

lysen die für den zu untersuchenden Standort vorliegenden operationell verfügbaren Daten (z.B. Bodenparameter, Wetterdaten) zu ergänzen [13].

5 Literatur

- [1] R. KLOSOWSKI; H.-G. NOLTING; K. SCHINKEL (1992): Verbleib im Boden. In: Bewertung von Pflanzenschutzmitteln im Zulassungsverfahren. Mitt. a.d. Biol. Bundesanst., 284, 61–65
- [2] K. SCHINKEL; H.-G. NOLTING; J.-R. LUNDEHN (1986): Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden – Abbau, Umwandlung und Metabolismus. Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil IV, 4–1. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, ACO Druck, Braunschweig
- [3] W. EBING; G. KREUZIG; H.STEMMER (1994): Untersuchungen zum Rückstandsverhalten der im Pflanzenschutzmittel-Großversuch Ahlum angewandten Fungizide und Insektizide. Mitt. a.d. Biol. Bundesanst., 295, 44–69
- [4] B. GOTTESBÜREN; W. PESTEMER; G. KREUZIG; W. EBING (1992): Die Pflanzenschutzmittel-Rückstandssituation im Boden bei der Fruchtfolge Winterweizen-Wintergerste-Zuckerrübe nach unterschiedlichen Bewirtschaftungskonzepten. Ber. Ldw., 70, 259–279
- [5] W. EBING; M. FROST; R. KREUZIG; I. SCHUPHAN (1995): Untersuchungen zum Abbau- und Verlagerungsverhalten von Fenpropimorph in einem Lysimeterexperiment. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzdz., 47, 5–9
- [6] R. KREUZIG; H. DIECKMANN; M. STOCKMAIER; M. BAHADIR (1993): Investigations on pesticide residues and corresponding metabolites. Modeling Geo-Biosphere Processes, 2, 143–150
- [7] H. DIECKMANN; M. STOCKMAIER; R. KREUZIG; M. BAHADIR (1993): Simultaneous determination of fenpropimorph and the corresponding metabolite fenpropimorphic acid in soil. Fresenius J. Anal. Chem., 345, 784–786
- [8] H. DIECKMANN; R. KREUZIG; M. BAHADIR (1996): Pentafluorobenzoylation of the fungicide metabolite fenpropimorphic acid for GC/MS investigations of soil samples. Fresenius J. Anal. Chem., 355, 183–186
- [9] F. JUNG; H.H.D. MEYER; R.T. HAMM (1989): Development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the fungicide fenpropimorph. J. Agric. Food Chem., 37, 1183–1187
- [10] M. STOCKMAIER; R. KREUZIG; M. BAHADIR (1996): Investigations on the behaviour of fenpropimorph and its metabolite fenpropimorphic acid in soils. Pestic. Sci., 46, 361–367
- [11] M. STOCKMAIER (1996): Untersuchungen zum Verhalten von Aldimorph und Fenpropimorph in Boden unter besonderer Berücksichtigung korrespondierender Metabolite. Dissertation, TU Braunschweig
- [12] B. von OEPEN; W. KÖRDEL; W. KLEIN (1991): Sorption of nonpolar and polar compounds to soils: Processes, measurements and experience with the applicability of the modified OECD-Guideline 106. Chemosphere, 22, 285–304
- [13] R. KREUZIG; B. DIEKKRÜGER (1997): Retrospective evaluation of fenpropimorph residues in soil under field conditions by mathematical modelling. Pestic. Sci. (eingereicht)

Veränderung von Biokonzentration und Wirkung vom PSM* in Anwesenheit von Huminstoffen

¹Christian Steinberg, ^{1,2}Markus Haitzer, ^{1,2}Sebastian Höss, ³Renate Lorenz, ¹Rainer Brüggemann, ⁴B.Kent Burnison

¹ Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei, Müggelseedamm 310, D-12587 Berlin

² Ludwig-Maximilian-Universität München, Institut für Zoologie, Karlstr. 23–25, D-80333 München

