteil der Nahrung (Granval, im Druck). Von einigen chlororganischen Pflanzenschutzmitteln ist zudem bekannt, daß belastete Regenwürmer Vergiftungen von Vögeln verursacht haben (Beyer & Gish, 1980).

2. MECHANISMEN UND AUFNAHMEWEGE VON FREMDSTOFFEN DURCH REGEN-
WÜRMER

Regenwürmer können Fremdstoffe über die gesamte Körperoberfläche aus dem umgebenden Boden sowie aus der Nahrung aufnehmen. Dabei scheint die Aufnahme über die Körperoberfläche der wesentliche Kontaminationsweg zu sein (van Gestel et al., 1988). Van Gestel fand in Untersuchungen mit Chlorphenolen,

daß für die Toxizität und Bioakkumulation bei Regenwürmern die Konzentration der Chemikalie im Bodenwasser maßgeblich ist. Er fand dabei eine gute Übereinstimmung mit Toxizitäts- und Bioakkumulationsdaten in Fischen.

Wird der Biokonzentrationsfaktor (BCF) für einen Fremdstoff auf das Bodenwasser bezogen, dann besteht eine positive Korrelation mit der Fettlöslichkeit des Stoffes, und der BCF-Wert läßt sich, wie bei aquatischen Organismen, mit Hilfe des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten vorhersagen (Connell & Markwell, 1990) (Abb. 1).

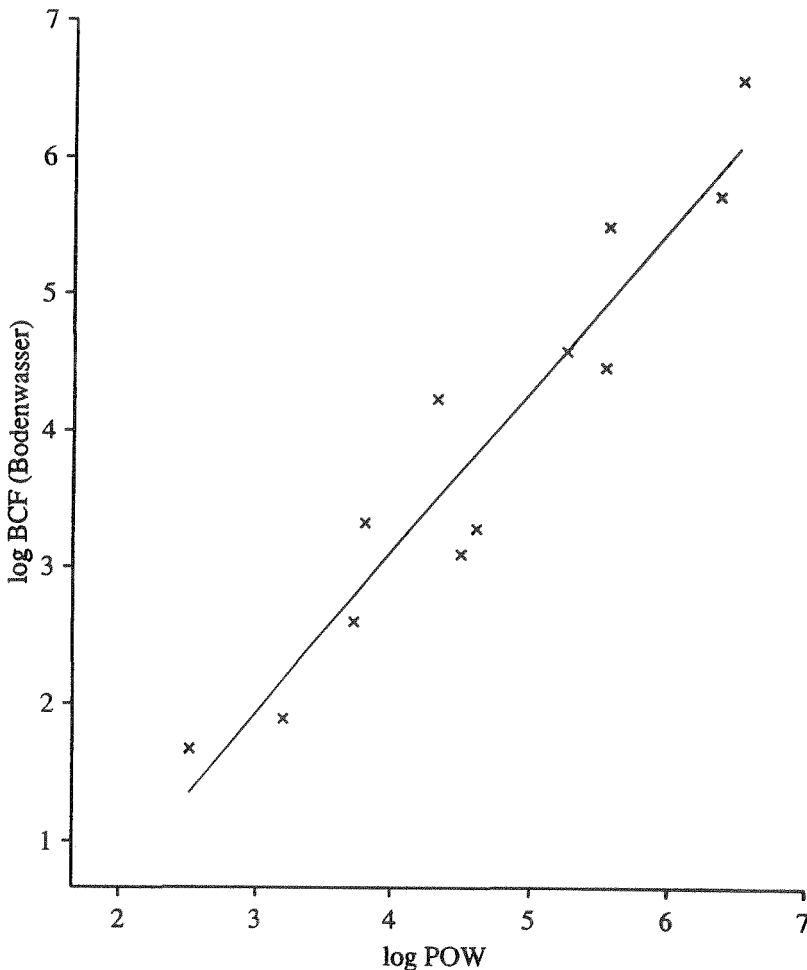


Abb. 1: Beziehung zwischen dem BCF (bezogen auf das Bodenwasser) und dem P_{ow} (nach Connell & Markwell, 1990, mit Daten aus verschiedenen Veröffentlichungen)

Lipophile Substanzen adsorbieren stark an Bodenpartikel. Diese Adsorption und die Aufnahme in den Wurm sind konkurrierende Prozesse. Das hat zur Folge, daß der auf den Boden bezogene Biokonzentrationsfaktor kaum vom Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten abhängig ist, denn eine lipophile Substanz liegt nur in geringer Konzentration im Bodenwasser vor (Abb. 2).

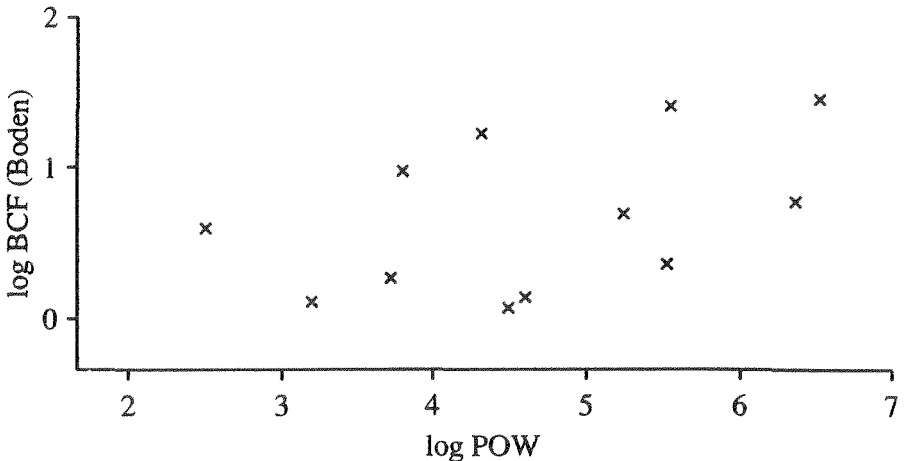


Abb. 2: Beziehung zwischen dem BCF (bezogen auf den Boden) und dem P_{ow} (nach Connell & Markwell, 1990, mit Daten aus verschiedenen Veröffentlichungen)

Typische Biokonzentrationsfaktoren aus Labor- und Freilandversuchen liegen im Bereich von 3-30, berechnet als Konzentrationsverhältnis Wurm- zu Bodentrockenmasse (Curl et al., 1987).

Da die Aufnahme über die äußere Körperoberfläche bei allen Regenwurmarten im Vordergrund steht, liegt die Bioakkumulation bei den verschiedenen Regenwurmarten in ähnlichen Größenordnungen. Es treten jedoch artspezifische Unterschiede auf, die in der unterschiedlichen Lebensweise der einzelnen Arten begründet sind. So war in einem Laborversuch (Curl et al., 1987) die Bioakkumulation bei den Mineralbodenformen, die sich durch den Boden hindurchfressen, mit einem BCF von durchschnittlich 30 höher als bei der tiefgrabenden Art *Lumbricus terrestris*, die an der Bodenoberfläche selektiv nach Nahrung sucht. Diese Art hatte einen BCF von 8.

3. MODELL ZUR ABSCHÄTZUNG DER BIOAKKUMULATION IN REGENWÜRMERN

Es ist möglich, aus im Zulassungsverfahren bereits vorhandenen Daten die Akkumulation von Chemikalien in Regenwürmern abzuschätzen. Zu Beginn einer Abschätzung steht die Information über die Anwendungsbereiche und die in der Praxis eingesetzten Aufwandmengen des Mittels. Um hieraus die Konzentration im Wurm ermitteln zu können, sind die folgenden Parameter zu berücksichtigen (Abb. 3):

Der Anteil des Mittels, der auf den Boden gelangt, bestimmt die initiale Konzentration im Boden.

Aus der Abbaupzeit im Boden und dem Abstand der Anwendungen ergibt sich eine durchschnittliche oder typische Konzentration im Boden.

K_{oc} -Wert und Gehalt an organischem Kohlenstoff bestimmen die Konzentration im Bodenwasser.

Der P_{ow} -Wert bestimmt die Konzentration im Wurm.

Für alle Parameter existieren Modelle oder Schätzverfahren. Mit Versuchen, in denen nach einer einzelnen Pflanzenschutzmittelanwendung in regelmäßigen Abständen Würmer auf Rückstände analysiert wurden, ist eine Validierung des Modells möglich.

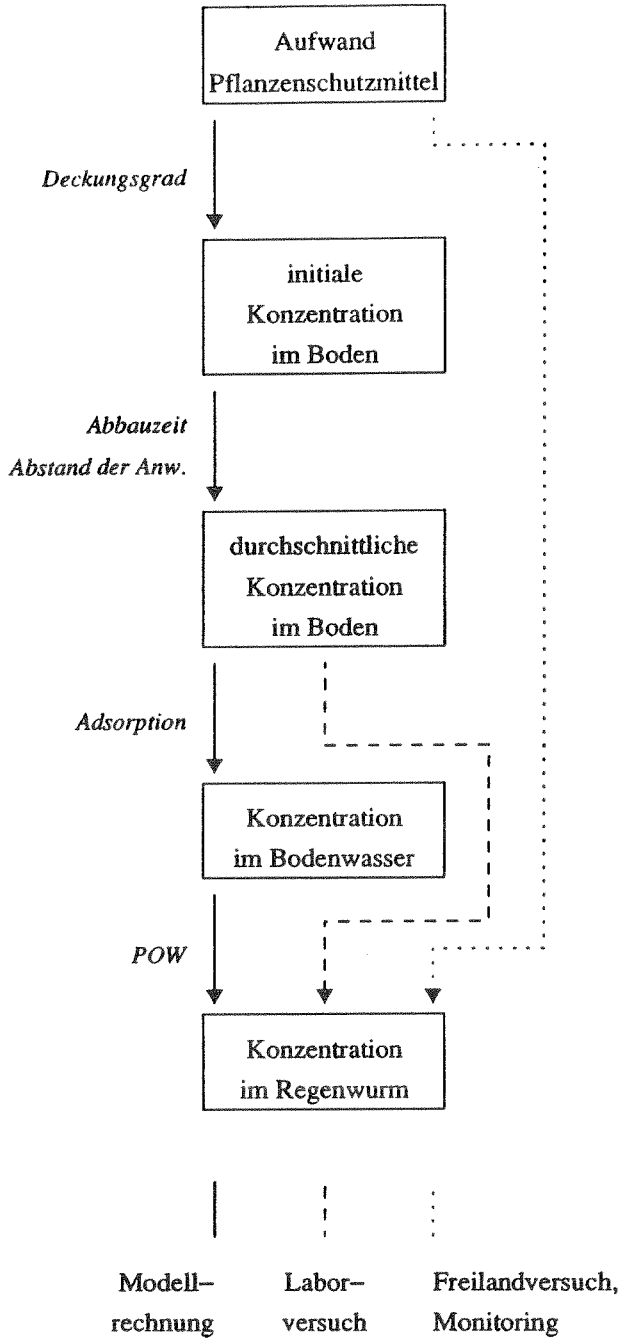


Abb. 3: Modell zur Abschätzung der Akkumulation in Regenwürmern

Viele Fragen hinsichtlich der Bioakkumulation in Regenwürmern bleiben noch offen; so ist zum Beispiel über Aufnahme- und Eliminationskinetiken nur für einige Pflanzenschutzmittelwirkstoffe etwas bekannt (Gilman et al., 1974; Lord et al., 1980). Dennoch wird das System Boden-Regenwurm hinsichtlich der Bioakkumulation heute besser verstanden als der Transfer vom abiotischen Bereich auf andere terrestrische Invertebraten. Es gibt daher einige Gründe, dieses System als eine Art Modell für Bioakkumulation im terrestrischen Bereich zu sehen:

Die Exposition ist auch im zeitlichen Verlauf überschaubar. Da Regenwürmer verglichen mit anderen Bodenorganismen relativ langlebig sind, ergibt sich eine Mittelung der Belastung über Zeit und Raum; es ist also nicht mit sprunghaften Veränderungen der Belastung zu rechnen. Weiterhin läßt sich die Bioakkumulation in Regenwürmern relativ einfach im Labor experimentell ermitteln. Zudem können Regenwürmer zur Überprüfung der Modelle in Freilandversuchen oder im Rahmen von Monitorings auf Rückstände untersucht werden, da sie fast überall und in der meisten Zeit des Jahres vorhanden sind.

