



Mesokosmen als aquatische Modellökosysteme für die Risikobewertung von Pflanzenschutzmitteln

Liesa-Kristin Beuter^{1,2} (liesa-kristin.beuter@umwelt.uni-giessen.de) und Klaus Peter Ebke² (ebke@mesocosm.de)

¹: Justus-Liebig Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 26–32, 35392 Gießen

²: Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH, Neu-Ulrichstein 5, 35315 Homberg (Ohm)

Zusammenfassung

Wird ein Risiko durch Agrochemikalien für aquatische Nichtzielorganismen innerhalb von Standard-Labortests ermittelt, können Freilandexperimente in Form von Mesokosmosversuchen weitere Informationen auf ökosystemarer Ebene erbringen. Hierbei werden in der Regel statische Mesokosmen verwendet, welche ein natürliches Stillgewässer widerspiegeln. Allerdings sind kleine Fließgewässer, welche häufig in der Nähe von Agrarlandschaften liegen, durch den Eintrag von Pflanzenschutzmitteln und anderen Schadstoffen besonders gefährdet. In den letzten Jahren nahm die Anzahl an Freilandexperimenten in Fließgewässermesokosmen zu. Der vorliegende Beitrag gibt einen umfassenden Einblick bezüglich der Risikobewertung von Pflanzenschutzmitteln durch höherwertige Testverfahren und stellt eine Fließgewässermesokosmosanlage des Instituts für Gewässerschutz Mesocosm GmbH in Homberg (Ohm) vor.

Ökosystem Fließ- und Stillgewässer

Obwohl die Erde zu mehr als zwei Drittel aus Wasser bedeckt ist, bestehen lediglich 0,8 % der Erdoberfläche aus Süßwasserökosystemen. Allerdings besitzen Süßgewässer eine hohe globale Biodiversität. Rund 10 % aller beschriebenen Tierarten bzw. mehr als 125 000 Arten leben in Binnengewässern [1,2]. Neben einer beeindruckenden Artenvielfalt werden Süßgewässer auf vielfältige Art und Weise vom Menschen genutzt. Beispielsweise werden Fließ- und Stillgewässer zur Nahrungproduktion, Energieerzeugung oder auch zur Bereitstellung von sauberem Trinkwasser herangezogen [3]. Einhergehend mit der hochfrequenten Nutzung der Binnengewässer durch den Menschen ist unter anderem die Artenvielfalt aber auch die Wasserqualität dieser aquatischen Ökosysteme bedroht. Besonders die Zerstörung von Habitaten, Errichtung von Stauereignissen, Übernutzung oder die Verschmutzung mit Agrochemikalien gefährden die ökosystemaren Funktionen [1,4,5]. In erster Linie sind Fließgewässer von der Quelle bis zur Mündung durch vielfältige anthropogene Nutzung für die Bewahrung der aquatischen Biodiversität sehr stark in Gefahr [6], wobei Schwermetalle, organische Belastungen und Pflanzenschutzmittel (PSM) eine entscheidende Rolle spielen [7-9].

Auswirkungen von Chemikalien auf die aquatische Umwelt

Als Umweltchemikalien werden chemische Produkte bezeichnet, die nicht natürlichen Ursprungs sind und in die Umwelt gelangen [10]. Dazu zählen unter anderem PSM, Pharmaka oder Industriechemikalien. Diese können sich auf unterschiedliche Organisationsebenen der belebten Umwelt, von zellulären Reaktionen bis zur Ökosystemgemeinschaft, negativ auswir-