³ GSF, Institut für Toxikologie, Postfach 1159, D-85758 Oberschleißheim

⁴ Canada Center of Inland Waters, Burlington, Ontario, Kanada

Korrespondenzautor: Dr. Christian Steinberg, e-mail: stein@igb-berlin.de

* PSM = Pflanzenschutzmittel

Zusammenfassung

Huminstoffe, im Freiwasser im wesentlichen Fulvosäuren, können auf Organismen einen fördernden oder auch einen hemmenden Einfluß ausüben. Dies wurde an bakterienhaltigen Algenkulturen, ebenso wie an Nematoden-Kulturen nachgewiesen. Die für derartige Effekte verantwortlichen Strukturelemente der Huminstoffe sind noch nicht bekannt.

Fulvosäuren können ferner als Mediatoren für eine verstärkte Biokonzentration und – für aquatische Ökosysteme noch bedeutsamer – für die Zunahme von toxischen Wirkungen auftreten. Dies gilt nicht nur für den ökologisch unbedeutenden Fall von akut-toxischen Wirkungen, sondern insbesondere auch für subletale Langzeitwirkungen.

Schlagwörter: Huminstoffe, Wirkung auf Algen und Nematoden; Fulvosäuren, Wechselwirkungen mit Pestiziden; Wachstumsförderung, Algen; Biokonzentration; Biokonzentration von Xenobiotika, Erhöhung durch Fulvosäuren; toxische Wirkung von Xenobiotika, Verstärkung durch Fulvosäuren; *Daphnia magna*; *Caenorhabditis elegans*; *Scenedesmus subspicatus*

Abstract

Change of Bioconcentration and Effect of Pesticides in the Presence of Humic Substances

Humic substances, in aqueous bodies primarily fulvic acids, may demonstrate an inhibitory as well as an activating influence on organisms. We present evidence with bacteria-containing algal cultures and with cultures of the nematode *Caenorhabditis elegans*. Structural elements of the fulvic acids which may be responsible for such effects are not yet known.

Furthermore, the presence of fulvic acids may lead to increases in bioconcentration of xenobiotics. Increase in the toxicity of xenobiotics in the presence of humic substances have also been described. We present studies applying lethal as well as sublethal toxicity endpoints.

Keywords: Humic substances, effect on algae and nematodes; fulvic acids, interaction with pesticides; increase in growth, algae; bioconcentration; bioconcentration of xenobiotics, increase by fulvic acids; toxic effects of xenobiotics, increase by fulvic acids; *Daphnia magna*; *Caenorhabditis elegans*; *Scenedesmus subspicatus*

1 Einleitung

In aquatischen Systemen übersteigt die Konzentration von totem organischem Material die der lebenden Materie um rund den Faktor 10 [1]. Der größte Teil der toten organischen Substanzen wird von Huminstoffen, Fulvo- und Huminsäuren sowie Huminen gestellt. In auffälligem Gegensatz zu dieser quantitativen Rolle steht das Wissen über die ökologische und ökotoxikologische Bedeutung dieser chemisch schwer charakterisierbaren Substanzen. Aquatische Huminstoffe gelten landläufig als rekalcitrant (=widerspenstig), und das im doppelten Wortsinne: widerspenstig hinsichtlich eines mikrobiellen Abbaus und widerspenstig hinsichtlich der wissenschaftlichen Aufklärung über die chemische Natur und die ökologische Rolle dieser Stoffe. Vergleichsweise häufig wurden und werden Huminstoffe im Prozeß der Wasseraufbereitung, insbesondere der Chlorung, studiert, da sie als Vorläufer für mutagene Substanzen gelten (vgl. z.B. [2]).

Im folgenden werden einige neue Ergebnisse zu folgenden Bereichen vorgestellt, ohne den Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben.¹

1. Direkte Wirkung von Huminstoffen auf Algen und Nematoden. Unter direkter Wirkung sind hier Effekte ohne PSM zu verstehen.
2. Veränderung der Biokonzentration von PSM in Anwesenheit von Huminstoffen,
3. Veränderung toxischer Eigenschaften von PSM in Anwesenheit von Huminstoffen.

