

# Gebruik van springstaarten en mijten in de bodemecotoxicologie

C.A.M. (Kees) van Gestel

## TREFWOORDEN

Bodemarthropoden, ecotoxicologie, risicobeoordeling, toxiciteitstesten

Entomologische Berichten 76 (2): 56-62

Dit artikel beschrijft de ontwikkeling en het gebruik van bodemecotoxicologische testen met springstaarten en mijten. Dergelijke testen kunnen worden gebruikt voor de beoordeling van nieuwe chemische stoffen en bestrijdingsmiddelen, maar ook voor het bepalen van het ecologische risico van vervuilde gronden. De meest gangbare vorm van toxiciteitstesten zijn blootstellingen van een individuele soort onder gestandaardiseerde omstandigheden aan een reeks van concentraties van de te testen stof. Na een vaste periode van blootstelling worden effecten op de testorganismen bepaald. Dergelijke testen met springstaarten gebruiken de soorten *Folsomia candida* en *F. fimetaria*, waarbij na 28 respectievelijk 21 dagen blootstelling de effecten op overleving en voortplanting bepaald worden. Daarnaast zijn testen beschikbaar of in ontwikkeling die het ontwijkgedrag, de multigeneratie-effecten of de genexpressie van springstaarten bepalen na blootstelling aan chemische stoffen of aan vervuilde gronden. Een test met de roofmijt *Hypoaspis aculeifer* wordt gebruikt voor de risicobeoordeling van bestrijdingsmiddelen, maar testen met de oribatide mijten *Platynothrus peltifer* en *Oppia nitens* zijn nog onvoldoende gestandaardiseerd voor dit doel. Ook zijn er testen beschikbaar die vanaf de individuele soorten uitzoemen, en effecten op de levensgemeenschap in kaart proberen te brengen. In dit artikel worden beschikbare en in ontwikkeling zijnde methodes uitgelicht om een overzicht te geven van de stand van zaken in de bodemecotoxicologie.

## Inleiding

De bodem is een essentiële component van elk terrestrisch ecosysteem. Helaas wordt de bodem op grote schaal belast met onder andere zware metalen, meststoffen en bestrijdingsmiddelen. In hoeverre dit effect heeft op het bodemleven en het functioneren van het bodemecosysteem wordt al lange tijd bestudeerd in het vakgebied van de ecotoxicologie. De ecotoxicologie bestudeert de effecten van chemische stoffen op organismen in het milieu, met als uiteindelijk doel de structuur en het functioneren van ecosystemen te beschermen. Dit gebeurt vooral door middel van laboratoriumonderzoek, maar soms ook door onderzoek in het veld. Hierbij wordt op twee manieren te werk gegaan.

In de eerste benadering wordt de giftigheid van chemische stoffen bepaald voor een aantal modelorganismen. De resultaten van deze toxiciteitstesten worden vergeleken met te verwachten blootstellingsniveaus om inzicht te krijgen in de kans op het optreden van nadelige effecten. Een dergelijke risicobeoordeling wordt gebruikt voor de toelating van bestrijdingsmiddelen of de registratie van chemische stoffen in het kader van de Europese stoffenwetgeving (REACH, hetgeen staat voor de Registratie, Evaluatie, Autorisatie (en restrictie) van Chemische stoffen). In het normstellingsbeleid worden de resultaten van dergelijke toxiciteitstesten gebruikt om veilige waarden ofwel normen voor chemische stoffen in het milieu te bepalen.

De tweede benadering betreft de beoordeling van de mogelijke

ecologische risico's in het geval van milieuvervuiling. Voor de beoordeling van vervuilde bodems wordt vaak de TRIADE-benadering toegepast (figuur 1), die bestaat uit drie componenten: (1) chemische analyse ter bepaling van de concentraties van (een beperkt aantal) vervuilende stoffen in de bodem, die dan worden getoetst aan normen, (2) ecotoxicologische testen met enkele modelorganismen, ook wel aangeduid als bioassays, om de giftigheid van de grond te bepalen, en (3) veldwaarnemingen om de toestand van het ecosysteem op de vervuilde locatie in kaart te brengen. De drie benaderingen leiden samen tot inzicht dat moet bijdragen aan het besluit over het wel of niet saneren of het aanpassen van het gebruiksdoel van de vervuilde grond (Jensen & Mesman 2006).

Beide benaderingen maken gebruik van toxiciteitstesten met modelorganismen, die representatief zijn voor de soorten die in het te beschermen ecosysteem voorkomen. Voor de bodem betreft dit onder andere planten, micro-organismen, regenwormen, potwormen, springstaarten en mijten. Dit artikel gaat in op ontwikkelingen in het gebruik van de laatste twee groepen van organismen.

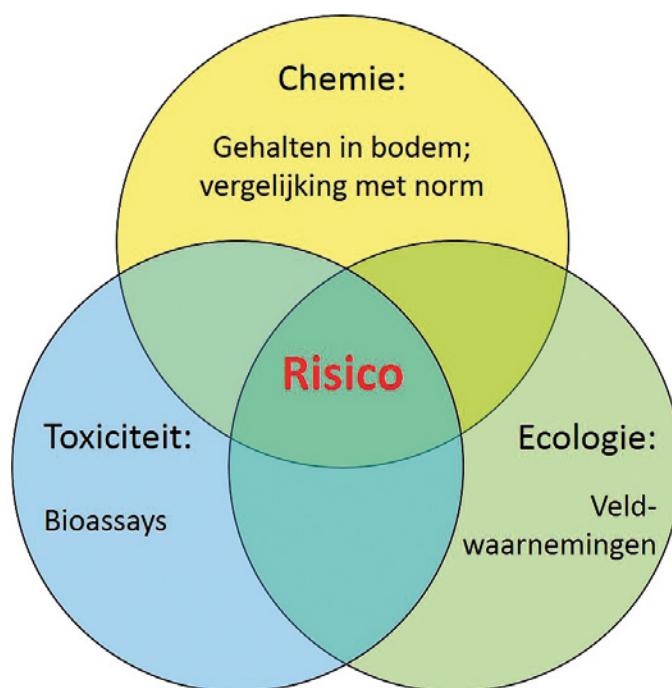
## Toxiciteitstesten met bodemarthropoden