4. WIRKUNG AUF REGENWÜRMER

Regenwürmer als akkumulierende Organismen mit Wirkung auf die Folgeglieder der Nahrungskette sind ein Aspekt der Bioakkumulation. Die Wirkung auf die Tiere selbst ist ein anderer Aspekt. Dieser scheint zunächst nicht gravierend, da im Vergleich zu aquatischen Organismen die bisher bekannten Biokonzentrationsfaktoren nicht extrem hoch sind. Mit geeigneten Toxizitätsversuchen müßte es zudem möglich sein, Wirkungen auf die Tiere selbst festzustellen. Da jedoch in den derzeit gebräuchlichen Toxizitätstests die Testdauer wesentlich unter der im Freiland auftretenden Exposition liegen kann, bleibt die Unsicherheit, daß eventuell auftretende Wirkungen nicht in allen Fällen erkannt werden. So wird zum Beispiel in einem zweiwöchigen Toxizitätstest das Plateau der Gewebekonzentration möglicherweise nicht erreicht. Zu diesem Themenkomplex fehlen noch vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Pflanzenschutzmittelwirkstoffen.

5. PRÜFUNG DER BIOAKKUMULATION IM ZULASSUNGSVERFAHREN

Bioakkumulationsversuche mit Regenwürmern sind derzeit im Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel nicht obligatorisch.

Die hier vorgestellte Modellierung der Bioakkumulation ist relativ neu und muß für eine routinemäßige Bewertung ausgearbeitet werden. Dies muß in enger Zusammenarbeit mit den Bereichen geschehen, in denen die Endglieder terrestrischer Nahrungsketten bearbeitet werden.

Die Vorgehensweise soll dabei wie folgt sein: die Konzentration in den Regenwürmer wird abgeschätzt und mit chronischen und subchronischen Toxizitätsdaten für Vögel und Säuger verglichen. Wenn die Rückstände in Regenwürmern an den Effektbereich heranreichen, sind gegebenenfalls Bioakkumulationsversuche mit Regenwürmern oder Rückstandsanalysen nach Freilandanwendungen durchzuführen, um die Exposition für Vögel und Säuger zu klären und eine Bewertung für diesen Bereich vornehmen zu können.

6. LITERATUR

- Beyer, W.N., Gish, C.D. (1980): Persistence in earthworms and potential hazards to birds of soil applied DDT, Dieldrin and Heptachlor. - *Journal of Applied Ecology* 17, 295-307.
- Connell, D.W., Markwell, R.D. (1990): Bioaccumulation in the soil to earthworm system. - *Chemosphere* 20, 91-100.
- Curl, E.A., Edwards, P.J., Elliott, C., Leahey, J.P. (1987): The conjugation and accumulation of metabolites of cypermethrin by earthworms. - *Pestic. Sci.* 20, 207-222.
- Gilman, A.P., Vardanis, A. (1974): Carbofuran. Comparative toxicity and metabolism in the worms *Lumbricus terrestris* L. and *Eisenia foetida* S.- *J. Agric. Food Chem.* 22, 625-628.

Granval, P. (im Druck): Predation on earthworms by terrestrial vertebrates. - Soil Biology and Biochemistry.

Lord, K.A., Briggs, G.G., Neale, M.C., Manlove, R.M. (1980): Uptake of pesticides from water and soil by earthworms. - Pestic. Sci. 11, 401-408.

Van Gestel, C.A.M., Ma, W. (1988): Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability in soil. - Ecotox. Environ. Safety 15, 289-297.

H. Rothert und R. Forster

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Fachgruppe Biologische Mittelprüfung

Möglichkeiten der Prüfung und Bewertung der Bioakkumulation von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen bei Nutzorganismen und Bienen

Possibilities for testing and evaluation of bioaccumulation of plant protection products in beneficial organisms and honey bees

1 Einleitung

Unterlagen zur Bioakkumulation und zu nahrungskettenbedingten Auswirkungen von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen werden im Zulassungsverfahren in den Bereichen Nutzorganismen und Bienen in der Bundesrepublik Deutschland zur Zeit nicht gefordert. Die Richtlinie zur Prüfung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf die Honigbiene sowie einzelne Prüfrichtlinien für Nutzorganismen berücksichtigen zwar die zusätzliche orale Aufnahme über eine kontaminierte Zuckerwasserlösung bzw. über Beutetiere (z. B. Richtlinien der BBA, Teil VI, Nr. 23 - 1 und 23 - 2.1.8), die Dauer der Laborprüfungen unterschreitet in der Regel jedoch die im Freiland auftretende natürliche Expositionszeit. So werden mögliche Langzeiteffekte bei der Bewertung eines Mittels nicht erfaßt. Die Konzeption für die Halbfreilandprüfung sieht generell eine Kontamination von Futter bzw. Beutetieren vor. In Freilandversuchen sind zwar direkte und indirekte Effekte häufig nicht mehr zu trennen, Expositionsdauer und -wege sind jedoch realistischer. Eine Bestimmung der Bioakkumulation in dieser Prüfstufe könnte eine Anknüpfung an Bereiche höherer trophischer Niveaus ermöglichen, zumal die epigäischen Arthropoden eine bedeutende Nahrungsquelle für viele terrestrische Wirbeltiere darstellen. Im folgenden soll jedoch nicht die nahrungskettenbedingte Wirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Vertebraten, sondern die Auswirkung auf Nutzorganismen näher betrachtet werden.

2 Kontaminationswege bei epigäischen Arthropoden

Prädatoren und Parasitoide können auf verschiedene Weise mit Pflanzenschutzmitteln in Kontakt kommen, z. B. indirekt über Beute- bzw. Wirtsorganismen, die nach einer Behandlung als Quellen sekundärer Begiftung zurückbleiben (CROFT 1977). Weiterhin ist eine sekundäre Kontamination durch Kannibalismus, Pollen, Nektar und freies Wasser möglich. Insbesondere die freilebenden Stadien von Parasitoiden und Bienen können über den Honigtau einiger Homopterenarten Pflanzenschutzmittelwirkstoffe aufnehmen (CROFT 1990).

Das Ausmaß der Kontamination über die Nahrungskette wird durch verschiedene Faktoren bestimmt (CROFT 1977). Dazu gehören die Ernährungsgewohnheiten der Beute- bzw. Wirtsspezies (Art der Aufnahme und absolut aufgenommene Wirkstoffmenge), das Verhalten des Wirkstoffes im Beute- oder Wirtstier (Lokalisation, Konzentration und Metabolismus), die Ernährungsgewohnheiten des Nützlings (absolut aufgenommene Wirkstoffmenge) und dessen Fähigkeiten zu Detoxifikation und Metabolisierung. Die Schädigung endoparasitischer Stadien über die Nahrungskette ist darüberhinaus auch abhängig vom Transfer des Pflanzenschutzmittelwirkstoffes. Dieser wird durch die Physiologie des Wirtes beeinflusst und z. B. in Abhängigkeit von der Fähigkeit des Wirkstoffes, die Wirtskutikula zu penetrieren, bestimmt.

3 Bioakkumulation und nahrungskettenbedingte Auswirkungen bei epigäischen Arthropoden

Die epigäischen Arthropoden können subletale Rückstände von Pflanzenschutzmitteln in ihre Gewebe aufnehmen. Die möglichen Folgen sind nach EDWARDS und THOMPSON (1973):

- a) Resistenz gegenüber bestimmten Insektiziden,
- b) Änderungen des Verhaltens,
- c) Einflüsse auf das Fortpflanzungspotential der Populationen und
- d) Einflüsse auf die als Prädatoren oder Parasitoide auftretenden Arten innerhalb der Nahrungskette.

Dabei kann der Transport über die Nahrungskette zu einer Erhöhung der Metabolitenkonzentration auf dem Niveau von Prädatoren und Parasitoiden führen (CROFT 1990). Belegt wird diese Aussage z. B. durch Untersuchungen von KIRITANI und KAWAHARA (1973) anhand eines Pflanze-Herbivor-Prädatoren-Systems einer Reis-Agrozönose. Auf Niveau des Herbivors betrug die Biomagnifikation bereits etwa Faktor 3. Die Akkumulation bestimmter Metaboliten des Pflanzenschutzmittelwirkstoffes erreichte damit eine für den Prädatoren toxische Dosis.

Untersuchungen von THOMPSON und EDWARDS (1974) bestätigen, daß in Gebieten, in denen Pflanzenschutz betrieben wird, Organismen subletale Dosen von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen enthalten können. MENHINICK (1962) konnte in solchen Arealen, in denen über mehrere Jahre Pflanzenschutzmittel appliziert wurden, neben einer Abnahme der Artenvielfalt insbesondere eine Abnahme der Populationsdichte und Artenanzahl größerer Evertebraten, einen Anstieg kleiner gegenüber Chemikalien toleranter Organismen und eine Verschiebung der trophischen Struktur der Fauna in Richtung auf ein niedrigeres Niveau beobachten. THOMPSON und EDWARDS (1974) führen diese Beobachtungen auf eine Bioakkumulation innerhalb der Nahrungskette zurück, die verbunden ist mit einer Erhöhung der Mortalität und/oder Verminderung der Fertilität. Toxische Effekte können aber auch bereits bei weit geringeren Wirkstoffmengen

auftreten, als bei der Anwendung üblich sind. WOLF-ROSKOSCH und SCHUPHAN (1987) berichten, daß schon geringe Dosen Nützlinge chronisch vergiften können, auch wenn diese lediglich im Toleranzbereich von Pflanzenschutzmittelrückständen liegen.

4 Abschätzung der nahrungskettenbedingten Auswirkungen von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen

Da die Kontamination bei den epigäischen Organismen nicht über das Umgebungsmedium erfolgt, ist eine Expositionsabschätzung in der Weise, wie sie im aquatischen Bereich oder bei den Bodenorganismen vorgenommen wird, nicht möglich. In Untersuchungen von DAVIS (1968) waren beispielsweise der Wirkstoffgehalt des Bodens und der Gehalt in Laufkäfern nur schwach korreliert. Darüber hinaus unterliegt der Grad der Exposition von Nutzorganismen und Bienen über die Nahrungskette derart vielfältigen Einflüssen, daß die Möglichkeit eine Abschätzung allein anhand der physiko-chemischen Eigenschaften des Pflanzenschutzmittels bzw. -wirkstoffes zu treffen, zur Zeit nicht möglich erscheint. Sollen die nahrungskettenbedingten Auswirkungen von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen näher untersucht werden, so könnten jedoch Angaben zu Persistenz und Dauer der biologischen Wirksamkeit erste Hinweise auf ein mögliches Akkumulationspotential geben. Unter Berücksichtigung des Flächenaufwandes wäre auch eine erste Abschätzung nahrungskettenbedingter Auswirkungen möglich, sofern die notwendigen toxikologischen Daten verfügbar wären. Dies ist jedoch zur Zeit nicht der Fall.

