

## INTER-LABORVERGLEICH VON 10- BIS 42-TAGE-TESTS MIT *HYALELLA AZTECA*

### INTER-LABORATORY COMPARISON OF *HYALELLA AZTECA* EXPOSURE TESTS LASTING 10–42 DAYS

#### Hintergrund und Ziele

Der im Süßwasser lebende Mexikanische Flohkrebs *Hyalella azteca* (Fig. 1) ist ein epibenthischer Amphipode, der in engem Kontakt mit Süßwassersediment lebt. Um die Effekte sedimentgebundener Schadstoffe zu messen, sind mehrere biologische Testmethoden mit *H. azteca* über eine Dauer von 10 bis 42 Tagen verfügbar. Empfohlene Endpunkte sind die Überlebensrate und das Wachstum (10 bis 28 d Exposition) sowie Überlebensrate, Wachstum und Reproduktion (42 d). Bei bestimmten Testszenarien ist der Einsatz sedimentfreier Testmethoden erforderlich.

Das Fraunhofer IME nahm an einem von der U.S. Environmental Protection Agency (EPA) initiierten Inter-Laborvergleich zur Variabilität von *H. azteca* in sedimentfreien und sedimenthaltigen Testsystemen teil. Das Ziel der Studie war, die Verlässlichkeit der Methode für Toxizitätstests mit einer Expositionsdauer von 10 bis 42 Tagen zu bestätigen und geeignete Futtermittel sowie Wasserparameter zu testen.

#### Projektbeschreibung

Das Fraunhofer IME führte mit 23 weiteren Laboratorien sedimentfreie Studien mit *H. azteca* durch. Ziel des Inter-Laborvergleichs war es, den Einfluss neuer Futtermittelmischungen und Wasserbedingungen auf die Endpunkte Überlebensrate, Wachstum und Reproduktion von *H. azteca* in 10- bis 42-tägigen Wassereexpositionen zu untersuchen. Das Sediment wurde in diesen Studien durch Quarzsand ersetzt. In Kontrollwasser mit  $>15$  mg Cl<sup>-</sup>/L und  $>0,02$  mg Br<sup>-</sup>/L wurden zwei Fütterungsregimes getestet: (I) Gestufte Ration von Diatomeen (*Thalassiosira*) + gestufte Ration von TetraMin sowie (II) Ration von Hefecerophyll-Forellenfutter (YCT; 1800 mg/L Stamm) + gestufte Ration von TetraMin. Für die 42-tägige Kontrolle wurden folgende Akzeptanzkriterien festgelegt: Mittlere Überlebensrate  $\geq 80\%$ , mittleres Gewicht  $\geq 0,50$  mg/Individuum und mittlere Reproduktion  $\geq 6$  Jungtiere/Weibchen. In einer zusätzlichen, nur vom Fraunhofer IME durchgeführten Studie, wurde der

Effekt einer gestuften Ration der Grünalge (*Ankistrodesmus falcatus*) und TetraMin auf die genannten Endpunkte mit *H. azteca* erprobt.

#### Ergebnisse

*H. azteca*, die mit Diatomeen/TetraMin und YCT/TetraMin gefüttert wurden, erfüllten die Akzeptanzkriterien bei einer Testdauer von 10, 28 und 42 Tagen. Die Anwendung der Akzeptanzkriterien auf die Daten aus der Fütterungsstudie mit Grünalgen/TetraMin zeigte, dass auch mit diesem Futter in Tests über eine Dauer von 10 bis 42 Tagen konsistentes Wachstum und Reproduktion sowie akzeptable Überlebensraten von *H. azteca* erreicht werden können. Daten zu Überlebensraten sind in Figure 2 dargestellt. Daten aus dem zweiten Teil des Ringtests weisen jedoch auf eine bessere Entwicklung der Testtiere in sedimenthaltigen Tests im Vergleich zu sedimentfreien Tests hin.

#### Fazit

Der Inter-Laborvergleich bestätigte, dass die sedimentfreie Methode verlässlich ist und in Chemikaliendaten angewendet werden kann. Alle getesteten Futtermittelmischungen können für die Anwendung mit *H. azteca* empfohlen werden.

