

Bioverfügbarkeit von gealterten Kupferrückständen in Weinbergböden

Matthias Weidenauer

Battelle AgriFood Schweiz

weidenauer@battelle.org

EUROPEAN UNION COPPER TASK



European Union Copper Task Force

- 13 Mitgliedsfirmen:

- Agri Estrella S. de R.L. de C.V.
- Cerexagri s.a.
- Cinkarna - Metallurgical & Chemical Industry Celje, INC.
- DuPont de Nemours (France) S.A.S.
- n.v. Erachem Comilog s.a.
- Industrias Químicas Del Valles, S.A.
- Isagro S.p.A.
- Manica SpA
- Montanwerke Brixlegg AG
- Nordox AS
- Nufarm GmbH & Co KG
- Sales y Derivados de Cobre S.A.
- Spieß-Urania Chemicals GmbH

- Wissenschaftliches und Leitungskomitee

BUSINESS SENSITIVE

2

EUROPEAN UNION COPPER TASK



European Union Copper Task Force

- Ziel der Task Force:

- Aufnahme von Kupferverbindungen in Annex I der Richtlinie 91/414/EWG (Tomaten, Weinbau)
- Als Aktivsubstanz nach Anforderungen des Annex II
 - Kupferhydroxid Kupferkalkbrühe (Bordeaux mixture)
 - Kupferoxychlorid Dreibasisches Kupfersulfat
 - Kupferoxid

- Aufnahmerichtlinie 2009/37/EG: Cu für 7 Jahre

- Bedingungen Antragsteller (30. Nov.2011):
 - Inhalationsrisiko
 - Risikobewertung für Nicht-Zielorganismen, Böden und Gewässer
- Mitgliedsstaaten:
 - Programm zur Überwachung des Bodens gefährdeter Gebiete

BUSINESS SENSITIVE

3



Bioverfügbarkeit und Alterung

- Toxizität von Kupfer im Boden abhängig von
 - Bodenart (pH, KAK, organischer Kohlenstoff)
 - Alter der Rückstände
- Ergebnisse für Einfluß auf Makro- und Mikro-Organismen des Bodens scheinbar widersprüchlich

• Konzept der Bioverfügbarkeit

- Regressionsmodell entwickelt von ECI (VRAR)
 - http://echa.europa.eu/chem_data/transit_measures/vrar_en.asp
 - Korrelationen von Toxizität für verschiedene Bodenorganismen mit pH, KAK, organischem Material, Ton
 - Akzeptiert vom SCHER Ausschuss, mit Einschränkung für landwirtschaftliche Szenarien/Böden



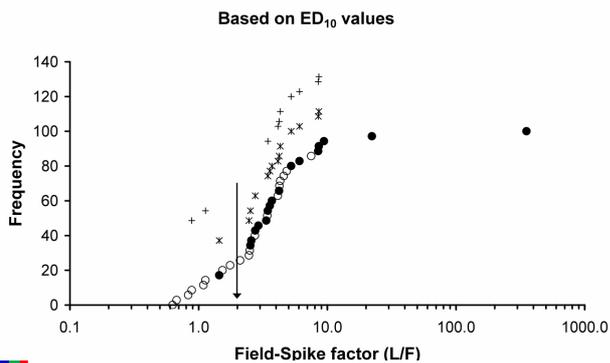
BUSINESS SENSITIVE

1



Regressionsmodell für PNEC

- Ökotoxtests (Pflanzen, Mikro-Organismen, Invertebrate) mit frisch zugesetztem Cu in verschiedenen Böden
- Auswahl des NOEC aus erstellter Datenbank
- Gleiche Ökotoxtests mit frischen und gealterten Cu-Rückständen in gleichen Böden



Bestimmung eines
Alterungs (leaching/ageing)
Faktors:
Für Cu L/A = 2

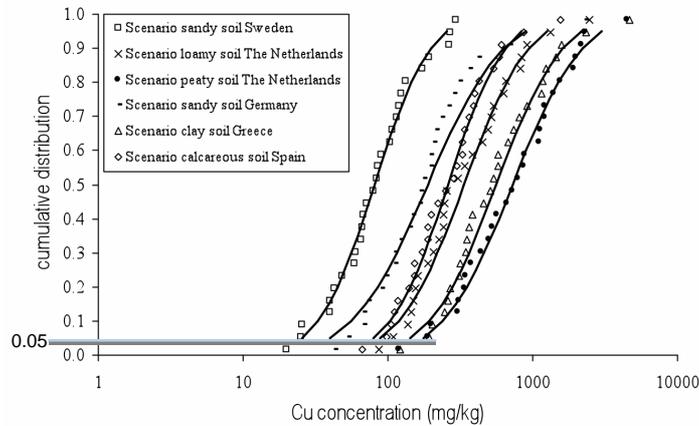
BUSINESS SENSITIVE

5



Bestimmung von Bodenspezifischen PNECs

Für Cu:
PNEC variiert
zwischen
20 – 200 mg/kg
je nach
Bodentyp



Task Force erweitert das Modell für landwirtschaftlich relevante Szenarien:
L/A Faktor für Weinbergböden