Hoewel de eerste testen met bodemarthropoden al in de jaren 1950-1960 werden uitgevoerd (bijv. Sheals 1956), duurde het nog tot in de jaren 1990 voordat testen met vertegenwoordigers van de mijten en springstaarten werden ontwikkeld en vast-

gelegd in internationaal geaccepteerde standaardrichtlijnen. In het door de Europese Unie gefinancierde project SECOFASE (afkorting van Sublethal Effects of Chemicals On FAuna in the Soil Ecosystem) werden de mogelijkheden onderzocht om toxiciteitstesten te ontwikkelen met diverse bodemevertebraten, waaronder springstaarten, gamaside en oribatide mijten (Løkke & Van Gestel 1998). Hoewel niet alle in SECOFASE ontwikkelde testmethoden internationaal zijn gestandaardiseerd, legde het project wel een basis voor het gebruik van meer ecologisch relevante subletale eindpunten (voortplanting en/of groei, naast overleving) en voor het bepalen van het effect van stoffen op de interactie tussen soorten.

SECOFASE introduceerde ook het gebruik van een natuurlijke grond in plaats van de door de OECD (1984) voorgestelde kunstgrond. Deze kunstgrond wordt gemaakt door kwartzand (70%), kaolien (20%) en veenmosturf (10%) te mengen en met CaCO<sub>3</sub> op een pH van 6.0 te brengen. Omdat de meeste (landbouw)gronden een lager organische stofgehalte hebben dan de 10%, wordt tegenwoordig de voorkeur gegeven aan een kunstgrond met slechts 5% turf (OECD 2009). Hiermee wordt een realistischere schatting van de toxiciteit verkregen. De kunstgrond zou de bezwaren van het gebruik van natuurlijke gronden met verschillen in samenstelling en de daarmee geïntroduceerde variatie in testresultaten moeten tegengaan. In de praktijk blijkt dit niet te lukken en vertonen de door verschillende laboratoria gemaakt kunstgronden ook een grote variatie in samenstelling en eigenschappen (Bielská et al. 2012). De door SECOFASE gekozen natuurlijk grond, LUF A 2.2, is een lemige zandgrond met ca. 3,5% organische stof en een pH van ca. 5,5. Het is één van de standaardgronden die worden gebruikt voor het bepalen van het gedrag van bestrijdingsmiddelen in de bodem. De samenstelling en eigenschappen van deze grond zijn al jaren vrijwel hetzelfde.

Alle in dit artikel genoemde testen (tabel 1) kunnen zowel met kunstgronden als met natuurlijke gronden worden uitgevoerd. Daarnaast zijn ze in principe ook toepasbaar als bioassay ter bepaling van de toxiciteit van vervuilde gronden (ISO 2008), maar daarbij is het wel van belang na te gaan of de eigenschappen van de te onderzoeken gronden (zoals pH, organische stofgehalte, kleigehalte) niet teveel afwijken van de omstandigheden waarbij de dieren optimaal presteren. Voor bioassays is het ook aan te bevelen altijd twee controles mee te nemen: één met een schone grond met eigenschappen die zoveel mogelijk overeenkomen met die van de te onderzoeken vervuilde grond, en één



1. TRIADE-benadering voor de risicobeoordeling van vervuilde bodems, door toepassing van drie lijnen van bewijsvoering. Bepaling van de gehalten aan (bekende) verontreinigende stoffen in de bodem en vergelijking met beschikbare normen laat zien of er een potentieel risico is op ecologische effecten. Bepaling van de toxiciteit van de vervuilde grond in bioassays met geselecteerde testorganismen laat zien of er sprake is van een werkelijk risico. Aanvullende ecologische veldwaarnemingen op de vervuilde locatie en vergelijking met schone locaties kunnen laten zien hoe groot de ecologische effecten zijn.

1. TRIAD approach for the risk assessment of contaminated soils, by applying three lines of evidence. Chemical analysis of the concentrations of (known) pollutants in the soil and comparison with available thresholds or soil quality criteria may show whether there is a potential ecological risk. Determination of the toxicity of the polluted soil using bioassays with selected test organisms shows the actual ecological risk. Additional ecological observations on the polluted site and comparison with clean sites may show the size of ecological effects.

**Tabel 1.** Overzicht van toxiciteitstesten met springstaarten en mijten, die worden toegepast voor het bepalen van de giftigheid van nieuwe of bestaande chemische stoffen en ook gebruikt kunnen worden als bioassay voor het bepalen van het ecologische risico van vervuilde bodems.  
**Table 1.** Overview of toxicity tests with springtails and mites, commonly applied for assessing the toxicity of new and existing chemicals and which might also be used as bioassays for determining the ecological risk of contaminated soils.

Test organisme / test organism	Soort / species	Duur (dagen) / duration (days)	Eindpunt / test parameter	Richtlijn / directive	Referentie / reference
Mijten	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	14	Overleving en reproductie	OECD 226	OECD (2008)
	<i>Platynothrus peltifer</i>	14	Overleving	Geen	Van Gestel & Doornekamp (1998)
		70	Reproductie		
	<i>Oppia nitens</i>	28	Overleving en reproductie	Geen	Princz et al. (2010)
2		Ontwijkgedrag	Geen	Owojori et al. (2011)	
Springstaarten	<i>Folsomia candida</i>	28	Overleving en reproductie	ISO 11267; OECD 232	ISO (1999);
		21			OECD (2009)
	<i>Folsomia fimetaria</i>	2	Ontwijkgedrag	ISO 17512-2	ISO (2011)
	<i>Folsomia candida</i>	X*28 (X=2-9)	Multi-generatie overleving en reproductie	Geen	León Paumen et al. (2008); Ernst et al. (2016)
	<i>Folsomia candida</i>	2	Genexpressie	Geen	Roelofs et al. (2012)

met kunstgrond of LUFA 2.2 grond om na te kunnen gaan of eventueel afwijkend gedrag moet worden toegeschreven aan een slechte gezondheid van de testorganismen of aan de (minder optimale) eigenschappen van de te onderzoeken grond.