Trotz der sehr vielfältigen Expositionsmöglichkeiten der epigäischen Nutzorganismen könnten Untersuchungen zu nahrungskettenbedingten Auswirkungen auf zwei grundsätzliche Expositionsszenarien eingegrenzt werden:

- a) Aufnahme kontaminierter Beutetiere durch Prädatoren. SELL (1984) verfütterte durch verschiedene Insektizide abgetötete Beutetiere an die räuberischen Larven der Gallmücke Aphidoletes aphidimyza.
- b) Entwicklung von Parasitoiden in kontaminierten Wirtslarven. WOLF-ROSKOSCH und SCHUPHAN (1987) erarbeiteten Methoden zur Prüfung der nahrungskettenbedingten chronischen Auswirkungen von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen auf verschiedene Wirt-Parasitoid-Systeme.

Untersuchungen dieser Art könnten geeignet sein, sowohl die akute als auch die chronische Toxizität von Wirkstoffen sowie die Wirkung über verschiedene Kontaminationspfade zu überprüfen. Da der Gesamteffekt eines Pflanzenschutzmittels das Produkt aus seiner Toxizität und seiner Persistenz ist (EDWARDS and THOMPSON 1973) könnten dadurch wertvolle Zusatzinformationen gewonnen werden. Dies gilt insbesondere für persistente Pflanzenschutzmittel (z. B. DT50 >

30 oder DT90 > 100 Tage) und für solche Mittel, deren biologische Wirksamkeit über einen längeren Zeitraum andauert (z. B. Schädigung von Trichogramma > 30 Tage im Persistenztest nach HASSAN (1992)).

Für die Prüfung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren wird jedoch nach derzeitiger Einschätzung das etablierte dreistufige Prüfschema (Labor-Halbfreiland-Freiland) für Nutzarthropoden und Bienen und die Prüfung der Bioakkumulation bzw. der nahrungskettenbedingten Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf die Endglieder der terrestrischen Nahrungsketten als ausreichend betrachtet.

6 Literatur

CROFT, B. A. (1977): Susceptibility surveillance to pesticides among arthropod natural enemies - Modes of uptake and basic responses. *Journal of Plant Diseases and Protection* 84 (3), 140 - 157.

CROFT, B. A. (1990): *Arthropod biological control agents and pesticides*. John Wiley & Sons, Inc., 723 S.

DAVIS, B. N. K. (1968): The soil macrofauna and organochlorine residues at twelve agricultural sites near Huntingdon. *Ann. Applied Biol.* 61, 29.

EDWARDS, C. A. and A. R. THOMPSON (1973): Pesticides and the soil fauna. *Residue Reviews* 45, 1 - 79.

HASSAN, S. A. (1992): Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection products on Trichogramma cacoeciae. In: *Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms - Description of test methods*. IOBC/WPRS Bulletin 1992/XV/3, 18-39.

KIRITANI, K. und S. KAWAHARA (1973): Food-chain toxicity of granular formulations of insecticides to a predator, Lycosa pseudoannulata, of Nephotettix cincticeps. *Botyu-Kagaku* 38 (2), 69 - 75.

MENHINIK, E. F. (1962): Comparison of invertebrate populations of soil and litter of mowed grasslands in areas treated and untreated. *Ecology* 43 (3), 556 - 561.

SELL, P. (1984): Wirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Leistungen der aphidophagen Larven von Aphidoletes aphidimyza (Rond.) Diptera, Cecidomyiidae. *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 98, 174 - 184.

THOMPSON, A. R. and C. A. EDWARDS (1974): Effects of pesticides on nontarget invertebrates in freshwater and soil. Pesticides in Soil and Water, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wis./USA.

WOLF-ROSKOSCH, F. und I. SCHUPHAN (1987): Entwicklung von Modellen zur Testung der nahrungskettenbedingten Wirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Nutzarthropoden mit endoparasitischer Larvalentwicklung im Laboratorium. Forschungsbericht, Vorhaben DFG Schu 193/10-1,2.

S. Gericke

Bundesgesundheitsamt, Abt. Pflanzenbehandlungs-, Schädlings-
bekämpfung- und Holzschutzmittel, Berlin

**Bedeutung von Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen für die
toxikologische Bewertung von Pflanzenschutzmitteln**

1. Zur Bioakkumulation von Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen im
Säugetier

Das Pflanzenschutzgesetz verpflichtet "Gefahren abzuwenden, die durch die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (PSM) oder durch andere Maßnahmen des Pflanzenschutzes, insbesondere für die Gesundheit von Mensch und Tier und für den Naturhaushalt, entstehen können" (PflSchG, 1986). Die Bioakkumulation spielt dabei eine zentrale Rolle. Sie beschreibt im engeren Sinne die Schadstoffanreicherung in lebenden Organismen. Auch wenn sich die Wirkstoffe im speichernden Organismus selbst indifferent verhalten, kann ein höheres Glied in der Nahrungskette geschädigt werden. Damit stellt die Bioakkumulation unter Umständen eine Gefährdung für Mensch und Umwelt dar (12). Zum einen geht es dabei um Wirkungen, die sich unmittelbar oder zumindest relativ schnell durch die Exposition gegenüber einer chemischen Substanz einstellen, zum anderen bewirken längerfristige Anreicherungen Konzentrationsanstiege im Organismus, die zu subchronischen und chronischen Schäden führen können (2).

Im Rahmen der toxikologischen Bewertung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren sind deshalb in jedem Fall Kinetik und Dynamik aufgenommener Wirkstoffe im (Versuchs-) Tier zu erfassen und zu bewerten. Resorption und Verteilung der Substanzen im Körper sind zwar in starkem Maße von physikalischen und chemischen Eigenschaften des Mittels abhängig, die Wirkung und damit die praktische Relevanz für den Organismus wird jedoch darüberhinaus von der Dosis, der Metabolisierung, und damit spezifischen enzymatischen Vorgängen sowie den Mechanismen der Ausscheidung bestimmt. Die aus dem Experiment erhaltenen Daten geben Aufschluß über die Aufnahme, über Verweildauer und Konzentrationen des Wirkstoffes und seiner Abbauprodukte im Organismus. Damit dienen sie dem Verständnis des Wirkmechanismus der zu bewertenden Sub-

stanz und können wichtige Hinweise für weitere toxikologische Untersuchungen geben, und sie können zur Wertung und Wichtung sowie zur Interpretation vorliegender Ergebnisse aus anderen toxikologischen Untersuchungen herangezogen werden (17). So verstanden kommt den Stoffwechseluntersuchungen eine zentrale Rolle im toxikologischen Untersuchungsprogramm zu, während die entsprechenden Daten, die an landwirtschaftlichen Nutztieren gewonnen werden, vornehmlich die Basis für die Festlegung von Höchstmengen für Rückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft sind.

2. Anforderungen an Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen

Ausgehend von den für die Bewertung eines Mittels erforderlichen Daten entstanden nationale und internationale Richtlinien und Standards für die durchzuführenden Untersuchungen (3, 4, 6, 10, 15, 17). Dabei wird nach einem Optimum zwischen konkreter Vorgabe und eigenverantwortlicher Entscheidungsfreiheit des Versuchsanstellers gesucht. So formuliert die OECD in der Einleitung zur Guideline 417: "Flexibility ... is needed in the design of toxicokinetic studies" (15). Ein solches Prinzip erfordert aber in besonderem Maße GLP-gerechte Planung, Durchführung, Dokumentation und Auswertung aller Schritte im Experiment.

2.1. Stoffwechseluntersuchungen

In den Zulassungsrichtlinien der BBA heißt es: "Um Informationen über die Resorption, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung des Wirkstoffes und/oder seiner Metaboliten zu erhalten, sind in einem möglichst frühen Stadium der toxikologischen Prüfung entsprechende Untersuchungen an Labortieren - ggf. mit radioaktiv markiertem Wirkstoff- durchzuführen. Die Untersuchungen sollen die Anforderungen der OECD Test Guideline 417 erfüllen" (3). Bei aller "Flexibilität" sollten sich die Untersuchungen weitgehend an dem vorgegebenen Rahmen orientieren. Nur dann ist dem Versuch sowohl für den Versuchsansteller als auch für die Behörde, die mit der Wertung und Einschätzung der Unterlagen befaßt ist, ein Höchstmaß an verwertbaren Informationen zu entnehmen. Aus der Vielzahl der Probleme zu Versuchsanstellung und Auswertung sollen hier nur einige Gesichtspunkte angesprochen werden, die in besonderem Maße

Auswirkungen auf Vergleichbarkeit, Reproduzierbarkeit und Übertragbarkeit von Ergebnissen haben.

2.1.1. Tierart

Toxikokinetische Untersuchungen werden wie auch die meisten anderen toxikologischen Untersuchungen zunächst an Ratten durchgeführt. Da zumindest unter den Säugern anatomische, physiologische und biochemische Ähnlichkeiten bestehen, können prinzipiell gleichartige Wirkmechanismen angenommen werden, die auch die Basis für eine Extrapolation solcher Daten auf den Menschen sind (1). Tests an weiteren Tierarten zeigen jedoch erst die Bandbreite der Reaktionen auf den Fremdstoff und werfen Fragen zum spezifischen Metabolismus, zur Eiweißbindung, Konjugatbildung und Elimination auf (8, 16). Dazu kommen oft große individuelle Unterschiede in der Reaktionsweise auf eine Wirkstoffgabe, was besonders in kinetischen Untersuchungen am Einzeltier gezeigt werden kann (8). Derartige tierartliche und individuelle Unterschiede begründen den Sicherheitsfaktor (SF gewöhnlich = 100) beim Schritt vom "No observed effect level" (NOEL) aus einem Langzeit-Tierversuch zum "Acceptable daily intake" (ADI) für den Menschen (16).

2.1.2. Testsubstanz

Ob mit radioaktiv markierten Prüfsubstanzen gearbeitet wird oder nicht markierte Wirkstoffe zum Einsatz kommen, ist von der Fragestellung und damit von den zu erwartenden Konzentrationen in den unterschiedlichen Substraten sowie den Bestimmungsgrenzen der zur Verfügung stehenden Methoden abhängig. Die Markierung muß an relevanten Strukturen des Moleküls erfolgen, und es kann auch erforderlich sein, an mehreren Stellen gleichzeitig zu markieren bzw. den Wirkstoff mehrmals mit unterschiedlicher Markierung zu testen, um ein vollständiges Bild über das Schicksal der Substanz im Organismus zu erhalten. Konzentrationsangaben auf der Basis einer gemessenen Gesamtaktivität geben nur einen Hinweis auf ein mögliches Maximum an Muttersubstanz und bedeutungsvollen Metaboliten.

2.1.3. Dosierung

Für die einmalige Applikation werden zwei unterschiedliche Dosierungen empfohlen, eine niedrige, ohne toxische Wirkung, und eine

relativ hohe Dosis, so daß eine Aussage zur Dosisabhängigkeit toxikokinetischer Daten resultiert und auch für die Identifizierung von eventuellen Metaboliten ausreichende Konzentrationen im Probenmaterial entstehen. Eine Untersuchung zur Kinetik nach mehrmaliger Applikation kann Hinweise auf eine mögliche Kumulation geben. Eine 5malige Gabe genügt zumeist nicht, um das der Dosis und dem Applikationsintervall entsprechende steady state aufzubauen. Dieser Zustand ist jedoch von besonderem Aussagewert, da sich hier ein dynamisches Gleichgewicht zwischen den Konzentrationen in allen Kompartimenten einstellt und erst dann Aussagen zur Anreicherung in bestimmten Geweben und Substraten möglich sind. Auf diesem Gebiet wäre eine weiterreichende Einführung und Nutzung von Computersimulationen wünschenswert.