BUSINESS SENSITIVE

6



Bodenauswahl



- Verschiedene Bodentypen
- Möglichst hoher Cu-Rückstand
- Gradient auf dem Feld
- Geeignete Kontrolle

BUSINESS SENSITIVE

7



Eigenschaften der Böden

Gradient 1

Cu _{tot}	pH	CEC
92	7.5	36
234	7.6	20
321	7.4	33
365	7.3	31
391	7.5	34

Gradient 2

Cu _{tot}	pH	CEC
44	7.35	18
146	7.31	18
303	7.15	23
341	7.29	20
400	7.05	37
402	7.12	25

Gradient 3

Cu _{tot}	pH	CEC
93	7.54	15
120	7.51	18
172	7.55	17
307	7.5	24
340	7.51	14
380	7.46	20

Gradient 4

Cu _{tot}	pH	CEC
101	7.49	36
258	7.29	38
291	7.26	36
305	7.23	34
349	7.31	37

Gradient 5

Cu _{tot}	pH	CEC
101	7.34	23
161	7.41	23
247	7.13	23
231	7.29	23
389	7.27	32
435	7.28	32
502	6.82	19

Gradient 6

Cu _{tot}	pH	CEC
23	7.38	17
201	5.93	10
425	6.83	22
531	6.78	14
689	6.88	23

Erste Linie: Kontrolle
Cu_{tot} in mg/kg



Eigenschaften der Böden

Gradient 7

Cu _{tot}	pH	CEC
105	7.35	16
194	7.41	18
272	7.46	20
425	7.34	35
448	7.17	17

Gradient 8

Cu _{tot}	pH	CEC
65	7.22	29
276	7.33	21
335	7.22	21
360	7.28	22
418	7.34	21
516	7.33	21

Gradient 9

Cu _{tot}	pH	CEC
74	5.73	11
142	6.65	17
304	6.75	19
364	6.71	20
491	6.76	19
513	6.76	23

Gradient 10

Cu _{tot}	pH	CEC
105	6.5	6
159	6.36	20
237	6.93	16
321	6.87	19
376	6.83	20
435	6.87	19

Gradient 12

Cu _{tot}	pH	CEC
66	7.67	15
155	7.55	15
187	7.58	17
328	7.41	18
389	7.45	18
397	7.37	15
455	7.33	19

Erste Linie: Kontrolle
Cu_{tot} in mg/kg
Parameter bestimmt
nach Smolders 2004

Sand: 19 – 71%
Ton: 9 – 41%
Schluff: 7 – 46%



Versuchsbedingungen

- Kontrollboden mit 5 Aufstockungen versetzt
 - 100, 200, 400, 800, 1600 mg/kg als CuCl_2
- Alle Proben eines Bodengradienten getestet
- Wassergehalt eingestellt (max 70% pF2)
- Oekotoxtests mit 3 trophischen Levels:
 - Pflanze (Wurzellänge Gerste) ISO 11269-1 (2005); alle 11 Böden
 - Pflanze (Tomate Wachstum) ISO 11269-2 (2005); Böden 6 -12
 - Nitrifikation (Substrat induziert) ISO 14238-1 (1997); Böden 6 – 12
 - Nitrifikation (Potentielle Rate bei unlimitiertem Substrat) Böden 6 – 12
 - Invertebrate (Reproduktion *Enchytraeus albidus*) OECD 220 (2004a) Böden 6 – 12 (z.Z. noch im Gange)



Versuchsauswertung

- Dosis/Wirkungs Kurven für jeden Test erstellt als Funktion der Kupferzugabe (nach Abzug Kontrollwert)
 - Fit nach Doelman and Haansrta 1989, Marquart Methode (SAS 9.2)
- Vergleich von ED50 bzw. ED10 mit Resultaten der Böden mit gealterten Rückständen (Alterungsfaktor):

$$L/A \text{ factor} = \frac{ED10 \text{ field} = C2}{ED10 \text{ spiked} = C1} \quad (\text{Eqn. 2})$$

$$\text{minimal } L/A \text{ factor} = \frac{C_{max}}{ED10 \text{ spiked} = C1} \quad (\text{Eqn. 3})$$