## Testen met springstaarten

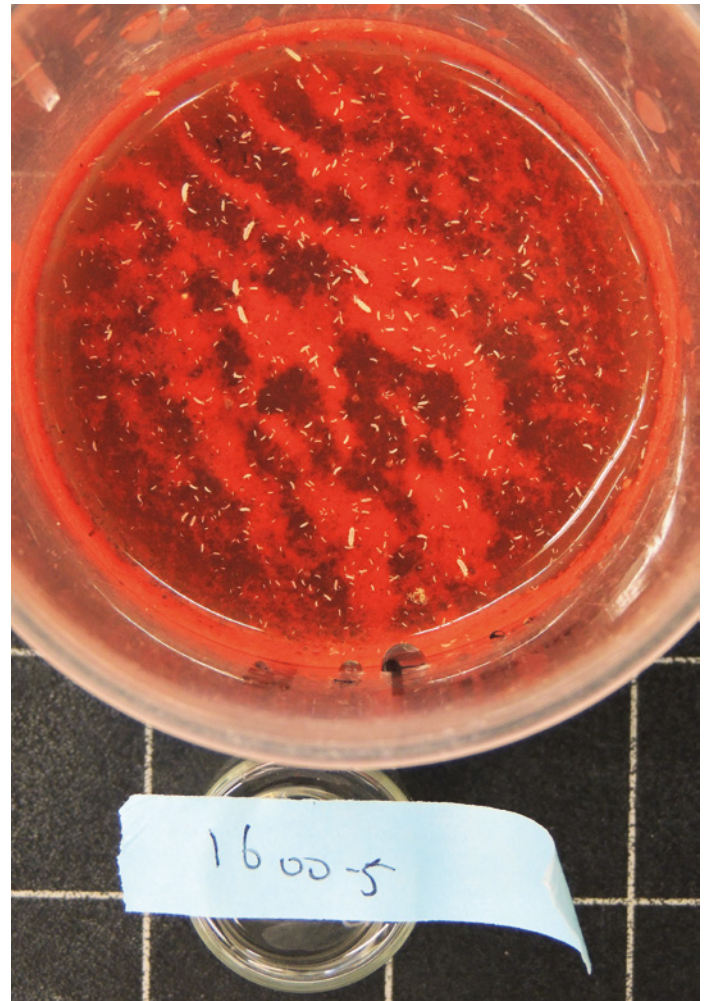
Springstaarten zijn ecologisch belangrijke, zeer wijd verspreid voorkomende dieren, waarvan verschillende soorten gemakkelijk gekweekt kunnen worden in het laboratorium. Ze zijn niet alleen geschikt voor toxiciteitstesten in het laboratorium, maar ook voor onderzoek in modelecosystemen en in het veld (Wiles & Krogh 1998). Scopes & Lichtenstein (1967) gebruikten *Folsomia fimetaria* (Linnaeus) in acute toxiciteitstesten op filtreerpapier. De eerste acute toxiciteitstesten met *Folsomia candida* Willem, op filtreerpapier en in grond, werden beschreven door Thompson & Gore (1972). Houx et al. (1996) beschreven een kortdurende test (96 uur) waarin de overleving van *F. candida* wordt bepaald na blootstelling aan een waterige oplossing met daarin de te testen stof. Deze test lijkt alleen zinvol wanneer men de complexe invloed van bodemeigenschappen wil vermijden, bijvoorbeeld bij mechanistisch onderzoek naar de interactie tussen organismen en het poriewater (bijv. Filser et al. 2014, Ardestani et al. 2013). De eerste voorstellen voor gestandaardiseerde testen voor het bepalen van de giftigheid van residuen van bestrijdingsmiddelen voor springstaarten in zand of grond gebruikten *F. candida* en *Isotoma tigrina* (Nicolet) (Huang 1992, Kiss & Bakonyi 1992). Wiles & Krogh (1998) stelden gestandaardiseerde testen voor met *Isotoma viridis* (Bourlet), *F. candida* en *F. fimetaria*, gebruikmakend van de natuurlijke standaardgrond LUFA 2.2. Naast *F. candida* zijn ook *Onychiurus armatus* (Tullberg) en *Orchesella cincta* (Linnaeus) veel gebruikt in ecotoxicologisch onderzoek (Wiles & Krogh 1998), maar deze soorten hebben als nadeel dat ze minder goed in grond zijn te testen. De testen met deze soorten gebruiken meestal blootstelling via behandeld voedsel, waarbij de dieren op gips worden gehouden. De resultaten van deze testen laten zich hierdoor niet zo gemakkelijk vertalen naar (veilige) waarden voor de bodem.

Een toxiciteitstest met springstaarten werd internationaal gestandaardiseerd in 1999. De test bepaalt het effect van chemische stoffen op de overleving en voortplanting van de parthenogenetische soort *F. candida* na 28 dagen blootstelling in kunstgrond (ISO 1999), welke bekeken kan worden door de individuen uit de testgrond te spoelen (figuur 2 en 3). Deze test werd later door de OECD geaccepteerd en uitgebreid met een test met de zich geslachtelijk voortplantende soort *F. fimetaria*; de test met deze soort heeft dezelfde eindpunten, maar een blootstellingsduur van 21 dagen (OECD 2009). Een toxiciteitstest met springstaarten is een vereiste voor de toelating van bestrijdingsmiddelen en kan ook worden vereist voor de registratie van nieuwe chemische stoffen met een productievolume van meer dan 100 ton per jaar. De test met *F. candida* blijkt hiervoor het meest gebruikt te worden (Versonnen et al. 2014).

## Testen met mijten

Mijten zijn één van de meest voorkomende diergroepen in de bodem, en zijn ook zeer abundant in strooisel. Ze vertegenwoordigen soorten met zeer verschillende voedingsgewoonten, zoals herbivoren, fungivoren, detritivoren en carnivoren (Burgess & Raw 1967, Huguier et al. 2015).