ken [11]. Besonders in der Landwirtschaft verwendete PSM sind als Umweltchemikalie von besonderer Bedeutung, da diese großflächig in die Umwelt ausgebracht werden und über eine hohe Toxizität verfügen können. Mittels einer prospektiven Gesetzgebung innerhalb der Europäischen Union soll das Risiko für Chemikalien mit potentiellen (öko-) toxikologischen Effekten in Relation zu der zu erwartenden Exposition im jeweiligen Umweltkompartiment ermittelt werden [12]. Um das Risiko von PSM für aquatische Nicht-Zielorganismen abschätzen zu können, werden Standard-Labortests mit Stellvertreterarten von Alge, Wasserfloh und Fisch durchgeführt. Wird ein erhöhtes Risiko einer Chemikalie in diesen Tests identifiziert, können höherwertige Testverfahren („higher tier“-Tests) herangezogen werden. Beispielsweise können aquatische Modell-Ökosysteme verwendet werden, welche eine realistische Expositionssituation darstellen [12]. So genannte Mikro- oder Mesokosmen sind künstliche Testsysteme, die eine repräsentative Artengemeinschaft mit mehreren Trophieebenen in relevanten, naturnahen Populationsgrößen enthalten [13]. Somit können nicht nur Auswirkungen auf Populationsebene, sondern auch Wechselwirkungen innerhalb und zwischen Arten unter realistischen Expositionsbedingungen untersucht werden [14].

Aquatische Modellökosysteme in der Umweltrisikobewertung

Aquatische Modellökosysteme können durch stehende oder fließende Mesokosmosanlagen simuliert werden. Diese variieren stark in ihrer Größe und Form und es gibt keine einheitliche Definition [12]. In der Versuchspraxis wird bereits von Mesokosmen gesprochen, wenn diese größer als 1000 L bzw. eine Fließgewässerlänge von mindestens 10 m aufweisen und im Freiland gelegen sind. Kleinere Modellökosysteme, welche sowohl als experimentelle Einheit im Labor oder im Freiland Verwendung finden, werden als Mikrokosmen bezeichnet. In der Regel werden Studien in Stillgewässermesokosmen durchgeführt [16-18]. Allerdings sind kleine Fließgewässer, wie es sie häufig in der Nähe von landwirtschaftlich genutzten Flächen gibt, besonders gefährdet [9,19,20]. Kleine Fließgewässer bieten essentielle Habitate für die Fortpflanzung vieler Fischarten und bereichern flussabwärts gelegene Fließgewässer höherer Ordnung mit einer vielfältigen Diversität an Mikro- und Makroorganismen [21]. In den letzten Jahren hat die Anzahl der ökotoxikologischen Experimente in Fließgewässermesokosmen für die Risikobewertung von PSM deutlich zugenommen und findet immer mehr Verwendung [22-24]. Besonders in Fließgewässern ist der Anteil von potentiell empfindlichen Arten (*vulnerable species*) gegenüber PSM

häufig höher als in stehenden Gewässern [25]. Beispielsweise gelten Arthropodenarten mit langen Generationszeiten oder einer geringen Ausbreitungsfähigkeit gegenüber Insektiziden als potentiell empfindlich [26,27]. Vor allem die so genannten EPT-Taxa (Ephemeroptera, Plecoptera und Trichoptera) reagieren sehr empfindlich auf PSM mit insektizider Wirkung [28, 29]. Steinfliegen (Plecoptera) sind typische Fließgewässerbewohner, aber auch das Artenspektrum von Köcher (Trichoptera) und Eintagsfliegen (Ephemeroptera) ist in Fließgewässern höher als in stehenden Gewässern [25]. Des Weiteren leisten mikrobielle Biofilme, welche unter anderem aus Pilzen, Bakterien, Algen und Protozoen bestehen, in Fließgewässern einen essentiellen Beitrag in biogeochemischen Stoffkreisläufen wie zum Beispiel dem Kohlenstoff- oder Stickstoffkreislauf. Zusätzlich erhöhen diese die Attraktivität des Nahrungsangebotes für typische Schredderorganismen wie zum Beispiel Gammariden oder Wasserasseln [30,31]. Insbesondere PSM mit fungizider Wirkung können die Integrität von mikrobiellem Biofilm beeinträchtigen und somit Auswirkungen auf die gesamte Fließgewässerbiozönose haben. Infolgedessen sind auch Freilandstudien mit Fließgewässermesokosmen für die Untersuchung der Wirkung von PSM und anderen potentiellen Stressoren auf mikrobielle Biofilme und damit auf zusammenhängende direkte und indirekte Interaktionen erforderlich [32-34].