- Zusätzliche Korrektur für Unterschiede in KAK:

$$C_{max \text{ corr}} = C_{max} \times \left[\frac{eCEC_{\text{control soil}}}{eCEC_{C_{max}}} \right]^{\text{bioassay slope ED50}} \quad \text{Eqn. (6)}$$



Ergebnisse - Pflanzentest Wurzellänge Gerste

	Root length (mm)	stdev (n=3)	ED10 (mg Cu/kg)	95% confidence interval	ED50 (mg Cu/kg)	95% confidence interval
Gradient 1	62	5	86	[53; 140]	620	[506; 759]
Gradient 2	92	1	224	[188; 266]	458	[420; 499]
Gradient 3	65	4	15	[5; 50]	201	[124; 326]
Gradient 4	45	11	637	[213; 1903]	1363	[966; 1922]
Gradient 5	88	6	105	[56; 198]	481	[362; 639]
Gradient 6	55	1	117	[64; 214]	538	[408; 709]
Gradient 7	80	16	23	[4; 130]	240	[120; 480]
Gradient 8	79	12	399	[233; 684]	937	[755; 1162]
Gradient 9	108	3	186	[159; 218]	441	[412; 471]
Gradient 10	77	5	122	[62; 242]	432	[326; 571]
Gradient 12	28	9	60	[9; 391]	638	[240; 1694]

➤ Frisch aufgestockt mit Cu

	C _{max} (mg added Cu/kg)	C _{max,corr} (mg added Cu/kg)	Root length (% relative to control)	stdev (n=3)	Expected Response (%)
Gradient 1	306	314	143	13	67 [55; 79]
Gradient 2	360	283	101	7	85 [71; 98]
Gradient 3	287	244	102	13	55 [35; 75]
Gradient 4	248	243	145	12	94 [44; 144]
Gradient 5	401	462	99	5	56 [36; 77]
Gradient 6	666	546	139	5	50 [28; 71]
Gradient 7	345	329	122	13	42 [8; 76]
Gradient 8	451	561	92	39	84 [55; 112]
Gradient 9	440	272	80	6	77 [69; 85]
Gradient 10	330	175	113	14	78 [59; 98]
Gradient 12	390	334	229	25	70 [14; 127]

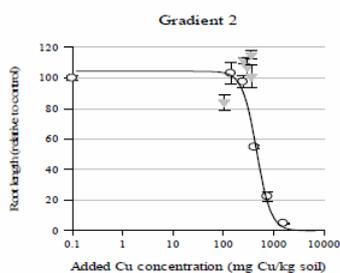
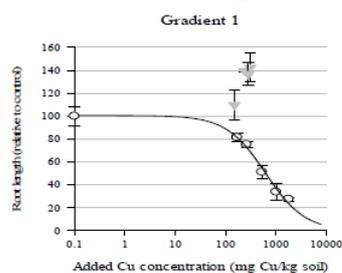
➤ Gealterte Cu Rückstände und erwartetes Ergebnis

BUSINESS SENSITIVE

12

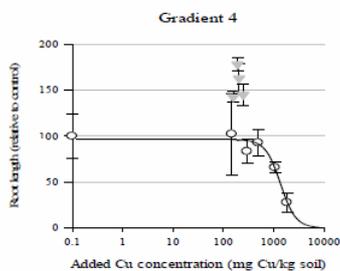
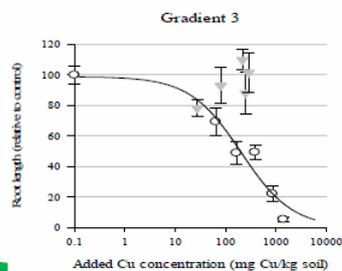


Ergebnisse - Pflanzentest Wurzellänge Gerstebnisse



○ frisch Aufgestockt

▽ Gealterte Rückstände



BUSINESS SENSITIVE

13



Überblick Ergebnisse

	Pflanze		Nitrifikation		Invertebrate
	Tomate	Wurzel	PNR	SIN	
Gradient 1		>3.7			
Gradient 2		>1.3			
Gradient 3		>15.9			
Gradient 4		>0.4			
Gradient 5		>4.4			
Gradient 6	>2.1	>4.7	>4.1	>0.58	>1.7
Gradient 7	>1.0	>14.5	>3.1	ND	
Gradient 8	>4.2	>1.4	>1.6	>0.42	
Gradient 9	>0.8	>1.5	>0.7	>0.5	
Gradient 10	>0.8	>1.4	>0.8	>0.3	
Gradient 12	>3.9	>5.5	>8.1	>0.2	
Median	>1.5	>3.7	>2.4		
Mittelwert	>2.1	>5.0	>3.1	>0.4	
Sd	1.5	5.3	2.4	0.1	
Gesamtmittelwert		>3.7			
sd		4.1			

