

Die Populationsdynamik von Rotatorien als Bioindikator für subletale Schadstoffwirkungen am Beispiel von Pentachlorophenol (PCP)

Udo Halbach, Manfred Siebert, Joachim Klaus, Christian Wissel, Karl Beuter, Manuela Delion

The population dynamics of the rotifer *Brachionus rubens* is introduced as bio-assay for sublethal toxicological effects in aquatic environments. Pentachlorophenol (PCP) is used as a test substance. The most sensitive parameters, which can be used as indicators, are: 'intrinsic rate of natural increase' r , 'carrying capacity' K , 'frequency of the oscillations' f as well as 'exactness of periodicities' P . This P is measured as the distance between the levels of first minimum and first maximum of the standardized time-corrected correlation function. The optimal spreading power of the proposed parameters is located at different concentrations of the toxic substance. Therefore this method can be used as a base for an ecotoxicological standard-test.

Bioindication, Brachionus rubens, phenolics, population dynamics, rotifers, water pollution.

1. Einführung

Jahr für Jahr werden etwa 2000 chemische Substanzen neu entwickelt, von denen ungefähr 30% auf direktem oder indirektem Wege in aquatische Ökosysteme gelangen. Etliche dieser Chemikalien greifen in physiologische Prozesse ein, wobei ihr metabolischer Weg noch weitgehend unbekannt ist. Die Gefahr besteht nicht nur in der akuten Toxizität, sondern auch in möglichen chronischen Effekten, die durch Akkumulation verstärkt werden können. Die letalen Schädwirkungen chemischer Substanzen sind aber häufig die einzig bekannten ökotoxikologischen Bewertungsmaßstäbe, während subletale Wirkungsweisen noch sehr unzureichend untersucht worden sind. Über akkumulative toxische Effekte gar, welche sich erst nach mehreren Generationen bemerkbar machen, ist so gut wie nichts bekannt. Aber gerade die Langzeitwirkung chemischer Substanzen ist hinsichtlich ihrer möglichen Spätschäden von besonderer Bedeutung.

Das Ziel unserer Untersuchungen besteht darin, eine empfindliche Methode zu entwickeln, welche es gestattet, in relativ kurzer Zeit subletale toxische Wirkungen auf die Vitalität von Organismen nachzuweisen, auch wenn diese sich erst über mehrere Generationen akkumulieren sollten. Hierfür eignen sich Rotatorien aus der Gattung *Brachionus* (PALLAS) in besonderem Maße (HALBACH 1970, 1972, 1973; HALBACH, HALBACH-KEUP 1974). Diese Tiere, die zu den kleinsten Metazoen gehören, sind aus folgenden Gründen ideale Testorganismen: 1. Es handelt sich um Kosmopoliten, die gewöhnlich in fast jedem eutrophen Teich oder See vorkommen; sie stehen also für diese Testmethode nahezu überall zur Verfügung. 2. Sie sind leicht kultivierbar, sofern Laboratorien mit sterilen Arbeitsbedingungen zur Verfügung stehen. 3. Es lassen sich durch Klonen leicht genetisch reine Linien für Experimente ziehen, da sie sich überwiegend parthenogenetisch fortpflanzen. 4. Die Zellkonstanz - eine Folge der streng determinativen Ontogenese - hat einen außerordentlich schematischen Lebenslauf zur Folge, welche diese Tiere für mathematische Modellstudien prädestiniert (HALBACH, BURKHARDT 1972; SEITZ, HALBACH 1973; HALBACH 1974, 1979).

Wir verwenden die Populationsdynamik dieser Tiere als Bioindikator, weil bereits geringfügige Änderungen in Fertilität und Mortalität infolge minimaler toxischer Effekte, die bei der Beobachtung einzelner Tiere kaum erkennbar sind, bei der Projektion auf die Integrationsebene der Populationen durch Registrierung vieler Tausender von Individuen meßbar werden. Bei dieser Methode werden also nicht nur dramatische Vergiftungserscheinungen sterbender Tiere aufgezeigt, sondern auch kleinste Wirkungen einer längere Zeit andauernden kontinuierlichen Akkumulation dieser Schadstoffe.

