

VEREIN
DEUTSCHER
INGENIEUREBiologische Verfahren zur Erfassung der Wirkung
von Luftverunreinigungen (Bioindikation)
Passives Biomonitoring mit Regenwürmern als
Akkumulationsindikatoren

VDI 4230

Blatt 2 / Part 2

Biological procedures to determine effects of
air pollutants (bioindication)
Biomonitoring with earthwormsAusg. deutsch/englisch
Issue German/English*Der Entwurf dieser Richtlinie wurde mit Ankündigung im Bundesanzeiger einem öffentlichen Einspruchsverfahren unterworfen.**Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.**The draft of this guideline has been subject to public scrutiny after announcement in the Bundesanzeiger (Federal Gazette).**The German version of this guideline shall be taken as authoritative. No guarantee can be given with respect to the English translation.*

Inhalt	Seite	Contents	Page
Vorbemerkung	2	Preliminary note	2
Einleitung	2	Introduction	2
1 Anwendungsbereich	3	1 Scope	3
2 Grundlage des Verfahrens	4	2 Basic principles of the method	4
2.1 Artenauswahl	4	2.1 Choice of species	4
2.2 Zielkompartimente	6	2.2 Target compartments	6
2.3 Ansatz zur flächenrepräsentativen Probenahme	8	2.3 Approach to area-representative sampling	8
3 Durchführung des Verfahrens	9	3 Execution of the procedure	9
3.1 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße	9	3.1 Selection of individuals and sample size	9
3.2 Probenahmezeitraum	9	3.2 Sampling period	9
3.3 Methoden der Probenahme	9	3.3 Sampling methods	9
3.4 Weiterbehandlung der Proben.	11	3.4 Sample treatment	11
3.5 Bezugsgrößen	12	3.5 Reference values	12
4 Zubehör und Anforderungen.	13	4 Equipment and requirements	13
5 Qualitätssicherung	14	5 Quality assurance	14
6 Dokumentation	15	6 Documentation	15
Anhang Beispiele für Probendatenblätter	16	Annex Examples of sample data sheets	17
Schrifttum.	24	Bibliography	24

Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN – Normenausschuss KRdL

Arbeitsgruppe Wirkungen von Luftverunreinigungen auf wildlebende Tiere

VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1a: Maximale Immissions-Werte

Vorbemerkung

Der Inhalt dieser Richtlinie ist entstanden unter Beachtung der Vorgaben und Empfehlungen der Richtlinie VDI 1000.

Alle Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, der Fotokopie, der elektronischen Verwendung und der Übersetzung, jeweils auszugsweise oder vollständig, sind vorbehalten.

Die Nutzung dieser VDI-Richtlinie ist unter Wahrung des Urheberrechts und unter Beachtung der Lizenzbedingungen (www.vdi-richtlinien.de), die in den VDI-Merkblättern geregelt sind, möglich.

Allen, die ehrenamtlich an der Erarbeitung dieser VDI-Richtlinie mitgewirkt haben, sei gedankt.

Einleitung

Unter den Regenwürmern halten sich einige ökologisch besonders wichtige Arten (vor allem *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus* und *Aporrectodea longa*) zur Nahrungsaufnahme an der Bodenoberfläche auf und eignen sich daher als Indikatoren für Luftschadstoffe wie polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe, die auf der Vegetation abgelagert werden und bei deren Absterben auf den Boden gelangen. Diese Regenwurmart sind als bodenbewohnende Organismen auf sehr unterschiedliche Weise an den komplexen Prozessen der Bodenentwicklung beteiligt und nehmen als Saprophage eine zentrale Stellung bei der Umsetzung von organischer Materie und der daran gebundenen Energie (Destruktion) ein [1; 2; 3]. Sie erfüllen zahlreiche Funktionen in ihren Lebensräumen [4; 5; 6], z.B.:

- Zerkleinerung der toten organischen Substanz und dadurch Beschleunigung der Abbaurate und des Umsatzes von Stoffen in Ökosystemen [7]
- Einarbeitung der toten organischen Substanz in den Mineralboden und dadurch Erhöhung der Bodenfruchtbarkeit [8]
- Auflockerung des Boden- und Humusgefüges durch die Anlage von Wohnröhren, was die Durchwurzelbarkeit des Bodens fördert [9]
- Steigerung der Wasserinfiltrationsrate durch die Anlage eines Röhrensystems und dadurch Verminderung der Bodenerosion [10]
- Erhöhung der Stabilität von Böden durch die Bildung von organo-mineralischen Verbindungen (Ton-Humus-Komplexe) im Darmtrakt der Regenwürmer
- Nahrungsressource für Angehörige anderer trophischer Ebenen [11]

Preliminary note

The content of this guideline has been developed in strict accordance with the requirements and recommendations of the guideline VDI 1000.

