

## Eine experimentelle Bestimmung der Toxizitätsgrenze eines Herbizides auf Triazinbasis bei *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) mittels C<sup>14</sup>

J. SAS-HUBICKI, W. RODINGER

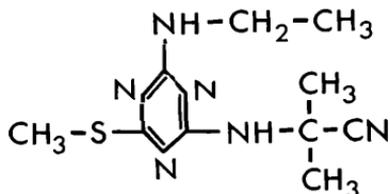
### 1. Einleitung

Verschiedene chemische Substanzen gelangen gewollt oder ungewollt in die Gewässer, eine Beeinflussung des gesamten aquatischen Ökosystems in kleinerem oder größerem Ausmaß kann dadurch ausgelöst werden. Anhand einer recht umfangreichen Anzahl von unterschiedlich gearteten Toxizitätstests ist es möglich, die Schädigung auf tierische wie auf pflanzliche Organismen nachzuweisen. Bei diesen Untersuchungen werden Stoffwechselfvorgänge und Reproduktionsvermögen analysiert; die chemischen Vorgänge im Zellinneren zu beurteilen war jedoch bisher recht schwierig. Pflanzliche Organismen bauen bei der Photosynthese Kohlenstoff in die Zellen ein, die Assimilation sowie die Hemmung dieses Vorganges durch chemische Störwirkung können durch radioaktive Markierung von Nährstoffen veranschaulicht werden. Eine wichtige Komponente im Biosystem der Gewässer stellen die Algen dar; eine Untersuchung der Funktion dieser Lebewesen bei künstlich verändertem Milieu erschien daher zwingend. Gegenüber herkömmlichen Toxizitätstests hat die Methode der radioaktiven Markierung den Vorteil, daß die Schädigung bereits nach Stunden schon zu erkennen ist; eine längere Inkubationszeit gibt zusätzliche Informationen.

Viele chemische Substanzen rufen eine allgemeine Schädigung des Ökosystems hervor, wenn sie ins Wasser gelangen; Herbizide sind gezielt einsetzbare Gifte, die eine Beeinträchtigung der Pflanzenpopulationen bewirken sollen, auf zoologische Organismen aber keine Wirkung zeigen dürfen. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse stellen die Einwirkung eines Herbizides auf einen Modellorganismus pflanzlicher Natur dar.

## 2. Herbizid

Das auf Triazinbasis von Shell Chemicals hergestellte (Lit. 7) Herbizid führt den Handelsnamen „Aqualin“. Der chemische Name der wirksamen Substanz wird mit 2-(4-äthylamino-6-methylthio-s-triazin-ylamino)-2-methylpropionitril angegeben, synonym sind die Namen Cyanatryn (nach BSI) und WL 63611. Die Summenformel ist  $N_6SC_{10}H_{16}$  und die Strukturformel sieht folgendermaßen aus:



Physikalisch gesehen ist Aqualin ein Kristallkörper, weiß gefärbt und besitzt ein Molekulargewicht von 252. Der Schmelzpunkt liegt bei 108,5—110°C, das Produkt ist nicht entflammbar. Die Zusammensetzung des Handelsproduktes Aqualin besteht aus 10% wirksamer Substanz, 0,5% Polyvinylchlorid, 0,5% Natriumlignolsulphonat und 89% Kaolin. Unter Normalbedingungen tritt keine Korrosion bei Metallen, Kunststoffen und Papierderivaten auf. Die Halbwertszeit von Aqualin in natürlichen Gewässern liegt zwischen 3—5 Wochen. Die pestizide Wirkung des Herbizides besteht in der Störung der Hill-Reaktion der Photosynthese, dem Abbau der Schutzfunktion der Zellwand und dem daraus resultierenden Austritt des Zellinhaltes.

### 2.1. Anwendungsbereich des Herbizides

Laut Shell Chemical Werksliteratur (Lit. 7) ist Aqualin sowohl in stehendem wie auch in fließendem Gewässer zur Bekämpfung unerwünschter Wasserpflanzen einsetzbar. Von der Herstellerfirma wurde die Wirkung des Herbizides auf fädige Grünalgen und höhere Wasserpflanzen getestet. Je nach Gehalt an organischen Stoffen im Wasser wurden zwischen 0,05 und 0,4 mg Aqualin/l als Schadkonzentration angegeben. Unabhängig von gelegentlichem Wachstum einzelliger Grünalgen — so heißt es in der Literatur — bleiben die Versuchsflächen bei richtiger Dosierung und rechtzeitiger Anwendung von Aqualin während einer Saison frei von Bewuchs. Eine