2. Material und Methode

Als Testorganismen verwenden wir *Brachionus rubens* (EHRENBG.), welche in Klimaschränken bei 20 °C (+1 °C) kultiviert wird. Als Versuchsgefäße dienen Schnappdeckelgläser mit einem Volumen von 15 ml. Diese sind auf einer Rotations-Apparatur mit 1 Umdrehung pro Minute befestigt, um eine Sedimentation der Nahrungsalgen zu verhindern. Als Futter dient die einzellige chlorococcale Alge *Kirchneriella lunaris* MOEBIUS in einer Dosis von 1×10^6 Zellen/ml x 24 Std. Die Algenkonzentration wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 680 nm ermittelt (Spectronic 20). Die Zusammensetzung und Herstellung der synthetischen anorganischen Medien einerseits für die Algen und andererseits für die Rädertiere sind früher beschrieben worden (HALBACH, HALBACH-KEUP 1974). Da die Rotatorien empfindlich auf die Schwermetall-Tonen des Algen-Mediums reagieren, werden die Algen vor dem Verfüttern zentrifugiert (5 min bei 1800 g) und nach Dekantieren in Rotatorien-Medium resuspendiert.

Als Test-Chemikalie wird Pentachlorphenol (PCP) appliziert. Die p.a.-reine Substanz wird von der Firma Riedel de Haen bezogen. Die Bestimmung des PCP in den Vorratslösungen ($C = \text{ca. } 10 \text{ mg/l}$ in synthetischem Süßwasser) erfolgte durch Messung der Extinktion des alkalisierten Wasserdampfdestillats der mit H_2SO_4 angesäuerten Probe bei 320 nm (40 ml Wasserdampf/50 ml Probe). In den Kulturmedien ($C_{\text{PCP}} = 0.05 - 0.2 \text{ mg/l}$) wurde PCP nach Wasserdampf-Destillation der angesäuerten Probe (80 ml Wasserdampf/100 ml Probe) nach Überführung in den Essigsäureester gaschromatographisch an einer OV 17 Säule (4% auf Chromosorb W; $l = 3.6 \text{ m}$; $\phi = 1/8 \text{ Zoll}$; Trägergas Helium mit 40 ml/min; Säulentemperatur 245 °C; Detektor FID) mit Anthracen als innerem Standard bestimmt. Nachweisgrenze $3 \times 10^{-10} \text{ g}$ absolut. Nachweisgrenze der Methode: 2 ppB bei 1 l Probevolumen (GEBEFÜGI, PARLAR 1978). Inzwischen liegen aber auch Untersuchungen mit Phenol und 4-Nitrophenol vor (HALBACH et al., in Vorb.).

In den nahrungslimitierten Situationen der Testläufe zeigen die Organismen unter den kontrollierten konstanten Laborbedingungen sigmoides Wachstum mit anschließenden Oszillationen um eine mittlere Gleichgewichtsdichte, wobei diese periodischen Dichteschwankungen Regelschwingungen sind, welche durch die Zeitverzögerung (τ) hervorgerufen werden, die zwischen der Nahrungsaufnahme und der daraus resultierenden Nachkommenproduktion liegt (HALBACH, BURKHARDT 1972). Diese Kurve ist gekennzeichnet durch die drei Populationsparameter 'Potentielle Wachstumsrate' r , 'Kapazität' K und 'Frequenz' der Oszillationen f , mit deren Hilfe die Populationsdynamik auch unter Verwendung deterministischer Computer-Modelle synthetisiert werden kann (HALBACH 1979a, b; KAISER 1979). Hierzu wird die logistische Wachstumsfunktion mit zwei Zeitverzögerungen (jeweils für Geburts- und Sterberate) verwendet, wobei die Simulation mittels des auf FORTRAN basierenden Algorithmus CSMP erfolgt. Das RUNGE-KUTTA-Verfahren mit automatischer Variation der Schrittweite minimiert den Fehler der numerischen Integration.

