

NEWS | NOV 24

Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME

Sehr geehrte Freundinnen und Freunde des Fraunhofer IME,

auf der SETAC-Jahrestagung 2024 in Sevilla leistete das IME einen sichtbaren Beitrag: als Session Chairs im Organisationskommittee sowie als Autoren und Ko-Autoren von über 45 Vorträgen, Postern und Präsentationen. Lesen Sie über unsere SETAC-Themen Polymerabbau, molekulare Wirkungen und Bewertungskonzepte sowie das Portrait über unsere in Sevilla präsentierende Doktorandin Marie Winter.

Herzlichst, Ihr



Prof. Dr. Christoph Schäfers

Transcriptomic Point-of-Departure: Omics-Daten in die Regulierung bringen

Um Substanzen für den Markt zuzulassen, muss ihr Gefährdungspotenzial ermittelt werden. Je nach Anwendung/Produktionsvolumen beinhaltet dies die Bestimmung von Effektschwellen für schädliche Wirkungen in Fischen. Dazu notwendige Studien sind: Tierversuche, zeit- und kostenaufwendig, erfassen nur eine begrenzte Anzahl an Endpunkten, wie Mortalität, Wachstum oder Reproduktion, und lassen oft keine Rückschlüsse auf den genauen Wirkmechanismus zu. Die Europäischen Agenturen für Chemikalien (ECHA)

und Lebensmittelsicherheit (EFSA) regen in aktuellen Positionspapieren die Nutzung von OMICSs-Daten im Rahmen von 3R-konformen *New Approach Methodologies* (NAMs) zur (öko)toxikologischen Untersuchung und Priorisierung von Chemikalien an. Auf der SETAC 2024 stellten wir eine Fallstudie zur Nutzung des *transcriptomic Point-of-Departure* (tPOD) in der Ökotoxikologie vor, um quantitative Endpunkte aus RNA-Seq-Studien abzuleiten. Dazu ist die Verwendung transkriptomischer Daten im

Lesen Sie in dieser Ausgabe:

- tPOD
- Screening-Methoden für Polymer-Abbau
- Pflanzenschutz durch RNAi
- Im Porträt: Marie Winter

Zebrafisch-Embryo-Modell als NAM besonders attraktiv, da es gemäß der EU-Richtlinie 2010/63/EU als Alternative zu Tierversuchen anerkannt ist: Genexpressionsänderungen werden in Abhängigkeit von der Konzentration der Testsubstanz erfasst und ausgewertet, um für alle responsiven Gene Schwellenkonzentrationen zu bestimmen. Deren Verteilung erlaubt die Berechnung eines tPOD für die Testsubstanz; die Identität der Gene lässt Aussagen über den primären Wirkmechanismus der Testsubstanz zu. Die Abteilung Ecotoxicogenomics, unter der Leitung von Sebastian Eilebrecht, bietet Auftraggebern Methodik und Know-how zur Erfassung und Interpretation von tPODs für Testsubstanzen. Die bisher verfügbare Literatur und selbst durchgeführte Studien deuten darauf hin, dass der tPOD-Wert aus Fisch-Embryo-Tests protektiv ist, da er in einer

vergleichbaren Größenordnung, aber tendenziell niedriger liegt als die aus chronischen Fischtests abgeleitete *No Observed Effect Concentration*.

Mit zunehmender Verfügbarkeit von entsprechenden Datenpaaren steigt die Vorhersagesicherheit dieses neuen Ansatzes, so dass er mittelfristig regulatorisch Anwendung finden kann. ■

Link zur Publikation: doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176026



Durchführung einer modifizierten Screening-Methode für den Abbau von Polymeren

► Der Abbau von Polymeren steht im Fokus der neuen Beschränkung (Verordnung (EU) 2023/2055 der Kommission), die von der Europäischen Kommission für absichtlich zugesetztes Mikroplastik in Produkten, die für bestimmte Zwecke verwendet werden, erlassen wurde. Die Beschränkung basiert auf dem biologischen Abbau von Polymeren, der gemäß den OECD-Testrichtlinien (TG), z. B. TG 301 und TG 307, bestimmt wird. Es werden nur synthetische Polymere berücksichtigt. Daher streben die Hersteller eine Umstellung auf natürliche Polymere an, die standardmäßig als abbaubar gelten, sowie auf synthetische Polymere, die nachweislich schnell biologisch abbaubar sind. Das biologische Abbaupotenzial von Polymeren ist oft unbekannt. Während der Produktentwicklung ist ein schnelles Screening erforderlich, um eine Prognose des biologischen Abbaupotenzials des Polymers zu erhalten und zu entscheiden, ob das Polymer für das Produkt in Frage kommt.

