

Forschungsberichtblatt

Identifizierung und Bewertung (öko)toxikologisch belasteter Gewässer in Baden-Württemberg (Förderkennzeichen PAÖ Ö 97 004)

H. Hollert & Th. Braunbeck,
Zoologisches Institut der Universität Heidelberg

zu 1 und 2: Kurzbeschreibung der einzelnen Forschungsergebnisse und Fortschritte, die sich für die Wissenschaft und/oder Technik durch die Forschungsergebnisse ergeben

Methodenentwicklung

Im Rahmen dieser Studie wurden sowohl etablierte als auch neuere Analysemethoden für eine Untersuchung komplexer Umweltproben und insbesondere partikulär gebundener Schadstoffe adaptiert, um den Zustand von Gewässern zu erfassen. Detaillierte Beschreibungen einzelner Biotestmethoden sowie ein Vorschlag für eine *In vitro*-Biotestbatterie, die neben der akuten Toxizität auch spezifische Endpunkte erfasst, konnten im Rahmen eines Einleitungskapitels und durch Methodenbeschreibungen in einer Studie des Deutschen Verbandes für Wasser- und Kulturbau (DVWK) zur Sediment- und Schwebstoffbewertung einem breiten Publikum vorgestellt werden (Abschnitte 1 und 2).

Integrierte Sedimentuntersuchungen

Die *In vitro*-Biotestbatterie wurde zur Untersuchung des ökotoxikologischen Schädigungspotenzials gelöster und partikulär gebundener Schadstoffe an 12 Fließgewässerstandorten im Einzugsgebiet des Neckars überprüft (Abschnitt 4). Die Untersuchungen wurden im Sinne von Chapmans Triade-Konzept durchgeführt, um die Korrelation zu Befunden aus der chemischen Analytik zu ermöglichen und zugleich die ökologische Relevanz der *In vitro*-Befunde durch Untersuchungen *in situ* zu überprüfen.

(a) Es konnten mit der eingesetzten *In vitro*-Biotestbatterie für die untersuchten Fließgewässerstandorte des Einzugsgebietes des Neckars äußerst komplexe Belastungsmuster aus einer nicht vorhersagbaren Kombination akut toxischer, teratogener, gentoxischer, mutagener, dioxin-ähnlicher und endokriner Wirkungen nachgewiesen werden.

- Die Befunde aus dem Abschnitt 4.7 verdeutlichen, dass eine Bewertungsstrategie, die ausschließlich Bioassays zur akut toxischen Wirkung einsetzt, keinesfalls der Beurteilung eines komplexen Schädigungspotenzials gerecht werden kann. Es ist offensichtlich, dass eine Biotest-Batterie mit akuten Toxizitätstests das Schädigungspotenzial umfassender zu bewerten vermag als eine rein chemische Analytik bzw. die Verwendung nur einzelner Bioassays. Aber auch die Verwendung einer Biotestbatterie mit verschiedenen akut toxischen Endpunkten kann zu drastischen Fehleinschätzungen des ökotoxikologischen Schädigungspotenzials führen: So wäre der Standort des Forellenbaches nach einer Kläranlageneinleitung mit der im Rahmen eines UBA-Projektes angewendeten Biotestbatterie (Gratzer & Ahlf 1999a), aber auch mit dem überwiegenden Anteil der Bioassays zur akuten Toxizität der hier entwickelten Biotestbatterie als nur gering bis mäßig belastet klassifiziert worden. Gerade dieses Sediment des Forellenbaches zeigte aber in den spezifischen Bioassays ein drastisches Schädigungspotenzials: So konnte nicht nur eine hohe mutagene und endokrine Wirksamkeit nachgewiesen werden, sondern auch eine dioxin-ähnliche Wirksamkeit vergleichbar mit einem hochkonta-

miniertem Sediment aus dem Spittelwasser bei Bitterfeld oder mit einer um einen Faktor 300 höheren als für einen skandinavischen Hot Spot (Järnsjön, Schweden, Abschnitt 4.7.9).

