

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Das Sediment von Flüssen stellt für viele Schadstoffe eine Senke für über die Wasserphase eingetragene Schadstoffe dar (Prorsi & Müller 1987, Fiedler & Rösler 1993, Calmano 2001), so dass Sedimentuntersuchungen für eine umfassende Bewertung der Gewässerbelastung unverzichtbar sind. Treffenderweise werden Sedimente daher auch als „Gedächtnis des Gewässers“ bezeichnet. Gleichzeitig sind Sedimente jedoch auch eine Quelle für Schadstoffe, da eine Remobilisierung sedimentgebundener Schadstoffe z.B. durch Hochwasserereignisse oder beim Ausbaggern von Wasserstrassen bzw. bei Veränderungen der physiko-chemischen Bedingungen (pH-Wert, Redoxpotential, Salinität, Huminstoffgehalt) jederzeit wieder erfolgen kann (Calmano 2001). Zudem kann eine Bioakkumulation der Schadstoffe in Benthosorganismen erfolgen, so dass Schadstoffe in die Nahrungskette gelangen und sich dort anreichern (Ingersoll et al. 1995). Seit längerer Zeit besteht deshalb Einigkeit über die Notwendigkeit, für die Sedimentqualität, ähnlich der Wasserqualität, ein Bewertungsverfahren zu entwickeln (Long & Chapman 1985, Förstner et al. 1987, Krebs 1992).

Da eine rein chemisch-analytische Sedimentbewertung mittlerweile als unzureichend betrachtet wird (Ahlf 1995), wird verstärkt nach ökotoxikologischen Testmethoden gesucht, die eine summarische Beurteilung über Wirkdaten erlauben (Zimmer & Ahlf 1994). Chemisch-analytische Untersuchungen geben zwar Aufschluss über das Auftreten von Umweltschadstoffen in Sedimenten, liefern jedoch keine Information über die Bioverfügbarkeit sowie die Wirkung bzw. Wechselwirkungen der vorgefundenen Chemikalien in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen und damit über deren tatsächliche Toxizität für sedimentbewohnende Organismen (Knezovich et al. 1987, O'Connor & Paul 2000). Darüber hinaus erscheint es fast unmöglich und mit enormem Kostenaufwand verbunden, alle potentiellen Schadstoffe analytisch zu erfassen (Calmano 2001). Hingegen bieten ökotoxikologische Wirkungsuntersuchungen, die Effekte von belasteten Sedimenten auf Biota in den Vordergrund stellen, eine sinnvolle Ergänzung bzw. sind als sinnvollere Alternative sogar vorzuziehen, da sie Aussagen zur Lebensqualität und Überlebenswahrscheinlichkeit von benthischen Organismen liefern können. Möglich ist der Einsatz von Biotests, die den Einfluss von Eluat, Extrakten oder aber des Gesamtsediments untersuchen. Die Exposition der Testorganismen gegenüber dem Gesamtsediment spiegelt die reale Situation am ehesten wider und weist daher eine hohe ökologische Relevanz auf (Lamberson & Swartz 1988, Ankley et al. 1990, Burton 1991, Burton et al. 1992). Die Testorganismen können hierbei die im Sediment vorhandenen Schadstoffe über mehrere Expositionspfade aufnehmen: partikulär gebundene Schadstoffe können durch Sedimentingestion in den Verdauungstrakt des Organismus gelangen oder durch Kontakt mit Körperoberflächen vom Organismus aufgenommen werden, und im Porenwasser und in der Wassersäule gelöste Schadstoffe können durch Körperwand und respiratorische Oberflächen in den Organismus eindringen (Ahlf et al. 2001). Neben gelösten Substanzen im Sediment sind auch partikelgebundene Schadstoffe durchaus für benthische Organismen verfügbar (Reinfelder & Fisher 1991, Leppänen & Kukkonen 1998, Lee et al. 2000). Die tatsächliche Bioverfügbarkeit von Schadstoffen im Sediment kann deshalb in einem Biotest nur bei einer Exposition gegenüber Gesamtsedimenten wirklich erfasst werden (Höss 2002b).