2 Wirkung von Huminstoffen

Aquatische Huminstoffe – vorherrschend sind Fulvosäuren – können eine auffällige unmittelbare Wirkung entfalten. In bakterienhaltigen Tests mit der coccalen Grünalge *Scenedesmus subspicatus* wurde ihr Wachstum in Anwesenheit von Fulvosäuren aus dem Wasserwerk Fuhrberg bei Hannover getestet. Erwartet wurde, daß steigende Fulvosäurekonzentrationen durch Lichtabschwächung einen deutlich verminderten Zuwachs an Algenbiomasse bewirken würden. In der bakterienhaltigen Algenkultur trat in einem Doppelansatz aber genau das Gegenteil ein: Das Algenwachstum wurde auffällig gefördert (→ Abb. 1).

Es wird vermutet, daß die verwendeten Fulvosäuren von Bakterien verwertet werden konnten und daß möglicherweise die Bakterien durch Exkrete ihrerseits das Algenwachstum förderten.

Eine Wirkung von Fulvosäuren ist jedoch nicht nur auf Mikroorganismen beschränkt. So untersuchten HOESS et al. [4] Wirkungen von Fulvosäuren aus unterschiedlichen Quellen auf *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in Flüssigkulturen [5]. Als Toxizitätspunkt diente die Zahl der

% Zuwachs an Algenbiomasse

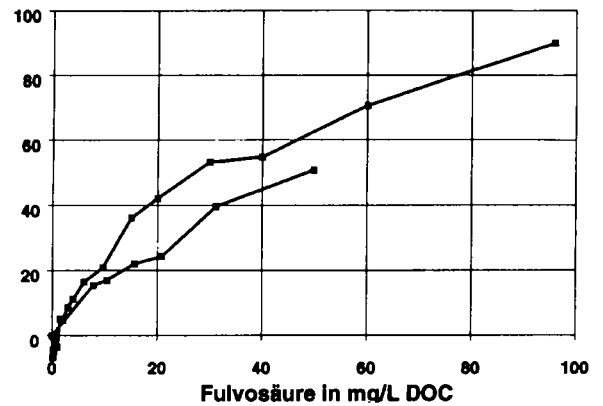


Abb. 1: Zunahme des Algenbiomasse von *Scenedesmus subspicatus* in Abhängigkeit von der Konzentration an Fulvosäuren aus dem Wasserwerk Fuhrberg in einer bakterienhaltigen Kultur (aus [3])

Nachkommen pro Wurm. Den signifikanten Ergebnissen zufolge traten alle drei denkbaren Möglichkeiten auf:

- keine Veränderung in der Nachkommenzahl, wie bei der Fulvosäure aus Fuhrberg (→ Abb. 2a),
- Förderung der Reproduktion bei den Nematoden, wie bei der Fulvosäure eines Waldboden-Sickerwassers aus der Region Bayreuth (→ Abb. 2b) und
- Hemmung der Reproduktion, wie bei der Fulvosäure aus dem Hohlohsee, einem Hochmoorsee im Nordschwarzwald (→ Abb. 2c).

Über die Ursachen für diese Phänomene, welche Strukturelemente beispielsweise dafür verantwortlich sein könnten, herrscht bislang noch keine Klarheit. Offen ist auch, ob es überhaupt Huminstoffe sind oder „nur“ wirksame Substanzen, die bei der Isolation mit den Huminstoffen angereichert werden.