- Bei *In vitro*-Bioassays kommt der Untersuchung des Expositionspfades natives Sediment *a priori* die höchste ökologische Relevanz zu, wobei insbesondere bei spezifischen Endpunkten die Untersuchung dieses Expositionspfades oftmals nicht möglich ist, so dass die partikulär gebundenen Schadstoffe in eine wässrige Phase überführt werden müssen (Eluate, Extrakte, Porenwasser). In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass bei den Untersuchungen im Bakterienkontakttest (*Arthrobacter globiformis*) und im Fischeitest (*Danio rerio*) die tatsächlich bioverfügbare Toxizität (native Sedimente) besser mit einer Untersuchung von acetonischen Extrakten als mit Porenwässern abgeschätzt werden konnte. Lipophilere Sedimentinhaltsstoffe besitzen in diesen beiden Testverfahren eine höhere Bioverfügbarkeit als bisher angenommen.
- Sowohl bei der mutagenen, genotoxischen als auch endokrinen Wirkung wurde in einzelnen acetonischen Extrakten eine spezifische Wirkung durch eine toxische Wirkung bzw. eine Hemmung maskiert. Mit anderen Lösungsmitteln und nach Fraktionierung der Sedimentinhaltsstoffe mit pH-abhängigen und säulenchromatographischen Methoden konnten zum Teil die spezifisch wirksamen von den akut toxischen bzw. hemmenden Substanzen abgetrennt und im Anschluss drastische Schädigungspotenziale ermittelt werden. Somit kann eine Routineuntersuchung von Gesamtextrakten mit spezifischen Endpunkten zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Soll die Gefahr einer Unterbewertung des spezifischen Schädigungspotenzials mit Sicherheit ausgeschlossen werden können, empfiehlt sich eine einfache Fraktionierung in Kombination mit *In vitro*-Bioassays.

(b) Bei den chemisch-analytischen Untersuchungen der Triade (Abschnitt 4.5) konnte insgesamt eine gute Korrelation zu den Befunden aus den Bioassays nachgewiesen werden. Eine Berechnung des Anteils der chemisch analysierten Substanzen an der gesamten biologischen Wirksamkeit mit Hilfe von *Toxicity equivalency*-Faktoren zeigte sowohl bei der dioxin-ähnlichen als auch bei der endokrinen Wirkung, dass selbst eine umfangreiche Analytik die biologische Wirksamkeit nicht abzuschätzen ermöglicht: Während mit Hilfe des TEF-Konzeptes bei den weniger kontaminierten Proben ein Großteil der dioxin-ähnlichen Wirksamkeit mit den Konzentrationen an PAHs, PCBs und PCDDs/Fs erklärt werden konnte, identifizierte die chemische Analyse nur 0,5 – 0,7 % des biologisch nachgewiesenen dioxin-ähnlichen Potenzials der hochkontaminierten Proben.

(c) Die Befunde der Makrozoobenthos-Untersuchungen (Abschnitt 4.6) dokumentierten jeweils eine hohe ökologische Relevanz der Befunde aus den Bioassays und der chemischen Analytik. In den meisten Fällen konnte bereits mit dem Saprobienindex eine gute Differenzierung des Schädigungsgrades der Biozösen ermittelt werden. Es zeigte sich aber, dass Saprobie-basierte Bioindices alleine zur Erfassung komplexer Belastung nicht geeignet sind, wogegen aus der kombinierten Verwendung verschiedener Indices weiterführende Informationen zur Art der Schädigung der Biozönose erhalten werden konnten. Während mit dem Diversitätsindex nach Shannon-Wiener keine belastungsabhängige Differenzierung der Standorte möglich war, erwies sich der ökotoxikologische Index nach Carmargo als geeigneter, sensitiver Bioindex zur Analyse von Degradationen *in situ*.

Die Befunde zeigen, dass das Konzept der Sedimenttriade, besonders nach Erweiterung um spezifische Endpunkte, eine geeignete Strategie zur umfassenden Untersuchung und Bewertung von Fließgewässern darstellt. Insbesondere der Vergleich der Befunde mit denen von möglichst gering kontaminierten Referenzstandorten sollte jeweils durchgeführt werden, nicht zuletzt um bei ökotoxikologischen Untersuchungen die Notwendigkeit der fließgewässertypologischen Bewertung zu integrieren, die bei neueren *In situ*-Klassifikationsverfahren bereits berücksichtigt wurde (Braukmann & Pinter 1997a).