Bei der ökotoxikologischen Bewertung von Sedimenten werden momentan im wesentlichen Arthropoden und hierbei vor allem Insekten (*Chironomus riparius*, *Chironomus tentans*, *Hexagenia limbata*, *Polypedilum nubifer*) und Anneliden (*Limnodrilus hoffmeisteri*, *Lumbriculus variegatus*, *Tubifex tubifex*) sowie Crustaceen (*Gammarus fasciatus*, *Hyaella azteca*) eingesetzt (Wentsel et al. 1977, Henry et al. 1986, Hatakeyama 1987, Wiederholm et al. 1987, Borgmann et al. 1989, Dermott & Munawar 1992, Hoke et al. 1994, Martinez-Madrid et al. 1999, Ristola et al. 1999). Zudem finden neuerdings auch zunehmend Biotests mit Nematoden (*Caenorhabditis elegans*) und Gastropoden (*Potamopyrgus antipodarum*, *Nassarius reticulatus*) Anwendung in der Sedimentbewertung (Traunspurger et al. 1997, Höss et al. 1999, Schulte-Oehlmann et al. 2001a, b, Tillmann et al. 2001, Duft et al. 2002, 2003b, c).

Im Sinne einer Sedimentqualitäts-Triade nach Chapman (1990, 2000) wird empfohlen, neben der analytischen und ökotoxikologischen Untersuchung von Sedimenten auch *in situ*-Parameter, wie z.B. die Struktur der benthischen Lebensgemeinschaft, zu erfassen. Da jede der drei Methoden spezifische und essentielle Informationen über das zu untersuchende Sediment liefert, erlaubt der kombinierte Einsatz dieser drei Untersuchungsansätze eine äußerst differenzierte, integrierte Bewertung der Sedimentqualität (Abbildung 1).

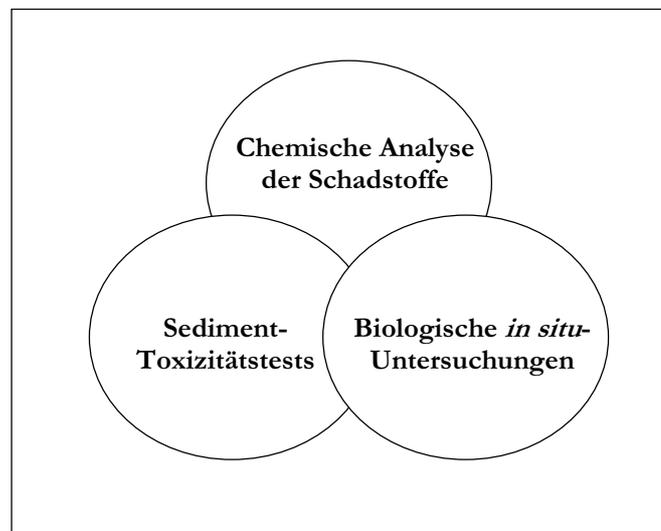


Abbildung 1. Schematische Darstellung einer integrierten Sedimentbewertung im Sinne der Sedimenttriade nach Chapman (1990).