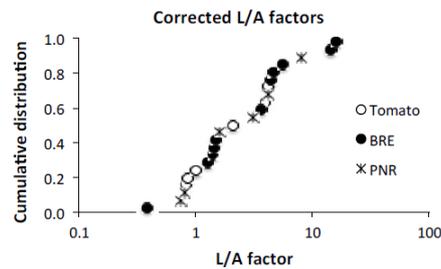
BUSINESS SENSITIVE

14



Schlußfolgerung

Gradient	Cu max mg Cu/kg	PNECtotal mg Cu/kg	Cumax/PN EC
			L/A factor = 4.0
1	391	227	1.7
2	402	207	1.9
3	380	159	2.4
4	349	255	1.4
5	502	185	2.7
6	689	193	3.6
7	448	169	2.7
8	516	173	3.0
9	513	206	2.5
10	435	175	2.5
12	455	173	2.6
Min	349	159	1.4
Median	448	185	2.5
Max	689	255	3.6



- Der Alterungsfaktor 2 (VRAR) wurde für zu niedrig befunden, da resultierende PNECs weit unter Cu max liegen

- Ein Alterungsfaktor von 4.0 wird vorgeschlagen, mit resultierenden PNECs im Bereich 159-255mg/kg

BUSINESS SENSITIVE

15

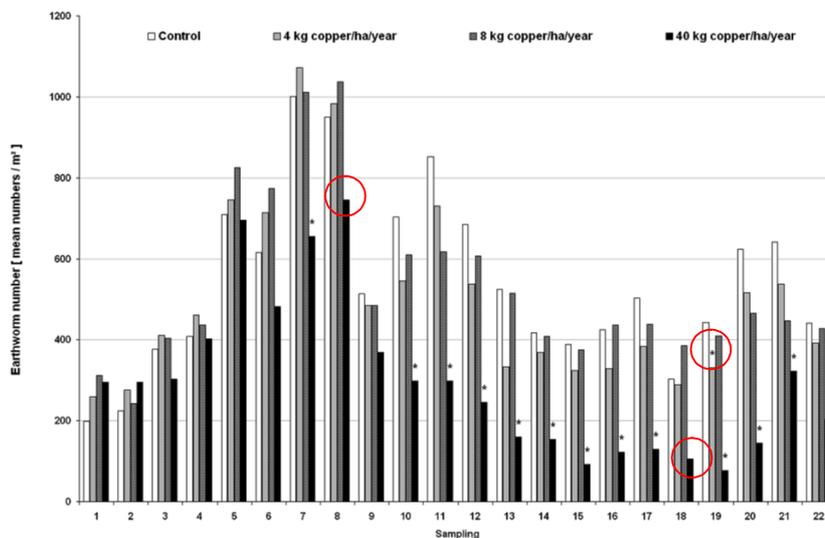


Langzeitfeldstudie - Regenwurm

- Klein et. al. 2011
- Studie im Jahr 2003 begonnen
 - Richtlinie ISO 11268-3
 - 2 Standorte Süddeutschland (Gras)
 - Schluff (Us, Niefern), Lehm (Lt, Heiligenzimmern)
 - Jährliche Dosisraten 4 kg/ha, 8 kg/ha and 40 kg/ha
 - 3 Applikationen / Probenahme (Apr. Okt. und Dez.)
 - Endpunkte: Anzahl, Biomasse, Taxa, Bio-Akkumulation
- Kupfergehalt im Boden
 - Horizonte 0-5 cm, 5-30 cm
 - Gesamtkupfer und CaCl₂ Extrakt



Anzahl Regenwürmer - Niefern





Ergebnisse Niefern - Anzahl

Reductions ^{a)} in total earthworm abundance in %					
Field site	Year	Sampling	4 kg Copper/ha/year	8 kg Copper/ha/year	40 kg Copper/ha/year
Niefern	2003	1	-	-	-
		2	-	-	-
	2004	3	-	-	-
		4	-	-	-
		5	-	-	-
	2005	6	-	-	-
		7	-	-	34.5*
		8	-	-	-
	2006	9	-	-	-
		10	-	-	57.6*
		11	-	-	64.9*
	2007	12	-	-	64.1*
		13	-	-	69.6*
		14	-	-	63.2*
	2008	15	-	-	76.4*
		16	-	-	71.3*
		17	-	-	74.3*
	2009	18	-	-	-
		19	25.1*	-	82.8*
	2010	20	-	-	76.8*
		21	-	-	49.8*
	2011	22	-	-	53.9*