Erfassung biologischer und funktioneller Endpunkte in aquatischen Modellökosystemen

Ökotoxikologische Untersuchungen in aquatischen Modellökosystemen bieten eine große Bandbreite an wichtigen Kenngrößen für die Risikobewertung von PSM und anderen chemischen Substanzen. Neben strukturellen Analysen der aquatischen Biozönose (Abundanz, Diversität) können ebenso funktionelle Kenngrößen (physikochemische Wasserparameter) ermittelt werden. Bei der strukturellen Analyse der aquatischen Biozönose geht es nicht nur um die Erfassung von direkten Effekten auf Populationsebene, sondern auch um die Beobachtung indirekter Effekte auf Gemeinschaftsebene bzw. um die Wechselwirkungen innerhalb und zwischen Arten. Mit Mesokosmosversuchen können Auswirkungen auf Schlüsselprozesse wie zum Beispiel der Abbau von organischem Material oder die Primärproduktion über einen längeren Zeitraum (8-12 Wochen) mit einer möglichen Wiedererholung untersucht werden. Folgende biologische Endpunkte können untersucht werden und Aussagen über das Risiko von Pflanzenschutzmitteln auf Nichtzielorganismen liefern: Analyse der Gemeinschaft und Abundanz von suspendierten Algen, Periphyton, Makrophyten, Zooplankton, Makroinvertebraten, sowie die Analyse der Abbaurate von Blättern, mikrobiellen Biofilmgemeinschaften, Emergenz von Insekten, organische Drift und viele weitere potentielle Endpunkte. Welche biologischen Endpunkte bei Mesokosmosversuchen eingesetzt werden, ist abhängig von der Wirkweise des PSM, seinem Einsatz und welche wichtigen, zusätzlichen ökotoxikologischen Daten für dieses bereitgestellt werden sollen [12]. Durch die Bestimmung der minimalen detektierbaren Differenz (MDD)

zwischen Kontrolle und behandelten Testsystemen können statistisch aussagekräftige Ergebnisse für weitere Berechnungen ausgewählt werden [35]. Zusammen mit Validitätskriterien (beispielsweise acht potentiell sensitive Arten, welche MDD fähig sind) können in Mesokosmosversuchen regulatorisch akzeptable Konzentrationen (RAC) für PSM abgeleitet werden, sofern statistisch signifikante Unterschiede ermittelt wurden.

Beispiel einer Fließgewässermesokosmosanlage

Innerhalb der letzten Jahre wurde eine Freilandanlage mit Fließgewässermesokosmen (FGM) am Forschungszentrum Neu-Ulrichstein in Homberg (Ohm) entwickelt. Diese Anlage entspricht den wichtigsten Anforderungen (Repräsentativität, statistische Stärke) für eine Mesokosmos-Studie in der Risikobewertung für Pflanzenschutzmittel [12]. Bis zu 16 aus Edelstahl geformte FGM können über einen Motor per Schaufelrad gleichzeitig angetrieben werden (Abbildung 1 & 2). Durch ein geschlossenes Kreislaufsystem, bei welchem kein Wasseraustausch stattfindet, wird eine maximale Fließlänge von 10 m erreicht. Die Systeme können mit einem Wasservolumen von bis zu 2400 L aufgefüllt werden. Um reproduzierbare Strömungsprofile aller FGM zu erzielen, wurden eine Mittelwand, zwei Kurvenleitbleche und ein Strömungsgleichrichter pro FGM installiert (Abbildung 2).



