Fachinformationsdienst Biodiversitätsforschung
UB Universitäts Bibliothek Frankfurt am Main
DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft

FID Biodiversitätsforschung

Bioindikatoren

Ergebnisse des Symposiums: Tiere als Indikatoren für Umweltbelastungen 8. bis 11. März 1981 in Köln

Der Daphnientest

Knie, Joachim

1982

Digitalisiert durch die *Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg, Frankfurt am Main* im Rahmen des DFG-geförderten Projekts *FID Biodiversitätsforschung (BIOfid)*

Weitere Informationen
Nähere Informationen zu diesem Werk finden Sie im:
Suchportal der Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg, Frankfurt am Main.

Bitte benutzen Sie beim Zitieren des vorliegenden Digitalisats den folgenden persistenten Identifikator:

urn:nbn:de:hebis:30:4-172820

Visual Library

Decheniana – Beihefte (Bonn) 26, 82–86 (1982)

Der Daphnientest

Joachim Knie

Kurzfassung

Der Wasserfloh *Daphnia magna* STRAUS ist ein geeigneter Testorganismus zur Feststellung der Wirkung von chemischen Stoffen und Abwässern. Die Zucht der Wasserflöhe wird kurz beschrieben. Der Einsatz in statischen und semistatischen Tests sowie in Durchlaufsystemen wird dargestellt. Ein vollautomatischer Biomonitor mit Daphnien wird vorgestellt.

Abstract

The water flea *Daphnia magna* STRAUS is a suitable testorganism to prove the effects of chemical substances and waste waters. The culture of water fleas is shortly described. The application in static and semistatic tests and in flow through systems is discussed. An automatical biomonitor with Daphniidae is represented.

1. Einleitung

Der Wasserfloh *Daphnia magna* STRAUS erfüllt wesentliche Voraussetzungen, die an einen Organismus gestellt werden müssen, der als Testorganismus zum Nachweis der Wirkung von Einzelsubstanzen, Substanzgemischen und Abwässern Verwendung finden soll. Zu diesen Voraussetzungen zählen die ständige Verfügbarkeit, eine hohe und auf Dauer möglichst gleichbleibende Empfindlichkeit, ein sichtbares oder ohne großen Aufwand meßbares Kriterium zur Wirkungsbeurteilung und die Möglichkeit, den Organismus unter standardisierbaren Bedingungen in Tests einzusetzen. Darüberhinaus sind Daphnien ein wichtiges Glied in der aquatischen Nahrungskette, so daß dem Daphnientest Umweltrelevanz zukommt.

2. Hälterung und Zucht der Daphnien

Aufgrund unserer recht guten Kenntnisse der Lebensweise der Daphnien ist es möglich, die Tiere in beliebiger Menge im Labor zu züchten. Dabei macht man sich die Fähigkeit der Daphnien zunutze, sich parthenogenetisch zu vermehren. Ausgehend von einem Weibchen läßt sich so ein Klon aufbauen, dessen Individuen erbmäßig gleich sind und die deshalb eine annähernd gleiche Empfindlichkeit erwarten lassen. Über Faktoren wie Futter, Temperatur, Licht und Populationsdichte kann dieser Vorgang beeinflußt und gesteuert werden. Dennoch läßt sich eine Daphniengesellschaft mit Individuen vom gleichen Genotyp auf längere Zeit kaum verwirklichen. Wie die Praxis zeigt, treten trotz gewissenhafter Einhaltung der als optimal angesehenen Zuchtbedingungen immer wieder männliche Tiere auf, die sich mit den Weibchen paaren. Allerdings scheint sich die gelegentliche geschlechtliche Fortpflanzung nicht negativ auf die Empfindlichkeit der Daphnien auszuwirken.

Die Zucht der Daphnien ist mit einfachen Mitteln zu verwirklichen. In der Testvorschrift DIN 38412 Teil 11 sind hierzu einige Anhaltspunkte als Rahmen gegeben. Es wurde bewußt darauf verzichtet, Details der Zucht festzuschreiben, weil sich bei Vergleichen zwischen einzelnen Züchtern eine gewisse Variabilität der Zuchtbedingungen nicht als nachteilig erwiesen hat. So hat jedes Labor weitgehend die Freiheit, die vorhandenen Gerätschaften zu verwenden und ein eventuell schon lange praktiziertes Zuchtverfahren beizubehalten. Lediglich die Qualität des Test- und Zuchtwassers (Verdünnungswasser) wird genauer definiert (vgl. DIN 38412 Teil 11 und 15).