All rights are reserved, including those of reprinting, reproduction (photocopying, micro copying), storage in data processing systems and translation, either of the full text or of extracts.

The use of this guideline without infringement of copyright is permitted subject to the licensing conditions specified in the VDI notices (www.vdi-richtlinien.de).

We wish to express our gratitude to all honorary contributors to this guideline.

Introduction

A number of earthworm species of particular ecological importance (above all *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, and *Aporrectodea longa*) forage on the surface of the soil and thus prove suitable as indicators for air pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons, which are deposited on vegetation and ultimately fall to the ground when the plants die. As soil-dwelling organisms, these earthworm species participate in a very wide variety of ways in the complex processes of soil development and as saprophages they play a central role in the conversion of organic materials and the energy stored therein (destruction) [1; 2; 3]. They fulfil numerous functions in their habitats [4; 5; 6], e.g.:

- Size reduction of dead organic material and concomitant acceleration of the rate of degradation and the turnover of materials in ecosystems [7]
- Incorporation of dead organic material into mineral soil, thereby enhancing its fertility [8]
- Loosening of soil and humus structure through extensive burrowing, promoting penetration of the soil by roots [9]
- Enhancement of the rate of water infiltration through burrowing, thus reducing soil erosion [10]
- Improvement of soil stability through formation of organo-mineral compounds (clay-humus complexes) in the intestinal tract of the earthworms
- Food resource for organisms belonging to other trophic levels [11]

Die intensive Beteiligung an den Nährstoffkreisläufen exponiert die Regenwürmer in extremer Weise für alle im Ökosystem befindlichen Stoffe und hat zur Folge, dass beim Vorhandensein toxischer Substanzen ein großes Gefährdungspotenzial für die darauf aufbauenden Nahrungsketten existiert. Dies hat sehr häufig dazu geführt, einige Vertreter dieser Gruppe als Akkumulationsindikatoren im Freiland und Labor zu untersuchen und in Überwachungsprogrammen einzusetzen [12 bis 36]. In diesem Zusammenhang sind die OECD-Richtlinie für die Chemikalien-Testung (OECD No 305, [37]), der Standard der amerikanischen Gesellschaft für Materialprüfung (ASTM E 1676-04), das EU „Technical Guidance Document“ (TGD Edition 2) und die entsprechende Richtlinie der Umweltprobenbank des Bundes [38] besonders zu erwähnen, weil auf diesen Erfahrungen aufgebaut werden kann [39 bis 42].

Die Standardisierung und Implementierung einer allgemein akzeptierten Vorgehensweise zur Bestimmung der Bioakkumulation in kontaminierten Böden kann einen bedeutenden Beitrag zur Bewertung von Stoffeinträgen (Kontaminanten) in terrestrischen Ökosystemen (EPPO PP3/7(2); [43]) leisten. Die Höhe der Anreicherungen erlaubt es, Belastungsschwerpunkte und/oder Zonen unterschiedlicher Belastung auszuweisen und die Gefährdung von Schutzgütern abzuschätzen. Eine vergleichende Bewertung kann mit Ergebnissen anderer Untersuchungen vorgenommen werden. Die Ergebnisse sind ein relatives Maß für eine Immissionsbelastung und können Hinweise auf Anreicherungen von Chemikalien in Nahrungsnetzen geben.

Für die Bewertung der Ergebnisse stehen verschiedene Strategien zur Verfügung:

- Vergleich mit Ergebnissen anderer Untersuchungen
- relativer Vergleich von Messpunkten untereinander
- Vergleich mit Richt-/Grenzwerten zur Abschätzung, ob eine Gefährdung vorliegt

1 Anwendungsbereich

Grundsätzlich können zwei verschiedene Anwendungsbereiche für diese Richtlinie unterschieden werden:

- Anwendungsbereich 1:
Feststellung einer Schadstoffkonzentration im Gewebe des Regenwurms (plus eventuell separat im Darminhalt) als Erhebung von langfristigen Schadstoffkonzentrationen in terrestrischen Ökosystemen (siehe z.B. Umweltprobenbank [38]).

Their intensive participation in the nutrient cycles means that earthworms are highly exposed to all substances present in the ecosystem, with the consequence that a considerable hazard potential exists for food chains based on earthworms if toxic substances are present. This has very frequently led to investigation of some of the representatives of these species as accumulation indicators in the field and in the laboratory and to their use in monitoring programmes [12 to 36]. In this context, particular mention should be made of the OECD Guideline for the Testing of Chemicals (OECD No 305, [37]), the Standard of the American Society for Testing and Materials (ASTM E 1676-04), the EU “Technical Guidance Document” (TGD Edition 2), and the corresponding Guideline of the German Environmental Specimen Bank [38], because these publications provide a foundation for future work [39 to 42].