Gamaside roofmijten komen in hoge dichtheden voor in zowel natuurlijke als landbouwgronden en spelen een belangrijke rol in de biologische controle van zowel nuttige als plaagorganismen, met name nematoden, insectenlarven en microarthropoden (Krogh & Axelsen 1998). Hun rol als



2. Om aan het eind van een toxiciteitstest met springstaarten (*Folsomia candida*) het aantal overlevende dieren en het aantal geproduceerde juvenielen te kunnen tellen, wordt de inhoud van de testcontainer voorzichtig opgeroerd met een overmaat water. Alle dieren komen dan bovendrijven en kunnen op de foto worden geteld met een software programma. Deze foto komt uit een experiment met een pigmenthoudende stof. Foto: Jeroen Noordhoek

2. To enable easy counting of surviving adults and produced juveniles, at the end of a toxicity test with springtails (*Folsomia candida*), the contents of a test container is gently stirred with an excess water. All animals come floating to the surface and can be counted on the picture using digital imaging software. Picture from an experiment with a dye-containing chemical.

predatoren in bodemecosystemen is al onderkend in de eerste bodemecotoxicologische testen (bijv. Sheals 1956). *Hypoaspis* (*Geolaelaps*) *aculeifer* (Canestrini) is polyfaag en voedt zich met onder andere potwormen, springstaarten, mijten en nematoden. De soort is van belang voor de landbouw vanwege zijn potentie om plant-parasitaire nematoden te bestrijden. Om die reden is een predator-prooitest geïntroduceerd (Krogh & Axelsen 1998, Smit et al. 2012, Huguier et al. 2015, en daarin aangehaalde referenties). De test is door de OECD gestandaardiseerd en wordt uitgevoerd met volwassen mijten in een kunstgrond of in natuurlijke grond. De dieren worden gevoerd met kaasmijten (*Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)) of (juvenile) springstaarten (*F. candida* of *F. fimetaria*). De test duurt 14 dagen, en overleving en voortplanting van de mijten zijn de eindpunten (OECD 2008). Deze test is vereist in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen.

Een zeer abundante groep zijn de oribatide (mos)mijten, met ruim 1000 soorten, die grote verschillen in levensgeschiedenis vertonen. Sommige soorten blijken hoge gehalten aan metalen



3. *Folsomia candida* na blootstelling aan een pigmenthoudende stof; in de darmen kan de stof waargenomen worden. Foto: Jeroen Noordhoek

3. *Folsomia candida* after exposure to a dye-containing chemical, which is visible in the gut.

te accumuleren (figuur 4). Omdat ze representatief zijn voor de structurele en functionele complexiteit van bodemlevensgemeenschappen en diverse eigenschappen hebben die niet worden gevonden in andere bodemarthropoden, zijn ze volgens Lebrun & Van Straalen (1995) zeer geschikte organismen voor de bodemecotoxicologie. Desondanks zijn in de literatuur slechts enkele testen met oribatide mijten beschreven. Popp (1970) stelde *Hermannia convexa* (Koch) bloot aan dieldrin, dat dorsaal werd toegediend als een oplossing in vloeibare parafine, waarna effecten op de overleving werden bepaald. Recent zijn enkele studies uitgevoerd met *Archegozetes longisetosus* (Aoki), een parthenogenetische soort met een korte generatietijd en een hoge reproductie, die in het laboratorium gekweekt kan worden. Deze soort is echter vooral representatief voor de tropen (Princz et al. 2010 en daarin aangehaalde referenties). Meer onderzoek is gedaan met de soorten *Platynothrus peltifer* (Koch) en *Oppia nitens* (Koch).

*Platynothrus peltifer* komt algemeen voor in bosgrond en ook in grasland, is een herbivore grazer die zich voedt met zowel levende planten en algen als met strooisel, en speelt een belangrijke rol in het decompositieproces (Van Gestel & Doornekamp 1998 en daarin aangehaalde referenties). *Platynothrus peltifer* is een echte K-strateeg, met een trage ontwikkeling en een lage reproductie. Om die reden kunnen effecten op de reproductie grote gevolgen hebben voor de populatiegroei van deze soort, zoals werd aangetoond door Van Straalen et al. (1989) in een studie met cadmium. Deze eigenschappen maken het echter ook moeilijk om *P. peltifer* te kweken in het laboratorium. Voor toxiciteitstesten wordt daarom gebruik gemaakt van uit het veld gehaalde dieren, met als nadeel dat geen synchronisatie op leeftijd mogelijk is. Bovendien is vrij veel tijd nodig voor het bepalen van effecten op reproductie. Van Straalen et al. (1989) stelden *P. peltifer* bloot aan verontreinigd voer (groene algen), en bepaalden effecten op overleving en eileg. Van Gestel & Doornekamp (1998) ontwikkelden een acute en een chronische toxiciteitstest voor het bepalen van effecten op de overleving en reproductie van *P. peltifer* in grond. Deze testen, die niet gestandaardiseerd zijn, duren respectievelijk 2 en 10-12 weken en kunnen worden uitgevoerd in zowel natuurlijke grond als in kunstgrond (tabel 1).

*Oppia nitens* komt vooral voor in de toplaag van bosgronden, die rijk zijn aan schimmels en in afbrekend organisch materiaal. Het is een polyfage fungivoor, die selectieve voorkeur heeft voor korstmossen, ruwe humus en kadavers. *Oppia nitens* heeft een relatief korte levenscyclus in vergelijking tot *P. peltifer* en laat zich goed kweken in het laboratorium. Het is niet helemaal duidelijk of de soort volledig parthenogenetisch of ook gedeeltelijk sexueel voorplant (Princz et al. 2010 en daarin aangehaalde referenties, Van Straalen 2016). In de door Princz et al. (2010) voorgestelde toxiciteitstest worden volwassen dieren gedurende vier weken blootgesteld in grond en wordt gekeken naar effecten op overleving en reproductie, wat relatief eenvoudig gedaan kan worden door de dieren uit de grond te extraheren (figuur 5). In het voorjaar van 2016 wordt door Environment Canada een internationale ringtest georganiseerd waarin de voorgestelde testmethode zal worden uitgetest door een aantal laboratoria. Uiteindelijk moet dit leiden tot een internationaal geaccepteerde en gestandaardiseerde testmethode.