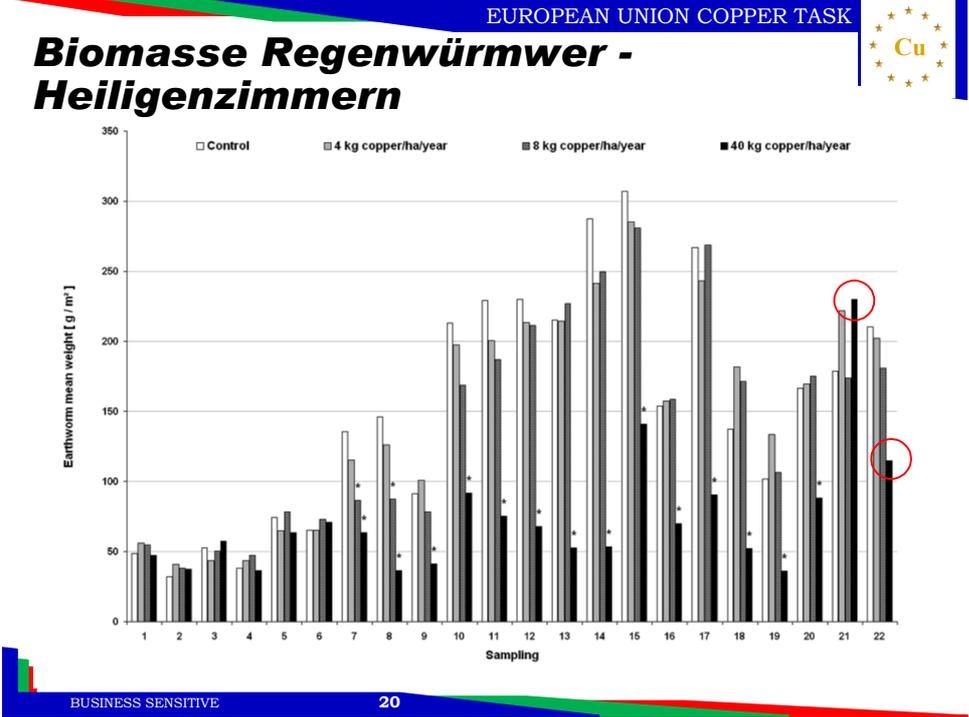
- Reduktion der Anzahl Regenwürmer %
- - keine signifikante Reduktion
- Nach Probenahme 19 keine weitere Applikation bei 40 kg Cu/ha/Jahr



Ergebnisse Heiligenzimmern - Anzahl

Reductions ^{a)} in total earthworm abundance in %					
Field site	Year	Sampling	4 kg Copper/ha/year	8 kg Copper/ha/year	40 kg Copper/ha/year
Heiligenzimmern	2003	1	-	-	-
		2	-	-	-
	2004	3	-	-	-
		4	-	-	-
		5	-	-	-
	2005	6	-	-	-
		7	-	-	-
		8	-	-	45.9*
	2006	9	-	-	-
		10	-	-	43.3*
		11	-	-	50.4*
	2007	12	-	22.8*	48.2*
		13	-	-	83.7*
		14	-	26.0*	85.1*
	2008	15	-	-	65.1*
		16	-	-	62.0*
		17	-	-	65.6*
	2009	18	-	-	62.9*
		19	-	-	81.4*
	2010	20	-	-	78.0*
		21	-	-	65.1*
	2011	22	-	-	65.1*

- Reduktion der Anzahl Regenwürmer %
- - keine signifikante Reduktion
- Nach Probenahme 19 keine weitere Applikation bei 40 kg Cu/ha/Jahr