Zur Eigenkontrolle der Funktionsfähigkeit der gewählten Zuchtbedingungen ist in der Vorschrift der Test mit einer Referenzsubstanz vorgegeben, dessen Kriterien erfüllt sein müssen.

Die einmal gewählte Zuchtmethode sollte möglichst beibehalten werden, andernfalls sollte den Daphnien eine längere Zeitspanne gelassen werden, sich an neue Bedingungen anzupassen.

3. Der Daphnientest

3.1. Der statische Daphnientest

Der Daphnientest, wie er in den Deutschen Einheitsverfahren unter L 11 beschrieben ist und wie er zur Zeit in revidierter Form als DIN-Entwurf und daraus hervorgehend als Prüfricht-

Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg
Frankfurt am Main

linie des Umweltbundesamtes vorliegt, wird als statischer Test über 24 Stunden durchgeführt. Die Testausführung ist im Gegensatz zur Zucht genauer festgelegt. Nachstehend sind dazu einige wesentliche Punkte angeführt.

Verwendet werden nur 6–24 Stunden alte Tiere. Als Testgefäße sind kleine Bechergläser geeignet. Wenn das Testgut stark sauerstoffzehrend ist, werden Petrischalen und bei flüchtigen Substanzen Kulturröhrchen benutzt.

Aus dem zu untersuchenden Testgut und dem in der Vorschrift beschriebenen Verdünnungswasser werden dann die zu prüfenden Konzentrationen bzw. Verdünnungen hergestellt. Pro Konzentration bzw. Verdünnungsstufe werden mindestens 2 Testgefäße mit jeweils 10 Daphnien eingesetzt, wobei auf 2 ml Testlösung 1 Daphnie kommt. In jede Testserie wird ein Kontrollansatz ohne Testgut einbezogen.

Nach Ablauf von 24 Stunden werden die toten Daphnien gezählt. Definitionsgemäß gelten die Daphnien dann als tot, wenn sie nach leichtem Schütteln des Testgefäßes keine Schwimmbewegungen mehr zeigen.

Als Maß für die Daphnienverträglichkeit des Testgutes gilt der LC 50-Wert, der durch Interpolation der im Test ermittelten Werte gewonnen wird (LC = letale Konzentration; LC 50: Konzentration, bei der 50% der Versuchstiere sterben.)

Weitere Einzelheiten zum Test und zur Auswertung können der Vorschrift entnommen werden.

Der statische Daphnientest wurde von Vertretern aus Industrie, Verbänden und Behörden erarbeitet. Er ist das Resultat jahrelanger Erfahrungen im Umgang mit Daphnien und zahlreicher experimenteller Untersuchungen. So wurden beispielsweise in Einzelversuchen und in Ringtests auf nationaler und internationaler Ebene Faktoren wie Futter, Licht und Wasserbeschaffenheit auf ihre mögliche Beeinflussung der Daphnienempfindlichkeit überprüft. Dabei zeigte sich, daß die Art des Futters und die Beleuchtung während der Zucht im Test keine meßbaren Auswirkungen haben. Die regional unterschiedliche Wasserqualität dagegen spielt eine große Rolle. Deshalb wurde in die Testvorschrift das schon erwähnte Verdünnungswasser aufgenommen, da es in den Ringtests die günstigsten Eigenschaften aufwies.

Als weiteres Ergebnis der Ringtests konnte festgestellt werden, daß bei den in den einzelnen Labors verwendeten Daphnienstämmen unterschiedlicher Herkunft keine signifikanten Unterschiede in der Empfindlichkeit zu beobachten waren. Die wenigen Ausnahmen ließen sich meist durch die örtlichen Gegebenheiten erklären.

Bei der Erstellung der Testvorschrift wurde auch die internationale Situation berücksichtigt, so daß der deutsche Entwurf mit den Konzepten von OECD und ISO harmoniert.

3.2. Der semistatische Daphnientest

Die Notwendigkeit über die akute Toxizität hinaus die Langzeitwirkung von chemischen Stoffen zu prüfen, führte zur Entwicklung eines semistatischen Daphnientests, die aber noch nicht abgeschlossen ist. Dieser Test soll nach Vorschlag der OECD über 14 Tage laufen, während das Umweltbundesamt mindestens 21 Tage vorsieht.

Der Test orientiert sich an folgender Grundkonzeption: Unterschiedliche Konzentrationen bzw. Verdünnungen eines Testgutes können unter sonst gleichen Versuchsbedingungen die eingesetzten Daphnien verschieden beeinflussen. Das gilt sowohl hinsichtlich der Mortalität und des Wachstums als auch des Zeitpunktes der ersten Brut und der Anzahl der Nachkommen.