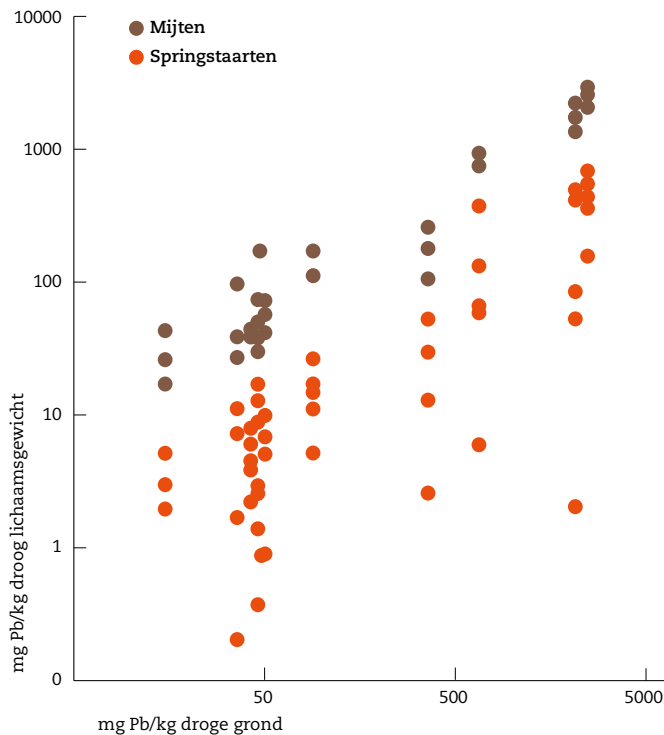
Hoewel mijten over het algemeen minder gevoelig lijken voor chemische stoffen dan andere bodemvertebraten, wordt verdere ontwikkeling en het uitvoeren van testen met deze dieren aanbevolen. Deze dieren zijn immers zeer abundant in de bodem en daarmee een belangrijk onderdeel van het bodemecosysteem. In het streven naar een verzameling aan testorganismen, met een grote taxonomische variatie die representatief is voor het bodemecosysteem, kan deze diergroep derhalve niet ontbreken. Dit onderzoek kan bovendien leiden tot meer inzicht in de vraag voor welke categorieën van stoffen en onder welke omstandigheden deze dieren wel gevoelig zijn (Huguier et al. 2015).

### Alternatieve testmethoden

De meeste toxiciteitstesten met bodemdieren duren relatief lang, meestal drie tot vier weken. Om die reden is gezocht naar alternatieve methoden, die ook indicatief kunnen zijn voor negatieve effecten van vervuiling. Dit kan bijvoorbeeld door te kijken naar het vermogen van de testorganismen om vervuiling te herkennen en te ontwijken. Dit kan gemeten worden in zogenaamde ontwijingstesten (avoidance tests). Dit ontwijngsgedrag is al binnen enkele dagen te meten en treedt in sommige gevallen reeds op bij relatief lage concentraties. Zowel voor de springstaart *F. candida* (ISO 2011) als voor de oribatide mijt *O. nitens* zijn dergelijke testen beschreven (Owojori et al. 2011).

Voor stoffen met een hoge persistentie of die frequent worden toegepast, kan sprake zijn van langdurige blootstelling waarbij mogelijk effecten optreden over meerdere generaties. Dergelijke effecten kunnen niet worden opgespoord met de huidige toxiciteitstesten, die meestal slechts één generatie of een deel daarvan beslaan. León Paumen et al. (2008) voerden een multigeneratietest met *F. candida* uit met blootstelling aan fenanthreen over negen generaties en lieten zien dat na drie generaties de reproductie bij een hoge concentratie stopte, terwijl eerdere generaties nog wel nakomelingen produceerden. Door Ernst et al. (2016) is een testmethode voorgesteld voor bestrijdingsmiddelen met blootstelling van *F. candida* over twee generaties (tabel 1).

Naast testen waarbij slechts één soort wordt blootgesteld, wordt de laatste jaren steeds meer onderkend dat het uiteindelijke doel het beschermen van levensgemeenschappen en ecosystemen is. Daarom zijn testen ontwikkeld met modelecosystemen, waarin meerdere soorten tegelijk worden blootgesteld aan een potentieel toxische stof. Dit kan gaan om min of meer natuurlijke levensgemeenschappen, die door het in het veld steken van intacte grondkolommen naar het laboratorium worden overgebracht. Dit is bijvoorbeeld het geval in testen met



4. Opname van lood (Pb) in de springstaart *Folsomia candida* en de oribatide milt *Platynothrus peltifer* na 4 resp. 12 weken blootstelling aan vervuilde gronden van een schietbaan en enkele referentiegronden. Gebaseerd op ruwe data behorend bij Luo et al. (2014, 2015).  
4. Uptake of lead (Pb) in the springtail *Folsomia candida* and the oribatid mite *Platynothrus peltifer* after 4 and 12 weeks, respectively of exposure to contaminated soils from a shooting range and some reference soils. Based on raw data belonging to Luo et al. (2014, 2015).