Die große Sorgfalt, mit der die Reinheit der Prüfsubstanz, die gleichbleibend exakte Konzentration und damit Dosierung sowie die günstigste Applikationsform gewählt, kontrolliert und ausgewiesen werden muß, ist eine unabdingbare Voraussetzung für jeden Versuch.

2.1.4. Aufnahmeweg

Bei den toxikokinetischen Untersuchungen wird stets von einer oralen Aufnahme des Wirkstoffs ausgegangen. Das entspricht dem wichtigsten Weg der Gefährdung von Mensch und Tier als Verbraucher kontaminierter Futter- und Lebensmittel. Zur besseren Einschätzung von möglichen Gefahren, die u.U. mit der dermalen oder inhalativen Aufnahme eines Pflanzenschutz- oder Schädlingsbekämpfungsmittels verbunden sind, können weitere spezielle Untersuchungen erforderlich werden.

2.2. Rückstands-Untersuchungen an landwirtschaftlichen Nutztieren

In den Zulassungsanforderungen der BBA (3) wird zwischen Fütterungsstudien, die unter klinischen Gesichtspunkten zu sehen sind, und Rückstandsuntersuchungen unterschieden. Die Durchführung entsprechender Versuche ist nur bedingt erforderlich:

- "Fütterungsstudien an landwirtschaftlichen Nutztieren sind durchzuführen, wenn durch Rückstände in/oder auf Futterpflanzen und/oder Stroh die Gesundheit der Tiere beeinträchtigt und die Nutzleistung negativ beeinflusst werden kann. Es ist in jedem Fall eine Beurteilung auf der Grundlage der bekannten Toxizitäts- und Rückstandsdaten vorzulegen."

- "Rückstandsuntersuchungen sowie Untersuchungen zum Stoffwechsel und zur Kinetik (entspr. OECD Test Guideline 417) an landwirtschaftlichen Nutztieren sind erforderlich, wenn Rückstände des Pflanzenschutzmittels und/oder seiner Umwandlungsprodukte in/auf Pflanzen enthalten sind, die als Futter für landwirtschaftliche Nutztiere geeignet sind. Dabei ist auch der Übergang des Wirkstoffes und/oder seiner Metaboliten in tierische Produkte wie Milch und Eier zu prüfen".

Auch von der EPA werden Metabolismusstudien gefordert, die zu einer Identifikation der Natur der Rückstände in eßbaren Geweben, Milch und Eiern führen, wenn eine direkte Anwendung der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel in der Tierhaltung, bei der Behandlung der Stallungen oder Rückstände im Futter zu erwarten sind. Es wird darauf hingewiesen, daß Metabolismusstudien an Labortieren kein Ersatz dafür, sondern nur eine Ergänzung sein können (6). In der Richtlinie 91/414 EWG (5) wird in diesem Zusammenhang explizit auf die Notwendigkeit entsprechender Daten zur Bewertung von Rückständen in Lebensmitteln tierischen Ursprungs hingewiesen. Zur Vorgehensweise liegen Guidelines der FAO (7) und des CCPR vor (4). In Anlehnung an das Dokument des Codex-Komitee wurde vom IVA (10) im Rahmen einer "Leitlinie Rückstandsversuche", eine Anleitung für "Fütterungsstudien mit landwirtschaftlichen Nutztieren" vorgelegt, die internationale Anforderungen abdecken soll. Sie befaßt sich mit dem möglichen Übergang von Rückständen aus dem Futter in Lebensmittel tierischer Herkunft und hat die Ermittlung von Daten zur Festsetzung von Höchstmengen für Rückstände in tierischen Lebensmitteln zum Ziel. Die klaren Anleitungen sollen sicherstellen, daß repräsentatives und einwandfreies Probenmaterial zur Analyse vorliegt. Auf der Basis GLP-gerechten Arbeitens zielen die Leitlinien auch auf eine vollständige Dokumentation und eine aussagekräftige Berichterstattung über die Versuche ab.

2.2.1. Tierart

Da aus den Versuchen Rückstandsdaten für Milch und Eier hervorgehen müssen, werden vor allem die Milchkuh und aus ökonomischen Gründen auch die Ziege sowie Legehennen verwendet. Bei Ergebnissen, die beim Vergleich mit den Stoffwechseluntersuchungen an

Ratten auf Speziesunterschiede schließen lassen, werden von der EPA auch Untersuchungen am Schwein gefordert (6).

2.2.2. Dosierung und Zeitdauer der Behandlung

Während eine niedrige Dosis gebraucht wird, die sich an einer praktisch möglichen Exposition über Rückstände im Futter orientiert (MRL), ist oft der Einsatz einer höheren Dosis erforderlich, um für die Bestimmung von Metaboliten ausreichende Konzentrationen im entsprechenden Probenmaterial zu finden (4, 6). Für die Ableitung von Höchstmengen hat es sich jedoch häufig als problematisch erwiesen, wenn nur 2 oder 3 Dosierungen geprüft wurden, da z.B. bei einer Harmonisierung in der EG stark variierende Rückstände im Futtermittel Berücksichtigung finden müssen.

Je nach Zielstellung des Versuchs variieren die Empfehlungen zur Dauer der Versuche von der Einmalapplikation bis hin zu Fütterungsversuchen über 28 Tage, die sicherstellen sollen, daß sich bei den jeweiligen Dosierungen in der Milch bzw. den Eiern ein Rückstandsplateau eingestellt hat, so daß dann im erreichten steady state auch mit konstanten Relationen der Wirkstoffkonzentrationen in den übrigen Geweben gerechnet werden kann. Bei kontinuierlicher Probennahme und sofortiger Analyse ergibt sich die erforderliche Versuchsdauer aus den ermittelten Werten. Die Schlachtung sollte dann innerhalb 24 Stunden nach letzter Applikation erfolgen.

2.2.3. Aufnahmeweg

Die Art der Verabreichung (z.B. mit Futter, Wasser oder per Kapsel) hat in jedem Fall Vor- und Nachteile. Sie sollte vom Versuchsansteller für den konkreten Fall begründet und einschließlich der erforderlichen Untersuchungen (Stabilität, Homogenität etc.) dokumentiert werden (10). Je nach möglicher Exposition (Anwendung von Schädlingsbekämpfungsmitteln in der Tierhaltung) werden von der EPA (6) auch Metabolismusstudien an landwirtschaftlichen Nutztieren nach dermalen oder inhalativer Exposition gefordert.

2.2.4. Substrate

Das Minimum der zu untersuchenden Substrate ergibt sich aus der Zielstellung der Versuche. So sind Werte für Milch und Eier sowie

Muskulatur, Leber, Niere und Fett zu ermitteln. Als günstig wird die Einbeziehung der Untersuchung von Urin und Faeces bezeichnet (4, 6). Oft sind hierbei die für die Muttersubstanz sowie die relevanten Metaboliten zur Verfügung stehenden Analysemethoden mit ihren substratabhängigen Bestimmungsgrenzen limitierend.

2.3. Zur Aussagefähigkeit von Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen

Auch die Untersuchungen zur Toxikokinetik und zum Metabolismus müssen für die Bewertung als vollständiger, GLP-gerechter Prüfbericht vorliegen. Viele der angesprochenen Fragen sind auf der Basis einer Veröffentlichung nur schwer nachvollziehbar, und es kann zu Informationsverlusten kommen. Es wäre anzustreben, daß bei Auswertung der Versuche häufiger kinetische Grundparameter wie Resorptionsfaktoren, Halbwertzeiten, Angaben zur Bioverfügbarkeit (AUC), Kumulationsfaktoren etc. mit ausgewiesen werden. Zusammen mit graphischen Darstellungen der Ergebnisse könnten damit oft Wertung und Vergleichbarkeit der eingereichten Daten erleichtert werden.

3. Bewertung der Ergebnisse

Zu Bewertung und Diskussion der Ergebnisse im Rahmen eines Prüfberichtes ist es dem Prüfleiter weitgehend selbst überlassen, in welcher Form und Vollständigkeit zu den ermittelten Werten Stellung genommen wird. So heißt es in der Leitlinie des IVA (10) lediglich: "In diesem Berichtsteil werden die berichteten Analyseergebnisse im Hinblick auf die Fragestellungen im Zielsetzungsteil diskutiert und bewertet." Dabei sollte jedoch bedacht werden, daß gerade bei Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen alle erarbeiteten Informationen über den Einzelbericht hinaus Bedeutung erlangen können und zur Gesamteinschätzung eines Wirkstoffs erforderlich sind. Daten zur Kinetik und zum Metabolismus sind der Schlüssel zum Verständnis aller Reaktionen bis hin zum toxischen Geschehen nach Exposition mit einem Wirkstoff. So müssen z.B. bei der Bewertung von Langzeit-Untersuchungen hinsichtlich der Einschätzung bedingt krebsauslösender Faktoren Unterschiede in der Toxikokinetik und in der Reaktionsempfindlichkeit zwischen Tier und Mensch besondere Berücksichtigung finden (1). Aus der Summe aller Informationen zu Wirkungsweise und Toxikologie eines Wirk-

stoffes ergibt sich ein NOEL, der über einen Sicherheitsfaktor von zumeist 100, wie bereits oben vermerkt, die Basis für die Benennung einer duldbaren täglichen Aufnahmemenge (DTA oder international ADI) für den Menschen darstellt. Der ADI ist ein Sicherheitsgrenzwert im Gegensatz zu den Toleranzwerten, den zulässigen Höchstmengen an Rückständen, in den einzelnen Erntegütern oder Lebensmitteln, die praxisorientiert entsprechend der Anwendung des PSM im In- oder/und Ausland festgelegt werden müssen. Dabei folgt die Höchstmengenfestsetzung dem Grundsatz: "Soviel wie nötig - so wenig wie möglich" (14).

Eine kaum überschaubare Menge an Literaturhinweisen sowie die aktuellen Daten aus der Lebensmittelüberwachung (jährlich ca. 10000 Proben, die sowohl pflanzliche als auch tierische Lebensmittel und damit auch Fische und Krustentiere etc. betreffen) zeigen, daß die Situation insgesamt als gesundheitlich unbedenklich eingeschätzt werden kann (12, 13). Nach entsprechenden Berechnungen bzw. Schätzungen liegt die Tageszufuhr an PSM-Wirkstoffen mit der Gesamtnahrung (Ausschöpfungsrate des ADI) bei 0,3-2,1% der duldbaren täglichen Aufnahme durch den Menschen (12).

Für den Bereich der pflanzlichen Lebensmittel liegt zumeist ein relativ umfangreiches Datenmaterial vor, und die Vorgehensweise bei der Bewertung im Lebensmittel ist weitreichend geregelt (9). Zukünftig sind aber auch über den derzeitigen Stand der Pflanzenschutzmittel-Höchstmengenverordnung, PmHV (1989), hinaus für alle Stoffe Höchstmengen für Lebensmittel tierischer Herkunft festzulegen. Sofern diese PSM als Rückstand in Futtermitteln nicht relevant sind bzw. in tierischen Produkten zu nicht nachweisbaren Rückständen führen, wird sich die Höchstmenge an den analytischen Bestimmungsgrenze für den Wirkstoff orientieren. Damit erhöht sich die Bedeutung aller Metabolismus- und Rückstansstudien an landwirtschaftlichen Nutztieren.

Für Fische kann derzeit nur eine Einzelfallentscheidung unter Berücksichtigung ihrer tatsächlich zu erwartenden Exposition und der sonstigen toxikologischen Eigenschaften des Wirkstoffes erfolgen. Die Forderung nach Prüfung der Bioakkumulation für Fische (bei $\log P_{OW} > 3$) ist somit auch wichtig für deren Verwendung als Lebensmittel.