#### Auftraggeber / Sponsor

Die Teilnahme am Ringtest und die Durchführung weiterer Studien wurden durch Mittel der Fraunhofer-Gesellschaft finanziert.

#### Kooperationspartner / Cooperation partner

Chris Ivey, Chris Ingersoll and further colleagues from U.S. EPA;  
U.S. Geological Survey, Illinois Natural History Survey, Environment Canada and the Inter-lab testing consortium; Universität Koblenz-Landau, Bachelorarbeit von Johannes Mader zum Thema „Erprobung von Futtermittelmischungen für chronische Expositionsstudien mit *Hyalella azteca*“



## Background and aims

The freshwater amphipod *Hyalella azteca* (Fig. 1) is an epibenthic, sediment-burrowing detritivore that lives in close contact with freshwater sediments. Several biological tests lasting 10–42 days are available to measure the effects of sediment-associated contaminants on this species. The recommended endpoints are survival and growth (10–28 days) and survival, growth and reproduction (42 days). Water-only methods are recommended for certain test scenarios.

The Fraunhofer IME has joined an inter-laboratory comparative study initiated by the US Environmental Protection Agency to measure inter-laboratory variability in the *H. azteca* water and sediment tests. The goal is to determine the reliability of testing methods involving the exposure of this amphipod species to toxic contaminants for 10–42 days.

## Project description

Fraunhofer IME carried out *H. azteca* water-only exposure studies that were performed by 24 laboratories. The aim was to determine whether proposed new diets and water requirements allow survival and the consistent growth and reproduction of *H. azteca* in water-only exposure tests lasting 10–42 days. Sediment was replaced with quartz sand. Two treatments were tested in a control experiment with  $>15$  mg Cl<sup>-</sup>/L and  $>0.02$  mg Br<sup>-</sup>/L: first, a ramped ration of diatoms (*Thalassiosira* spp.) and TetraMin, and second a static ration of yeast-cerophyl-trout chow (YCT) equivalent to 1800 mg/L stock, plus a ramped ration of TetraMin. The test acceptability criteria (TAC) for the 42-day control were defined as mean survival  $\geq 80\%$ , mean weight  $\geq 0.50$  mg/individual, and mean reproduction  $\geq 6$  young/female. A supplementary study carried out by Fraunhofer IME tested the performance of *H. azteca* fed on a ramped ration of green algae (*Ankistrodesmus falcatulus*) and TetraMin.

## Results

*H. azteca* fed on diatoms/TetraMin and YCT/TetraMin generally showed an acceptable performance after 10, 28 and 42 days. TACs for the green algae/TetraMin approach also confirmed consistent growth and reproduction during exposures lasting 10–42 days. Survival data are shown in Figure 2. However, results from the second part of the ring test indicate that test animals perform better in sediment tests than water-only tests.

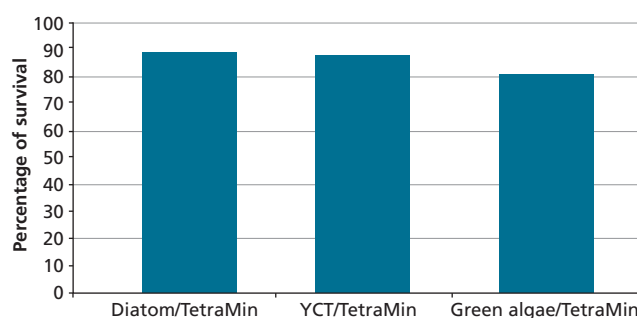


Figure 2: Percentage survival of *H. azteca* fed on different diets for 42 days in water-only tests (Fraunhofer IME).

## Conclusion

The inter-laboratory study confirmed that the water-only test with exposures lasting 10–42 days is reliable and suitable for chemical testing. All the diets tested can be recommended for use with *H. azteca*.

## Contact / Ansprechpartner

Prof. Dr. Christian Schlechtriem

Tel: +49 2972 302 -186

christian.slechchtriem@ime.fraunhofer.de

Figure 1: *Hyalella azteca*.