Terrestrische Model Ecosystemen (TMEs) (Knacker et al. 2004, Koolhaas et al. 2004). Er wordt ook gewerkt met het introduceren van zelf bedachte combinaties van soorten. Daartoe wordt een grond eerst gesteriliseerd en goed gehomogeniseerd, waarna diverse soorten worden geïntroduceerd (Burrows & Edwards 2004). Dergelijke multisoorttesten kijken niet alleen naar de respons van de diverse soorten en de levensgemeenschap, maar worden ook gebruikt om effecten op het functioneren van de gemeenschap in processen als decompositie of nutriëntcyclus te bepalen. Dit is ook het geval in de 'Soil multi-species' test die door Schnug et al. (2014) werd ontwikkeld. Zij combineren regenwormen (*Eisenia fetida* (Savigny)) met vier soorten springstaarten (twee hemi-edaphische soorten: de mycofage *Proisotoma minuta* (Tullberg) en de generalist *Heteromurus nitidus* (Templeton), en twee eu-edaphische soorten *F. fimetaria* (omivoor, vooral mycofaag) en *Protaphorura fimata* (Gisin) die zowel herbi-voor als mycofaag is) en de predatore milt *H. aculeifer*. Deze test bepaalde het effect van bestrijdingsmiddelen op consumptie-activiteit (bait-laminatetest), de respons van de individuele soorten en de soortendiversiteit (dominantiestructuur). Meer systematisch multisoortonderzoek is noodzakelijk om de relatie tussen structurele en functionele eindpunten te bepalen. Dergelijk onderzoek zou door rekening te houden met de eigenschappen van soorten ('traits'), meer inzicht kunnen geven in het effect van chemische stoffen op het bodemecosysteem. Deze zogenaamde benadering wint langzaam terrein zowel in de bodemecologie (Dias et al. 2013) als in de aquatische ecotoxicologie (Rico & Van den Brink 2015).

Over het algemeen blijken responsen op lagere biologische organisatie-niveaus (moleculair, fysiologie) gevoeliger te zijn dan die op het niveau van de levensgemeenschap (Spurgeon et al. 2005). Met name genexpressie reageert snel en al bij lage



5. Hitte-extractie van oribatide mijten (*Oppia nitens*) uit de grond van een toxiciteitstest. De extractieopzet bestaat uit een bovendeel dat voorzien is van een gazen bodem en is geplaatst op een opvangbeker. Nadat de grond uit een testcontainer is overgebracht in de extractieopzet wordt deze onder een lamp geplaatst. Na ongeveer 48 uur kunnen de overlevende volwassen dieren en de geproduceerde juvenielen in de opvangbeker worden geteld. Foto: Rudo Verweij  
5. Heat extraction of oribatid mites (*Oppia nitens*) from a toxicity test. The extraction device consists of an upper part with a gauze bottom that is placed on a collecting device. After transferring the test soil from a toxicity test into it, the extraction device is placed under a light source. After approximately 48 hours, all surviving adults and the juveniles produced can be counted in the collecting device.

blootstellingen. De ontwikkelingen op het gebied van genetisch onderzoek (genomics, proteomics, transcriptomics etc.) hebben dan ook nieuwe instrumenten aangedragen voor de ecotoxicologische gereedschapskist. Ecotoxicogenomics wordt beschouwd als een instrument waarmee meer inzicht kan worden verkregen in het moleculaire werkingsmechanisme van stoffen (Snape et al. 2004), terwijl het ook inzicht kan geven in de wijze waarop bodemvertebraten resistentie kunnen ontwikkelen tegen vervuiling met bijvoorbeeld metalen of bestrijdingsmiddelen (Van Straalen et al. 2011). Het kan ook de deur openen naar nieuwe methoden voor het bepalen van de giftigheid van vervuilde gronden (Van Straalen & Roelofs 2008, Nota et al. 2010). Deze auteurs hebben een methode ontwikkeld waarbij springstaarten (*F. candida*) worden blootgesteld aan een vervuilde grond (tabel 1). Na 48 uur blootstelling wordt de expressie gemeten van een aantal indicatorgenen, hetgeen een beeld kan geven van aard van de vervuiling. Deze methode is nog in ontwikkeling, maar lijkt potentie te hebben voor toepassing in de praktijk van de ecologische risicobeoordeling van vervuilde bodems (Chen et al. 2014).

Ecotoxicogenomics kan helpen een brug te slaan tussen effecten op genetisch niveau en op populaties (Fedorenkova et al. 2010), een idee dat verder is uitgewerkt in het concept van 'Adverse Outcome Pathways' (AOP). In een AOP wordt geprobeerd effecten op hogere biologische organisatie-niveaus te voorspellen of te verklaren op grond van intoxicatieprocessen op lagere niveaus, zoals genexpressie en biochemische processen (Ankley et al. 2010). Ook dit is een interessante ontwikkeling die nog veel nader onderzoek behoeft alvorens toepassing in de praktijk van de risicobeoordeling mogelijk zal zijn. Een probleem daarbij is dat op dit moment het meten van genexpressie-analyse alleen zinvol kan plaatsvinden bij dieren waarvoor het

genoom min of meer volledig in kaart is gebracht. Onder de bodemarthropoden is dat alleen nog maar het geval voor de springstaart *F. candida*. Van Straalen & Feder (2012) concluderen daarom dat nog veel meer onderzoek nodig is voordat de instrumenten gebaseerd op gentechnologie een zinvolle bijdrage kunnen leveren aan de risicobeoordeling van stoffen.

## Conclusie

Toxiciteitstesten met springstaarten (*F. candida*, *F. fimetaria*) en predatore mijten (*H. aculeifer*) worden toegepast in de risicobeoordeling en het toelatingsbeleid van nieuwe chemische stoffen en bestrijdingsmiddelen. De test met *F. candida* wordt, op ad-hoc basis, ook wel toegepast voor het beoordelen van het ecologische risico van vervuilde bodems. Testen met oribatide mijten (*O. nitens*, *P. peltifer*) zijn nog onvoldoende gestandaardiseerd om een routinematige toepassing voor deze doeleinden mogelijk te maken. Naast de traditionele testen, met bepaling van effecten op de overleving en voortplanting na drie tot vier weken blootstelling, worden ook alternatieve testen ontwikkeld met een kortere blootstellingsduur. Dergelijke testen richten zich op ontwijkingsgedrag als mogelijk gevoelig en relevant eindpunt. De snelle ontwikkeling van ecotoxicogenomics maakt

het gebruik van genexpressie als eindpunt mogelijk, ook al na kortdurende blootstelling. Dit laatste kan ook inzicht geven in werkingsmechanismen van stoffen en helpen de oorzaak van giftigheid van vervuilde bodems op te sporen. Genexpressietesten worden alleen nog maar uitgevoerd met springstaarten (*F. candida*), en er is nog veel onderzoek nodig om de resultaten van dergelijke testen te kunnen vertalen naar effecten op individueel of populatieniveau.