Abb.1: Rezirkulierende Fließgewässermesokosmosanlagen mit Schaufelradantrieb und optionalem Sonnenschutz

Je nach Anforderung des zu testenden PSM können unterschiedliche Habitate mit oder ohne Sediment für zahlreiche Probenahmetechniken gestaltet werden. Des Weiteren können FOCUS-basierte Pulsszenarien mit unterschiedlichen Expositionszeiten der zu testenden Substanz durchgeführt werden [17]. Für eine artenreiche Besiedlung von Fließgewässerorganismen werden Substratkörbe mit Basaltsteinen, Totholz und Blattmaterial als Nahrungsgrundlage in naturnahe Bäche für mehrere Wochen platziert. Nach mindestens vier Wochen Besiedlungszeit werden diese Fallen in die FGM überführt. Des Weiteren können standortspezifische Makrophyten wie zum Beispiel Wassermoose (*Callitriche* sp.) oder Wasserschwaden (*Glyceria* sp.) hinzugefügt werden. Mittels unterschiedlicher funktioneller und biologischer Endpunkte können direkte und

indirekte Wechselwirkungen mit biotischen und abiotischen Komponenten realitätsnah abgebildet werden.

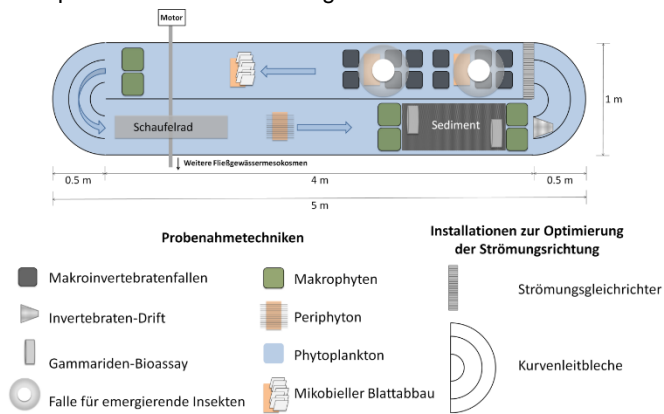


Abb. 2: Schematischer Aufbau einer Fließgewässermesokosmosanlage mit unterschiedlichen Substratangeboten und Installationen zur Optimierung der Strömungsrichtung und –geschwindigkeit

Fazit

Aquatische Modellökosysteme können realitätsnahe Szenarien zur Umweltrisikobewertung von Substanzen abbilden. Nicht nur die Präsenz von vielen unterschiedlichen Arten des aquatischen Nahrungsnetzes ist deutlich höher als in Standard-Labortests, sondern es wird ebenso das Risiko von u. a. PSM auf Nicht-Standard-Arten erfasst. Neben direkten Substanzeffekten (Mortalität, Reproduktion) können ebenso indirekte Effekte bzw. eine mögliche Wiedererholung beobachtet werden. Besonders mit der Etablierung von Fließgewässermesokosmosanlagen kann die Durchführung mit potentiell empfindlichen Arten auf Populations- und Gesellschaftsebene mit PSM ermöglicht werden und es können wichtige, zusätzliche ökotoxikologische Daten für PSM bereit gestellt werden, welche in statischen Mesokosmos- und Laborstudien bislang nicht immer hinreichend ermittelt werden können.

Es steht somit ein weiteres Verfahren zur Untersuchung der Risiken von PSM zur Verfügung, das es erlaubt, neben den statischen Mesokosmen zusätzliche Fragestellungen wie zum Beispiel mit EPT-Taxa (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera), den Abbau von organischem Material oder mit FOCUS basierten Puls-Szenarien zu arbeiten.

Literatur

- [1] Dudgeon D, Arthington AH, Gessner MO, Kaqabata ZI, Knowler DJ, Leveque C, Naiman RJ, Prieur-Richard AH, Soto D, Stiassny MLJ, Sullivan CA (2006) Freshwater biodiversity: Importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Review* 81:163-182.
- [2] Balian EV, Segers H, Lévêque C, Martens K (2008) The freshwater animal diversity assessment: An overview of the results. *Hydrobiologia* 595:627–637.
- [3] WWAP (United Nations World Water Assessment Programme) (2016) The United Nations World Water Development Report 2016 – Waters and Jobs. Paris.