Entwicklung und Erprobung einer statistischen Bewertungsstrategie

Eine Überprüfung unterschiedlicher Methoden zur statistischen Bewertung des komplexen Datensatzes der Sedimentbewertungstriade wurde in Abschnitt 5 durchgeführt. Rangsummen-basierte Verfahren und die Hasse-Diagramm-Technik erwiesen sich dabei als geeignete Methoden, um die Höhe und die Belastungsmuster des ökotoxikologischen Schädigungspotenzials aufzuzeigen. Dennoch wird für den Einsatz dieser Bewertungsmethoden und die Interpretation der Ergebnisse ein umfassendes ökotoxikologisches und ökologisches Expertenwissen benötigt, das bei Entscheidungsfindungen im gewässerrechtlichen Vollzug nicht immer vorausgesetzt werden kann. Im Gegensatz dazu erwies sich die Fuzzy Logic als geeignet, ein einfach anzuwendendes und je nach Untersuchungsansatz leicht zu modifizierendes ortsabhängiges Expertensystem zu erarbeiten, mit dem die ökotoxikologische Belastung von integrierten Untersuchungen umfassend bewertet werden konnte. Auf der Basis der Befunde aus dieser Studie kann ein Fuzzy Logic-Expertensystem für die Bewertung der Befunde empfohlen werden. Die in Abschnitt 5 vorgeschlagene Sedimentklassifikation wurde auf Basis der hier eingesetzten Kombination von Bioassays, chemisch-analytischen Methoden und *In situ*-Untersuchungen vorgeschlagen und berücksichtigt Fließgewässer unterschiedlicher Größe im Einzugsgebiet des Neckars. Für die Verwendung mit anderen Batterien ist sie entsprechend anzupassen. Eine ortsunabhängige Klassifikation kann auf Grundlage dieser Untersuchungen nicht abgeleitet werden, wobei auch bei dem langfristigen Ziel der Entwicklung von ortsunabhängigen Klassifikationssystemen der Fuzzy Logic große Potenziale zukommen (vgl. Heise et al. 2000). Für die hier durchgeführte Überprüfung der Bewertungsmethoden wurden verschiedene Befunde, aus Gründen der Übersichtlichkeit, jeweils gleich gewichtet. Unseres Erachtens sollten jedoch bestimmte Endpunkte mit einer mehrfachen Wertung in das Klassifikationssystem eingehen. Insbesondere Mutagenität und Gentoxizität, Teratogenität von nativen Sedimenten im Fischeitest mit *Danio rerio* sowie dioxin-ähnliche Wirkung sollten eine höhere Gewichtung erfahren, nicht zuletzt weil in früheren Studien diese Endpunkte in Labortests oftmals direkt mit Biomarkern an Organismen aus dem Ökosystem aber, auch pathologischen Veränderungen korreliert werden konnten und somit *a priori* eine hohe Relevanz für das Ökosystem besitzen.

Biotestgeleitete Fraktionierung zur Identifizierung problematischer Inhaltsstoffe

In Abschnitt 6 konnte gezeigt werden, dass komplexe Bioassay-dirigierte Fraktionierungen geeignete Methoden darstellen, die chemische Identität der Substanzen näher zu identifizieren, die im Sediment des Forellenbaches nach der Kläranlageneinleitung für das hohe mutagene und dioxin-ähnliche Potenzial verantwortlich waren. Beim Ames-Test konnten PAHs mit einem Molekulargewicht von 264 bis 266, für die bisher nur wenige biologische Wirkdaten vorliegen, als Hauptträger der mutagener Wirkung identifiziert werden. Auch bei der dioxin-ähnlichen Wirksamkeit konnte gezeigt werden, dass mono- und diaromatische Verbindungen (PCDDs/Fs, PCBs, PCNs) als die klassischen Induktoren keinen signifikanten Beitrag zum Schädigungspotenzial des Ausgangsextraktes lieferten. Vielmehr konnte eine Fraktion mit einer Dominanz der PAHs Triphenylen, Benz(a)anthracen, Chrysen und zahlreicher ihrer Methyl- und Dimethylverbindungen für 70 % der EROD-Induktion der Ausgangsprobe verantwortlich gemacht werden. Diese Befunde verdeutlichen, dass selbst eine umfassende chemische Analytik das ökotoxikologische Schädigungspotenzial des Forellenbachsedimentes in Bezug auf mutagene und dioxin-ähnliche Wirksamkeit unterbewertet hätte. Die Ergebnisse dieser Teilstudie zeigen, dass Biotest-geleitete Fraktionierungen im Risk Assessment einen viel größeren Stellenwert erhalten sollten, da nur durch sie eine Identifizierung der biologisch wirksamen Substanzen erfolgen kann. Dem Nachteil relativ hoher Kosten von Fraktionierungen und Bioassays kann gegenübergestellt werden, dass insbesondere kostspielige chemische Analysen erst nach Indikation durchgeführt werden müssen: So konnte aufgrund der Abwesenheit von EROD-induzierenden Substanzen in Fraktion F2.1