Um aus den Parallelversuchen trotz der auch unter kontrollierten Laborbedingungen unvermeidlichen Verzerrungen und Phasenverschiebungen charakteristische Generalisationen herausfiltern zu können, wurden Fourier-Analysen, Kreuz- und Autokorrelationen verwendet (HALBACH 1979b). Von den 12 getesteten Korrelationsfunktionen, welche zur Verdeutlichung der Periodizitäten verwendet wurden (BEUTER et al. 1981; WISSEL, HALBACH in Vorb.), ergab sich die beste Kompensation des stochastischen Rauschens bei der 'zeit-korrigierten standardisierten Korrelationsfunktion' (vgl. HALBACH et al. 1981) der Form

$$K(\tau) = \frac{1}{L} \sum_{t_{\alpha} \leq 10} k(t_{\alpha}, \tau) \quad [1]$$

$$k = \langle x(t) \cdot x(t + \tau) \rangle$$

$$= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i(t) \cdot x_i(t + \tau) \quad [2]$$

Die einzelnen Parameter bedeuten:

- K = standardisierte zeit-korrigierte Korrelationsfunktion
- k = normale Korrelationsfunktion
- L = Maximalzahl der Individuen
- t = Zeit
- τ = Zeitverzögerung
- α = Fensterbreite
- N = Zahl der Parallelpopulationen
- x_i = Individuendichte

Umfangreiche Testserien haben ergeben, daß eine Fensterbreite von 9 Tagen optimal ist. Die Mindestdauer der Testläufe beträgt bei 20 °C drei Wochen. Sie läßt sich bei Versuchstemperaturen von 25 °C auf 12 Tage verkürzen.

3. Ergebnisse

Die gemittelten Populationskurven (Abb. 1) zeigen recht unregelmäßige Fluktuationen, welche in dieser Form weder periodische Oszillationen noch andere als Bioindikator verwendbare Charakteristika erkennen lassen. Abb. 2 zeigt, daß im Bereich niedriger PCP-Konzentrationen (0.05 und 0.1 mg/l), die unterhalb der LC 50 von PCP (48 h) für *Brachionus rubens* bei 0.13 mg/l liegen, kaum Auswirkungen der Chemikalie auf die einzelnen Individuen erkennbar sind. Diese zeigen sich erst bei höheren Konzentrationen von 0.15 - 0.3 mg/l.

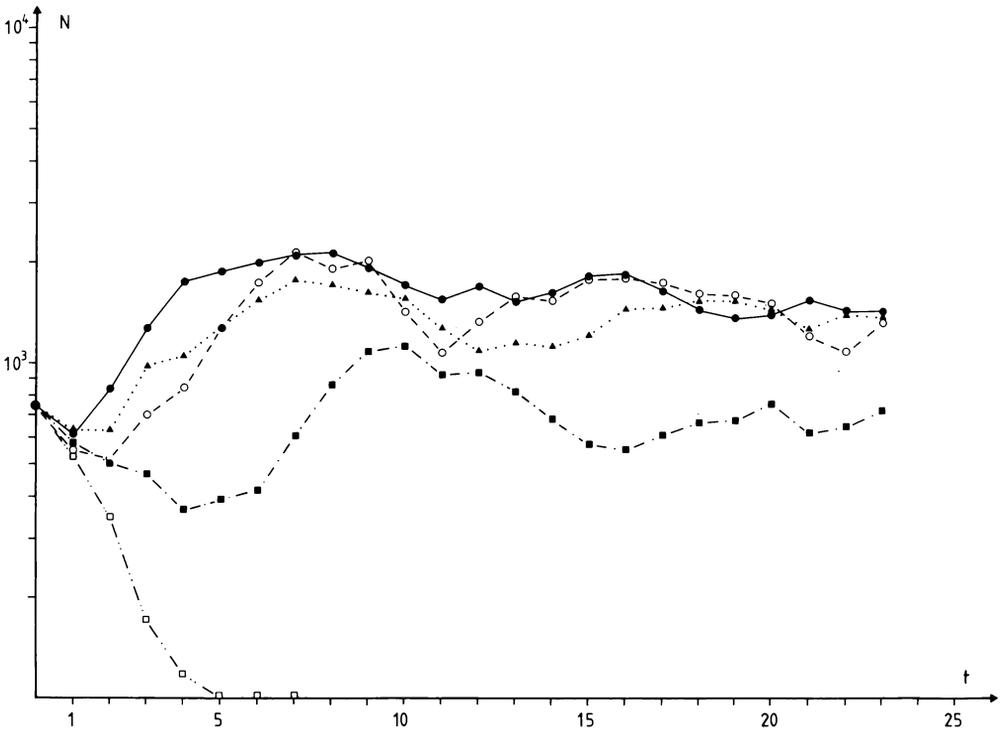


Abb. 1: Gemittelte Populationskurven von jeweils 6 Parallelen.