Stoffwechsel- und Rückstandsuntersuchungen sind somit von großer Bedeutung für die toxikologische Bewertung von PSM bis hin zu Höchstmengenfestlegungen für Lebensmittel tierischer Herkunft. Die erforderliche Datenlage ist einerseits oft lückenhaft (z.T. auch nur, weil vorliegende Studien nicht mit eingereicht werden), andererseits ist aber auch eine noch bessere Auswertung und Nutzung erarbeiteter Daten anzustreben.

Literaturverzeichnis

- (1) Appel, K.E., 1990: "Risk Assessment" in der Toxikologie. Bundesgesundheitsbl. 6/90, 240-247.
- (2) Beek, B., Böhling, St., Franke, Ch., Studinger, G., 1991: -Bioakkumulation- Bewertungskonzept und Strategien im Gesetzesvollzug. Umweltbundesamt, Texte 42/91.
- (3) Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, BRD, 1990: Richtlinien für die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren, I/1-2. Toxikologische Unterlagen zur Beurteilung der Auswirkungen auf Mensch und Nutztier; Schlußfolgerungen und toxikologische Grenzwerte (D/1-2).
- (4) CCPR, 1986: Guidelines on Supervised Studies to Provide Data on the Nature and Amount of Pesticide Residues in Products of Animal Origin. ALINORM 87/24, Appendix IV, Annex I.
- (5) EG-Richtlinie 91/414 EWG.
- (6) EPA, 1982: Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision 0, Residue Chemistry. EPA-540/9-82-023.
- (7) FAO, 1986: Pesticide Residue Trials to Provide Data for the Registration of Pesticides and the Establishment of Maximum Residue Limits. Rome.
- (8) Gericke, S., Beitz, H., Stähler, M., Worsack, St., 1990: Die Toxikokinetik als Bestandteil der Untersuchungen zur Hygienisch-toxikologischen Charakterisierung von Pflanzenschutzmitteln. Tag.-Ber., Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, Berlin, 285, 103-106.
- (9) Hans, R., Hübner, H., 1992: Festsetzung von Höchstmengen für Pflanzenschutzmittelrückstände in/auf Lebensmitteln; Abschätzung der Aufnahme von Rückständen über die Nahrung. Bundesgesundheitsbl. 5/92, 246-250.
- (10) IVA, 1990: IVA - Leitlinie Rückstandsversuche, Teil IV: Fütterungsstudien mit landwirtschaftlichen Nutztieren. Industrieverband Agrar e.V., Frankfurt.
- (11) Klein, H., 1990: Sind Schadstoffe in Lebensmitteln (un)bedenklich? Bundesgesundheitsbl. 12/90, 589-594.

- (12) Korte, F. (Hrsg.), 1980: Ökologische Chemie; Grundlagen und Konzepte für die ökologische Beurteilung von Chemikalien. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- (13) Lingk, W., 1990: Rückstände von Pflanzenschutzmitteln in und auf Lebensmitteln. Bundesgesundheitsbl. 12/90, 585-589.
- (14) Lundejn, J.-R., Hans, R., 1990: Rückstände von Pflanzenschutzmitteln in der Nahrung; Zulässige Höchstmengen und Abschätzung der Aufnahme. Gesunde Pflanzen, 42, 23-29.
- (15) OECD, 1984: Guideline for Testing of Chemicals, 417: "Toxicokinetics".
- (16) Renwick, A.G., 1991: Safety Factors and Establishment of Acceptable Daily Intakes. Food Additives and Contaminants 8, 135-150.
- (17) WHO, 1990: IPCS - Environmental Health Criteria 104, Principles for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food. World Health Organization, Genf.

Diskussion zu dem Vortrag von Gericke

Pflüger berichtet, daß die Arbeitsgruppe des Industrieverbandes Agrar Bioakkumulationsfaktoren biokinetischer Untersuchungen zusammengestellt hat und bietet an, die Ergebnisse vorzutragen. Aus Zeitmangel ist dies nicht möglich. Rothert schlägt vor, den Beitrag als Anhang zum Protokoll zu nehmen (vgl. Anhang I in diesem Heft). Auf Nachfrage von Nagel erläutert Gericke, daß die von ihr berichteten Halbwertszeiten für die Abnahme des Wirkstoffes in dem jeweiligen Untersuchungssystem gelten und nicht mit den Eliminationshalbwertszeiten der vorher diskutierten ökotoxikologischen Studien gleichgesetzt werden können.

BIOAKKUMULATION: TEST - UND BEWERTUNGSSTRATEGIEN

Petra Apel, Christian Franke; Umweltbundesamt

Stellenwert der Bioakkumulation bei der Abschätzung von Auswirkungen auf den Naturhaushalt

Entsprechend Art. 4 Abs. 1 der in nationales Recht umzusetzenden EG - Richtlinie 91/414 vom 15.07.1991 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln dürfen Pflanzenschutzmittel nur dann zugelassen werden, wenn die sachgerechte und bestimmungsmäßige Anwendung

1. keine unmittelbaren oder mittelbaren schädlichen Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch und Tier oder auf das Grundwasser hat und
2. keine unannehmbaren Auswirkungen auf die Umwelt hat und zwar unter besonderer Berücksichtigung der Aspekte Verbleib und Ausbreitung in der Umwelt sowie Auswirkungen auf Nichtzielorganismen.

Dem sogenannten Paraquat - Urteil in Auslegung des deutschen Gesetzes zum Schutz der Kulturpflanzen in der Fassung vom 15.09.1986 ist zu entnehmen, daß es sich bei diesen in der Vertretbarkeitsprüfung zu berücksichtigenden "sonstigen Auswirkungen insbesondere auf den Naturhaushalt" um solche handelt, die nicht mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auszuschließen sind.

Den gesetzlichen Vorgaben folgend kommt der Bioakkumulation somit eine zentrale Bedeutung zu, da über diesen Pfad zusätzlich zu der berechneten Exposition über die verschiedenen Umweltkompartimente eine u.U. organspezifische Anreicherung und damit erheblich höhere lokale Exposition (Mobilisierung eines akkumulierten Wirkstoffes in Stresssituationen, Verstärkereffekt) oder eine Weitergabe über die Nahrungskette und damit indirekte Exposition möglich wird, deren potentielle Auswirkungen schwer bzw. nicht vorhersehbar sind, mithin negative Auswirkungen nicht ausgeschlossen werden können.

Entscheidend hierbei ist, daß i.d.R. weder für die untersuchten Organismen (Fisch) selbst noch für alle anderen möglicherweise direkt oder indirekt betroffenen Organismen Informationen zu subchronischen oder chronischen Wirkungen eines bestimmten Wirkstoffes vorliegen. Weiterhin bleibt völlig unberücksichtigt, daß infolge veränderter Aufnahme- und Ausscheidungskinetik bei anderen als den untersuchten Organismen im ungünstigsten Fall mit wesentlich höherer Anreicherung zu rechnen ist.

Auf den stets zu berücksichtigenden Vorsorgegrundsatz sei an dieser Stelle besonders hingewiesen.

Kriterien zur Durchführung einer Bioakkumulationsstudie

Die BBA-Richtlinie I, 1-2 sieht vor, daß bei einem log Pow von > 3 Untersuchungsergebnisse zur Bioakkumulation des Wirkstoffes und ggf. stabiler Metabolite durch eine Fischart vorzulegen sind. Bisherige Erfahrungen haben jedoch gezeigt, daß einige Stoffe bereits bei kleinerem log Pow erheblich akkumulieren können. Hierzu gehören insbesondere oberflächenaktive Substanzen. Es wird deshalb vorgeschlagen, für Substanzen mit einer Oberflächenspannung von 50 mN/m bei einer Konzentration von < 1 g/l unabhängig vom logPow eine Bioakkumulationsstudie zu fordern (EEC guidance document, 1993).

Bei besonderer ökotoxikologischer Indikation (hohe Persistenz des Wirkstoffes bzw. seiner Metabolite, Wirkungen in niedrigen Konzentrationsbereichen, organspezifische Anreicherung) können derartige Studien ebenfalls bereits bei einem log Pow < 3 erforderlich sein.

Im Gegensatz zu früheren Annahmen läßt sich den Arbeiten von Geyer et al. (1992) zufolge auch für Substanzen mit einem Molekulargewicht $> 600-700$ und einem log Pow > 6 ein Bioakkumulationspotential nicht ausschließen. Es konnte gezeigt werden, daß derartige Substanzen ebenfalls bioakkumulierten, wenn die Studien im Bereich der Wasserlöslichkeit der betrachteten Substanz und bei längerer Expositionszeit bis zur Einstellung des Gleichgewichts durchgeführt wurden.

Im Rahmen eines UBA - Forschungsvorhabens (Nr. 106 03 091) soll weiterhin geklärt werden, inwieweit sich der Ionisierungsgrad einer Substanz sowie der Cl^- , NO_3^- , O_2 - Gehalt, der pH - Wert und die organische Fracht des Wassers auf den BCF - Wert auswirken.

Die Abbaubarkeit einer Substanz im Medium Wasser sollte zusammen mit der Häufigkeit der Applikation eines Wirkstoffes berücksichtigt werden. Das Kriterium der leichten biologischen Abbaubarkeit allein hat sich jedoch als unzureichend erwiesen, da hier lediglich die Summenparameter Sauerstoffverbrauch, Kohlendioxidbildung bzw. Abbau des gelösten organischen Kohlenstoffs über einen Zeitraum von immerhin 28d betrachtet werden, jedoch Substanzen bekannt sind, die bereits nach wenigen Stunden in hoher Konzentration in den exponierten Organismen nachzuweisen waren (Bsp.: 2 - Nitrophenol, 2,5 Dichlorbiphenyl). Diskutiert wird deshalb ein Triggerwert bezüglich der Hydrolysehalbwertszeit im Stundenbereich. In diesem Fall kann davon ausgegangen werden, daß die Hydrolyserate größer als die Aufnahmerate des exponierten Organismus ist.

Zukünftig gilt es zu ermitteln, inwieweit Wirkstoffe, die ins Sediment verlagert werden und dort persistent sind, in Sedimentorganismen angereichert werden und damit über das aquatische Nahrungsnetz zur Biomagnifikation beitragen. Hierbei muß sowohl die Aufnahme über das Interstitialwasser als auch die Aufnahme von Schlammpartikeln in Rechnung gestellt werden (Thomann et al., 1992).

Einstufung und Bewertung

Im Hinblick auf die Bewertung der Bioakkumulationsneigung eines Stoffes kommt nicht nur dem BCF, der sich im Experiment nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichts durch Bildung des Quotienten aus der Konzentration im Fisch und im Wasser ermitteln läßt, sondern auch der Aufnahmekinetik sowie den Kenngrößen der Elimination (Ausscheidungskinetik, Plateaubildung nach der Depurationsphase) eine große Bedeutung zu.

Ein vom Umweltbundesamt entwickeltes pragmatisches Konzept (UBA - Texte 42 / 91) zur Klassifizierung der Bioakkumulationsneigung verschiedener Substanzen basiert deshalb sowohl auf dem BCF als auch auf der CT50 (Zeit, innerhalb derer 50 % der Substanz ausgeschieden sind). BCF - und CT50 - Werte werden, wie unten dargestellt, in jeweils 4 Klassen eingeteilt und das arithmetische Mittel beider Klassen als Maß für das Bioakkumulationspotential des betrachteten Wirkstoffes ermittelt. Sollte der gebildete Quotient zwischen zwei Kategorien liegen, so wird aufgerundet.