Standardisation and implementation of a generally accepted procedure for the determination of bioaccumulation in contaminated soils can make a significant contribution to the evaluation of contaminants in terrestrial ecosystems (EPPO PP3/7(2); [43]). The degree of accumulation permits identification of areas of high pollution and/or zones of differing pollution levels and estimation of the threat to protection goods. A comparative assessment can be undertaken with the results of other studies. The results provide a relative measure for immission levels and can provide information about the accumulation of chemicals in food webs.

A variety of strategies can be adopted in evaluating the results:

- comparison with the results of other studies
- relative comparison of measurements with one another
- comparison with reference/limit values to estimate whether a hazard exists

1 Scope

In principle two different areas of application can be distinguished for this guideline:

- Application area 1:
Determination of a pollutant concentration in earthworm tissue (possibly also separately in the content of the gut) as a method of surveying long-term pollutant concentrations in terrestrial ecosystems (see, e.g., the German Environmental Speci-

Durch den Fokus auf das Regenwurmgewebe ohne Darminhalt kann die quantitative und qualitative Variabilität, die hauptsächlich durch den Darminhalt zustande kommt, verringert und die Vergleichbarkeit der Daten über große Zeiträume gewährleistet werden.

- Anwendungsbereich 2:

Feststellung der Schadstoffkonzentration in Regenwürmern (Gewebe plus Darminhalt), um die möglichen Wirkungen von Schadstoffen auf die terrestrischen Nahrungsnetze/Nahrungsketten zu bestimmen („secondary poisoning approach“). Hier ist das Ziel, das Risiko für die (End-)Konsumenten wie Vögel und Säugetiere abzuschätzen, das durch eine Aufkonzentrierung von Schadstoffen durch die Nahrungsaufnahme zustande kommt.

In beiden Anwendungsbereichen werden Regenwürmer als Akkumulationsindikatoren eingesetzt. Sie repräsentieren damit allgemein Bodeninvertebraten, mit denen Aussagen über die Qualität des Umweltkompartiments Boden getroffen werden können. Im Allgemeinen sind die methodischen Unterschiede zwischen den beiden Ansätzen klein, allerdings an einigen Stellen, z.B. der Präparation der Würmer mit oder ohne Darminhalt, sind die Unterschiede so groß, dass sie parallel dargestellt werden.

Es gibt mehr Anwendungen als die exemplarisch dargestellten. Daher sollten vor dem Gebrauch dieser Richtlinie das Ziel und die Vorgehensweise für die geplante Untersuchung klar festgelegt werden (z.B. Langzeituntersuchungen, emittentenbezogene Untersuchungen). Um diesen Schritt zu vereinfachen, werden in dieser Richtlinie praktische Hinweise als Entscheidungshilfen gegeben oder zumindest Literaturangaben genannt.

2 Grundlage des Verfahrens

2.1 Artenauswahl

Für alle Anwendungsbereiche müssen Arten ausgewählt werden, die folgende Kriterien erfüllen:

- große ökologische Bedeutung
- Verfügbarkeit und hohe Biomasse
- weite Verbreitung
- Bestimmbarkeit im Gelände

Bei den Regenwürmern können drei ökologische Gruppen unterschieden werden [44] (Bild 1). Die Gruppe der epigäischen (u.a. *Lumbricus rubellus*) besiedelt die organische Auflage und durchwühlt den Mineralboden nur an der Grenze zum Auflagehumus. Sie ernährt sich überwiegend saprophag (humusfres-

men Bank [38]). Focusing on earthworm tissue without the content of the gut can reduce quantitative and qualitative variability, which arises primarily from the gut content, and assure comparability of the data over long time periods.

- Application area 2:

Determination of the pollutant concentration in earthworms (tissue plus content of the gut) in order to establish the possible effects of pollutants on the terrestrial food webs/food chains (“secondary poisoning approach”). The objective in this case is to estimate the risk to the (end-)consumers such as birds and mammals arising from accumulation of pollutants through ingestion of food.

Earthworms serve as indicators of accumulation in both application areas. They thus represent soil invertebrates in general, which permit statements to be made about the quality of soil as an environmental compartment. Generally, there are only slight differences between the methods used in the two approaches. However, in a number of points, e.g. preparation of the worms with or without gut content, the differences are so great that they are presented in parallel.

There are more applications than those presented here as examples. The objective and the procedure to be adopted in the projected study should be clearly defined before using this guideline (e.g. long-term studies, source-related studies). This guideline contains practical criteria as decision aids or at least cites relevant literature.

2 Basic principles of the method

2.1 Choice of species

Species have to be selected for all areas of application which fulfil the following criteria:

- great ecological significance
- availability and high biomass
- wide distribution
- identifiable in the field

Three ecological groups of earthworms can be distinguished [44] (Figure 1). The group of epigeic worms (inter alia, *Lumbricus rubellus*) lives in the organic surface litter layer and disturbs the soil only at the interface to the surface layer of humus. It is primarily saprophagous (humus eating). The group of