Um den Abbau von Polymeren zu untersuchen, hat Julia Peters im Rahmen ihrer Doktorarbeit eine modifizierte Screening-Methode entwickelt, die auf der OECD-Richtlinie TG 301 B basiert. Als Modifikationen wurden das Testvolumen reduziert, die Inkubationszeit verkürzt und ein anderer Messendpunkt gewählt, was zu einem optimierten Versuchsaufbau führte (s. Abb.). Anstelle der kontinuierlichen Messung der Mineralisierung wird die Wiederfindung des gesamten organischen Kohlenstoffgehalts am Ende der Inkubation bestimmt. Als wasserlösliche Polymere wurden Natriumalginat, Carboxymethylcellulose und Gummi arabicum

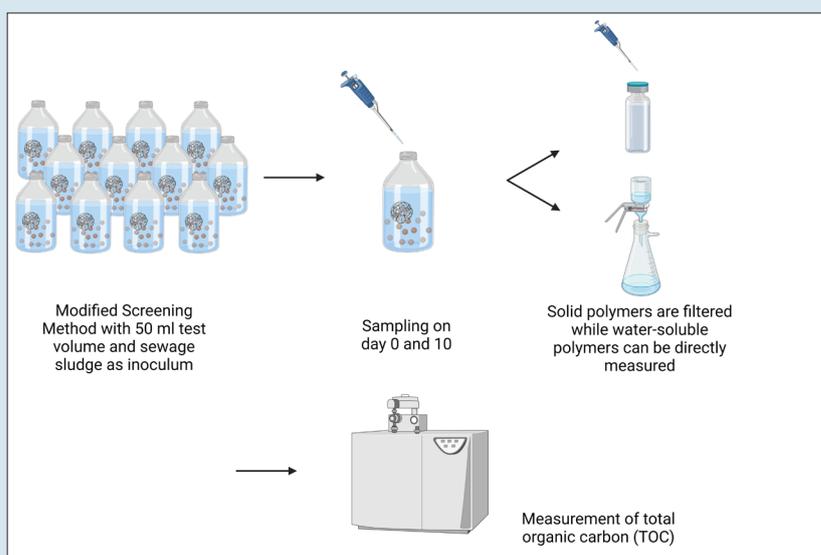


Abb.: Modifizierte Screening-Methode zur Bestimmung des Abbaupotenzials von Polymeren. Created by Biorender.com.

getestet. Die modifizierte Screening-Methode wurde auch angepasst, um den Abbau wasserunlöslicher Polymere bewerten zu können, was mit indischen Flohsamenschalen durchgeführt wurde. Diese Methode wurde durch den Vergleich des gemessenen Abbaus mit den Abbausergebnissen bewertet, die durch die Anwendung der OECD TG 301 B und F erzielt wurden. Sie zeigte vergleichbare Ergebnisse zu der OECD TG 301 B- und F-Richtlinie, jedoch mit einem deutlich geringeren Aufwand. Darüber hinaus wurde die entwickelte Methode im Hinblick auf ihre Nachweisgrenze durch Bestimmung der niedrigsten anwendbaren Polymerkonzentration und ihrer Reproduzierbarkeit zwischen Replikaten sowie Klärschlämmen von unterschiedlichen Kläranlagen untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die Herkunft des Klärschlammes den Abbau nicht wesentlich beeinflusst.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die neue Methode Zeit und Platz spart und gleichzeitig einen höheren Probendurchsatz ermöglicht. Daher kann sie verwendet werden, um schnell das biologische Abbaupotenzial eines Polymers zu bestimmen und zu entscheiden, ob das Polymer für die Produktentwicklung weiterhin relevant ist. Obwohl die Marktzulassung für das Endprodukt nur erteilt werden kann, wenn die Abbaukriterien nach der OECD-Richtlinie TG 301 oder höherstufige Studien (Abbau in Boden- oder Wasser-Sediment-Systemen) erfüllt werden, liefert das modifizierte Screening eine zuverlässige Prognose für das biologische Abbauverhalten. ■