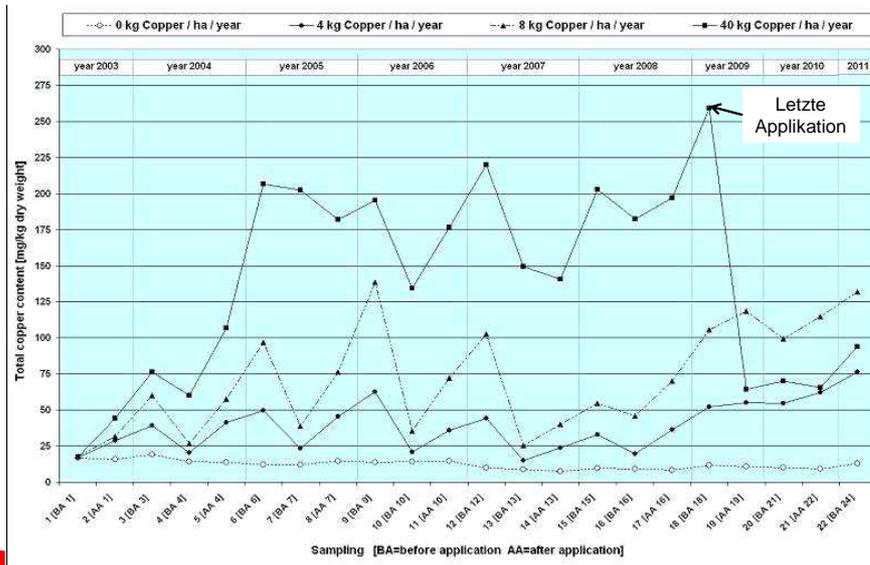
EUROPEAN UNION COPPER TASK

Resultate Gruppen + Einzelspezies

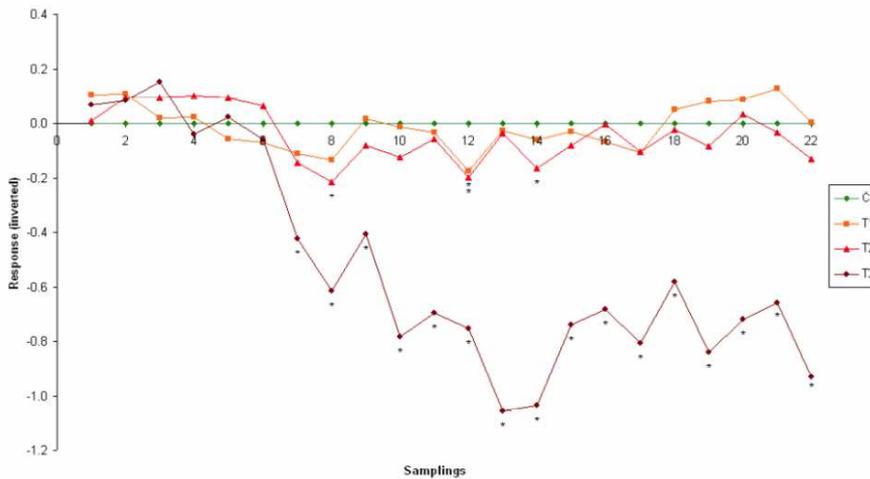
Reductions ^{*)} in earthworm abundance in %							
Earthworm species/group	Year	Sampling	4 kg Copper/ha/year	8 kg Copper/ha/year	40 kg Copper/ha/year		
Epigeic earthworms	2004	3	80.0*	84.0*	96.0*		
		4	-	-	64.8*		
		9	-	57.8*	85.3*		
		13	-	-	60.9*		
		14	-	-	76.2*		
		2008	15	-	-	78.6*	
	2009	19	-	-	80.6*		
		2010	20	-	-	62.7*	
		Endogeic earthworms	2006	11	-	-	60.1*
			2008	16	-	-	81.3*
			2009	19	48.5*	-	64.4*
			2010	20	-	-	63.0*
2011	21		-	-	76.0*		
2011	22		-	-	66.9*		
Total juvenile earthworms	2005	7	-	-	41.8*		
		10	-	-	65.7*		
		11	-	-	68.5*		
	2006	12	-	-	71.8*		
		13	-	-	80.5*		
		14	-	-	78.4*		
	2007	15	-	-	83.3*		
		16	-	-	72.7*		
		17	-	-	83.6*		
	2008	18	-	-	73.4*		
		19	-	-	89.6*		
		20	-	-	83.5*		
	2009	21	-	-	58.3*		
		22	-	-	60.1*		
		2010	6	-	-	31.2*	
	2006		11	-	-	51.4*	
	2008		16	-	-	69.0*	
	Total adult earthworms	2009	19	27.9*	-	71.8*	
2010		20	-	-	63.6*		
2011		22	-	-	45.3*		
Earthworm species/group		Aporrectodea caliginosa	2006	11	-	-	72.4*
			2007	13	-	-	88.4*
			2008	16	-	-	95.1*
			2009	17	-	-	94.0*
			2009	19	64.2*	-	87.3*
			2010	20	-	-	87.9*
			2011	21	-	-	93.9*
	2011		22	-	-	93.4*	
	Aporrectodea rosea		2008	16	-	-	92.1*
			2009	19	-	-	98.0*
			2010	20	-	-	93.6*
	Lumbricus rubellus	2011	21	-	-	95.1*	
		2011	22	-	-	97.6*	
		2004	3	80.0*	84.0*	96.0*	
		2005	8	-	-	58.8*	
		2006	9	55.6*	52.8*	80.6*	
		2007	13	-	-	68.0*	
	Tanylobous juvenile earthworms	2004	3	-	-	66.4*	
		2005	6	-	-	63.5*	
			7	-	-	43.7*	
		2006	9	-	-	66.7*	
			10	39.1*	32.3*	82.3*	
11			-	-	74.3*		
2007		12	43.0*	-	82.1*		
		13	50.7*	-	92.3*		
		14	-	-	86.8*		
2008		15	-	-	92.4*		
		16	-	-	82.9*		
	17	-	-	89.9*			
2009	18	-	-	85.0*			
	19	-	-	93.5*			
	20	-	-	83.8*			
Epilobous juvenile earthworms	2010	10	-	-	54.5*		
	2006	11	-	-	64.5*		
		13	-	-	70.8*		
	2007	14	-	-	72.9*		
		17	-	-	75.1*		
	2008	19	-	-	85.3*		
	2010	20	-	-	83.3*		
		21	-	-	88.9*		
		22	-	-	82.7*		