Abszisse: Zeit in Tagen, Ordinate (Auftragung logarithmisch): Individuen/15 ml.

●—● 0 ppm PCP, ○- - -○ 0.05 ppm PCP, ▲·····▲ 0.10 ppm PCP,

■- - -■ 0.15 ppm PCP, □- - -□ 0.20 ppm PCP.

Wertet man dagegen die Populationskurven mittels der Korrelationsfunktion aus (Abb. 3), dann zeigen sich deutliche ökotoxikologische Effekte. So nimmt die Exaktheit der Periodizität der Mittelwert-Kurven offensichtlich mit zunehmender Konzentration der toxischen Substanz ab. Wir haben hierfür einen Meßwert eingeführt, die 'Prägnanz' P der Oszillationen, welche gemessen wird als Niveau-Unterschied zwischen dem ersten Korrelationsminimum und dem ersten Korrelationsmaximum (Abb. 3). Diese Prägnanz P ist zusammen mit den übrigen Populationsparametern r (potentielle Wachstumsrate), K (Kapazität) und f (Frequenz der Oszillationen) als Bioindikator für subletale ökotoxikologische Effekte geeignet (Abb. 4). Die Meßgenauigkeit (Spreizung der Skala) ist bei den einzelnen Parametern verschieden und liegt zudem in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen. P ist beispielsweise ein genauerer Indikator bei niederen, K bei höheren Konzentrationen.

