

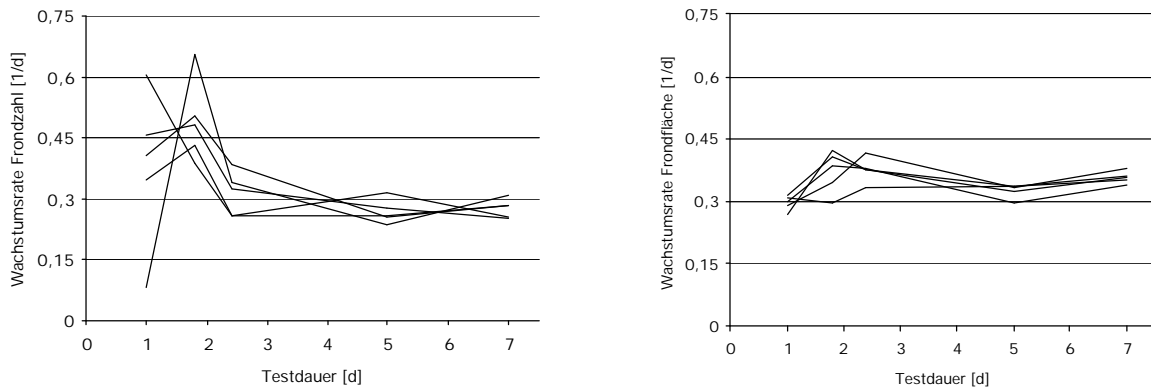
Beobachtungsparameter im Wasserlinsentest

Vergleich Frondzahl – Frondfläche – Trockengewicht

Der klassische Wachstumsparameter beim Wasserlinsentest ist die Anzahl aller sichtbaren Fronds (Blätter). Diese läßt sich zwar mit erheblichen Zeitaufwand und begrenzter Reproduzierbarkeit, dafür aber ohne technisches Gerät ermitteln. Nimmt die Zahl der durchgeführten Tests zu und die toxische Hemmung ist gering, wird das manuelle Auszählen der Fronds jedoch bald zum nicht zu unterschätzenden Zeit- und Kostenfaktor. Der Einsatz hochentwickelter Bildauswertungsmethoden ermöglicht die automatische Zählung aller Fronds und eine detaillierte Farbquantifizierung. Gleichzeitig kann durch ein solches System noch die Fläche aller Fronds bestimmt werden. Diese Bestimmung der Frondfläche ist zwar nur mit den Methoden der Bildanalyse möglich, ist dafür aber wesentlich schneller, objektiver und reproduzierbarer meßbar als die Frondzahl.

Die Ermittlung der Frondfläche als Beobachtungsparameter hat viele Vorteile für die Testauswertung. Während bei der Frondzählung auch winzige Fronds genauso bewertet werden wie ausgewachsene Mutterfronds, gehen bei der Frondflächenanalyse die Einzelfronds proportional zu ihrer Größe in den Beobachtungsparameter ein. Dies kommt dem Konzept des Biomasseparameters erheblich näher als die Frondzählung.

Sollen die Hemmwerte der Wachstumsrate berechnet und die Testvalidität geprüft werden, so zeigt sich ein weiterer Vorteil der Frondflächenanalyse. Während die Frondfläche praktisch kontinuierlich d.h. mit gleichbleibender Wachstumsrate wächst, nimmt die Frondzahl in den ersten Testtagen mit einer unrealistisch hohen Wachstumsrate zu, sofern der Effekt nicht durch eine Lagphase kompensiert wird. Der Effekt beruht auf einem Testartefakt, da zu Testbeginn nur 3 bis 6 Kolonien mit ausgewachsenen oder zumindest halb ausgewachsenen Fronds eingesetzt werden. Diese schieben dann, durch den Umsetzungsstreß ggf. noch verstärkt, sehr schnell eine große Zahl kleiner Fronds aus den Taschen heraus, was ein extrem hohes Wachstum vortäuscht und aufgrund der kleinen Zahlen außerdem extrem hohe Standardabweichungen erzeugt (Abbildung 1).



a

b

Abbildung 1: Berechnung der Wachstumsraten für die Frondzahl (a) und die Gesamtrondfläche (b) für einen 7-tägigen Test mit 5 Parallelen ohne Schadstoffbelastung (Lemna minor, Steinberg Medium).