Pflanzenschutz durch RNA-Interferenz – eine Analyse von Ansätzen zur Risikobewertung

► Seit der Entdeckung der RNA-Interferenz (RNAi), für die die Forschenden Andrew Z. Fire und Craig C. Mello im Jahr 2006 den Nobelpreis für Medizin erhielten, wird an zahlreichen Anwendungsmöglichkeiten des Mechanismus geforscht. RNAi-basierte Anwendungen zielen darauf ab, die Expression spezifischer essenzieller Gene in Zielorganismen zu hemmen. Dies geschieht durch Aufnahme und Verarbeitung doppelsträngiger RNA und anschließendem sogenannten *Silencing* der mRNA des Zielgens. Neben der Anwendung für medizinische Therapien ist die RNAi von großer Bedeutung in der Entwicklung von Pflanzenschutzmethoden. Vor allem die Entwicklung von exogenen Anwendungen wie RNAi-Sprays hat in den letzten Jahren zugenommen.

So wurde in den USA im Jahr 2023 bereits das erste RNAi-Spray zugelassen und auch europäische Behörden erwarten eine ansteigende Anzahl von Zulassungsanträgen solcher Pestizide in den nächsten Jahren. Aufgrund der besonderen Wirkweise der RNAi-Anwendungen im Vergleich zu konventionellen Pestiziden stellt dies für die Behörden eine große Herausforderung dar. Im Rahmen eines vom Bundesamt für Naturschutz geförderten Literaturprojektes haben Kolleginnen und Kollegen der Fraunhofer IME-Standorte Schmallenberg und Aachen den aktuellen Wissensstand zur Forschung an

RNAi-Pflanzenschutzmethoden sowie Studien zur Umweltverträglichkeit dieser Anwendungen zusammengestellt und ausgewertet. Teile des Projekts wurden auf der SETAC Europe 2024 in Sevilla als Poster-Spotlight von Elke Eilebrecht präsentiert. In einem Workshop im Oktober 2024 wurden aktuelle Studien zur Umweltrisikobewertung der RNAi-Pestizide vorgestellt sowie Bewertungsstrategien mit nationalen und internationalen Experten auf diesem Gebiet und Vertretungen von Zulassungsbehörden diskutiert.

Darüber hinaus wird das Thema RNAi-Pflanzenschutz auch in praktischer Form am Fraunhofer IME bearbeitet. So beschäftigt sich derzeit die Masterandin Katharina Knapp in Kooperation mit dem IME in Gießen mit der Identifizierung einer geeigneten Testmethode eines RNAi-Sprays in *Daphnia magna* und untersucht unter anderem Effekte im Transkriptom der Organismen. In Kooperation mit dem Umweltbundesamt werden außerdem praktische Arbeiten der Doktorarbeit von Hannah Dey mit den spezifischen Herausforderungen der Umweltrisikobewertung von RNAi-Pestiziden am Fraunhofer IME in Schmallenberg durchgeführt. ■

Sondersitzung SETAC 2024: Regulatorische Anforderungen für die wissenschaftliche Entwicklung

Auf Initiative der ECHA wurde auf der SETAC in Sevilla 2024 eine Sondersitzung zum Thema »Regulatorische Anforderungen für die wissenschaftliche Entwicklung« unter dem Vorsitz von Wim de Coen, Blanca Serrano und Christoph Schäfers abgehalten.

Lesen Sie auf unserer Webseite, welche Vorschläge diskutiert wurden, um die Ansichten von Regulierung, Industrie und Wissenschaft zum weiteren Forschungsbedarf zusammenzuführen.