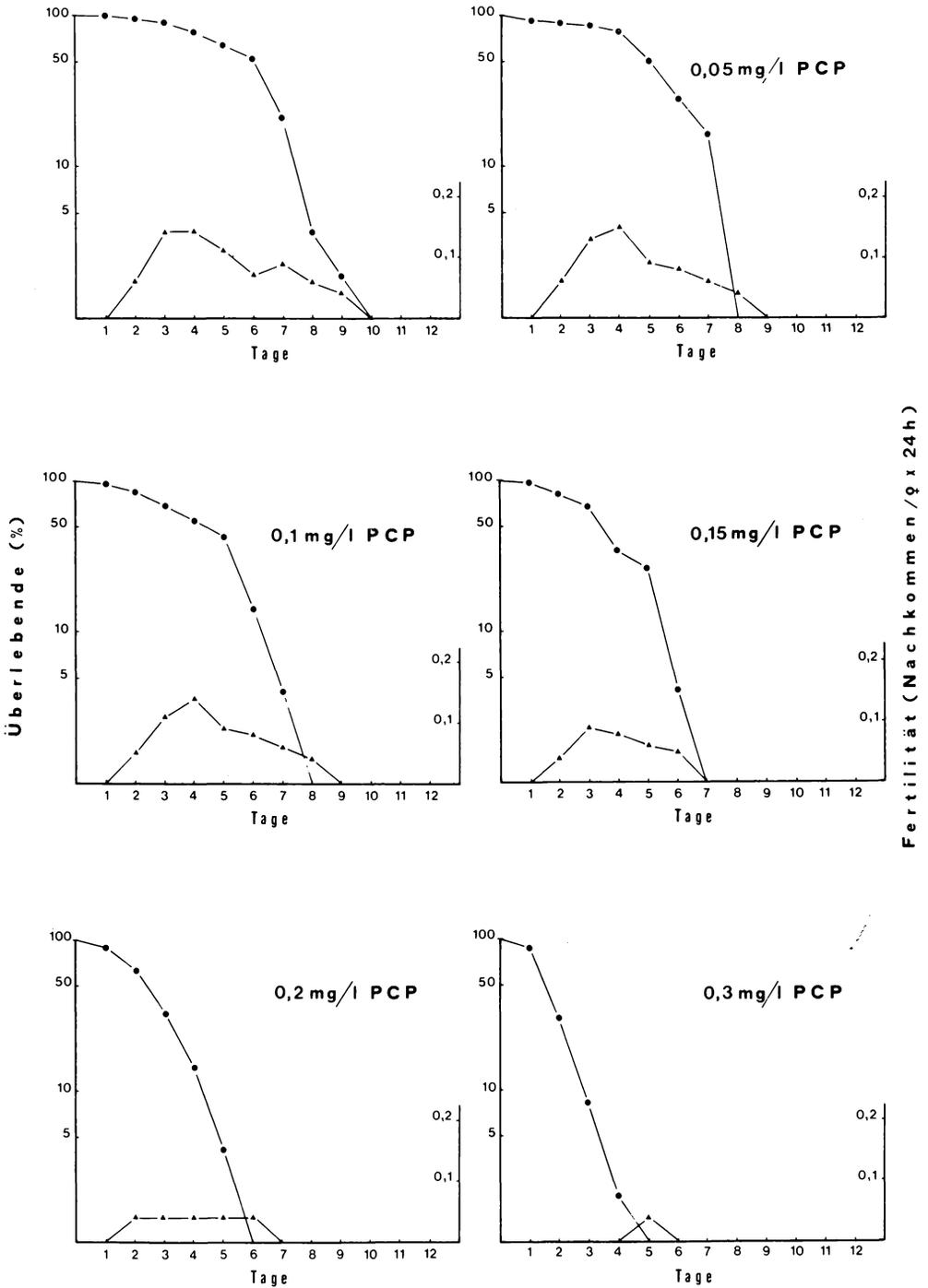


Abb. 2: Überlebenskurven (Punkte) und Fertilitätskurven (Dreiecke) von *Brachionus rubens* in der Kontrolle (oben links) und bei verschiedenen Konzentrationen von PCP. Die Abszisse stellt das Alter der Tiere in Tagen dar (Geburt der Kohorte im Ursprung).

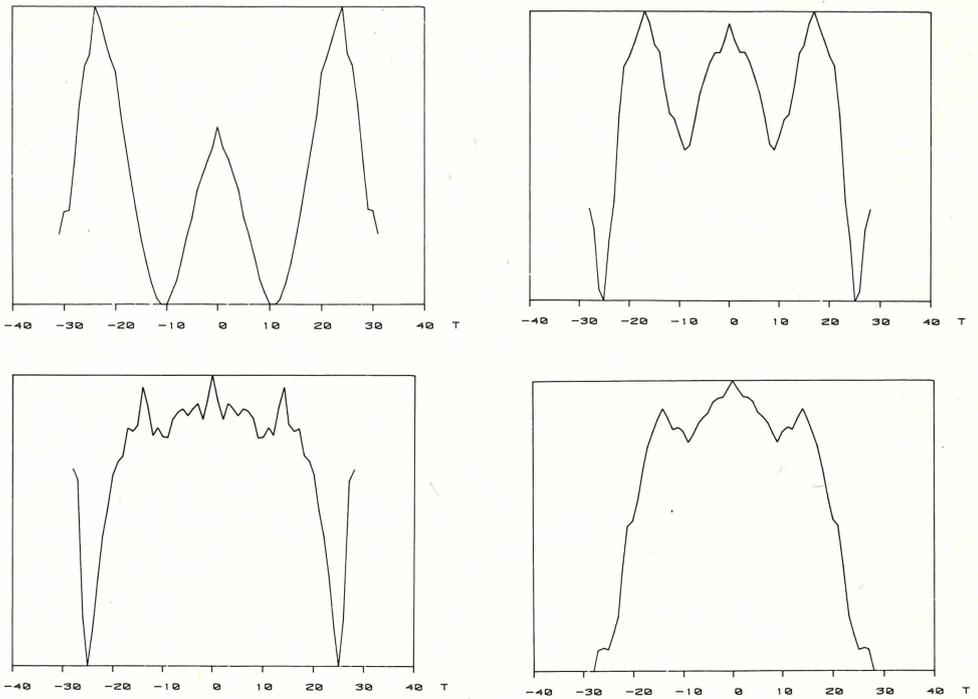


Abb. 3: Zeit-korrigierte standardisierte Korrelationsfunktionen der Populationskurven von *Brachionus rubens*. Kontrolle ohne PCP (links oben), 0.05 ppm PCP (oben rechts), 0.10 ppm PCP (unten links), 0.15 ppm PCP (unten rechts).