Bei der Testdurchführung wird pro Konzentration bzw. Verdünnung eines Testgutes eine bestimmte Anzahl von 6–24 Stunden alten Daphnien zugegeben. Da nicht zu erwarten ist, daß sich die Testlösungen über einen längeren Zeitraum unverändert erhalten, werden sie alle 2 Tage erneuert. Im Gegensatz zum akuten Daphnientest werden die Tiere in diesem Test gefüttert. Nach 7–10 Tagen sollen die Daphnien in der Kontrolle soweit herangewachsen sein, daß sich erste Eier gebildet haben bzw. daß die ersten Jungtiere geschlüpft sind. Von diesem Zeitpunkt an werden jeden zweiten Tag, in Verbindung mit der Erneuerung des Testmediums, die Jungtiere gezählt und dann aus dem Test entfernt.

Nach Ablauf der Testzeit wird ausgewertet. Testkriterien sind neben der Mortalität das Wachstum und die Reproduktionsrate. Das Wachstum, also die Zunahme des Körperumfanges zur Körperlänge, wird durch den Vergleich zwischen den Daphnien in den Testlösungen

Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg
Frankfurt am Main

mit denjenigen in den Kontrollen ermittelt. Die Reproduktionsrate wird durch Gegenüberstellung der Anzahl der Nachkommen in jeder Testlösung mit der Zahl der Jungtiere in den Kontrollen bestimmt.

Der semistatische Daphnientest wird bei einzelnen Institutionen schon regelmäßig durchgeführt. Allerdings ist das Testsystem noch nicht so ausgefeilt, daß es allgemein anerkannt wird. Ein erster orientierender Ringversuch mit 6 Teilnehmern brachte noch etwas unbefriedigende Ergebnisse. Es ist jedoch zu erwarten, daß das Testsystem noch im Laufe dieses Jahres seine endgültige Form erhält, zumal das 1982 inkrafttretende Chemikaliengesetz für den nötigen Druck sorgt. Der Entwurf einer entsprechenden Prüfrichtlinie wurde inzwischen vom Umweltbundesamt vorgelegt.

3.3. Durchlauftests mit Daphnien

3.3.1. Allgemeines

Grundsätzlich besser als statische und semistatische Tests sind Durchlaufsysteme mit einem kontinuierlichen Durchfluß des Testmediums. Bei solchen dynamischen Tests entfallen alle Probleme, die sich aus möglichen chemischen Veränderungen des Testgutes während der Testzeit oder durch eine nicht auszuschließende wechselseitige Beeinflussung von Testmedium und Organismus ergeben können.

Auf dem Sektor der Substanzprüfung hätte ein Durchflußsystem z. B. den Vorteil, daß das Testmedium in stets konstanter Konzentration vorliegt. Bei der Feststellung der Wirkung von Abwässern vermittelt ein dynamischer Test den tatsächlichen Gütezustand, den Einzel- oder selbst Mischproben nur unzureichend wiedergeben können.

Im Vergleich zum statischen und semistatischen Test sind Durchlauftests relativ aufwendig. Sie werden daher meist nur bei bestimmten Fragestellungen angewandt, etwa bei Untersuchungen zur Bioakkumulation. Der in dynamischen Tests hauptsächlich verwendete Organismus ist der Fisch. Mit Daphnien wird in Durchflußsystemen seltener gearbeitet. Entsprechende anerkannte Methoden oder gar Vorschriften existieren nicht. Im Landesamt für Wasser und Abfall NW wird ein dynamischer Daphnientest seit mehreren Jahren nach einer dort entwickelten Methode praktiziert. Der Test wird in zwei Varianten durchgeführt, einmal zur Ermittlung der akuten Toxizität von Substanzen und Abwässern und zum andern als vollautomatischer Biotest zur kontinuierlichen Überwachung von Wässern jeder Art.

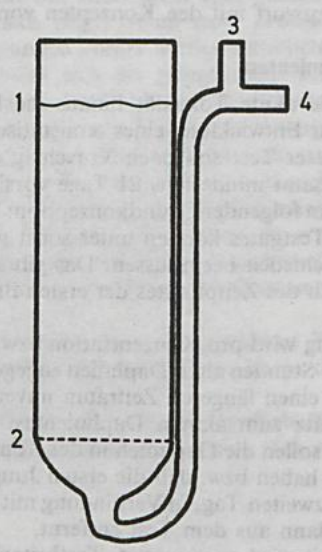

Abbildung 1. Testgefäß für den dynamischen Daphnientest. 1 = Füllhöhe, 2 = Bodensieb, 3 = Lufteinlaßstutzen, 4 = Ablauf.

Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg
Frankfurt am Main

3.3.2. Der dynamische Daphnientest

Im dynamischen Daphnientest werden die Daphnien in eine Glasröhre als Testgefäß gegeben, die sich unten verjüngt und in ein Rohr übergeht, das sich seitlich an dem Gefäß wieder hochzieht (Abb. 1). Ein paar Zentimeter unterhalb des Gefäßoberrandes biegt das Rohr ab. An der Abbiegestelle ist ein Lufteinlaßstutzen angebracht (vgl. KNIE 1978).

Das Testmedium wird mit einer Schlauchpumpe von oben in die Testkammer gefördert und verläßt die Kammer durch das Ablaufrohr, wobei der Lufteinlaßstutzen ein völliges Entleeren der Testkammer unmöglich macht. Wenn die Strecke zwischen Ablaufrohr und Auffangstelle des durchgelaufenen Testmediums nicht zu lang und ein gewisses Gefälle vorhanden ist, reicht der Druck der Wassersäule in der Testkammer, um das Testmedium abfließen zu lassen. Andernfalls kann es auch abgepumpt werden.

Die Testkammer hat ein Testvolumen von 50 ml. Der Durchlauf beträgt im 24-Stunden-Test 200 ml/h, so daß ein Erlenmeyerkolben mit 5 Liter Inhalt als Vorratsgefäß für das Testmedium ausreicht. Ein Siebchen aus Edelstahl am Boden der Testkammer verhindert ein Entweichen der Testtiere. Pro Kammer werden 25 Daphnien eingesetzt.

Mit Ausnahme des Durchflusses arbeitet der Test nach der gleichen Methode wie der statische Daphnientest und wird ebenso ausgewertet.

In Tab. 1 sind einige Ergebnisse von Parallelversuchen zwischen dem statischen und dem dynamischen Daphnientest gegenübergestellt. Dabei zeigt sich, daß der dynamische Test im allgemeinen etwas empfindlicher ist als der statische Test.

	dynamischer Test			statischer Test		
Substanz	EC 0	EC 50	EC 100	EC 0	EC 50	EC 100
$AgNO_3$	0,0007	0,0026	0,0086	0,0014	0,0042	0,0086
$BeCl_2$	0,5	1,75	7,55	2,7	6,8	10,7
$CoSO_4 \cdot 7H_2O$	2,1	9,5	21,0	2,5	10,4	24,6
$Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	0,033	0,25	0,67	0,15	0,35	0,8
$Cd(CH_3CO_2)_2 \cdot 2H_2O$	0,038	0,34	1,2	0,08	0,27	1,2
LiCl	1,25	7,25	12,5	2,5	11,2	25,0
$Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$	0,6	4,1	9,6	0,6	4,2	9,6
$NiSO_4 \cdot 6H_2O$	8,0	13,5	28,0	6,0	15,5	30,0
$Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	0,25	0,78	2,0	0,5	0,91	2,0
$UO_2(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$	16,0	27,0	48,0	16,0	30,0	56,0
TlCl	0,13	1,35	3,84	0,85	2,6	6,4
$VOSO_4 \cdot 5H_2O$	0,65	1,7	5,2	0,65	1,8	6,5
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,38	1,75	3,8	2,28	5,2	6,1

Tabelle 1. Vergleich der 24-Stunden-Toxizität von Substanzen gegenüber *Daphnia magna* im dynamischen und im statischen Test. Die Werte beziehen sich auf die Wirkionen. Alle Angaben in mg/l.

3.3.3. Der Daphnientestautomat

Die andere Form des dynamischen Daphnientests, der automatische Biomonitor, arbeitet nach dem gleichen Prinzip, doch ist das primäre Testkriterium nicht die Schwimmunfähigkeit bzw. der Tod der Testtiere, sondern die Veränderung der Schwimmaktivität.