bereits ohne chemische Analytik gefolgert werden, dass PCDDs/Fs keinen deutlichen Beitrag zur dioxin-ähnlichen Wirksamkeit lieferten.

Kombiniertes ökotoxikologisches und hydraulisches Konzept zur Bewertung des Remobilisationsrisikos von kontaminierten Sedimenten

Am Beispiel der Untersuchung von Bohrkernen der Stauhaltung Lauffen am Neckar und zwei extremen Hochwasserereignissen konnte die Eignung eines kombinierten ökotoxikologischen und hydraulischen Untersuchungskonzeptes für die Beurteilung des Erosionsrisikos kontaminierte Sedimente überprüft werden (Abschnitt 7). Dabei konnte gezeigt werden, dass extreme Hochwässer kontaminierte Altsedimente remobilisieren können und während dieser kurzen Ereignisse der überwiegende Teil des partikulären Schadstofftransportes im Neckar stattfindet. Auch bei diesen Untersuchungen konnte die Eignung der entwickelten *In vitro*-Biotestbatterie bestätigt werden.

Handlungsempfehlung für die Untersuchung von Fließgewässern

Teile der hier entwickelten Untersuchungsstrategie konnten bereits in eine Handlungsanweisung zur Sedimentbewertung eingebracht werden (Neumann-Hensel et al. 2000a), die unter wissenschaftlicher Leitung von Herrn PD Dr. Ahlf (TU Hamburg-Harburg) in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Tertyze (Umweltbundesamt) und Herrn Dr. Lay (Deutsche Bundesstiftung Umwelt) entwickelt wurde und auch Erfahrungen aus Anwendungen der Hamburger Biotestbatterie (Gratzer & Ahlf, 1999a) an Beprobungen von Elbe und Rhein einbezieht. Eine Reproduktion der Handlungsanweisung befindet sich im Anhang dieser Studie. Im Gegensatz zu anderen Handlungsanweisungen zur Sediment- und Baggergutbewertung (z.B. HABAB, BfG 2000; ATV-Regelwerk Abwasser-Abfall 1998 und Klärschlammverordnung 1992), bei denen die Güte *biologischer* Schutzgüter fast ausschließlich durch *chemisch-analytische* Kategorien (Richtlinien) klassifiziert wird, setzt diese Empfehlung prioritär *biologische* Verfahren ein. Diese Vorgehensweise ist die Konsequenz aus einer Vielzahl von Studien, die zeigen, dass auch eine leistungsfähige chemische Analytik nicht in der Lage ist, komplexe Stoffgemische in ihrer ökotoxikologischen Wirkung abzuschätzen.

In Kombination mit chemischen Analysen werden die diagnostischen Werkzeuge vereint zur integrativen Umweltbewertung eingesetzt. Die Handlungsempfehlung wurde vor dem Hintergrund verfasst, ein praktikables gestuftes Bewertungskonzept nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung für Behörden und Institutionen zu schaffen.

Das Untersuchungskonzept ist gestuft aufgebaut: Es ist nicht nötig, die gesamte Untersuchungspalette für jedes Gewässer anzuwenden. Abhängig von Fragestellung, Indikation, Untersuchungsziel und den zur Verfügung stehenden Daten werden zusammenhängende Bausteine in einem Untersuchungskonzept erfasst. Die Anzahl der einzusetzenden Bausteine wird dabei durch das Untersuchungsziel bestimmt.