Op dit moment zijn nog slechts weinig gegevens beschikbaar over de giftigheid van chemische stoffen voor bodemarthropoden. Ook is nog weinig bekend over de mogelijke verschillen in gevoeligheid tussen verschillende soorten springstaarten en mijten en de consequenties van chronische blootstelling. Onderzoek met blootstellingen over meerdere generaties en een vergelijking van soorten uit verschillende taxonomische groepen is nodig. Ook ontbreekt inzicht in de mogelijke gevolgen van effecten op springstaarten en mijten voor het functioneren van het bodemecosysteem. Onderzoek met multisoorttesten en modecosystemen, gericht op het bepalen van zowel structurele als functionele eindpunten en rekening te houden met de eigenschappen van soorten, kan meer inzicht geven in het effect van chemische stoffen op het bodemecosysteem.

## Literatuur

- Ankley GT, Bennett RS, Erickson RJ, Hoff DJ, Hornung MW, Johnson RD, Mount DR, Nichols JW, Russom CL, Schmieder PK, Serrano PK, Tietge JE & Villeneuve DL 2010. Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 730-741.
- Ardestani MM, Diez Ortiz M & Van Gestel CAM 2013. Influence of Ca and pH on the uptake and effects of Cd in *Folsomia candida* exposed to simplified soil solutions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32: 1759-1767.
- Bielská L, Hovorková I, Komprdová K & Hofman J 2012. Variability of standard artificial soils: physico-chemical properties and phenanthrene desorption measured by means of supercritical fluid extraction. *Environmental Pollution* 163: 1-7.
- Burges A & Raw F (eds) 1967. *Soil Biology*. Academic Press.
- Burrows LA & Edwards CA 2004. The use of soil microcosms to assess the impact of carbendazim on soil ecosystems. *Ecotoxicology* 13: 143-161.
- Chen GQ, De Boer TE, Wagelmans M, Van Gestel CAM, Van Straalen NM & Roelofs D 2014. Integrating transcriptomics into triad-based soil-quality assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33: 900-909.
- Dias ATC, Berg MP, de Bello F, Van Oosten AR, Bila K & Moretti M 2013. An experimental framework to identify community functional components driving ecosystem processes and services delivery. *Journal of Ecology* 101: 29-37.
- Ernst G, Kabouw P, Barth M, Marx MT, Frommholz U, Royer S & Friedrich S 2016. Assessing the potential for intrinsic recovery in a Collembola two-generation study: possible implementation in a tiered soil risk assessment approach for plant protection products. *Ecotoxicology* 25: 1-14.
- Fedorenkova A, Vonk JA, Lenders HJR, Ouborg NJ, Breure AM & Hendriks AJ 2010. Ecotoxicogenomics: Bridging the gap between genes and populations. *Environmental Science and Technology* 44: 4328-4333.
- Filser J, Wiegmann S & Schröder B 2014. Collembola in ecotoxicology – Any news or just boring routine? *Applied Soil Ecology* 83: 193-199.
- Houx NWH, Dekker A, Van Kammen-Polman AMM & Ronday R 1996. Acute toxicity test for terrestrial hazard assessment with exposure of *Folsomia candida* to pesticides in an aqueous medium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 30: 9-14.
- Huang P 1992. Draft guideline on testing the effects of plant protection agents on *Isotoma tigrina* Nicolet (Collembola). Bulletin of the International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants. West Palearctic Regional Section. (IOBC/WPRS) 15: 122-130.
- Huguier P, Manier N, Owojori OJ, Bauda P, Pandar P & Römbke J 2015. The use of soil mites in ecotoxicology: a review. *Ecotoxicology* 24: 1-18.
- ISO 1999. Soil Quality – Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. ISO 11267. International Standardization Organization.
- ISO 2008. Soil quality – Guidance on the choice and evaluation of bioassays for ecotoxicological characterization of soils and soil materials. ISO 17616. International Standardization Organization.
- ISO 2011. Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour – Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*). ISO 17512-2. International Standardization Organization.
- Jensen J & Mesman M (eds) 2006. *Ecological Risk Assessment of Contaminated Land. Decision Support for Site Specific Investigations*. National Institute for Public Health and the Environment, RIVM.
- Kiss I & Bakonyi G 1992. Guideline for testing the effects of pesticides on *Folsomia candida* Willem (Collembola): Laboratory tests. Bulletin of the International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants. West Palearctic Regional Section. (IOBC/WPRS) 15: 131-137.
- Knacker T, Van Gestel CAM, Jones SE, Soares AMVM, Schallnaß H-J, Förster B & Edward CA 2004. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) - An instrument for testing potentially harmful substances: Conceptual approach and study design. *Ecotoxicology* 13: 9-27.
- Koolhaas JE, Van Gestel CAM, Römbke J, Soares AMVM & Jones SE 2004. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) - An instrument for testing potentially harmful substances: Effects of Carbendazim on soil microarthropod communities. *Ecotoxicology* 13: 75-88.
- Krogh PH & Axelsen JA 1998. Test on the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* preying on *Folsomia fimetaria*. In: *Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests* (Løkke H, Van Gestel CAM eds): 239-251. John Wiley & Sons.
- Lebrun P & Van Straalen NM 1995. Oribatid mites: prospects for their use in ecotoxicology. *Experimental and Applied Acarology* 19: 361-379.
- León Paumen M, Steenbergen E, Kraak MHS, Van Straalen NM & Van Gestel CAM 2008. Multigeneration exposure of the springtail *Folsomia candida* to phenanthrene: From dose-response relationships to threshold concentrations. *Environmental Science and Technology* 42: 6985-6990.
- Luo W, Verweij RA & Van Gestel CAM 2014. Assessment of the bioavailability and toxicity of lead polluted soils using a combination of chemical approaches and bioassays with the collembolan *Folsomia candida*. *Journal of Hazardous Materials* 280: 524-530.
- Luo W, Verweij RA & Van Gestel CAM 2015. Toxicity of Pb contaminated soils to the