- [4] Stendera S, Adrian R, Bonada N, Canedo-Argüelles M, Hugueny B, Januschke K, Pletterbauer F, Hering D (2012) Drivers and stressors of freshwater biodiversity patterns across different ecosystems and scales: A review. *Hydrobiologia* 696:1–28.
- [5] Heino J, Virkkala R, Toivonen H (2009) Climate change and freshwater biodiversity: Detected patterns, future trends and adaptations in northern regions. *Biological Reviews* 84:39–54.
- [6] Arthington AH, Naiman RJ, McClain ME, Nilsson C (2010) Preserving the biodiversity and ecological services of rivers: New challenges and research opportunities. *Freshwater Biology* 55:1–16.
- [7] Millenium Ecosystem Assessment (2005) *Ecosystem and Human Well-Being: Biodiversity Synthesis*. Washington D.C., Island Press.
- [8] Schäfer RB, Bundschuh M, Rouch DA, Szöcs E, von der Ohe PC, Pettigrove V, Schulz R, Nuggeoda D, Kefford B (2012) Effects of pesticide toxicity, salinity and other environmental variables on selected ecosystem functions in streams and the relevance for ecosystem services. *Science of the Total Environment* 415:69–78.
- [9] Allan JD (2004) *Landscapes and riverscapes : The influence of land use on stream ecosystems*. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35:257–284.
- [10] Berndt J (1995) *Umweltbiochemie*. (UTB) für Wissenschaft: Uni-Taschenbücher, Stuttgart, Jena.
- [11] Fent K (2013) *Ökotoxikologie – Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie*, 4. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- [12] EFSA PPR Panel (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues) (2013) Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. *EFSA J* 11:3290, 268 pp.
- [13] Caquet T, Lagadic L, Jonot O, Baturo W, Kilanda M, Simon P, Le Bras S, Echaubard M, Ramade F (1996) Outdoor experimental ponds (mesocosms) designed for long-term ecotoxicological studies in aquatic environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 34:125–133.
- [14] Crossland NO, La Point TW (1992) The design of mesocosm experiments. *Environmental Toxicological and Chemistry* 11:1–4.
- [15] Crossland NO, Heimbach F, Hill IR, Leuwangh P, Persoone G (1993) *European Workshop on Freshwater Field Tests (EWOFFT), Summary and Recommendations*. Potsdam, Germany, June 25-26, 1992.
- [16] Kattwinkel M, Römbke J, Liess M (2012) Ecological recovery of populations of vulnerable species driving the risk assessment of pesticides. *Supporting Publications 2012:EN-338* [98 pp.]
- [17] Wiczorek MV, Bakanov N, Stang C, Bilancia D, Lagadic L, Bruns E (2016) Reference scenarios for exposure to plant protection products and invertebrate communities in