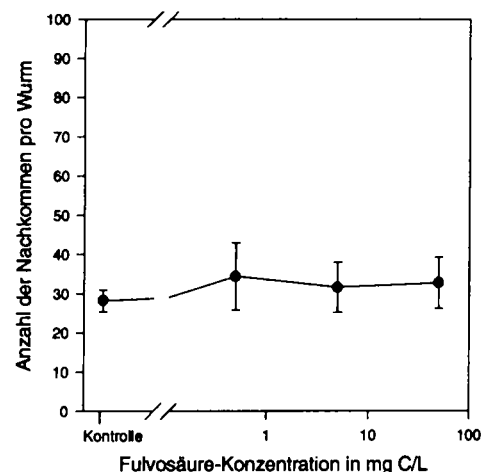


Abb. 2a: Fulvosäuren aus dem Wasserwerk Fuhrberg

¹ Teile der vorgestellten Ergebnisse wurde durch DFG-Stipendien an C. St. im Rahmen des Schwerpunktprogrammes „ROSIG“ (Refraktäre organische Säuren in Gewässern) ermöglicht. Hierfür sei der DFG herzlich gedankt.

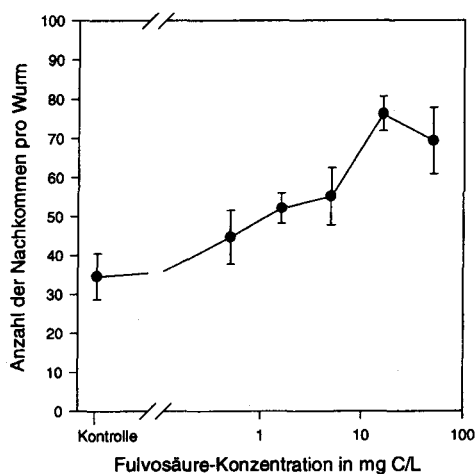


Abb. 2b: Fulvosäuren eines Bodensickerwasser aus der Region Bayreuth

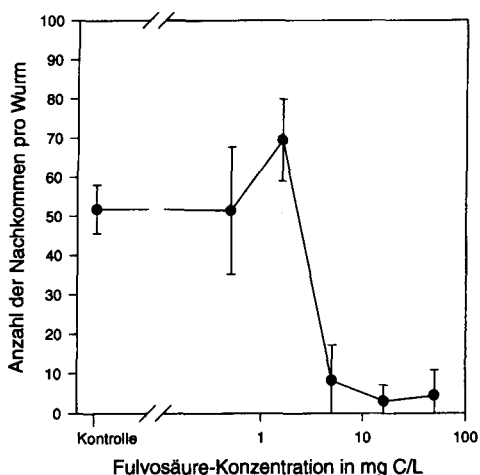


Abb. 2c: Fulvosäuren aus dem Hohllochsee, einer Hochmoorschlenke im Nordschwarzwald

Abb. 2a-c: Veränderung der Nachkommenszahl von *Caenorhabditis elegans* in Abhängigkeit von der Herkunft der Fulvosäure und deren Konzentration

3 Veränderung der Biokonzentration von PSM in Anwesenheit von Huminstoffen

Die Assoziate zwischen Huminstoffen und Pflanzenschutzmittel vergrößern die apparente Molekülgröße, wodurch die Biokonzentration² verringert werden könnte, da die Membrandurchgängigkeit herabgesetzt ist. Dieser Effekt ist häufig beobachtet worden [6–12].

Gelegentlich treten allerdings auch Verstärkungen der Biokonzentration und Bioakkumulation in Gegenwart von Huminstoffen auf. Der erste Fall wurde für den PAK Methylcholanthracen von LEVERSEE [13] berichtet, wobei ver-

schiedene Versuche, diese Ergebnisse zu reproduzieren, fehlschlagen [7]. Zwischenzeitlich wurden verschiedene Chemikalien und Huminstoffe unterschiedlicher Herkunft auf diese Phänomene hin getestet. Interessanterweise traten Erhöhungen der Biokonzentration auch mit Fulvosäuren mit relativ kleinem apparentem Molekulargewicht (wie der Fulvosäure aus Fuhrberg) und bei PSM mit vergleichsweise geringer Lipophilie, bzw. guter Wasserlöslichkeit, auf.

Bei dem Triazin Terbutylazin erhöhte sich die Biokonzentration gegenüber dem Zebraäbrbling in Anwesenheit von Fulvosäuren aus Fuhrberg um 20 % [14].