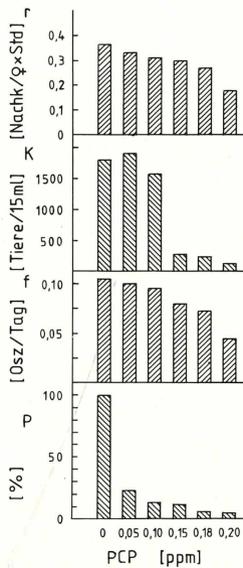


Abb. 4: Vier Populationsparameter von *Brachionus rubens* als Bioindikatoren für die Schadstoffwirkung am Beispiel von PCP in 6 verschiedenen Konzentrationen.

\underline{r} : 'Potentielle Wachstumsrate', \underline{K} : 'Kapazität', \underline{f} : 'Frequenz der Oszillationen', \underline{P} : 'Prägnanz' der Periodizitäten.
Weitere Erklärungen im Text.

4. Diskussion

Die Populationsdynamik von *Brachionus rubens* unter kontrollierten Laborbedingungen hat sich als geeigneter Bioindikator für toxische Effekte von chemischen Substanzen im subletalen Bereich erwiesen. Über die hier geschilderten Ergebnisse von Untersuchungen mit PCP hinaus liegen inzwischen Befunde mit Phenol und 4-Nitrophenol vor, die nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Unterschiede erkennen lassen (HALBACH et al. in Vorb.). Hier wird ein entscheidender Vorteil der dargestellten Methode erkennbar: Wir sind inzwischen in der Lage, aus den an einzelnen Tieren in Individualzuchten gemessenen Lebensdaten die Populationsdynamik mittels Computer-Modellen zu synthetisieren. Stimmen diese Simulationen mit den empirischen Populationskurven überein, so lassen sich die beobachteten ökotoxikologischen Effekte kausal auf Beeinflussungen der Lebensdaten der einzelnen Tiere zurückführen. Sind die Simulationen indes schlechter (kleineres r und $K!$), so muß man mit langfristigen physiologischen Adaptationen der Organismen an die Gifte rechnen (z.B. bei Phenol); sind die Simulationen dagegen besser (größeres r und $K!$), so sind Tradierungen der Schadstoffwirkung über mehrere Generationen nicht auszuschließen (z.B. bei PCP). Möglicherweise erfolgt der Transfer über den Dotter; Untersuchungen hierzu sind in Vorbereitung.

Der vorgeschlagene Test bietet somit deutliche Hinweise auf eine Spezifität, wodurch sich das Einsatzspektrum der Methode vergrößert. Völlig ungeklärt ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser toxikologischen Untersuchungen auf andere Organismen aus dem Bereich der Invertebraten und erst recht der Vertebraten. Wir können lediglich sagen, daß die untersuchten monogononten Rotatorien äußerst empfindlich auf chemische Veränderungen des Milieus reagieren (vgl. auch HALBACH 1970; HALBACH, HALBACH-KEUP 1972). Dies hat sich auch für Schwermetall-Ionen nachweisen lassen.

Das hier geschilderte Verfahren bietet sich daher für einen Screening-Test neuer chemischer Substanzen an. Allerdings muß der Test dazu so robust gestaltet werden, daß er auch in Laboratorien ohne Personal mit langjähriger planktologischer Erfahrung eingesetzt werden kann; denn erst dann sollte man ihn als 'Standardtest' einführen. Unsere derzeitigen Untersuchungen dienen eben dieser Vereinfachung des Testverfahrens, wobei insbesondere auch die Laufzeit auf ein Minimum gedrosselt werden soll.

Nach der Vervollkommnung des Verfahrens in der geschilderten Weise haben wir möglicherweise einen idealen biologischen Meßfühler, welcher indes noch keine Schlüsse hinsichtlich der ökotoxikologischen Effekte neuer Substanzen auf die pelagischen Lebensgemeinschaften aquatischer Ökosysteme zuläßt. Hierzu ist von uns ein neues Forschungsprogramm begonnen worden, in dem auf der einen Seite Mehr-Arten-Systeme einschließlich Konkurrenz und Predation in Chemostaten unter kontrollierten Labor-Bedingungen untersucht werden. Außerdem soll hier über Aquarien in Klimakammern, Freilandbecken mit Gaze-Abdeckung und Plastiksack-Exponaten in Seen der schrittweise Übergang zu den äußerst komplexen Feld-Bedingungen erreicht werden.