Nach 2 – 3 Tagen nähert sich die Frondgrößenverteilung dann dem natürlichen Kontinuum an und die Wachstumsrate stabilisiert sich. Dieses Meßartefakt erschwert auch die signifikante Feststellung, ob in der Kontrolle über den gesamten Testzeitraum exponentielles Wachstum herrscht. Außerdem kann es Lagphasen verschleiern und die Werte von Wachstumsraten verzerren.

Mit dem LemnaTec Scanalyzer werden neben Frondzahl und Gesamtrondfläche auch die Frondgrößenverteilung ermittelt. Dies liefert wichtige Zusatzinformationen und erklärt auch, warum die Gesamtrondfläche meist zu niedrigeren EC-Werten führt als die Frondzahl.

Viele Schadstoffe führen zu einer Verkleinerung der Fronds. Abbildung 2 zeigt die Konzentrations-Wirkungsbeziehung für Kaliumdichromat mit den Beobachtungsparametern Frondfläche und Frondzahl, aus denen dann jeweils die Hemmung des Biomasseendwertes und die der Wachstumsrate berechnet wurden. Die Hemmung der Frondfläche ist bei gleicher Berechnungsart bis zu 20 % größer als die der Frondzahl, was die typische Verkleinerung der Fronds in Gegenwart von Kaliumdichromat anzeigt.

Die hier zusätzlich ermittelten Hemmwerte des Trockengewichts liegen zwischen den Werten für die Anzahl und der Fläche. Dies deutet darauf hin, daß der Schadstoffeinfluß zu einer Kompaktierung der Fronds geführt hat.

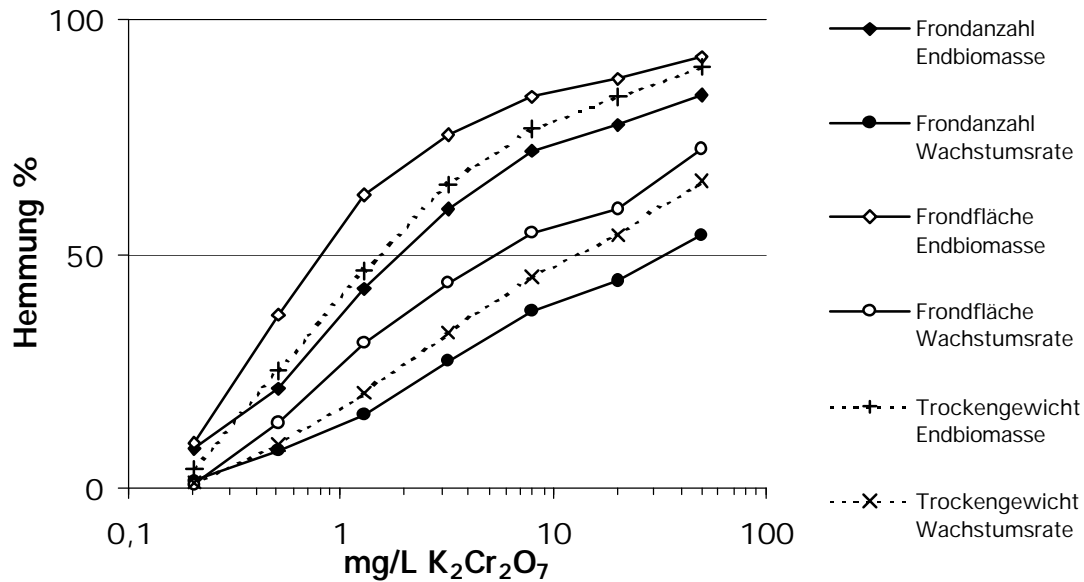


Abbildung 2: Auswertung eines Wasserlinsentests mit Kaliumdichromat mit den Beobachtungsparametern Gesamtfrondfläche, Frondanzahl und Trockengewicht. Es wurden jeweils die Hemmwerte über den Endbiomasse und die Wachstumsrate berechnet.

Diese Verkleinerung der Fronds spiegelt die Frondgrößenverteilung deutlich wider (Abb. 3). Mit zunehmender Schadstoffkonzentration verlagert sich das Maximum der Größenverteilung hin zu kleineren Größenklassen.