Als Mechanismen für die Erhöhung von Biokonzentrationen kommen Veränderungen von Membrandurchlässigkeiten infrage. Hierbei ist es denkbar, daß die Membrandurchlässigkeit sowohl allein durch die Huminstoffe als auch durch das Huminstoff-Xenobiotikum-Assoziat vergrößert wird. Letzteres vermutet WERSHAW [15, 16], der ein Mizellen-Modell für Huminstoffe vorschlägt, das entfernt an Biomembranen erinnert. Huminstoffe wirken somit entweder indirekt als Vermittler oder direkt als Carrier bei der erhöhten Biokonzentration in limnischen Tieren. Auch für die hier beschriebenen Effekte steht eine endgültige und überzeugende Erklärung noch aus. Denn das WERSHAW-Modell greift erst bei höheren Huminstoffkonzentrationen, Effekte traten – wie geschildert – allerdings häufig schon im niederen Konzentrationsbereich auf.

4 Veränderung toxischer Eigenschaften von PSM in Anwesenheit von Huminstoffen

Nach dem Chemikalien- sowie dem Pflanzenschutzmittelgesetz ist die Biokonzentration/-akkumulation bereits eine Wirkung und Erhöhungen dieser Größe werden negativ bewertet. Als deutlich alarmierender müssen dann mögliche Verstärkungen der toxischen Wirkung von Xenobiotika gelten. Die ersten, die über eine Erhöhung toxischer Wirkungen berichteten, waren STEWART [17], KUKKONEN und OIKARI [9], OIKARI et al. [18] sowie STEINBERG et al. [19].

Beispielsweise wurde die akute Toxizität von 2,4-Dichlorphenol von 2,8 auf 2 mg/l signifikant herabgesetzt, wenn Fluka-Huminstoffe (5 mg/l) im System vorhanden waren. Interessanterweise trat dieser Effekt auf, wenn Chemikalie und Huminstoffe vor dem eigentlichen Test 60 Stunden zusammenwirken konnten. Bei zwei Stunden Wirkzeit vor dem Test trat dieser Effekt (noch) nicht auf (→ Abb. 3). Vergleichbare Effekte längerer Kontaktzeiten wurden auch von anderen Autoren beobachtet [z.B. 6, 9]. Als Wirkmechanismen werden diskutiert:

- Erhöhung der Biokonzentration/akkumulation, über die oben bereits berichtet wurde, sowie
- umweltchemische Veränderungen des Ausgang xenobiotikums durch die Huminstoffe. Bekannt ist in diesem Zusammenhang, daß Huminstoffe als sogenannte *Photosensitizer* wirken können, d.h. sie bewirken eine indirekte Photooxidation des Xenobiotikums, wobei die Tochterxenobiotika ein deutlich höheres toxisches Potential als die Ausgangsstoffe zu haben scheinen [19–22].

² **Biokonzentration** ist die Aufnahme von Xenobiotika durch Membranen oder Epithelien. **Bioakkumulation** ist Biokonzentration sowie zuzüglich die Aufnahme von Xenobiotika über die Nahrung.