Die Untersuchungen wurden vom Bundesministerium für Forschung und Technologie unterstützt.

Literatur

- BEUTER K. et al., 1981: Correlation and spectral analyses of the dynamics of a controlled rotifer population. *Statistical Ecol. Ser.* 13:
- GEBEFÜGI I., PARLAR H., 1978: Zur Risikoabschätzung von Pentachlorphenol in der Umwelt - Verhalten, Vorkommen und Konsequenzen. GSF-Bericht [München] Ö 414.
- HALBACH U., 1970: Einfluß der Temperatur auf die Populationsdynamik des planktischen Rädertieres *Brachionus calyciflorus* PALLAS. *Oecologia* 4: 176-207.
- HALBACH U., 1972: Einfluß der Nahrungsqualität und -quantität auf die Populationsdynamik des planktischen Rädertieres *Brachionus calyciflorus* PALLAS im Labor und im Freiland. *Verh. Dt. Zool. Ges.* 1971: 83-88.
- HALBACH U., BURKHARDT H.-J., 1972: Sind einfache Zeitverzögerungen die Ursachen für periodische Populationschwankungen? Vergleich experimenteller Untersuchungen an *Brachionus calyciflorus* PALLAS mit Computer-Simulationen. *Oecologia* 9: 215-222.
- HALBACH U., HALBACH-KEUP G., 1972: Einfluß von Außenfaktoren auf den Fortpflanzungsmodus heterogoner Rotatorien. *Oecologia* 9: 203-214.
- HALBACH U., 1973: Life table data and population dynamics of the rotifer *Brachionus calyciflorus* PALLAS as influenced by periodically oscillating temperature. In (Ed. WIESER W.): *Effects of Temperature on Ectothermic Organisms*: 217-228.

- HALBACH U., HALBACH-KEUP G., 1974: Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Populationsdynamik des Rotators *Brachionus calyciflorus* PALLAS. Befunde aus Laboratoriums- experimenten und Freilanduntersuchungen. Arch. Hydrobiol. 73: 273-309.
- HALBACH U., 1975: Methoden der Populationsökologie. Verh. Ges. f. Ökol. Erlangen 1974: 1-24.
- HALBACH U., 1978: Populationsdynamik am Beispiel planktischer Rotatorien. Tagungsbericht 4. Jahres- tagung des VDB LV Bayern Erlangen 1977: 75-115.
- HALBACH U., 1979: Introductory remarks: strategies in population research exemplified by rotifer population dynamics. Fortschr. Zool. 25: 1-27.
- HALBACH U. et al., 1981: Population dynamics of rotifers as bioassay tool for toxic effects of organic pollutants. Proc. Intern. Ass. Theor. Appl. Limnology, Kyoto 1980:
- KAISER H., 1979: The dynamics of populations as result of the properties of individual animals. Fortschr. Zool 25: 109-136.
- SEITZ A., HALBACH U., 1973: How is the population density regulated? Experimental studies on rotifers and computer simulations. Naturwiss. 60: 51.

Adressen

Prof. Dr. Udo Halbach
 Manfred Siebert
 Joachim Klaus
 Manuela Delion
 Arbeitsgruppe Ökologie
 Fachbereich Biologie
 der Johann Wolfgang Goethe-Universität
 Siesmayerstr. 70
 D-6000 Frankfurt

Prof. Dr. Christian Wissel
 Institut für Theoretische Physik
 Philipps-Universität
 Renthof 6
 D-3550 Marburg

Karl Beuter
 Battelle-Institut e.V.
 Am Römerhof 35
 D-6000 Frankfurt

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1981

Band/Volume: [9_1981](#)

Autor(en)/Author(s): Halbach Udo, Siebert Manfred, Delion Manuela,
Wissel Christian, Beuter Karl, Klaus Joachim

Artikel/Article: [Die Populationsdynamik von Rotatorien als Bioindikator für subletale Schadstoffwirkungen am Beispiel von Pentachlorphenol \(PCP\) 261-267](#)