Im Jahre 2000 wurde von der EU eine neue Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) verabschiedet (2000/60/EG), deren Ziele unter anderem Maßnahmen zum Schutz und zur Verbesserung des Zustands von aquatischen Ökosystemen sind (Europäische Union 2000a). Als bedeutsames biologisches Element aquatischer Ökosysteme sind dabei auch Sedimentorganismen (Makrozoobenthos) als wichtiges Schutzziel zu betrachten. Ein biologisches Effektmontoring zur Überwachung von Fließgewässersedimenten erfolgt jedoch bislang noch nicht routinemäßig. Demzufolge fehlt ein standardisiertes Sedimentbewertungskonzept, das eine Klassifizierung der zuvor bei ausgewählten Organismen beobachteten Effekte erlaubt, obwohl bereits eine Reihe von Vorschlägen für entsprechende Bewertungskonzepte vorliegen (Ahlf et al. 1999, 2002, Henschel et al. 2001, Hollert 2001), die an einzelnen Sedimenten bzw. ausgewählten Flussabschnitten erprobt wurden.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines F&E-Forschungsvorhabens des Umweltbundesamts (FKZ 299 24 275) angefertigt (Duft et al. 2003a). Das Ziel dieses Projekts war die Erstellung und Erprobung eines bundesweiten, ökotoxikologisch begründeten Bewertungssystems für Fließgewässersedimente, welches in Anlehnung an die ökologische Klassifizierung der EU-Wasserrahmenrichtlinie statistisch abgesichert sein und fünf Stufen umfassen sollte. Dazu wurden etwa 200 Sedimente ausgewählter größerer Fließgewässer in Deutschland (a) geochemisch und (b) im Hinblick auf ihre Toxizität mit Hilfe des Nematoden- und eines weiteren Biotests mit Chironomiden (Tillmann 2003) charakterisiert. Auf Grundlage dieses umfangreichen Datenmaterials, der Ergebnisse der chemischen Analysen und der ermittelten biologischen Effekte, sollte (c) ein statistisch abgesichertes, fünfstufiges Bewertungssystem erarbeitet und angewendet werden, das sich zur Routineanwendung bei der Sedimentbewertung eignet. Darüber hinaus sollte (d) eine Sediment-Belastungskarte der im Projekt bearbeiteten Flüsse erstellt werden, die auf den Ergebnissen der biologischen Tests beruht.

Einen Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit bildet daher die Erfassung des Belastungszustandes von Sedimenten mit Hilfe des Biotests mit *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). Der Fadenwurm *C. elegans* ist einer der genetisch am besten untersuchten Vielzeller und als Vertreter der Nematoden, einer ökologisch bedeutsamen Organismengruppe, als Modellorganismus in der Sedimentbewertung besonders geeignet. Seine kurze Generationszeit und leichte Handhabbarkeit im Labor sind für die Verwendung von *C. elegans* in einem routinemäßig einsetzbaren Standardtest von entscheidendem Vorteil. Bei diesem weitgehend standardisierten Verfahren ist die Methodenentwicklung weit fortgeschritten, und es liegt ein DIN-Richtlinienentwurf vor, nach dem der Biotest durchgeführt wurde (Traunspurger et al. 1997, Höss 2002a). Die Organismen werden gegenüber dem Gesamtsediment exponiert, wobei *C. elegans* als endobenthischer Organismus in unmittelbarem Kontakt mit dem Sediment ist. Der Einsatz eines bereits standardisierten Biotests bietet den Vorteil der Möglichkeit eines Vergleichs mit anderen Untersuchungen. Das umfangreiche Sedimenteffektmonitoring dient damit auch der Validierung des angewandten Biotests.

Die bislang entwickelten und angewandten Sedimentbiotests sind hauptsächlich für die Einschätzung von Kontaminationen durch allgemein reproduktionstoxischer Substanzen, wie z.B. Schwermetalle und PAK, geeignet. In Sedimenten findet sich jedoch darüber hinaus eine breite Palette weiterer Xenobiotika, deren Effekte auf Sedimentbewohner noch nicht bekannt bzw. deren Bewertung durch die Anwendung geeigneter Biotests bislang noch nicht gelungen ist. In den letzten Jahren wurden für zahlreiche Umweltchemikalien Studien veröffentlicht, die eine Beeinflussung des Hormonsystems bei Tieren und Menschen nahe legen (deFur et al. 1999). Diese auch als „endokrine Disruptoren“ bezeichneten hormonomimetischen Substanzen werden mit Phänomenen wie z.B. abnehmenden Spermiedichten bei Männern, zunehmendem Auftreten von geschlechtshormonabhängigen Krebsformen, genitalen Missbildungen und verfrühter Pubertät bei Frauen in Verbindung gebracht (Gist 1998, Swan et al. 2000). Derartige Xenobiotika vermögen die Fortpflanzungsfähigkeit bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen negativ zu beeinflussen (Gist 1998). Dies kann auch bei Wirbellosen weitreichende ökologische Folgen haben (Matthiessen & Gibbs 1998).

