

Einfluss organischer Substanz auf die Reproduktion, Biomasse und Akkumulation hydrophober Schadstoffe in *Lumbricus variegatus*

Stefanie Groh · Evelyn Claus · Werner Manz · Christel Möhlenkamp · Ralf-Dieter Zimmermann · Elke Blübaum-Gronau

Eingegangen: 30. März 2009 / Akzeptiert: 29. Januar 2010 / Online veröffentlicht: 23. Februar 2010
© Springer-Verlag 2010

Zusammenfassung *Hintergrund und Ziel* Zur Abschätzung des Schädigungspotenzials natürlicher, kontaminierter Sedimente im Rahmen der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie stellen Sedimenttoxizitätstests ein wichtiges Instrument dar. Dabei muss es bei der Testinterpretation möglich sein, zwischen natürlichen Einflüssen und anthropogenen Beeinträchtigungen zu unterscheiden. Der Gesamtgehalt an organischem Kohlenstoff (TOC) als Summe von partikulär gebundenem (POC) und gelöstem (DOC) organischen Kohlenstoff kann die Mobilität von Schadstoffen in Sedimenten beeinflussen. In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass neben dem Einfluss auf die Bioverfügbarkeit insbesondere der DOC-Gehalt direkte Effekte auf aquatische Organismen haben kann. Ziel dieser Studie war es, den Einfluss eines erhöhten Anteils organischer Substanz im Sediment auf die Endpunkte Reproduktion und Biomasse des Sedimenttoxizitätstests mit dem endobenthischen Oligochaeten *Lumbricus variegatus* zu ermitteln. Zudem wurden die Anreicherungsfaktoren der hy-

drophoben Schadstoffe 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorphenyl)ethen (p,p'-DDE), 2', 3, 4, 4', 5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 138) und 2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 153) unter Berücksichtigung des TOC-Gehalts und der Expositionsrouten (perkutan oder ingestiv) bestimmt.

Material und Methoden Die Testdurchführung erfolgte in Anlehnung an die OECD-Richtlinie 225 (2007) unter Verwendung von artifiziellen Sedimenten mit variierenden Torfgehalten. In drei unterschiedlichen Testmodifikationen wurde der Einfluss eines erhöhten TOC-Gehalts ohne und mit Sedimentdotierung ermittelt. Die nominale Schadstoffkonzentration der dotierten Sedimente betrug 50 µg/kg.

Ergebnisse Die Ergebnisse zeigten maximale Anreicherungsfaktoren von 13 für beide PCB und 11 für p,p'-DDE in Sedimenten mit geringen Torfanteilen. Mit zunehmendem Torfanteil verringerte sich die Höhe der Anreicherungsfaktoren. Dabei stellte die Sedimentingestion die Hauptexpositionsrouten dar. Darüber hinaus konnten überwiegend signifikant negative Korrelationen zwischen dem Torfgehalt in undotierten Sedimenten und der Reproduktion sowie der Biomasse ermittelt werden. In Kombination mit den Modellsubstanzen korrelierten sowohl Reproduktion als auch Biomasse positiv mit steigendem Torfgehalt.

Diskussion Aufgrund dieser Ergebnisse kann eine direkte Wirkung der organischen Substanz, insbesondere von Huminstoffen, auf den Testorganismus nicht ausgeschlossen werden. Da die anhand der Anreicherungsfaktoren ermittelte Bioverfügbarkeit der Schadstoffe mit steigendem TOC-Gehalt abnahm, kann angenommen werden, dass sich durch Konglomeration mit den Modellsubstanzen auch die Verfügbarkeit der Huminstoffe reduzierte.

Schlussfolgerungen Bei einer Bewertung von Toxizitätstests und Bioakkumulationsstudien mit *Lumbricus variegatus* sollte daher der mögliche Einfluss gelöster organischer Substanz auf den Testorganismus berücksichtigt werden.

Verantwortlicher Herausgeber: Henner Hollert

S. Groh (✉) · E. Claus · W. Manz · C. Möhlenkamp · E. Blübaum-Gronau
Bundesanstalt für Gewässerkunde,
Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz, Deutschland
E-Mail: Stefanie.Groh@lubw.bwl.de

R.-D. Zimmermann
Fachhochschule Bingen,
Berlinstraße 109, 55411 Bingen, Deutschland

S. Groh
aktuell: LUBW Landesanstalt für Umwelt, Messungen
und Naturschutz Baden-Württemberg,
Griesbachstraße 1–3, 76185 Karlsruhe, Deutschland

W. Manz
aktuell: Universität Koblenz-Landau,
Institut für Integrierte Naturwissenschaften, Abteilung Biologie,
Universitätsstraße 1, 56070 Koblenz, Deutschland

Empfehlungen und Perspektiven Um detailliertere Kenntnisse über die für den Testorganismus kritische DOC-Konzentration zu erhalten, sind weitere Untersuchungen zum Einfluss der Menge an organischem Material im Sediment und folglich der DOC-Konzentration im Überstandswasser empfehlenswert.