Untersuchung der Resistenz von einzelligen Grünalgen und niederen Organismen aber wurde seitens des Herstellers in der Literatur nicht angeführt. Es wird angegeben, daß nach 3 Tagen die Fadenalgen absterben und sedimentieren. Bei höheren Wasserpflanzen tritt jedoch erst nach Wochen die gewünschte Wirkung ein. Tierischen Wasserorganismen gegenüber soll das Herbizid erst ab 1—5 Zehnerpotenzen höheren Konzentrationen als bei Pflanzen wirken.

### 3. Chemische und physikalische Werte der Testlösungen

pH	6,8
EL <sub>20</sub>	3,5 µS
SBV	0,32 mval
O <sub>2</sub>	8,2 mg/l
t	22°C
KH	8,96°dH
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	19,5 mg/l

### 4. Versuchsalgen

Für den Toxizitätstest wurden Kulturen von *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae), einem Bewohner stehender und fließender Gewässer, herangezogen. Die Kulturen waren ca. 14-tägig überimpft worden; als Kulturmedium fungierte eine 1%ige Lösung eines im Handel erhältlichen Pflanzendüngers. Die Algen wurden in einem Kryo-Lichtthermostat bei 22°C in 12stündigem Hell-Dunkelrhythmus bei ca. 3000 lux exponiert. Algensuspensionen aus Kulturen der logarithmischen Wachstumsphase wie auch aus bereits überalterten Kulturen wurden hergestellt, wobei stets ein Trübungsgrad von 70% Absorption beachtet wurde. Die Menge der reagierenden Algenmasse wurde durch Messung des Chlorophyll a-Gehaltes in Parallelproben erfaßt.

### 5. Markierungssubstanz

Die Algen assimilierten <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, welches von radioaktiv markiertem NaHCO<sub>3</sub> mit einer Ausgangsaktivität von 3 µCi stammte.

### 6. Versuchsdurchführung

Die Ermittlung der Toxizitätsgrenzen erfolgte in Versuchen, wie sie in der Literatur (Lit 4, 8) beschrieben sind. Die Tests wurden in Penicillinflaschen mit 0 0,1 0,5 0,75 1 2 5 10 100 µg Aqualinlösung/l angestellt. Be-

sonderes Augenmerk wurde dabei auf sorgfältige Präparation von Dunkel- und Hellproben, die Einhaltung von konstanten Licht- und Temperaturverhältnissen im Kryo-Lichtthermostaten wie auch die Dekontaminierung der Geräte zwecks Verminderung des sogenannten Memory-Effektes gerichtet.

## 7. Ergebnisse

Bei allen mit Aqualin angestellten Toxizitätstests war ab einer Konzentration von weniger als  $1 \mu\text{g/l}$  Aqualin praktisch keine Schädigung bei *Scenedesmus quadricauda*-Populationen mehr zu beobachten. Zur vollständigen Einstellung der Photosynthese der Algen kam es erst ab Konzentrationen von mehr als  $10 \mu\text{g Aqualin/l}$ .

Die Annäherung und Angleichung der Meßwerte von Hell- und Dunkelproben bekräftigen diese Aussage, da die durch das Herbizid beeinträchtigte Photosynthese bei Auswertung der Messungen gleich viel Lebensaktivität wie die im Dunkeln ablaufenden Stoffwechselprozesse zeigte. Die Versuche wurden unter gleichen Bedingungen mit unterschiedlichen Algenmassen durchgeführt. Eine weitere Beobachtung ergab, daß Chlorophyll a-Gehalt und aufgenommenes  $\text{C}^{14}$  einander stets direkt proportional waren (Abb. 1), ein Vergleich und eine statistische Auswertung der Testserien war dadurch erleichtert worden. Aus den unterschiedlichen Algenmassen der einzelnen Probeserien wurde ein gemeinsamer Basiswert ermittelt. Die für die jeweiligen Serien errechneten Faktoren wurden mit den gemessenen Radioaktivitäten multipliziert, die Mittelwerte der gewonnenen Ergebnisse bei den einzelnen Konzentrationen bestimmt und graphisch dargestellt (Abb. 2).