Im Gegensatz zu anderen Handlungsanweisungen sind die Befunde der einfachen ökotoxikologischen Testbatterie Steuerungsparameter in der ersten Stufe, in der nur wenige chemische Summenparameter analysiert werden. Bei einer fehlenden ökotoxikologischen Wirkung kann das Analysenprogramm sofort gestoppt werden, ohne aufwendige und kostspielige chemische Analysen durchzuführen. Je nach sachlogischer Verknüpfung kann die minimale Biotestbatterie um weitere Wirkungstests erweitert werden: Soll beispielsweise Baggergut bezüglich seiner Verwertbarkeit überprüft werden, sollten weitere spezifische Endpunkte wie dioxin-ähnliche Wirksamkeit, Mutagenität und Genotoxizität überprüft werden. Um die Gefahr einer falsch-negativen Beurteilung der Sediment- und Schwebstoffqualität zu verhindern, sollte nach Möglichkeit eine Vielzahl von Untersuchungsparametern berücksichtigt werden. Tab. 8.1 stellt eine nach den Ergebnissen dieser Studie sinnvolle und zugleich praktikable Testbatterie für spezifische Fragestellungen zusammen. Auch sie kann in Abhängigkeit vom Untersuchungsziel modifiziert werden. Bei einer Untersuchung von Sedimenten vor dem Hintergrund einer Baggergutumlagerung sollten beispielsweise Biotests mit den Expositionspfaden natives Sedi-

ment, organischer Extrakt und wässriges Eluat durchgeführt werden, wogegen die Untersuchung von Porenwasser nur wenig Erkenntnisgewinn verspricht. Auch die Durchführung von Pflanzenkeimungstests ist anzuraten.

Tab. 8.1. Verfahrensvorschlag für die ökotoxikologische Untersuchung von Fließgewässern als Ergänzung zur Handlungsanweisung von Neumann-Hensel et al. (2000)

	<i>Stufe 1</i>	<i>Stufe 2</i>	<i>Stufe 3</i>	
			Basis	Erweitert
Toxizität				
Algenwachstumshemmtest	WE			
Leuchtbakterientest	WE			
Bakterienkontakttest	NS			
Zelltest mit RTG-2-Zellen	OE			BdF
Toxizität/Teratogenität				
Fischartest mit <i>Danio rerio</i>			OE	NS, WE
Mutagenität/Genotoxizität				
Ames-Test			OE	BdF, WE
Comet-Assay, RTG-2			OE	BdF, WE
Endokrine Wirkung				
Yeast-Assay/E-Screen			OE	BdF
Dot-Blot-Assay			OE	WE
Dioxin-ähnliche Wirkung				
EROD in Hühnerleberkultur				OE
EROD in RTL-2-Zellen			OE	BdF
Biotestgeleitete Fraktionierung				
Alumina-Säule			(OE)	OE
HPLC				OE
In situ-Aufnahmen				
Saprobienindex				Opt
Ökotoxikologischer Index				Opt
Comet-Assay - Feldstudie				Opt
Vitellogenin ELISA - Feldstudie				Opt
Histopathologie - Feldstudie				Opt

WE: Wässriges Eluat, OE: Organischer Extrakt, NS: Natives Sediment, BdF: Bioassay-dirigierte Fraktionierung, Opt: Optional. Stufe 2 des Systems besteht aus einer chemischen Einzelstoffanalytik.

In den heutigen Zeiten knapper öffentlicher Mittel stehen für die Untersuchungen oftmals nur begrenzte finanzielle Möglichkeiten zur Verfügung. Mehrkosten der integrierten Testung können dadurch vermieden werden, dass biologische Wirktests auch in der Sedimentbewertung – analog zum Abwasserabgabengesetz und Chemikaliengesetz – als Regulatoren bzw. Steuerparameter für die Indikation einer nachgeschalteten chemischen Analytik zugelassen werden. Eine Überprüfung der dioxin-ähnlichen Wirksamkeit mit Hilfe von Zellkulturen verursacht nur etwa 10 % der Kosten einer umfassenden chemischen Analytik auf PCDDs/Fs, PCBs und PAHs.