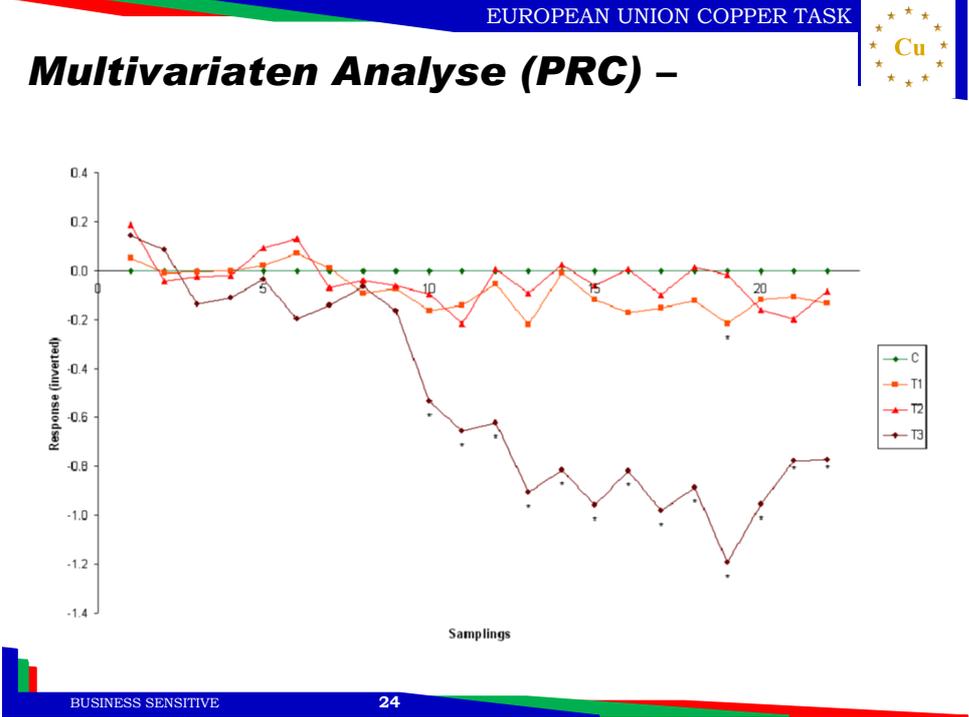
BUSINESS SENSITIVE 21

Kupfergehalt im Regenwurm



Multivariaten Analyse (PRC) – Nieferrn





EUROPEAN UNION COPPER TASK



Lineare gemischte Modelle (LMM)

p = 0.05		Sampling																				
treatment T1		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
<i>A. caliginosan</i>																						
<i>A. limicolan</i>																						
<i>A. longan</i>																						
<i>A. rosea</i>																						
<i>L. rubellusn</i>																						
<i>L. terrestrisn</i>																						
tanylobous juveniles																						
epilobous juveniles																						
epigeic earthworms																						
endogic earthworms																						
anecic earthworms																						
total juveniles																						
total adults																						
total earthworms																						

p = 0.05		Sampling																				
treatment T3		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
<i>A. caliginosan</i>																						
<i>A. limicolan</i>																						
<i>A. longan</i>																						
<i>A. rosea</i>																						
<i>L. rubellusn</i>																						
<i>L. terrestrisn</i>																						
tanylobous juveniles																						
epilobous juveniles																						
epigeic earthworms																						
endogic earthworms																						
anecic earthworms																						
total juveniles																						
total adults																						
total earthworms																						