Klassifizierung der BCFs

BCF	Klasse
< 30	I
30 - 100	II
100 - 1000	III
> 1000	IV

Klassifizierung der Ausscheidung

CT ₅₀	Klasse
< 3 Tage	I
3 - 10 Tage	II
10 - 30 Tage	III
> 30 Tage	IV

Klasse BCF + Klasse CT50

Gesamteinstufung: -----

2

Da die Verwendung des CT50-Wertes nun aber eine starke Vereinfachung darstellt, indem eine Ausscheidung 1. Ordnung vorausgesetzt wird, wird zusätzlich der Kurvenverlauf der Elimination (Konzentrationsabnahme im Fisch vs. Zeit) zur Bewertung herangezogen. Bei einem Hinweis auf unvollständige Ausscheidung und Plateaubildung gebundener Rückstände erfolgt eine negativere Gesamteinstufung.

Als mögliche Regulierungsmaßnahmen sind einerseits entsprechende Abstandsregelungen zu Oberflächengewässern vorgesehen, andererseits wird bei einem BCF von > 5000 eine Nichtzulassung diskutiert, wenn von einer längerfristigen Präsenz des betrachteten Wirkstoffes in der Umwelt auszugehen ist (Klein et al., 1993). Unter dieser Voraussetzung kann eine mögliche Elimination, die ja im Laborversuch in unkontaminiertem Wasser ermittelt wird, nicht mehr entlastend berücksichtigt werden.

Literatur

- 1) Richtlinie des Rates vom 15.7. 1991 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln (91/414/EWG). Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften, Nr. L 230/1
- 2) Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen vom 15.9. 1986. BGesBl I.Nr. 49, Bonn 19.9.1986
- 3) Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft: Richtlinien für die Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren Teil I, 1 - 2
- 4) Ecotoxicity, risk assessment guidance Doc.(march, 1993). EEC - draft concerning the 7th amendment of the directive 67/548/EEC
- 5) Geyer, H.-J.; Steinberg, C.E.W.; Kettrup, A. (1992): Biokonzentration von persistenten superlipophilen Chemikalien in aquatischen Organismen. UWSF- Z. Umweltchem. Ökotox., 4, (2)
- 6) Butte, W. & Zauke, G.-P.: Bioakkumulation im Grenzbereich von Lipophilie und molekularen Strukturen. UBA - Forschungsvorhaben 106 03 091, Zwischenbericht
- 7) Thomann, R.V.; Connolly, J.P.; Parkerton, T.F. (1992): An Equilibrium model of organic chemical accumulation in aquatic food webs with sediment interaction Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 11, pp 615 - 629
- 8) Beek, B.; Böhling, S.; Franke, C.; Studinger, G. (1991): Bioakkumulation - Bewertungskonzept und Strategien im Gesetzesvollzug. UBA - Texte 42/91
- 9) Klein, A.W.; Goedicke, J.; Klein, W.; Herrchen, M.; Kördel, W. (1993): Environmental assessment of pesticides under directive 91/414/EEC. Chemosphere, Vol.26, No.5, pp 979 - 1001

Abschlußdiskussion

Becker hält es für wichtig, Erkenntnisse aus toxikologischen Studien mit denen aus Bioakkumulationsstudien zu verknüpfen. Der Biokonzentrationswert muß zu Schwellenkonzentrationen in Organismen in Beziehung gesetzt werden. Becker wünscht sich die Entwicklung eines Modells für die Gefährdungsabschätzung. Dies könnte z. B. unter Einbeziehung des "steady state" zu der Abschätzung des "worst case" und der daraus resultierenden Belastung des Organismus mit der Chemikalie führen. Auf der Grundlage eines solchen Modells könnten mit den dem BGA vorliegenden toxikologischen Daten unter Einbeziehung von Akkumulationsfaktoren Bewertungen vorgenommen werden. Er warnt vor willkürlichen Einstufungen von Stoffen allein auf Grundlage von Biokonzentrationsfaktoren.

Sobhani unterstützt den Standpunkt von Becker. Er weist darauf hin, daß als Entscheidungskriterium in der Literatur Biokonzentrationsfaktoren von 100 bis 10000 genannt werden und fragt nach der Begründung für diese unterschiedlichen Werte. Wilkening versteht die Vorbehalte von Becker und Sobhani, weist aber darauf hin, daß z. B. für den gesamten terrestrischen Bereich keine standardisierten richtliniengerechten Versuchsergebnisse vorliegen. Es existieren lediglich Stoffwechselfersuche an Nagern und Haustieren aus der toxikologischen Bewertung für den Menschen und Versuche an Fischen. Aufgrund dieser Daten muß die BBA eine Entscheidung treffen. Das von der BBA vorgeschlagene Prüfschema beruht auf der Idee, daß auf Grundlage der bisher vorgelegten Daten die Eigenschaft "Bioakkumulationsneigung" festgestellt werden kann. Die Bioakkumulationsneigung einer Chemikalie bedeutet noch nicht, daß Pflanzenschutzmittel, die diesen Wirkstoff enthalten, nicht zugelassen werden können. Üblicherweise schließt sich eine Nutzen/Risiko-Abwägung an. Der BCF-Wert wird dabei zu anderen Parametern in Beziehung gesetzt. Neben der Anwendung der Chemikalie in der Praxis spielt dabei vor allem die Persistenz eine Rolle. Die Persistenz ist ebenfalls eine Hilfsgröße bei der Bewertung von Chemikalien. Eine Substanz, die in die Umwelt gelangt, persistent ist und darüber hinaus über ein Bioakkumulationspotential verfügt, trägt ein höheres Risikopotential in sich als eine schnell abbaubare Substanz mit Akkumulationsneigung. Die Risikoabschätzung beinhaltet auch die Wahrscheinlichkeit des Eintritts von Effekten, also z. B. das Anwendungsmuster.

Köpp antwortet auf die Frage von Sobhani nach den Kriterien für die scheinbar willkürlich festgelegten BCF-Eckwerte. Er macht klar, daß es sich lediglich um Werte handelt, die durch Konvention festgelegt wurden. Sie sollen dazu dienen, stark akkumulierende Stoffe aufzuspüren. In Ergänzung zu Wilkening erläutert er, daß die von der BBA festgelegten Werte quasi als Warnlampen zu verstehen sind, die eine Einzelfallbetrachtung nach sich ziehen. Bioakkumulation an sich ist noch kein Ausschlußkriterium. Wichtig ist allerdings die Kenntnis über den Verbleib der Chemikalie. Köpp verweist noch einmal ausdrücklich auf die mangelnde Kenntnis der vier Eintragswege in aquatische Systeme, von denen zur Zeit nur die Abtrift berechenbar ist.

In der gegenwärtigen Bewertung von Pflanzenschutzmitteln muß die BBA auf Grundlage der vorliegenden wissenschaftlichen Erkenntnisse eine Entscheidung treffen. Er plädiert für die Beachtung des Vorsorgegedankens, weil längst nicht alle möglichen Wirkungen bekannt sind oder jemals gefunden werden können. Die entscheidende Frage ist für ihn, wann vor einer Entscheidung die Testung abgebrochen werden muß oder kann. Sobhani meint, daß die Vorsorge nur auf Grundlage einer sachgerechten Anwendung und nicht pauschal erfolgen darf. Genau dies wird laut Köpp praktiziert. So weisen z. B. die synthetischen Pyrethroide Biokonzentrationsfaktoren von weit über 1000 auf. Starke Sorption an organisches Material, relativ gute biologische Abbaubarkeit und geringe Anwendungshäufigkeit sowie geringe Aufwandmengen erlauben trotzdem eine positive Bewertung hinsichtlich der Zulassungsfähigkeit.

Ebing bemängelt BCF-Triggerwerte in offiziellen Prüfschemata, weil nach seiner Meinung keine eindeutige Definition für Biokonzentrationsfaktoren vorliegt. Er empfiehlt, eine Arbeitsgruppe mit dieser Aufgabe zu betrauen. Ebing unterstützt nachdrücklich die Ausführungen von Becker, doch sieht auch er das von Köpp erläuterte Entscheidungsdilemma.

Nagel wundert sich, daß von seinem Vortrag bei einigen Diskussionsteilnehmern in erster Linie der Biokonzentrationsfaktor von 100 als willkürlicher Trigger haften geblieben ist. So hält er es für wichtig, noch einmal darauf hinzuweisen, daß es drei Pfeiler für die Bewertung gibt: Exposition, Wirkung und dazwischen vermittelnd die Bioakkumulation. Bei Reduktion des Phänomens Bioakkumulation in allen Kompartimenten auf den BCF im Fisch werden wir der Eigenschaft Bioakkumulation nicht gerecht. Er weist erneut auf die Problematik der Extrapolation von Fischen auf andere aquatische und terrestrische Organismen oder vom Labor auf das Freiland hin. Bei einer ähnlichen Vorgehensweise wie bei der humantoxikologischen Bewertung und Verwendung von Sicherheitsfaktoren von lediglich 10 bei anzunehmenden Unsicherheiten ergibt sich eine Zahl mit 14 Nullen. Da dies nicht weiterführt, wird von ihm als Konvention ein Wert von 100 vorgeschlagen. Bei Überschreitung dieses Wertes soll eine Abschätzung unter Heranziehung von Exposition, Akkumulation und Wirkung vorgenommen werden.

Schuphan greift den Hinweis seiner Vorredner auf fehlende Testsysteme im terrestrischen Bereich auf. Er erinnert an das vor Jahren von der Abteilung für Ökologische Chemie entwickelte Rasterbewertungskonzept. Dabei werden die Ergebnisse verschiedener Laborversuche aus verschiedenen Bereichen (physikalisch-chemische Eigenschaften, Verteilungsgleichgewichte, Persistenz, ökotoxikologische Ergebnisse) mosaikartig zusammengefügt, um das Verhalten einer Chemikalie in der Umwelt zu beurteilen. In dieses Rasterkonzept gehören auch Untersuchungen zum Akkumulationsverhalten. Er hält die Prüfung und Bewertung einer Chemikalie auch im terrestrischen Bereich mit diesem einfachen Konzept für machbar. Bei Beschreitung des von ihm vorgeschlagenen Wegs könnte vermutlich auf zusätzliche komplizierte und aufwendige Testsysteme verzichtet werden. Die verschiedenen Prüfkonzeppte schließen sich nach Pflügers Mei-

nung nicht unbedingt aus. So hat er nichts gegen ein Klassifizierungssystem zum Auslösen einer "roten Warnlampe" bei Überschreitung eines Triggerwertes mit anschließender Risikoabschätzung auf Grundlage eines Wirkungsvergleichs einzuwenden. Das Klassifizierungssystem sollte aber nicht mit dem Vorsorgegedanken verknüpft werden, weil dies nicht dem Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse entspricht. Es liegen seiner Meinung nach ausreichend Versuchsergebnisse an Fischen, Legehennen, Vögeln, Regenwürmern und zur Toxikokinetik vor. Bei Auswertung dieser Versuche im Hinblick auf die neue Fragestellung lassen sich auch heute schon Hauptbelastungspfade erkennen.

Müller greift den Vorschlag von Nagel auf, bei der Bewertung der Bioakkumulation auch auf den Gesichtspunkt der Exposition zu achten, die bei fachgerechter Anwendung von Pflanzenschutzmitteln überhaupt auftreten kann. Ausgehend von den bei gegebenen Eigenschaften der Chemikalie zu erwartenden Umweltkonzentrationen müssen dann mögliche Wirkungen abgeschätzt werden. Dorn versucht gemeinsame Felder der verschiedenen Prüfphilosophien zu finden. So kann z. B. bei einem großen Abstand der Eckwerte von Exposition und Wirkung die Bioakkumulationsneigung einer Chemikalie unkritisch sein. Andererseits ist bei einem unvorhersehbaren Verbleib und großer Beständigkeit einer Substanz der Vorsorgegedanke angesichts eines zu hohen Prüfaufwandes zur Entkräftung der Vorbehalte aufgrund der Eigenschaft Bioakkumulation akzeptabel.