- stream mesocosms. *Science of the Total Environment* 545-546:308–319.
- [18] Caquet T, Lagadic L, Sheffield SR (2000) Mesocosms in ecotoxicology. 1. Outdoor aquatic systems. Review of *Environmental Contamination and Toxicology* 165:1–38.
- [19] Stoate C, Boatman N, Borralho R, Carvalho CR, de Snoo GR, Eden P (2001) Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management* 63:337–365.
- [20] Brown CD, Turner N, Hollis J, Bellamy P, Biggs J, Williams P, Arnold D, Pepper T, Maund S (2006) Morphological and physico-chemical properties of British aquatic habitats potentially exposed to pesticides. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113:307–319.
- [21] Meyer JL, Wallace JB (2000) Lost Linkages and Lotic Ecology: Rediscovering Small Streams. In: Press MC, Huntly NJ, Levin S (eds) *Ecology: Achievement and Challenge*. Blackwell Scientific, Malden, Massachusetts, pp 295–317
- [22] Heckmann LH, Friberg N (2005) Macroinvertebrate Community Response To Pulse Exposure With the Insecticide Lambda-Cyhalothrin Using In-Stream Mesocosms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24:582-590.
- [23] De Kermoyan G, Joachim S, Baudoin P, Lonjaret M, Tebby C, Lesaulnier F, Lestremau F, Chattelier C, Akrouz Z, Pheron E, Porcher J-M, Péry ARR, Beaudouin R (2013) Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquatic Toxicology* 144-145:186–198.
- [24] Mohr S, Berghahn R, Feibicke M, Meinecke S, Ottenströer T, Schmiedling I, Schmidiche R, Schmidt R (2007) Effects of the herbicide metazachlor on macrophytes and ecosystem function in freshwater pond and stream mesocosms. *Aquatic Toxicology* 82:73–84.
- [25] Biggs J, Williams P, Whitfield M, Nicolet P, Brown C, Hollis J, Arnold D, Pepper T (2007) The freshwater biota of British agricultural landscapes and their sensitivity to pesticides. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 122:137–148.
- [26] EFSA Scientific Committee (2016) Scientific opinion on recovery in environmental risk assessment at EFSA. *EFSA J* 14:4313.
- [27] Beketov MA, Schäfer RB, Marwitz A, Paschke A, Liess M (2008) Long-term stream invertebrate community alterations induced by the insecticide thiacloprid: Effect concentrations and recovery dynamics. *Science of the Total Environment* 405:96–108.
- [28] Rubach MN, Baird DJ, Van Den Brink PJ (2010) A new method for ranking mode-specific sensitivity of freshwater arthropods to insecticides and its relationship to biological traits. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29:476–487.
- [29] Rico A, van den Brink PJ (2015) Evaluating aquatic invertebrate vulnerability to insecticides based on intrinsic sensitivity, biological traits, and toxic mode of action. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34:1907–1917.
- [30] Battin TJ, Besemer K, Bengtsson MM, Romani AM, Packmann AI (2016) The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology* 14:251–263.
- [31] Zubrod JP, Englert D, Feckler A, Koksharova N, Konschak M, Bundschuh R, Schnetzer N, Englert K, Schulz R, Bundschuh M (2015) Does the current fungicide risk assessment provide sufficient protection for key drivers in aquatic ecosystem functioning? *Environmental Science and Technology* 49:1173–1181.
- [32] Tlili A, Berard A, Blanck H, Bouchez A, Cássio F, Eriksson KM, Morin S, Montuelle B, Navarro E, Pascoal C, Pesce S, Schmitt-Jansen M, Behra R (2016) Pollution-induced community tolerance (PICT): towards an ecologically relevant risk assessment of chemicals in aquatic systems. *Freshwater Biology* 61:2141–2151.
- [33] Zubrod JP, Englert D, Wolfram J, Rosenfeldt RR, Feckler A, Bundschuh R, Seitz F, Konschak M, Buady P, Lüderwald S, Fink P, Lorke A, Schulz R, Bundschuh M (2017) Long-term effects of fungicides on leaf-associated microorganisms and shredder populations—an artificial stream study. *Environmental Toxicology and Chemistry* 36:2178–2189.
- [34] Bayona Y, Roucaute M, Cailleaud K, Lagadic L, Bassères A, Caquet T (2014) Structural and biological trait responses of diatom assemblages to organic chemicals in outdoor flow-through mesocosms. *Environmental Pollution* 192:186–195.
- [35] Brock TCM, Hammers-Wirtz M, Hommen U, Preuss TG, Ratte HT, Roessink I, Strauss T, Van den Brink PJ (2014) The minimum detectable difference (MDD) and the interpretation of treatment-related effects of pesticides in experimental ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research* 22:1160–1174.

Korrespondenzadresse:

Liesa-Kristin Beuter
Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH
Neu-Ulrichstein 5
35315 Homberg (Ohm)
E-Mail: liesa-kristin.beuter@umwelt.uni-giessen.de