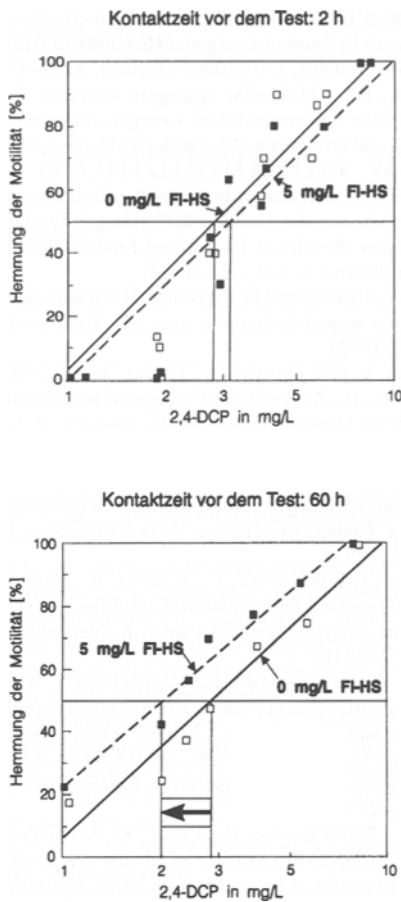


Abb. 3: Veränderung der akuten Toxizität von 2,4- Dichlorphenol gegenüber *Daphnia magna* durch die Anwesenheit von Fluka-Huminstoffen (FI-HS) (aus [19])

Allerdings muß es noch weitere Wirkmechanismen geben, da bei 2,4-DCP keine Erhöhung der Biokonzentration gefunden wurde und die Vortestphase im Dunklen ablief, also keine indirekte Photolyse vor dem eigentlichen Test möglich war.

Die genannten akut-toxischen Tests arbeiteten mit Schadstoffkonzentrationen, die glücklicherweise nicht gewässerrelevant waren. Dies liegt mit Sicherheit an den gewählten, wenig sensitiven Toxizitätspunkten. Bei der Anwendung von ökologisch sinnvollerem, komplexen Toxizitätspunkten, wie dem quantitativen Verhalten von Fischen, lassen sich inzwischen regelmäßig Effekte auch in gewässerrelevanten Xenobiotikakonzentrationen messen [20–23]. Häufig verstärken aquatische Huminstoffe die Effekte der Chemikalien. Bei Terbutylazin wurde dieser Effekt inzwischen in Anwesenheit von Huminstoffen von zwei verschiedenen Herkünften (Fluka und Fuhrberg) beobachtet. Die Fluka-Huminstoffe verstärkten die Irritation im Schwimmverhalten des Zebraärlblings (*Danio rerio*) [21], während TBA in Anwesenheit der Fuhrberger Fulvosäure auf einzelne Verhaltenskomponenten unterschiedlich wirkte: Die Bevorzugung von dunklen Habitaten verstärkte sich (→ Abb. 4), die Motilität nahm dagegen ab. Für die Bevorzugung von dunklen Habitaten konnte eine

eindeutige Konzentrations-Wirkungs-Beziehung gefunden werden [22].

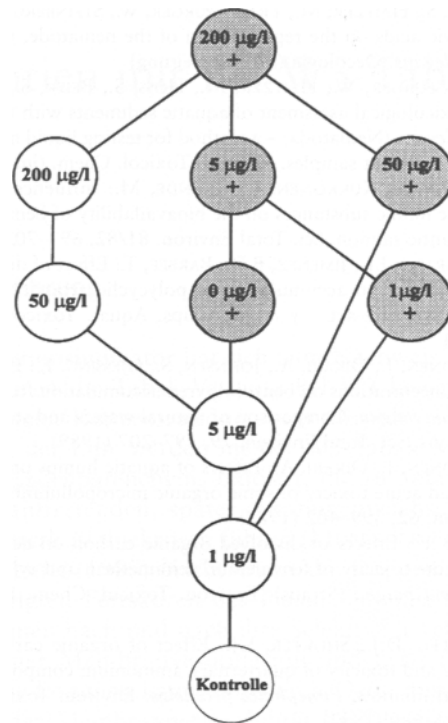


Abb. 4: Ranking der Befunde aus der quantitativen Verhaltensmessung, hier: Bevorzugung dunkler Habitats, mit der Hasse-Diagramm-Technik. Die dunklen Kreise stellen die Tests dar, in denen 2 mg/l Fuhrberg-Fulvosäuren-DOC zugesetzt wurde. Von unten nach oben nimmt die Intensität der Reaktion der Fische zu. Der verstärkende Effekt durch die Fulvosäure wird deutlich. Kreise, die nicht verbunden sind, stellen Experimente dar, in denen eine Reaktion der Fische zeitlich unterschiedlich ausfiel. (aus [22])

Mit dem Ranking in Abb. 4 haben wir ein Verfahren vorgestellt, mit dem verschiedene umweltchemische und öko-toxikologische Ergebnisse getrennt und in Kombination miteinander vergleichend bewertet werden können (vgl. u.a. [25]). Auf dieses Verfahren wird an anderer Stelle noch etwas ausführlicher eingegangen [25].