Becker versucht, die unterschiedlichen Zielvorstellungen der Diskussion herauszuarbeiten. Einerseits ist eine Leitschiene zur Klassifizierung von Chemikalien anhand von Triggerwerten wünschenswert, weiterhin soll eine legitime Bewertung vorgenommen werden und schließlich sollen die vorhandenen toxikologischen Daten soweit wie möglich für die ökotoxikologische Bewertung herangezogen werden. Becker sieht durchaus die Möglichkeit, mit log Pow-Grenzwerten zu arbeiten. Er wendet sich aber entschieden gegen die Vorstellungen nach EG-Richtlinie oder Chemikaliengesetz, bei einem festen Zahlenwert z. B. von $\log \text{Pow} > 3$ eine Chemikalie als schädlich für terrestrische Ökosysteme zu bewerten. Bei dieser Vorgehensweise wäre ungerechtfertigterweise ein Großteil der Pflanzenschutzmittelwirkstoffe als schädlich für terrestrische Ökosysteme einzustufen. Zur Bewertung des Verhaltens von Chemikalien in Nahrungsketten schlägt er vor, aufgrund vorhandener Literaturdaten einen "worst case" zu formulieren.

Schuphan wirft die Frage auf, ob Bioakkumulation nicht doch als unerwünschte Stoffeigenschaft angesehen werden muß und führt beispielhaft Befunde von Chemikalien in Muttermilch an. Lundehn stellt klar, daß der von der BBA vorgeschlagene Entscheidungsbaum nicht in einer negativen Bewertung mündet. Der Endpunkt des von Nolting vorgestellten Schemas lautet: Entscheidung über Zulassung von Nutzen-Risiko-Abwägung abhängig. Das heißt nach dem Verständnis der BBA ist Bioakkumulation kein Ausschlußkriterium, vielmehr fließt dieser Befund in

eine Abwägungsentscheidung ein. Köpp betont, daß auch bei dem von ihm vorgestellten Bewertungsschema nicht von Ausschluß- oder Cut-off-Kriterien die Rede ist. Es handelt sich lediglich um Auslöser für eine detaillierte Betrachtung, die den bekannten Vertretbarkeitsgrundsätzen unterliegt. Es muß dann aber auf Basis der vorliegenden Daten entschieden werden. Die vorgeschlagenen Zahlenwerte dienen auch dazu, die Entscheidungsfindung der Behörde kalkulierbar und nachvollziehbar zu machen. Ansonsten gibt er Becker recht, daß die EG-Kennzeichnung "umweltgefährlich" nicht mit der Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren vergleichbar ist. Dies sollte klar auseinandergehalten werden.

Nagel geht auf den Vorschlag von Dorn ein, den Abstand der Eckwerte zwischen Exposition und Effekten der Beurteilung der Bioakkumulation vorzuschalten. Hier stellt sich die Frage, welche Toxizitätswerte für diese Betrachtung herangezogen werden. Die gemessene Konzentration von 3,4-Chloranilin im Rhein beträgt z. B. 1 bis 2 µg/l. Die akute LC50 beträgt ca. 8 mg/l. Der "Life-cycle-Test" liefert einen NOEC von 2 µg/l und gerät damit in den Bereich der Exposition. Der BCF beträgt übrigens 30. Diese Substanz reichert sich also nicht an. Bei einer solchen Situation ist die Diskussion des BCF überflüssig. Es gibt natürlich auch andere Beispiele. Auf jeden Fall ist es wichtig, alle Erkenntnisse über Exposition, Effekte und Akkumulation in die Bewertung einzubeziehen. Die diskutierten Triggerwerte können dafür auch keine cut-off-Kriterien sein. Heitefuß bittet als Vorsitzender der DFG-Senatskommission "Beurteilung von Stoffen in der Landwirtschaft" alle Anwesenden um Zuarbeit für den zur Zeit in Vorbereitung befindlichen Sachstandsbericht zur ökotoxikologischen Bewertung der Wirkung von Pflanzenschutzmitteln.

Rothert stellt abschließend fest, daß Triggerwerte als "Warnlampen" offensichtlich allgemein bei der Beurteilung der Bioakkumulation akzeptiert werden. Lediglich über die Höhe besteht Uneinigkeit. Weiterhin ist die Abschätzung von Exposition und Effekten überwiegend als notwendig erachtet worden. Die Bewertung der Bioakkumulation muß abschließend in eine Abwägung nach § 15 Pflanzenschutzgesetz einfließen - auch dies ist unbestritten. Bei allen Detailproblemen hat sich für ihn ein überraschend einheitliches Bild bei der Diskussion ergeben.

Rothert bedankt sich bei den Vortragenden und Diskussionsteilnehmern und beschließt das Fachgespräch.

Liste der Teilnehmer/innen

Fachgespräch über die Prüfung und Bewertung der Bioakkumulationsneigung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen

am 16.06.1992 in Braunschweig

P. Apel
Umweltbundesamt
Einvernehmensstelle Pflanzenschutzgesetz
Bismarckplatz 1
1000 Berlin 33

Dr. Arlt
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Folgenabschätzung im Pflanzenbau
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Banasiak
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Becker
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Chemikalienprüfung
Königin-Luise-Str. 19
1000 Berlin 33

K. Berendes
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Forst
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Binner
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Bode
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Dorn
Hoechst AG
Produktentwicklung GB-C
Ökologie I, G 836
Postfach 800 320
6000 Frankfurt/Main 80

Dr. Ebing
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für ökologische Chemie
Königin-Luise-Str. 19
1000 Berlin 33

Dr. Ehle
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Prof. Dr. Englert
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Weinbau
Brüningstraße 84
5550 Bernkastel-Kues

Dr. Fliedner
Fraunhofer-Institut
Grafschaft
Postfach 12 60
5948 Schmallingenberg

Dr. Frost
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für ökologische Chemie
Königin-Luise-Str. 19
1000 Berlin 33

Dr. Gemmeke
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde
Toppheideweg 88
4400 Münster

Dr. Gericke
Bundesgesundheitsamt
Max-von-Pettenkofer-Institut
C I
Postfach 33 00 13
1000 Berlin 33

Dr. Gottschild
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Heidler
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Heimbach
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Ackerbau und Grünland
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Prof. Dr. Heitefuss
Institut für Pflanzenpathologie
und Pflanzenschutz
Grisebachstraße 6
3400 Göttingen

Dr. Hohgardt
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Holzmann
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik
- Koordinierungsgruppe -
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Joermann
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

H. Köpp
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik
- Koordinierungsgruppe -
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Kohsiek
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Kubiak
LLFA Neustadt/W.
Abteilung Phytomedizin
Breitenweg 71
6730 Neustadt/W.

Prof. Dr. Künast
BASF
Landwirtschaftliche Versuchsstation
APS/UT - Li 425
Postfach 2 20
6703 Limburgerhof

Dr. Kula
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

A. Lukoschik
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Lundehn
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik
- Koordinierungsgruppe -
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Mueller
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Ökotoxikologie im Pflanzenschutz
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Nagel
Institut für Zoologie
der Johannes-Gutenberg-Universität
Saarstraße 21
6500 Mainz

Dr. Nolting
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Nordmeyer
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Unkrautforschung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Parnemann
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Pelz
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde
Topphaideweg 88
4400 Münster

Prof. Dr. Pestemer
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Unkrautforschung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Pflüger
BAYER AG
GB Pflanzenschutz, A-CE
Institut für Ökobiologie
Pflanzenschutzzentrum Monheim
5090 Leverkusen

Dr. Reschke
Landwirtschaftskammer Hannover
Pflanzenschutzamt
Wunstorfer Landstraße 9
3000 Hannover 91

Dr. Roth
Universität Ulm
Abteilung Ökologie und Morphologie der Tiere
Biologie III
Oberer Eselsberg
7900 Ulm/Donau

Dr. Rothert
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Schenke
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Ökotoxikologie im Pflanzenschutz
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Schinkel
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Schmidt
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Koordinierungsgruppe
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Schütz
Landwirtschaftskammer Weser-Ems
Pflanzenschutzamt
Sedanstraße 4
2900 Oldenburg

Prof. Dr. Schuphan
Lehrstuhl für Biologie V
Ökologie, Ökotoxikologie, Ökochemie
RWTH Aachen
Worringerweg 1
5100 Aachen

Dr. Siebers
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Chemische Mittelprüfung
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Smolka
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Gartenbau
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Sobhani
Plantagenstraße 17
W-1000 Berlin 41

R. Spangenberg
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Fachgruppe Biologische Mittelprüfung
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Prof. Dr. Streit
Zoologisches Institut der
J. W. Goethe Universität
Siesmeyerstraße 70
6230 Frankfurt/Main

Dr. Süß
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Ökotoxikologie im Pflanzenschutz
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Vogt
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Obstbau
Schwabenheimer Straße
6915 Dossenheim/Heidelberg

Dr. Wick
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Folgenabschätzung im Pflanzenschutz
Stahnsdorfer Damm 81
O-1532 Kleinmachnow

Dr. Wilkening
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Abteilung für Pflanzenschutzmittel und Anwendungstechnik
- Koordinierungsgruppe -
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Dr. Wulf
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Forst
Messeweg 11/12
3300 Braunschweig

Entwurf / Draft (final)

The Use of Test Data from the Registration of Agrochemicals to Determine the Toxicological and Ecological Relevance of Bioaccumulation

H. Weber, W. Pflüger, R. Grau

BAYER AG, Crop Protection
Institute for Metabolism Research and
Institute for Ecobiology
D - 5090 Leverkusen

INTRODUCTION

Bioaccumulation of substances in aquatic or terrestrial organisms is generally, in itself, considered an "unwanted property". Increasingly, so-called "trigger"- or "cut-off"-thresholds for bioaccumulation factors are proposed which should not be exceeded (e.g. Andersson et al. 1991, Beek et al. 1991). Threshold values - ranging e.g. for fish-bioconcentration-values from 100 to 5000 or more - have been arbitrarily set, indicating the lack of a scientific basis for this approach. However, numerous data which are currently submitted for registration of plant protection products can be used to determine the toxicological and ecological relevance of bioaccumulation.

In the following, bioaccumulation is used as the general term including bioconcentration (uptake from the surrounding medium) and biomagnification (uptake from food) (Connell 1988). The factors are calculated by dividing the concentrations of the compound in the organisms by the concentration in the surrounding medium or in the food, respectively.

If bioaccumulation has to be evaluated, e.g. for highly lipophilic substances, this can be done under two different aspects:

- 1) Toxicological effects due to the accumulation in the individual. Many of the standard toxicological tests performed are long enough for the organism to reach the steady state of uptake and depuration ("plateau"). Possible inherent toxicological effects from accumulation are thus included in the result of the toxicity test.

- 2) Ecological effects in the food chain. Residues in food organisms (e.g. fish and earthworm) can be estimated from the predicted environmental concentration (water, soil) and the specific bioconcentration factor (BCF). The relevance of potential residues in these food sources for a consumer can be judged on the basis of LC50 and NOEC-values of vertebrate feeding studies. The possibility of increasing residue concentrations along the terrestrial food chain ("biomagnification") can be assessed from uptake and elimination kinetics in routine mammalian and avian metabolism studies.

ESTIMATION OF ACCUMULATION POTENTIALS AND EFFECTS

Table 1 briefly summarizes some tests conducted with crop protection compounds from which experimental data for bioaccumulation are obtained or can be derived by estimation.