- oribatid mite *Platynothrus peltifer*. *Ecotoxicology* 24: 985-990.
- Løkke H & Van Gestel CAM (eds) 1998. Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests. John Wiley & Sons.
- Nota B, Verweij RA, Molenaar D, Ylstra B, Van Straalen NM & Roelofs D 2010. Gene expression analysis reveals a gene set discriminatory to different metals in soil. *Toxicological Sciences* 115: 34-40.
- OECD 1984. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, no. 207. Earthworm, Acute toxicity tests. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD 2008. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, no. 226. Predatory mite (*Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer*) reproduction test in soil. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD 2009. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, no. 232. Collembolan reproduction test in soil. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- Owojori OJ, Healey J, Princz J & Siciliano SD 2011. Can avoidance behavior of the mite *Oppia nitens* be used as a rapid toxicity test for soils contaminated with metals or organic chemicals? *Environmental Toxicology and Chemistry* 30: 2594-2601.
- Popp E 1970. Effects of dieldrin (HOED) on a moss mite *Hermannia convexa* C.L. Koch (Acari; Oribatei). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 65: 117-130.
- Princz JI, Behan-Pelletier VM, Scroggins RP & Siciliano SD 2010. Oribatid mites in soil toxicity testing – the use of *Oppia nitens* (C.L. Koch) as a new test species. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 971-979.
- Rico A & van den Brink PJ 2015. Evaluating aquatic invertebrate vulnerability to insecticides based on intrinsic sensitivity, biological traits, and toxic mode of action. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34: 1907-1917.
- Roelofs D, De Boer M, Agamennone V, Bouchier P, Legler J & Van Straalen N 2012. Functional environmental genomics of a municipal landfill soil. *Frontiers in Genetics* 3, Article 85, doi: 10.3389/fgene.2012.00085.
- Scopes NEA & Lichtenstein EP 1967. The use of *Folsomia fimetaria* and *Drosophila melanogaster* as test insects for the detection of insecticide residues. *Journal of Economic Entomology* 60: 1539-1541.
- Schnug L, Jensen J, Scott-Fordsmand JJ & Leinaas HP 2014. Toxicity of three biocides to springtails and earthworms in a soil multi-species (SMS) test system. *Soil Biology and Biochemistry* 74: 115-126.
- Sheals JG 1956. Soil population studies. I. The effects of cultivation and treatment with insecticides. *Bulletin of Entomological Research* 47: 803-822.
- Smit CE, Moser Th & Römbke J 2012. A new OECD test guideline for the predatory soil mite *Hypoaspis aculeifer*: Results of an international ring test. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 82: 56-62.
- Snape JR, Maund SJ, Pickford DB & Hutchinson TH 2004. Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquatic Toxicology* 67: 143-154.
- Spurgeon DJ, Ricketts H, Svendsen C, Morgan AJ & Kille P 2005. Hierarchical responses of soil invertebrates (earthworms) to toxic metals stress. *Environmental Science and Technology* 39: 5327-5334.
- Thompson AH & Gore FL 1972. Toxicity of twenty nine insecticides to *Folsomia candida*: Laboratory studies. *Journal of Economic Entomology* 65: 1255-1260.
- Van Gestel CAM & Doornekamp A 1998. Tests on the oribatid mite *Platynothrus peltifer*. In: Handbook of soil invertebrate toxicity tests (Løkke H, Van Gestel CAM eds): 114-130. John Wiley & Sons.
- Van Straalen NM, Schobben JH & De Goede RG 1989. Population consequences of cadmium toxicity in soil microarthropods. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 17: 190-204.
- Van Straalen NM & Feder ME 2012. Ecological and evolutionary functional genomics-how can it contribute to the risk assessment of chemicals? *Environmental Science & Technology* 46: 3-9.
- Van Straalen NM, Janssens TKS & Roelofs D 2011. Micro-evolution of toxicant tolerance: from single genes to the genome's tangled bank. *Ecotoxicology* 20: 574-579.
- Van Straalen NM & Roelofs D 2008. Genomics technology for assessing soil pollution. *Journal of Biology* 7: 19.
- Van Straalen NM 2016. Wat maagdelijke mijten weten van evolutie. *Entomologische Berichten* 76: 63-68.
- Versonnen B, Tarazona JV, Cesnaitis R, Sobanska MA, Sobanski T, Bonnomet V & De Coen W 2014. Analysis of the ecotoxicity data submitted within the framework of the REACH Regulation. Part 4. Experimental terrestrial toxicity assays. *Science of the Total Environment* 475: 123-131.
- Wiles JA & Krogh PH 1998. Tests with the collembolans *Isotoma viridis*, *Folsomia candida* and *Folsomia fimetaria*. In: Handbook of soil invertebrate toxicity tests (Løkke H & Van Gestel CAM eds): 131-156. John Wiley & Sons.

Geaccepteerd: 29 februari 2016

## Summary

### The use of springtails and mites in soil ecotoxicology

Soils are contaminated at large scales, but how these contaminants affect soil organisms and processes is often unknown. The research field of ecotoxicology aims at understanding the consequences of soil pollution. This paper gives an overview of the state-of-the-art of the development and use of soil ecotoxicological tests with springtails and mites. Toxicity tests with springtails use the species *Folsomia candida* and *F. fimetaria*, and determine effects on survival and reproduction after exposure for 28 and 21 days, respectively. In addition, tests are available to assess avoidance response, multi-generational effects and gene-expression responses of *F. candida* after exposure to chemicals or to contaminated soils. A test with the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* currently is used for the risk assessment of pesticides, but tests with the oribatid mite species *Platynothrus peltifer* and *Oppia nitens* are not sufficiently standardized yet to make them acceptable for this application. The same counts for multi-species tests and model ecosystem studies that are developed to assess the effects of chemicals in more ecologically relevant settings at the population or community level. Although still a lot of work has to be done, soil toxicity tests are increasingly used for the evaluation of new chemicals and pesticides as well as for the ecological risk assessment of contaminated soils.