Link zur Webseite: www.ime.fraunhofer.de/SpecialSessionSETAC2024





»Die Überprüfung des regulatorischen State of the Art auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse zu (Bio-)Polymeren ermöglicht einen effektiven Umweltschutz.«

► Marie Winter studierte an der Georg-August-Universität Göttingen Ökosystemmanagement und erwarb 2022 ihren Master »Boden, Gewässer, Altlasten« an der Universität Osnabrück. Im Fokus standen hierbei Fragestellungen zum vorsorgenden und nachsorgenden Bodenschutz durch stoffliche Kontaminationen. In ihrer Masterarbeit untersuchte sie am Fraunhofer IME die Sensitivität verschiedener bodenmikrobiologischer Testsysteme im Vergleich zu einer im Zulassungsverfahren von Pflanzenschutzmitteln geforderten Methode. Seit 2022 arbeitet sie an ihrer Promotion zur Entwicklung einer ökotoxikologischen Bewertungsmethode für (Bio-)Polymere im Agrarökosystem.

Marie Winter...

...ist im Rahmen von Forschungsarbeiten seit 2021 Teil der Abteilung Ökotoxikologie am Fraunhofer IME. Sie beschäftigt sich mit unterschiedlichen regulatorischen Fragestellungen zu agrartechnisch relevanten Stoffgruppen. Seit 2022 ist sie im Fraunhofer PREPARE Projekt SeedPlus zur Entwicklung einer nachhaltigen polymerbasierten Saatgutbeschichtung involviert. Dabei erarbeitet sie eine ökotoxikologische Bewertungsstrategie für (Bio-)Polymere in der aquatischen und terrestrischen Umwelt.

Zur Steigerung und Sicherung des Ertrags werden in der kommerziellen Landwirtschaft verschiedene agrartechnische Maßnahmen angewendet. Zu den etablierten Techniken gehören u.a. der Einsatz von beschichtetem Saatgut oder auch Mulchfolien. In diesen Produkten werden häufig (bio-)polymere Substanzen eingesetzt, die durch ihre physiko-chemischen Eigenschaften das Mikroklima und die Keimung des Saatguts begünstigen können. Trotz der direkten Umweltexposition sind (Bio-)Polymere in Europa nicht vollumfänglich reguliert, die Umweltwirkung bleibt damit unbekannt. Im Rahmen der Promotionsarbeit wird daher eine systematische Überprüfung der potentiellen ökotoxikologischen Wirkung dieser regulatorisch nicht erfassten Substanzen angestrebt. Um den Einfluss auf verschiedene aquatische und terrestrische Organismen und Ökosystemdienstleistungen unterschiedlicher Trophieebenen zu untersuchen, werden standardisierte Kurz- und Langzeitexpositionstests angewendet. Dabei werden vor allem natürliche (modifizierte) Polymere betrachtet, die auf Grund ihres Ursprungs oft als unbedenklich bewertet und daher als zukunftsrelevant kategorisiert werden.

Erste Ergebnisse, die in diesem Jahr auf der SETAC Sevilla präsentiert wurden, deuten auf ein konzentrationsabhängiges ökotoxikologisch relevantes Umweltverhalten natürlicher (modifizierter) Polymere hin. Dabei könnten externe physikalische Wirkfaktoren für einen negativen Effekt auf spezifische aquatische Testorganismen und Bodenfunktionen verantwortlich sein. Durch Freilandexpositionsstudien in Kleinlysimetern soll die ökologische Relevanz dieser Daten und der abgeleiteten Bewertungsstrategie unter realistischen Bedingungen überprüft werden.

IMPRESSUM

Herausgeber

Fraunhofer-Institut für
Molekularbiologie und
Angewandte Oekologie IME

Angewandte Oekologie

Auf dem Aberg 1

57392 Schmallenberg

Telefon +49 2972 302-0

www.ime.fraunhofer.de/ae

Institutsleitung

Prof. Dr. Christoph Schäfers

Redaktion, Layout & Satz

Julia Karbon, Dorothea Weist
Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

Druck

Schäfers Druck GmbH,
Schmallenberg
100% Recyclingpapier

Lesen Sie mehr über unsere Aktivitäten auf der SETAC 2024 Sevilla auf unserer Webseite:

www.ime.fraunhofer.de/SETAC2024