Die Biotests der Grundstufe (Stufe 1, Tab 8.1) entsprechen der minimalen Testbatterie aus Neumann-Hensel (2000a), sind aber um den Zelltest mit RTG-2-Zellen erweitert, da eine Batterie mindestens einen wirbeltiernahen Biotest auf der Grundstufe enthalten sollte. Sofern äußere Faktoren keine Minimalbatterie vorschreiben, sollte die Untersuchung möglichst mit Stufe 3 (Basis) begonnen werden, um eine folgenreiche falsch-negative Beurteilung der Sedimentqualität zu vermeiden. Dieser Baustein wird der Tatsache gerecht, dass durch Erfolge des Gewässerschutzes auf technologisch begründeter Anforderungen bei der überwiegenden Anzahl von Fließgewässern eine Verschiebung der Problematik von akuter Toxizität hin zu einer lang anhaltenden (chronischen) Belastung mit niedrigeren Konzentrationen meist komplexer Schadstoffgemische nachgewiesen werden konnte. Da subletale Belastungen mit einer Vielzahl von Belastungen im Ökosystem korrelieren, erscheint eine Überprüfung der mutagenen/gentoxischen, der teratogenen, der endokrinen sowie der dioxin-ähnlichen Wirkung bereits zu Beginn der Untersuchungen sinnvoll.

Durch den Einsatz eines organischen Gesamtextraktes in allen Bioassays der Stufe 3 (Basis) können die Kosten für die Probenaufbereitung stark reduziert werden. Die Biotests zur teratogenen Wirkung (Fischeitest nach DIN 38 415-6) und zur mutagenen/gentoxischen Wirkung (DIN 38415-4, Empfehlung eines BMBF-Verbundprojektes zur gentoxischen Wirkung von Oberflächengewässern, Grummt 2000) sind sehr gut standardisiert. Die Methoden zur Untersuchung der endokrinen und dioxin-ähnlichen Wirkung sind im Rahmen zahlreicher Originalarbeiten publiziert und wurden bereits bei vielen internationalen Studien erfolgreich für ein Risk Assessment eingesetzt. Der Dot-Blot an isolierten Hepatocyten aus der Regenbogenforelle wurde im Klassifikationssystem aufgrund des komplexen Metabolismus von intakten Leberzellen gewählt, obgleich er bei einem routinemäßigen Screening zahlreicher Proben den artifiziellen Reporterassays bezüglich der Praktikabilität etwas unterlegen ist. Für die Untersuchung der dioxin-ähnlichen Wirksamkeit hat sich der EROD-Assay an embryonalen Hühnerleberkulturen als sehr geeignet erwiesen, obwohl er für ein Screening zahlreicher Proben relativ aufwendig ist und insbesondere aus Gründen des Tierschutzes nicht in der Grundstufe eingesetzt werden sollte. Die EROD-Untersuchungen können in Stufe 3 (Basis) sehr praktikabel und preiswert mit Hilfe der permanenten Zelllinie RTL-2 aus der Leber der Regenbogenforelle durchgeführt werden. Sofern akute Toxizitätstest ein hohes akut toxisches Potenzial anzeigen, können die spezifischen Endpunkte der Stufe 3 (Basis) auch mit Fraktionen einer einfachen Bioassay-dirigierten Fraktionierung durchgeführt werden (Verhinderung von falsch-negativen Befunden durch Maskierung der spezifischen Effekte durch Toxizität).

Die Zusammensetzung der Biotestbatterie in der erweiterten Stufe 3 hängt von der Fragestellung ab. In dieser Stufe sollte zugleich die ökologische Relevanz der Laboruntersuchungen mit Hilfe von *In situ*-Aufnahmen überprüft werden.

zu 3. Empfehlungen, die sich aus dem Forschungsergebnis für die Praxis und für zukünftigen Forschungsbedarf ergeben