Wenn auch noch sehr viele Zusammenhänge hinsichtlich der Wirkungen aquatischer Huminstoffe offen, bzw. unbekannt sind, so darf man eines nicht: Sie in ihrer ökologischen Rolle und ihrer indirekten toxikologischen Bedeutung außer acht lassen.

5 Literatur

- [1] STEINBERG, C., MUENSTER, U.: Geochemistry and ecological role of humic substances in lakewater. In: G.R. AIKEN, D.M. MCKNIGHT, R.L. WERSHAW, P. MACCARTHY (Hrsg.): Humic Substances in Soil, Sediment, and Water – Geochemistry, Isolation, and Characterization. John Wiley & Sons, New York, S. 105–145 (1985)
- [2] WATT, B.E., MALCOLM, R.L., HAYES, M.H.B., CLARK, N.W.E., CHIPMAN, J.K.: Chemistry an potential mutagenicity of humic substances in waters from different watersheds in Britain and Ireland. Wat. Res. 30, 1502–1516 (1996)

- [3] STEINBERG, C.E.W., BACH, S.: Growth promotion of a ground-water fulvic acids in a bacteria/algae system. *Acta hydrochim. hydrobiol.* **24**, 98–100 (1996)
- [4] HOESS, S., HAITZER, M., TRAUNSPURGER, W., STEINBERG, C.: Effects of fulvic acids on the reproduction of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Oecologia* (in Vorbereitung)
- [5] TRAUNSPURGER, W., HAITZER, M., HÖSS, S., BEIER, S., AHLF, W.: Ecotoxicological assessment of aquatic sediments with *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) – a method for testing liquid medium and whole sediment samples. *Environ. Toxicol. Chem.* (im Druck)
- [6] JOHNSEN, S., KUKKONEN, J., GRANDE, M.: Influence of natural aquatic humic substances on the bioavailability of benzo[a]pyrene to Atlantic salmon. *Sci. Total Environ.* **81/82**, 691–702 (1989)
- [7] MCCARTHY, J.F., JIMENEZ, B.D., BARBEE, T.: Effect of dissolved humic material on accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons: structure-activity relationships. *Aquat. Toxicol.* **7**, 15–24 (1985)
- [8] KUKKONEN, J., OIKARI, A., JOHNSEN, S., GJESSING, E.: Effect of humus concentrations on benzo[a]pyren accumulation from water to *Daphnia magna*: Comparison of natural waters and standard preparations. *Sci. Total Environ.* **79**, 197–207 (1989)
- [9] KUKKONEN, J., OIKARI, A.: Effects of aquatic humus on accumulation and acute toxicity of some organic micropollutants. *Sci. Total Environ.* **62**, 399–402 (1987)
- [10] DAY, K.E.: Effects of dissolved organic carbon on accumulation and acute toxicity of fenvalerate, deltamethrin and cyhalothrin to *Daphnia magna* (Straus). *Environ. Toxicol. Chem.* **10**, 91–101 (1991)
- [11] VERSTEEG, D.J., SHORTER, S.J.: Effect of organic carbon on the uptake and toxicity of quarternary ammonium compounds to the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Environ. Toxicol. Chem.* **11**, 571–580 (1992)
- [12] STEINBERG, C.E.W., XU, Y., LEE, S.K., FREITAG, D., KETTRUP, A.: Effect of dissolved humic material (DHM) on bioavailability of some organic xenobiotics to *Daphnia magna*. *Chem. Spec. Bioavail.* **5**, 1–9 (1993)
- [13] LEVERSEE, G.J., LANDRUM, P.F., GIESY, J.P., FANNIN, T.: Humic acids reduce bioaccumulation of some polycyclic aromatic hydrocarbons. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **40**, 63–69 (1983)
- [14] LORENZ, R.: Dissertation in Vorbereitung, Humboldt-Universität zu Berlin