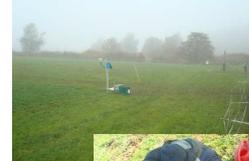
- Standort Niefern
- T2 (8 kg/ha)
- Signifikanz mit Tukey+LSD *
- Nur LSD ()
- T3 (40 kg/ha)
- Signifikanz mit Tukey+LSD *
- Nur LSD ()

BUSINESS SENSITIVE 25



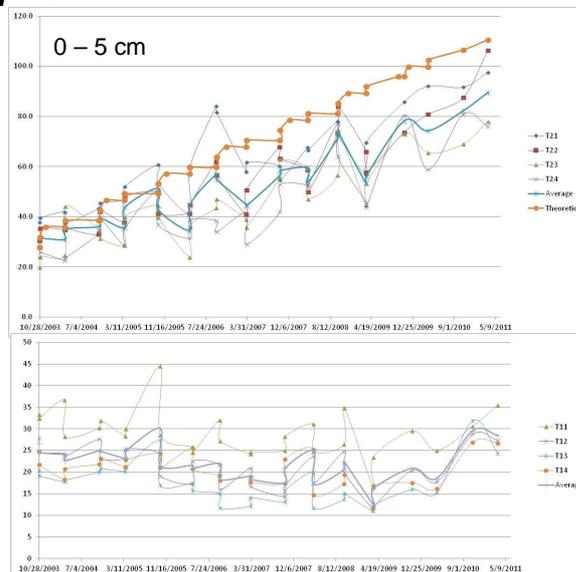
Regenwurm Feldstudie mit Cu

- Ergebnisse nach 8 Jahren
 - Keine statistisch signifikanten Effekte bei 4 kg/ha/Jahr über den gesamten Zeitraum
 - Probenahme 2 erhöhte, 19 verringerte Anzahl
 - Keine statistisch signifikanten Effekte bei 8 kg/ha/Jahr über den gesamten Zeitraum
 - Probenahmen 12 und 14 verringerte Anzahl
 - Multivariaten Analyse (PRC) und lineare gemischte Modelle zeigen keine Effekte für 4 und 8 kg/ha/Jahr
 - Effekte deutlich bei 40 kg/ha/Jahr
 - Applikation von 40 kg/ha in 2009 gestoppt
 - Biomasse nimmt wieder zu



Feldstudie – Kupfer im Boden

- Standort Niefern
 - 8 kg/ha
 - 4 Replikate
 - Kein Austrag
 - Werte in mg/kg
- Cu Akkumulation
 - Auf 0-5 cm begrenzt
 - 5-30 cm nimmt ab
 - 0-30 cm Durchschnitt zeigt kaum Anstieg





Langzeitstudie Regenwurm / Bodenakkumulation

- Keine Effekte auf Regenwürmer bei 8 kg/ha/Jahr
 - Bodenkonzentration nach 8 Jahren bei ca. 95 mg/kg
 - Am oberen Ende der UBA Studie Römbke & Jentsch
 - SSD HC5 = 55 mg/kg (27.7 – 92.4)
- Massenbilanz verbessert
 - Gefundene Kupfermengen bleiben z.T. leicht hinter Erwartung zurück
 - Weitergehende analytische Anstrengungen unternommen
 - Run-off Studie zeigt, daß kein Kupfer weggespült wird
 - Grasabfall (litter) wird nicht ausgetragen und mitbeprobt
 - Aqua regia Aufschluß liefert gleiches Ergebnis wie Totalaufschluß



Reduktion von Kupfer

- Die EU Copper Task Force hat notwendige Daten erarbeitet, um die EU-Zulassung von Kupferpräparaten zu bestätigen
- Die Resultate erlauben die Ableitung einer sicheren Nutzung von Kupfer bis zu 8 kg/ha/Jahr
- Die EUCuTF unterstützt die Reduktion von Kupfergaben auf die zum Erzielen des gewünschten Effekts minimal notwendige Dosis
 - Wirksamkeitsstudien im Gange
- Die Risikobewertung für Boden insbesondere gealterter Rückstände sollte standortspezifisch erfolgen, unter Inbetrachtung von Bodenparametern und Alterungsfaktoren