Unter den Verdachtssubstanzen sind u.a. als Xeno-Androgene verschiedene Organozinnverbindungen (Tributyl- und Triphenylzinn) oder auch Verbindungen wie Alkylphenole (Octyl- und Nonylphenol) bzw. Bisphenol A als Xeno-Östrogene zu finden. Triphe-

nylzinn (TPT) wurde seit 1960 als Breitband-Fungizid in der Landwirtschaft eingesetzt und außerdem als Bestandteil in Antifoulinganstrichen in der Schifffahrt verwendet (Crompton 1998). Als Hauptbestandteil solcher Antifoulingfarben wurde, ebenfalls seit den 60er Jahren, Tributylzinn (TBT) eingesetzt. TBT findet zudem im Holz-, Leder- und Textilschutz Verwendung und tritt als Nebenprodukt von Mono- und Dibutylzinnverbindungen auf, welche als Stabilisatoren in der Plastikindustrie eingesetzt werden (Fent 1996). Organozinnverbindungen gelten als verhältnismäßig persistent (Sarradin et al. 1995) und akkumulieren in Sedimenten und insbesondere in Organismen (Fent 1996, Crompton 1998). Durch relativ hohe K_{OC} -Werte und geringe Löslichkeiten in Wasser ist eine starke Adsorption an gelöste Partikel und Sedimente zu erwarten (Federoff et al. 1999). Zudem zeigen die Substanzen, die beide auf den Prioritätenlisten der EU (Europäische Union 1999) und der Internationalen Kommission zum Schutz des Rheins (Vrijhof 1985) geführt werden, ein erhebliches Bioakkumulationspotential mit $\log K_{OW}$ -Werten von 4,1 bis 4,4 für TPT und TBT (Thompson et al. 1985, Arnold et al. 1997). Trotzdem sind Effekte dieser Substanzen auf benthische Invertebraten bislang kaum erforscht (Oehlmann 2000). Dieses Wissensdefizit gilt ebenso für Bisphenol A (BPA) und Octyl-(OP) bzw. Nonylphenol (NP). Während BPA vor allem in der Plastikindustrie in großem Umfang als Intermediat bei der Herstellung von Polycarbonaten und Epoxidharzen, aber auch als Antioxidans in Kunststoffen und hydraulischen Flüssigkeiten, für die Herstellung des Flammenschutzmittels Tetrabrombisphenol A, für Thermopapiere in Druckern und Faxgeräten, für die Reifenherstellung sowie in Dentalfüllungen und -versiegelungen verwendet wird (BUA 1997, Heemken et al. 2000), werden OP und NP, die beide auf der Prioritätenliste der EU (Europäische Union 2000b) geführt werden, als nicht-ionische Tenside bzw. NP auch in der Produktion von Weichmachern, Stabilisatoren, Pflanzenschutzmitteln und Pharmazeutika eingesetzt (Kaiser et al. 1998, Rippen 1999). Für diese Substanzen ist mit $\log K_{OW}$ -Werten von 2,2 bis 3,8 für BPA (BUA 1997, Staples et al. 1998, Heemken et al. 2000), von 3,9 bis 4,2 für OP und von 3,3 bis 4,5 für NP (BUA 1991, Ahel & Giger 1993) sowie mit relativ hohen K_{OC} -Werten (Johnson et al. 1998) ebenfalls eine moderate bis starke Adsorption an Sedimente bzw. Akkumulation in Organismen zu erwarten.