- [15] WERSHAW, R.L.: A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems. *J. Contamin. Hydrol.* **1**, 29–45 (1986)
- [16] WERSHAW, R.L.: Molecular aggregate structure. In: *Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Interactions, Properties, and Proposed Structures*. U.S. Geological Survey, Open File Report 87–557, 354–356 (1989)
- [17] STEWART, A.J.: Interactions between dissolved humic materials and organic toxicants. In: Cowser, K.E. (Hrsg.): *Synthetic Fossil Fuel Technologies. Results of Health and Environmental Studies*. Butterworth, Boston, S. 505–521 (1984)
- [18] OIKARI, A., KUKKONEN, J., VIRTANEN, V.: Acute toxicity of chemicals to *Daphnia magna* in humic waters. *Sci. Total Environ.* **117/118**, 367–377 (1992)
- [19] STEINBERG, C.E.W., STURM, A., KELBEL, J., LEE, S.K., HERTKORN, N., FREITAG, D., KETTRUP, A.: Changes of acute toxicity of organic chemicals to *Daphnia magna* in the presence of dissolved humic material (DHM). *Acta hydrochim. hydrobiol.* **20**, 326–332 (1992)
- [20] LORENZ, R., MAYR, C., SPIESER, O.H., STEINBERG, C.: Neue Wege in die Ökotoxikologie: Quantitative Verhaltensmessungen an Fischen als Toxizitätspunkt. *Acta hydrochim. hydrobiol.* **23**, 197–201 (1995)
- [21] STEINBERG, C.E.W., MAYR, C., LORENZ, R., SPIESER, O.H., KETTRUP, A.: Dissolved humic material amplifies irritant effects of terbutylazine (triazine herbicide) on fish. *Naturwissenschaften* **81**, 225–227 (1994)
- [22] LORENZ, R., BRÜGGEMANN, R., STEINBERG, C.E.W., SPIESER, O.H.: Humic material changes effects of terbutylazine on behavior of zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Chemosphere* (im Druck)
- [23] STEINBERG, C.E.W., LORENZ, R., SPIESER, O.H.: Effects of atrazine on swimming behavior of zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Wat. Res.* **29**, 981–985 (1995)
- [24] KLEIN, J., BRÜGGEMANN, R., VOIGT, K., STEINBERG, C.E.W.: Advances in comparative analysis of adverse effects in aquatic ecosystems with emphasis on studies with humic substances and on progress in mathematical analysis techniques. *Wat. Res.* **29**, 2261–2268 (1995)
- [25] BRÜGGEMANN, R., STEINBERG, C.: Partielle Ordnung, ein Hilfsmittel zur ökotoxikologischen Beurteilung von Chemikalien. *UWSF – Z. Umweltchem. Ökotox.* (eingereicht)

Note Added in Proof

Die Effekte der Huminstoffe auf die Entwicklung von *Caenorhabditis elegans* können mechanistisch bislang nicht erklärt werden. Denkbar wäre, daß bestimmte Phytohormone mit der Isolation der Huminstoffe angereichert werden. Eine östrogene Wirkung, wie sie mit dem Test der transgenen Hefe erfaßt werden kann, kann ausgeschlossen werden [27]. Das gleiche gilt für pH-Wert- oder Salzeffekte, die sich aus dem Test selbst ergeben können [28].

[27] Fraunhofer Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie (12.3.97) Prüfbericht: Wirkung verschiedener Huminsäuren auf den Östrogenrezeptor von Hefezellen.

[28] W. TRAUNSPURGER; M. HAITZER; S. HOESS; S. BEIER; W. AHLF; C. STEINBERG: Ecotoxicological assessment of aquatic sediments with *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) – A method for testing liquid medium and whole sediment samples. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**, 245–250 (1997)