- Die nachgewiesene bessere Übereinstimmung der embryotoxischen Wirkung nativer Sedimente im Fischeitest mit *Danio rerio* mit acetonischen Extrakten als mit Porenwässern dokumentiert einen gravierenden Mangel im grundsätzlichen Verständnis der Verteilung verschiedener Substanzklassen in den Expositionsphasen natives Sediment, Porenwasser, organischer Extrakt und Eluat. Hier würde eine kombinierte Untersuchung verschiedener Expositionspfade in Bioassays mit einer chemischen Analyse *jeder* Expositionsphase helfen, grundsätzliches Wissen zur Dominanz verschiedener Substanzen in den jeweiligen Expositionsphasen zu erlangen.
- Die prinzipiell gute Eignung des Fischeitests mit *Danio rerio* für die Testung *nativer* Sedimente konnte in dieser Studie aufgezeigt werden. Für einen Einsatz als Routinetest für die Überprüfung nativer Sedimente sollte der Test weiter optimiert und besser standardisiert werden. Zudem sollte die Eignung der auf nativen Sedimenten exponierten Embryonen als Testsystem für spezifische Endpunkte wie EROD-Induktion und Genotoxizität im Comet-Assay überprüft werden, da hier eine ökosystemnahe Exposition und Aufnahme der Schadstoffe angenommen werden können.
- Insgesamt zeigen die Befunde die Notwendigkeit einer Adaptation von spezifischen Biotests an die Untersuchung von nativen Sedimenten.
- Die hohe Belastung der exemplarisch ausgewählten Gewässer mit dioxin-ähnlich wirksamen Substanzen zeigt die Notwendigkeit, diesen Endpunkt nicht nur bei universitären Forschungsvorhaben sondern auch bei Gewässermonitoring seitens Behörden einzusetzen. Durch die hohen Kosten einer chemischen Analytik sollte die Standardisierung von Biotests zur dioxin-ähnlichen Wirkung weiter vorangetrieben werden, insbesondere um ihre Justiziabilität zu überprüfen. Auch die bessere Standardisierung von Bioassay-dirigierten Fraktionierungstechniken erscheint vor dem Hintergrund ihrer guten Eignung zur Identifizierung problematischer Substanzen dringend erforderlich. Die insbesondere bei den stark kontaminierten Sedimenten hohe Differenz zwischen der biologischen und der chemisch-analytisch nachgewiesenen TEQs zeigt, dass in baden-württembergischen Gewässern nicht-identifizierte Substanzen zu erheblichen Teilen an der gesamten dioxin-ähnlichen Wirkung teilhaben. Hier ist ein Forschungsbedarf bezüglich der Untersuchung von Substanzen mit potenzieller dioxin-ähnlicher Wirkung (etwa polybromierte Kohlenwasserstoffe und bestimmte PAHs-Transformationsprodukte, die bisher nur unzureichend ökotoxikologisch charakterisiert sind) festzustellen.
- Die Befunde der Sedimenttriade dokumentieren die Notwendigkeit einer fließgewässertypologischen Beurteilung des ökotoxikologischen Schädigungspotenzials. Die hier vorgestellte Handlungsempfehlung zur Untersuchung von Sedimenten sollte im Verbund mit anderen Institutionen an einigen Fließgewässern unterschiedlicher Typologie bezüglich ihrer Praxistauglichkeit validiert und ggf. weiterentwickelt werden. Ein besonderer Forschungsbedarf besteht bei der Untersuchung von Referenzgewässern, der Weiterentwicklung des Fuzzy Logic-Expertensystems und der Entwicklung von ortsunabhängigen Bewertungssystemen. Insbesondere die Integration von fließgewässertypologischen Klassifikationsmaßstäben und die feste Implementation von Referenztests erscheint für die Entwicklung von ortsunabhängigen Systemen notwendig.
- Die hier vorgestellten Befunde zur Remobilisierung von Sedimenten dokumentieren die enorme Bedeutung von extremen Hochwasserereignissen für den Transport partikulär gebundener Schadstoffe in aquatischen Systemen. Mit der hier eingesetzten Untersuchungsstrategie konnte eine hohe Belastung nachgewiesen werden, wobei eine exakte Zuordnung des Schädigungs-

potenzials zu remobilisierten Sedimenten bzw. luftbürtigen Schadstoffen des Runoff nicht möglich ist. Hier ist ein großer Forschungsbedarf hinsichtlich des Beitrages verschiedener Quellen zur Belastung festzustellen. Geeignete Probenstrategien während Hochwasserereignissen (ober- und unterstrom von Stauhaltungen, unterhalb von Einleitungen von Kläranlagen und Wasserentlastungseinleitungen) würden in Kombination mit der entwickelten Untersuchungsmethodik und Mischungskomponentenanalysen (Haag et al. 2000b) ein grundsätzlicheres Verständnis zur Dynamik des Schadstoffpotenzials während Hochwasserereignissen ermöglichen.

- Die hier durchgeführten Untersuchungen zum Belastungspotenzial von Hochwasserereignissen wurden ausschließlich mit labornahen Biotestmethoden durchgeführt. Eine Überprüfung der ökologischen Relevanz des enormen Schadstofftransportes während Hochwasserereignissen auf Organismen im Ökosystem steht noch aus, so dass bei einer Untersuchung weiterer Hochwasser dringend das Schädigungspotenzial *in situ* überprüft werden sollte.