In jüngster Zeit wurde verstärkt deutlich, dass insbesondere solche Testverfahren benötigt werden, welche die Identifizierung von endokrin wirksamen, geschlechtshormon-ähnlichen Substanzen ermöglichen. Vorderkiemerschnecken erwiesen sich dabei als besonders sensitive Organismen (Oehlmann et al. 2000, Schulte-Oehlmann et al. 2000, 2001a). Daher war ein zweiter Schwerpunkt der Arbeit die Entwicklung eines Biotests mit einem weiteren sedimentbewohnenden Organismus, der einheimischen Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum*, welcher neben allgemein reproduktionstoxischen Stoffen auch endokrin wirksame Substanzen im Sediment zu detektieren vermag. Da eine Reihe abiotischer Parameter (z.B. organischer Kohlenstoffgehalt, Korngröße, Salinität, Temperatur) die Bioverfügbarkeit von Kontaminanten deutlich beeinflussen kann (Tessier & Campbell 1987, Phipps et al. 1993, Haitzer et al. 1998), ist die Überprüfung solcher Einflüsse beim Einsatz von Biotests unabdingbar.

Schließlich sollten als dritter Schwerpunkt der Arbeit zusätzliche ökologische *in situ*-Begleituntersuchungen erfolgen, wobei die Biozönose des Meiobenthos und dabei insbesondere die Nematoden-Lebensgemeinschaft analysiert wurde, da diese Organismengruppen von besonderer ökologischer Relevanz sind. Meiobenthische Organismen sind die artenreichsten Metazoen in Sedimenten (Yeates 1981, Traunspurger 1996a, b) und kön-

nen Dichten bis zu 40 Millionen/m² erreichen (Heip et al. 1985). Nematoden (Fadenwürmer) sind im benthischen Ökosystem von besonderer Bedeutung, da sie die arten- und individuenreichste Organismengruppe im Benthos darstellen (Anderson 1992, Traunspurger 2000). Sie kommen in allen Substrat- und Sedimenttypen sowie in allen klimatischen Zonen vor (Giere 1993) und wurden in allen bislang untersuchten Habitaten gefunden, selbst an extremen Standorten wie z.B. vulkanischen Quellen, anoxischen oder stark kontaminierten Sedimenten. Derzeit sind etwa 11.000 freilebende Nematodenarten bekannt (Andrássy 1992), wobei ein Großteil aller Nematoden vermutlich noch gar nicht beschrieben ist (Traunspurger 2000, 2002).

Durch die Ausbildung von verschiedenen Ernährungstypen (Detritus-, Bakterien-, Algen-, Allesfresser und Räuber) besetzen Nematoden unterschiedliche trophische Ebenen (Yeates et al. 1993, Traunspurger 1997) und damit wichtige Positionen in benthischen Nahrungsnetzen, wodurch sie den Material- und Energiefluss in Sedimenten entscheidend beeinflussen. Sie befinden sich während ihres gesamten Lebenszyklus in sehr engem Kontakt mit dem Sediment, da sie im Gegensatz zu den meisten makrobenthischen Organismen keine pelagischen Entwicklungsstadien haben. Zudem sind Nematoden und andere meiobenthische Organismen aufgrund ihrer geringen Mobilität und damit verbundener Fluchtmöglichkeit ständig dem Kontakt mit Kontaminanten in ihrer Umwelt ausgesetzt, was sie zu geeigneten Organismen für eine Überwachung der Sedimentqualität macht (Höss & Traunspurger 2003). Obwohl inzwischen die ökologische Relevanz des Meiobenthos und der Nematoden bekannt ist (Heip 1980, Kennedy & Jacoby 1999, Trett et al. 2000), sind bislang kaum Studien zur Bewertung von Sedimenten großer Fließgewässer mit Nematoden durchgeführt worden (Heininger & Höss, in Vorbereitung).

Zusammenfassend soll in dieser Arbeit als zentrale Frage der Einfluss der Sedimentbeschaffenheit auf zwei verschiedene Biotestorganismen sowie auf die Zusammensetzung einer ausgewählten Biozönose untersucht werden. Im einzelnen wird dabei folgenden Fragestellungen nachgegangen:

1. Nematodentest mit *Caenorhabditis elegans* (standardisierter Test): Ist dieser Test geeignet, um ein breites Belastungsspektrum in Freilandsedimenten abzubilden? Wie sensitiv ist der Test für einzelne Substanzen und abiotische Parameter?
2. Schneckentest mit *Potamopyrgus antipodarum* (neuentwickelter Test): Welche abiotischen Parameter beeinflussen das Testergebnis? Wie sensitiv ist der Test speziell für endokrine Sedimentinhaltsstoffe und welche Reaktionen rufen Mischungen der getesteten Substanzen hervor? Eignet sich der Test auch für die Untersuchung der Belastung von Freilandsedimenten?
3. Meiobenthos und Nematoden-Lebensgemeinschaften: Zeigen sich Effekte von Freilandsedimenten auf die Zusammensetzung dieser beiden Biozönosen? Welche Faktoren können dafür verantwortlich sein (Kontaminanten, abiotische Parameter)?
4. Wie können die bestehenden bzw. neu entwickelten Biotests bzw. ökologischen Untersuchungsmethoden in ein Bewertungskonzept eingebunden werden? Eignen sich die Verfahren für ein routinemäßiges Bewertungsverfahren von Sedimenten?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Untersuchungsgebiet und Probenahme

Das Untersuchungsgebiet der Freilanduntersuchungen umfasst 12 große Flüsse, die über das gesamte Bundesgebiet verteilt sind: Donau, Elbe, Ems, Main, Mosel, Neckar, Neisse, Oder, Rhein, Ruhr, Saar und Weser (Abbildung 2). Soweit möglich, wurden etwa alle 20 km Sedimentproben entnommen, um eine repräsentative und flächendeckende Beprobung zu gewährleisten (Tabelle 1). Eine detaillierte Übersicht aller Probenahmestellen befindet sich in Anhang I.

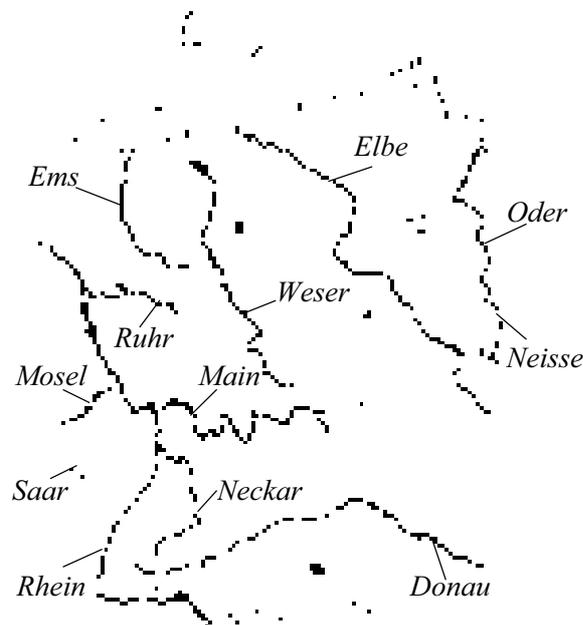


Abbildung 2. Untersuchungsgebiet: Übersicht der beprobten Flüsse.

Die zu untersuchenden Sedimente wurden entweder durch die Landesumweltämter der jeweiligen Bundesländer oder durch überregionale Organisationen (z.B. der ARGE Elbe) zur Verfügung gestellt oder, wo dies nicht möglich war, im Rahmen einer eigenen Probenahmekampagne genommen (Tabelle 1). Die meisten Sedimente wurden im Laufe des Jahres 2000 akquiriert. Die Probenahme erfolgte mittels eines Stechcorers (5 cm Durchmesser) vom Flussufer oder mit Hilfe eines van-Veen- oder Ekberg-Sedimentgreifers vom Schiff aus (Abbildung 3). Es wurde lediglich Sediment aus den obersten Schichten (0-2 bzw. 0-5 cm Tiefe) verwendet.

Um eine möglichst homogene Verteilung der Inhaltsstoffe zu gewährleisten, wurden die Proben vor dem Einsatz in den Biotests gut durchmischt. Bis zu ihrer Verwendung wurden die Sedimente in 1 L-PE-Flaschen bei -20°C aufbewahrt, vor allem um Veränderungen der Sedimentinhaltsstoffe zu minimieren und die natürlicherweise im Sediment vorkommende Lebensgemeinschaft (Infauna) abzutöten.