Im Laborversuch konnte außerdem nachgewiesen werden, daß bei einer Inkubation von nur 3 Stunden bereits eine Hemmung der Photosynthese zu erkennen ist. Obwohl die Menge des aufgenommenen  $\text{C}^{14}$  im Verhältnis zu den 24 Stunden lang exponierten Proben klarerweise nur klein war, läßt sich dennoch der Kurvenverlauf eindeutig festlegen. (Abb. 3). Bei Konzentrationen über  $10 \mu\text{g Aqualin/l}$  verläuft die Kurve parallel mit der strichlierten Linie, die die Dunkelwerte charakterisiert; ein Zeichen dafür, daß trotz Beleuchtung keine Photosynthese stattfinden konnte. Zwischen den Konzentrationen von  $1 \mu\text{g Aqualin/l}$  und den Kontrollproben ohne Herbizid verläuft die Toxizitätskurve annähernd parallel zur Ordinate; das Abklingen der Giftigkeit in diesem Konzentrationsbereich dürfte die Ursache dafür sein.

In der Literatur sind wohl Untersuchungen die Primärproduktion betreffend (Lit. 4, 5, 8) recht ausführlich beschrieben, eine Durchführung

eines Toxizitätstestes mit biologisch-radiologischen Methoden aber wurde einstweilen noch nicht angeführt. Von Seiten des Herstellers wurde Aqualin selbst mit Isotopen markiert und der Nachweis der Aufnahme des Herbizides durch Organismen erbracht, der Wirkungsradius bei abgestufter Konzentration jedoch nur mit herkömmlichen Toxizitätstesten untersucht. Aus

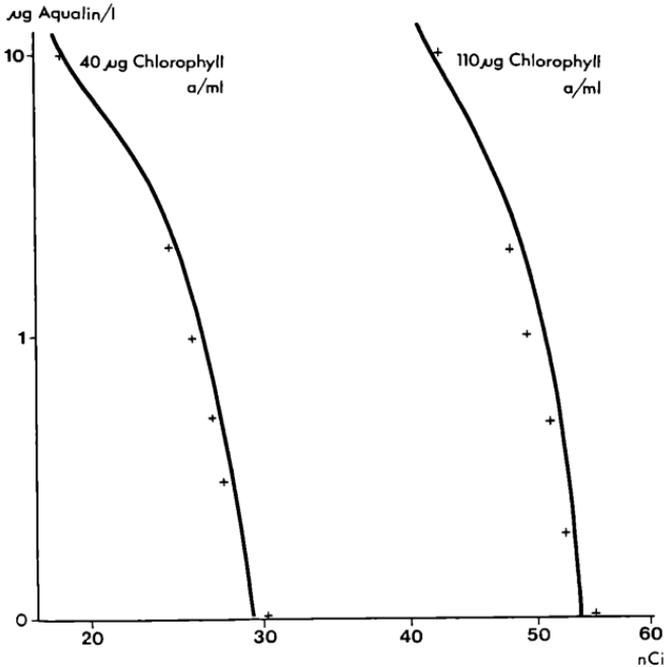


Abbildung 1  
Inkubation: 24 Stunden

diesem Grunde lag es nahe, Studien, die den Einbau natürlicher Nährstoffe, speziell des Kohlenstoffes, betreffen zu betreiben.

Da die bisherigen Untersuchungen vielversprechende Ergebnisse lieferten, soll nun in Zukunft versucht werden, mittels weiterer  $C^{14}$ -Tests die Beeinflussung von Gewässern durch chemische Substanzen zu analysieren, da mit diesem Test die Möglichkeit besteht, manchmal bereits nach Stunden Ergebnisse zu erzielen und Aussagen über das betreffende Produkt in seiner Wirkung auf Algenpopulationen zu treffen.