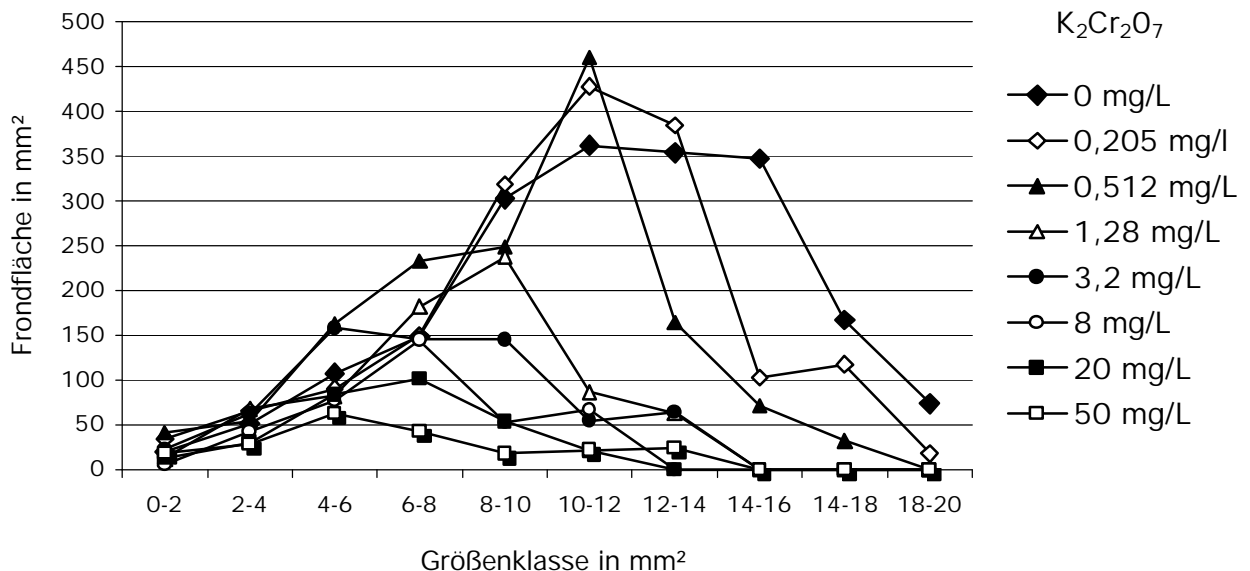


Abbildung 3: Frondgrößenverteilung eines Tests mit Kaliumdichromat in Abhängigkeit von der Konzentration.

Die unterschiedlichen Empfindlichkeiten der Beobachtungsparameter zeigen sich auch deutlich in den ermittelten EC₂₀- und EC₅₀-Werten (Tab. 1). Die höheren EC-Werte, ermittelt auf der Basis der Hemmung der Wachstumsraten, sind eine Folge der Berücksichtigung des exponentiellen Wachstums und der absoluten Wachstumsraten. Die Vorteile der verschiedenen Auswertungsmethoden werden an anderer Stelle ausführlich diskutiert.

Tabelle 1: EC-Werte für einen Test mit Kaliumdichromat in Abhängigkeit vom Beobachtungsparameter und der Auswertungsmethode.

	EC ₂₀ [mg/L Kaliumdichromat]		EC ₅₀ [mg/L Kaliumdichromat]	
	Endwert	Wachstumsrate	Endwert	Wachstumsrate
Frondbläche	0,3	0,8	0,9	6,1
Trockengewicht	0,4	1,2	1,7	14,2
Frondzahl	0,5	2,0	2,2	37,0

Die EC-Werte liegen für die Frondzahl in Abhängigkeit von der Auswertungsmethode und des Hemmwertes um den Faktor 1,5 bis 6 höher als bei der Frondfläche. Das Trockengewicht als klassischer Biomasseparameter führt zu mittleren EC-Werten, ist also deutlich weniger empfindlich als die Frondfläche. Dies zeigt erneut, wie der Schadstoffeinfluß zuerst zu einer Kompaktierung der Fronds führt.

Fazit:

Mit Hilfe des LemnaTec Scanlyzers lassen sich die Beobachtungsparameter Einzel- und Gesamtfondfläche objektiv, einfach und zerstörungsfrei messen. In Kombination mit der parallel automatisch ermittelten Frondzahl und der Farbanalyse werden die Wachstumsphänomene normkonform und sehr aussagekräftig abgebildet. Dabei führt der Beobachtungsparameter Frondfläche generell zu gleichen oder niedrigeren EC-Werten als die Frondanzahl und das Trockengewicht. Die OECD-Richtlinie und die DIN-Norm für den Wasserlinsentest berücksichtigen diese bildanalytische Weiterentwicklung der Auswertungstechnik.