Die Testkammer ist aus diesem Grund in ein System aus 5 Lichtschranken integriert, mit deren Hilfe die Schwimmaktivität der Daphnien überwacht wird. Sobald Veränderungen in der Beschaffenheit des durchlaufenden Testwassers eintreten, reagieren die Daphnien sofort mit Änderungen ihres Schwimmverhaltens. Sie schwimmen entweder langsamer oder schneller

Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg
Frankfurt am Main

oder beide Phasen wechseln einander ab. Je deutlicher sich die Qualität des Testwassers vom vorherigen Zustand abhebt, desto eindeutiger ist auch die Reaktion der Testtiere. Mit den Lichtschranken wird dieser Vorgang laufend beobachtet und die anfallenden Impulse werden anschließend elektronisch ausgewertet. Man erhält somit genaue Daten über Beginn, Verlauf und Ausmaß der Schadwirkung eines Wassers, noch lange bevor auch nur eine Daphnie gestorben ist (vgl. KNIE 1978).

Aus der sehr knappen Beschreibung des Daphnientestautomaten wird bereits der Anwendungsschwerpunkt ersichtlich. Es handelt sich um ein Gerät, das als Frühwarnsystem z. B. bei der Überwachung von Rohwasser für Trinkwasserzwecke Anwendung finden kann. Doch generell kann der Apparat überall dort eingesetzt werden, wo es auf eine kontinuierliche Dauerkontrolle von Wässern ankommt.

4. Zusammenfassung

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß der Umgang mit Daphnien, ihre Zucht und ihre Verwendung in Tests keine nennenswerten Schwierigkeiten bereitet. Alle anfallenden Arbeiten können von angelerntem Personal ausgeführt werden.

Im Vergleich zu anderen Biotests ist der Aufwand an Geräten gering und die Raumbeanspruchung niedrig. Der statische Test und seine dynamischen Varianten sind wenig arbeitsintensiv. Beim semistatischen Test kann das Auszählen der Jungtiere von Hand von einem Zählautomaten übernommen werden, so daß auch hier eine erhebliche Zeitersparnis eintritt. Insgesamt sind Tests mit Daphnien als sehr kostengünstig zu bezeichnen. Der statische Daphnientest wird aufgrund seiner Praktikabilität und Plausibilität in zunehmendem Maße von den Gesetzgebern in nationale und internationale Vorschriften und Gesetze aufgenommen, die dem Schutz der Umwelt dienen. Die zahlreichen Testvariationen sind deshalb international angeglichen worden bzw. sie sind in diesem Prozeß begriffen. Die einschlägigen Gesetze in den Mitgliedsländern der EG und von anderen wichtigen Industrienationen erfordern geradezu eine Normierung, wenn der Test gegenseitig Anerkennung finden soll und wenn er justitiabel sein will.

Literatur

DEUTSCHE EINHEITSVERFAHREN (DEV) zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung L 11: Bestimmung der biologischen Schadwirkung toxischer Abwässer gegen niedere Metazoen. Modellorganismus: *Daphnia magna.* – Hrsg. Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker. Weinheim.

INTERNATIONAL ORGANISATION FOR STANDARDISATION (ISO), Dokument TC 147/SC 5/WG 2/DIS 6341 (1979): Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* STRAUS (Cladocera, Crustacea).

KNIE, J. (1978): Der Dynamische Daphnientest – ein automatischer Biomonitor zur Überwachung von Gewässern und Abwässern. – Wasser und Boden **12,** 310–312.

NORMENAUSSCHUSS WASSERWESEN (NAW) beim Deutschen Institut für Normung e.V. (DIN), Berlin, Arbeitsgruppe „Biotests": Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

a) Bestimmung der biologischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Kleinkrebse, Prüfvorschrift DIN 38412 Teil 11 (Entwurf)
b) Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Fische – Fischtest, Prüfvorschrift DIN 38412 Teil 15 (Entwurf).

OECD GUIDELINE for testing of chemicals, **202** (1980): *„Daphnia,* Acute Immobilisation and 14-day Reproduction Test".

UMWELTBUNDESAMT (1980): Entwurf zur Prüfrichtlinie „Einfluß auf Mortalität, Wachstum und Reproduktion beim Wasserfloh *Daphnia magna*" (21 d; semistatisches System).

– (1981): Entwurf zur Prüfrichtlinie „Bestimmung der Schwimmunfähigkeit beim Wasserfloh *Daphnia magna*" (EC O, EC 50, EC 100; 24 Stunden; statisches System).

Anschrift des Verfassers: Dr. Joachim Knie, Goethestraße 81, D-4150 Krefeld 1.

Universitätsbibliothek Johann Christian Senckenberg
Frankfurt am Main

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Decheniana

Jahr/Year: 1982

Band/Volume: BH_26

Autor(en)/Author(s): Knie Joachim

Artikel/Article: Der Daphnientest 82-86