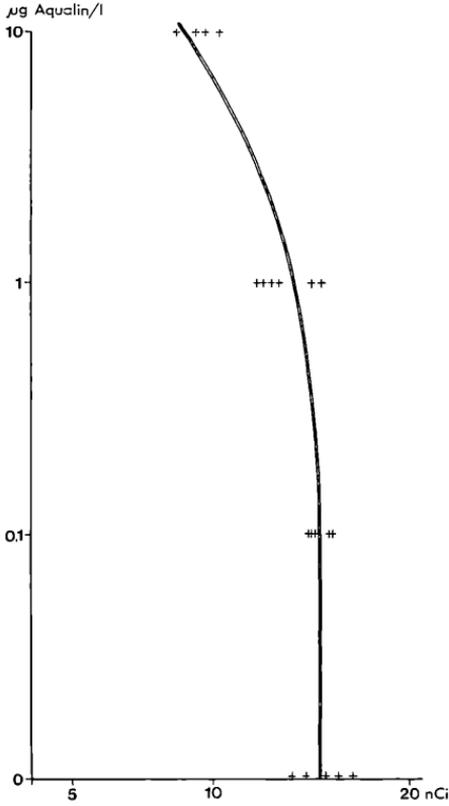


Abb. 2

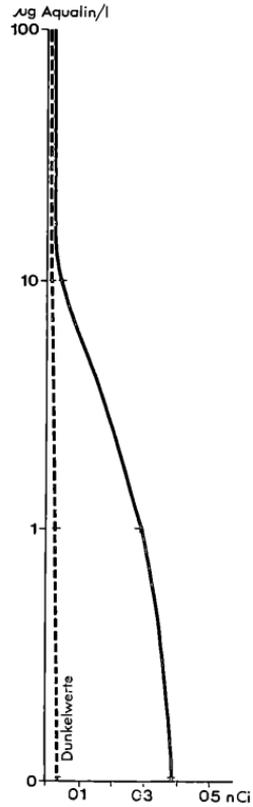


Abb. 3

## Abbildung 2

Inkubation: 24 Stunden

Schwankungsbereiche der Messungen Chlorophyll a-Gehalte und aufgenommenes  $C^{14}$  der einzelnen Probeserien wurden aufeinander abgestimmt

## Abbildung 3

Inkubation: 3 Stunden

## 8. Zusammenfassung

Mit Algen der Art *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) und  $C^{14}$  wurden die Toxizitätsgrenzen eines Herbizides ermittelt. Anhand der Versuchsbeschreibung und -auswertung sowie graphischer Darstellung wurden die gewonnenen Ergebnisse interpretiert. Die Grenzkonzentration kann mit  $1 \mu\text{g/l}$ , die geringste, absolut assimilationshemmende Konzentration mit  $10 \mu\text{g/l}$  angegeben werden.

## Literatur

1. Ausgewählte Methoden der Wasseruntersuchung, Bd. II (1972): Biologische, mikrobiologische und toxikologische Methoden. — VEB G. Fischer Verlag, Jena.
2. BRINGMANN, G., KÜHN, R. (1974): Quantitative Bestimmung der biologischen Schädigung herbizider Phenylharnstoffderivate gegen Algen. Modellorganismus: *Scenedesmus quadricauda*. — Dtsche. Einheitsverfahren L 9.
3. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung (1968): Bestimmung der biologischen Schädigung toxischer Abwässer gegen Algen. — 5. Lieferung.
4. FRANTZ, A., SAS-HUBICKI, J. (1972/73): Primärproduktionsmessungen in den Donaustauräumen Ybbs-Persenbeug und Wallsee nach der  $C^{14}$ -Methode. — Wasser und Abwasser, Bd 1972/73, 15—26.
5. JITTS, H. R. (1963): The standardisation and comparison of measurements of primary productivity by the  $C^{14}$  technique. — Proc. Conf. on Primary Productivity Measurement Marine and Freshwater. US Atomic Energy Commission TID — 7633 (Ed. M. S. DOTY) Washington D. C. 114—120.
6. KNOPP, H. (1968): Stoffwechselfeldynamische Untersuchungsverfahren für die biologische Wasseranalyse. — Int. Revue d. ges. Hydrobiol., 53, 3.
7. Shell International Chemical Company Limited: Aqualin R 9 Regulatory Division LAMK/1.
8. VOLLENWEIDER, R. (1974): A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments. — IBR Handbook Nr. 12, Blackwell Scientific publications Oxford and Edinburgh.

Anschrift der Verfasser: Dipl.-Ing. Julius SAS-HUBICKI, Koär, Dr. Wolfgang RODINGER, Bundesanstalt für Wassergüte, Schiffmühlenstraße 120, Postfach 7, A-1223 Wien.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Wasser und Abwasser](#)

Jahr/Year: 1976-1977

Band/Volume: [1976-1977](#)

Autor(en)/Author(s): Sas-Hubicki J., Rodinger W.

Artikel/Article: [Eine experimentelle Bestimmung der Toxizitätsgrenze eines Herbizides auf Triazinbasis bei Scenedesmus quadricauda \(Chlorophyceae\) mittels C14 365-371](#)