Table 2 gives data for 22 compounds, selected because of their relatively high lipophilicity, and shows octanol-water-coefficients (Pow), fish bioconcentration factors (BCF), fish toxicity (LC50), and bioaccumulation factors (BAF) for mammals and birds.

Fish: The fish-bioconcentration study is well established (methods c.f. EPA 1982, OECD 1984). It is usually performed for compounds with octanol-water partition coefficients Pow of more than 1000 ($\log \text{Pow} > 3$) under continuous exposure conditions. The elimination processes in fish are different from that of mammals and birds. Bioconcentration factors (BCF) of pesticides in fish exceeding 1000 are not uncommon. However, as aquatic concentrations of agrochemical contaminants are typically not continuous and constant, rapid depuration often prevents the BCF to reach the potential maximum and to persist in the field. The primary route of uptake of a compound is through the gills and skin directly from the water, uptake from food is secondary; for modern pesticides, no "biomagnification" takes place in aquatic organisms (Connell 1988, DFG 1987, Ellgehausen et al. 1980). There is no correlation between toxicity and bioconcentration (Tab. 2).

Earthworms: Actual accumulation related to concentrations in soil is low for earthworms. According to current data, bioconcentration factors range generally from 0.2 to 10, related to wet weight (e.g. Connell & Markwell 1990, Ebing et al. 1984). The factor 10 would therefore allow a preliminary "worst case" hazard assessment for earthworm consuming animals. In our experience, this pathway can very rarely be considered a potential hazard.

Terrestrial vertebrates: Bioaccumulation factors (BAF) calculated from biokinetic and metabolism studies are listed in Table 2. The calculation was performed by computer-assisted analysis of the time-course of the compound-related radioactivity concentrations in the whole body after single administration. Taking the half-life of elimination ($t_{1/2}$) and the dose interval of 24 hours, an accumulation factor (AF) can be calculated according to the following equation (the reaction order is assumed not to change after repeated dosage):

$$AF = \frac{1}{1 - 2^{-\epsilon}}; \epsilon = \frac{\text{dose interval}}{t_{1/2}}$$

The maximum concentration (Cmax) after infinite dosage is obtained by multiplying the AF-value with the corresponding concentration C, i.e. with the value for the intercept of the concentration axis (c.f. Gladtko & von Hattingberg 1973, Meier et al. 1981).

Example (from rat biokinetic study):

Concentration in food: 10 ppm, based on dose level (1 mg/kg body weight) and food uptake rate (10 % of body weight).

Dose interval: 24 hours.

Half-life of elimination obtained from curve analysis: 12 hours.

Corresponding concentration C (intercept) obtained from curve analysis. 1.0 ppm.

Accumulation factor calculated corresponding to the equation: AF = 1.33.

Maximum concentration in the whole body after infinite dosage:

Cmax = 1.0 * 1.33 = 1.33 ppm.

Bioaccumulation factor (BAF) = $\frac{1.33}{10} = 0.13$

In two cases the BAF-value (rat) was calculated for the whole body (no 8a and 11a) and for fat as well (no. 8b and 11b). In cases where values for the elimination rates from the whole body were not available, the bioaccumulation potential was estimated based on a plasma curve analysis - thereby checking whether the concentration-time-course of compound-related residue in plasma was representative for concentration in most of the other tissues and organs.

The BAF-value "laying hen" of number 15 (BAF < 0.013) was not calculated but determined experimentally in a 4-weeks feeding study.

Table 2 distinctly shows that BAF-values obtained for mammals and birds are smaller by orders of magnitude compared to BCF-values for fish. This is also true for lipophilic compounds with high log Pow-values (e.g. no. 6 or 19). Only one calculated BAF-value (related to fat) of the rat is > 1 (8b). In all other cases the kinetics in fat were also determined, but not reported because the concentration-time-course showed neither increased concentrations nor prolonged half-lives of elimination.

The reason for the finding of low BAF-values is due to the very effective metabolism of xenobiotics in warm-blooded animals (c.f. Ivie & Dorough 1977, Hawkins 1992).

The range of bioaccumulation factors relevant for food chain magnification can be estimated. For example, if an animal has a food consumption of 10 percent of the body weight the elimination "half-life" would have to be greater than 7 days before the BAF-value related to whole body could exceed 1. Such a slow elimination from warm-blooded animals is very rare among pesticides.

For scientific purposes, the relation of a compound to fat content is occasionally used as a tool of normalization. However, for the purpose of risk assessment this relation does not appear appropriate. The fat content of consumers and of food is either difficult to determine or unknown. The bioaccumulation factor is generally defined in relation to the concentration in food, not to the fat content of food. Assuming a compound mainly retained in fat tissue and a fat content in the consumer of e.g. 10 %, no biomagnification from the food would take place unless the BAF related to fat exceeds 10. In other words, a theoretical factor in terrestrial vertebrates of 1 related to fat would in fact result in a reduction to 1/10 in residue concentration at this step of the food chain, not in an accumulation. The use of fat BAF is also not justified from an ecological point of view, because predators of the next trophic level would consume more or less the whole prey and not only the fat.

The data from Table 2 show that there can be no biomagnification in terrestrial food chains with the listed compounds which belong to different chemical classes. In contrary, the results indicate that the concentrations of compound-related residues would be reduced between two trophic levels by factors ranging from 1/5 (e.g. compound 13) to 1/1000 (e.g. compound 1) (Tab. 2).

Conclusion

Bioconcentration or bioaccumulation is not an "effect" or a hazard in itself. As the bioaccumulation potential is clearly not related to toxicity, there is no justification for "cut-off"-values based on intrinsic properties of a compound. The factors can only be seen in context with the findings of the corresponding toxicological studies and appropriate ecological assessments.

TABLE 1
 ROUTINE AND FACULTATIVE TESTS WHICH INCLUDE ASPECTS OF BIOACCUMULATION

	tests for <u>toxicity</u>	duration	endpoint	tests for <u>accumul.</u> <u>factors</u>	duration	typical range of observed BCF and BAF values
Bioconcentration aquatic	Fish (acute, prolonged early life stage, life cycle)	96 h up to 1 gen.	LC50 / NOEC	Bioaccumulation fish (eg. OECD 305 E)	4-8 w	up to several thousand
	Invertebrates, e.g. Daphnia Algae, Bacteria (occasionally eco- system studies)	48 h up to 1 gen. many "gen." months	EC50 / NOEC EC50/NOEC NOEC / recovery, similarity	(occasionally residues in ecosystem studies)	months	generally smaller than in lab. studies
Bioaccumulation terrestrial	<u>Mammals</u> : rat	4 w	NOEL	Rat toxicokinetics (OECD 417 & EPA 85-1), calc. BAF Dairy goat, calc. BAF Dairy cow, feeding study, exp. BAF	up to 7d	< 1 (body) < 10 (fat)?
		3 m	NOEL		up to 72 h	
		12 m	NOEL		4 w	
1 gen. several gen.		NOEL NOEL				
<u>Birds</u> (quail, mallard) dietary	5(8) d	LC50 + NOEC	Laying hen, calc. BAF	up to 72 h	< 1 (body) < 10 (fat)?	
	reproduction (long)	NOEC	Laying hen feeding study, exp. BAF	4 w		
	reproduction (short)	NOEC				
Bioconcentration earthworm	Earthworm acute subacute (occasionally field)	14 d	LC50	Various values from literature (w/w)		0,2 - 10
		28 d	+ NOEC NOEC			
		1 y	NOEC / recovery			

h, d, w, m, y = hours, days, weeks, months, years; gen. = generation; calc. = calculated,
 exp. = experimental

Table 2:

compound No.	log POW	BCF in fish ^f	LC50 (96 h) trout (mg/l)	bioaccumulation factor (BAF) in vertebrates		
				rat	dairy goat	laying hen
1	3,0	71	3	0.001 ^a		
2	3,8	ca.100 ^g	2	0.002 ^a		
3	1,3	-	17	0.004 ^a		
4	3,2	-	0.08	0.05 ^a		
5	3,0	60	0.02	0.06 ^a		
6	5,6	850	0.0005	0.01 ^a		
7	5,7	-	0.0007	0.02 ^a		
8a	4,9	-	> 500	0.2 ^a		
8b	4,9	-	> 500	1.3 ^c		
9	ca. 3	60	15	0.1 ^a		
10	3,5	-	70	0.09 ^b		
11a	3,8	775	0.2	0.08 ^a		
11b	3,8	775	0.2	0.06 ^c		
12	4,4	200	3	0.02 ^b		
13	2,8	2	6	0.2 ^d		
14	3,0	-	2	0.2 ^b		
15	0,6	-	210	0.07 ^b	0.02 ^b	< 0.013 ^e
16	3,7	50 - 90	6	0.06 ^b		0.02 ^b
17	ca. 3	-	1-10 ^h		0.006 ^b	0.03 ^b
18	-0,7	-	9	0.2 ^b	0.03 ^b	0.2 ^b
19	4,8	500	0.8		0.02 ^b	
20	3,3	110	0.07		0.03 ^b	0.04 ^b
21	3,7	70	0.05	0.05 ^b	0.004 ^b	
22	3,9	70	0.05	0.02 ^b		

^a calculation based on the kinetics of elimination from the body; 14C radiolabeled study

^b calculation based on plasma curve analysis; 14C radiolabeled study

^c calculation based on the kinetics of elimination from the fat; 14C radiolabeled study

^d calculation based on blood curve analysis; 14C radiolabeled study

^e direct value from a "cold" feeding study, mean value of total residue concentration in eggs, muscle, fat and liver

^f BCF usually related to total residues of radioactive material

^g BCF related to parent compound

^h golden orfe

Literature

Andersson, L. et al.: Principles for assessing unacceptable properties in pesticides. Cited from draft 1991 (unpublished)

Beek, B., S. Böhling, C. Franke, G. Studinger: Bioakkumulation-Bewertungskonzept und Strategien im Gesetzesvollzug. Umweltbundesamt Berlin, UBA-Texte 42/91, 1991

Connell, D.W.: Bioaccumulation behavior of persistent organic chemicals with aquatic organisms. In: Reviews of environmental contamination and toxicology, vol. 102, Springer-Verlag Berlin etc., 1988

Connell, D.W. and R.D. Markwell: Bioaccumulation in the soil to earthworm system. Chemosphere 20, 91 - 100, 1990

Deutsche Forschungsgemeinschaft: Bioakkumulation in Nahrungsketten. Forschungsbericht DFG, Verlag VCH Weinheim, 1987

Ebing, W., J. Pflugmacher, A. Haque: Der Regenwurm als Schlüsselorganismus zur Messung der Bodenbelastung mit organischen Fremdchemikalien. Ber. Landw. 62, 222 - 255, 1984

Ellgehausen, H., J. Guth, H.O. Esser: Factors determining the bioaccumulation potential of pesticides in the individual compartments of aquatic food chain. Ecotoxicol. Environm. Safety 4, 134 - 157, 1980

Gladtke, E., H.M. von Hattingberg: Pharmakokinetik. Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1973

Hawkins, D.R. (editor): Biotransformation, Volume 4, a survey of the biotransformations of drugs and chemicals in animals. The Royal Society of Chemistry, 1992

Ivie, G.W., H.W. Dorough (editors): Fate of pesticides in large animals. Academic Press, New York - San Francisco - London, 1977

Meier, J., H. Rettich, H. Hess (Herausgeber): Biopharmazie, Theorie und Praxis der Pharmakokinetik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1981.

U.S. Environmental Protection Agency, Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms, §72-6, 1982

U.S. Environmental Protection Agency, Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N, Chemistry: Environmental Fate, §165-4, 1982

OECD, Guideline for Testing of Chemicals No. 305, 04.04.1984.