Schlüsselwörter Bioakkumulation · DDE · Europäische Wasserrahmenrichtlinie · Expositionsroute · *Lumbriculus variegatus* · Organische Substanz · PCB · Sedimentbewertung · Sedimenttoxizitätstests

Influence of increasing sediment organic matter on reproduction and growth of the benthic oligochaete *Lumbriculus variegatus*

Abstract *Background, aim, and scope* Sediment-Water Toxicity Tests are an important instrument for the environmental risk assessment of native, contaminated sediments within the European Water Framework Directive. Thus, it must be guaranteed to distinguish between natural and anthropogenic adverse effects. The content of particulate (POC) and dissolved (DOC) organic carbon can affect the mobility of sediment pollutants. Different studies demonstrated that the DOC-content can influence the bioavailability of contaminants and can directly affect aquatic organisms. The aim of this study was to investigate the influence of increasing sediment organic matter on reproduction and growth of the benthic oligochaete *Lumbriculus variegatus*. Furthermore, the accumulation factors of the hydrophobic substances 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorphenyl)ethylene (p,p'-DDE), 2', 3, 4, 4', 5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 138) und 2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 153) were calculated considering the TOC-content and the uptake route (water-only exposure or sediment ingestion).

Materials and methods The test was performed according to the OECD Guideline 225 (2007) using artificial sediment with different peat concentrations. The effect of an increasing TOC-concentration was studied in three different testmodifications with and without spiked sediment. The nominal concentration of the contaminants in spiked sediment was 50 µg/kg.

Results The results showed maximum accumulation factors of 13 for both, PCB 138 and 153 and 11 for p,p'-DDE in sediments with low organic carbon content. With increasing peat content accumulation factors decreased. Thereby the ingestion of sediment was the main exposure route. Moreover preponderantly negative correlations between the organic carbon content in unspiked sediments and reproduction as well as growth of the testorganisms were detected. In combination with the test substances reproduction and growth increased with increasing organic carbon content.

Discussion Hence it can be assumed that organic matter, especially humic substances, directly effected the testorganisms in the tests without spiked sediment. Due to the decrease of accumulation factors in spiked sediment with increasing TOC-content it might be possible that the availability of humic substances was reduced by conglomeration with the tested chemicals.

Conclusions Therefore the possible influence of dissolved organic matter on the testorganism should be considered when assessing the results of toxicity tests and bioaccumulation studies with *Lumbriculus variegatus*.

Recommendations and perspectives To receive detailed information about a critical DOC-concentration influencing the testorganisms further investigations about the amount of organic matter in the sediment and the DOC-concentration in the overlaying water are recommended.

Keywords Bioaccumulation · DDE · European Water Framework Directive · Exposure route · *Lumbriculus variegatus* · organic matter · PCB · Sediment assessment · Sediment-water toxicity tests

1 Hintergrund

Mit der Verabschiedung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (EG-WRRL) 2000/60/EG am 22. Dezember 2000 schuf das Europäische Parlament eine Grundlage für eine einheitliche und nachhaltige Gewässerschutzpolitik. Ziel ist es, bis 2015 einen guten chemischen und ökologischen Zustand oberirdischer Gewässer zu gewährleisten. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden die Kompartimente Wasser, Sediment und Organismus parallel in die Effektabschätzung und -bewertung prioritärer Stoffe einbezogen. Aufgrund des hohen Akkumulationspotenzials für Schadstoffe spiegeln Sedimente die Belastung von Oberflächengewässern wider (Claus et al. 2002). Sedimentkontakttests sind in besonderem Maße zur Beurteilung des Schädigungspotenzials kontaminierter Sedimente geeignet, da sie realistische Expositionsszenarien simulieren und die tatsächliche Bioverfügbarkeit von Schadstoffen berücksichtigen. Geeignete Biotests müssen dabei in der Lage sein, zwischen natürlichen Einflüssen und anthropogenen Beeinträchtigungen zu unterscheiden (Feiler et al. 2005). Ein bevorzugter Testorganismus ist der Oligochaet *Lumbriculus variegatus*, da er durch seine endobenthische Lebensweise über alle Aufnahmepfade exponiert ist (ASTM 2000; OECD 2007; Phipps et al. 1993). Ziel dieser Studie war es, den Einfluss einer erhöhten Konzentration von partikulär gebundenem (POC) und gelöstem (DOC) organischen Kohlenstoff auf die Testendpunkte Reproduktion und Biomasse sowie die Akkumulation hydrophober Schadstoffe in Abhängigkeit von der Expositionsroute zu ermitteln. Als Modellsubstanzen dien-

ten 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorphenyl)ethen (p,p'-DDE), 2', 3, 4, 4', 5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 138) und 2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 153). Die Summe aus POC und DOC ist der organische Gesamtkohlenstoff TOC. Durch die Sorption an Sedimenten mit erhöhtem TOC-Gehalt sinkt die Bioverfügbarkeit von Kontaminanten und führt zu geringeren Anreicherungsfaktoren. In verschiedenen Studien ist dies für Schadstoffe wie 2,4,5-Trichlorphenol, Pentachlorphenol oder Paraquat bereits nachgewiesen worden (Nikkilä et al. 2003; Wiegand et al. 2007). Speziell der DOC kann die Mobilität von Schadstoffen beeinflussen (Carter und Suffet 1982; Zhao und Lang 1996). Darüber hinaus können Huminstoffe als natürliche Umweltchemikalien eine Vielzahl spezifischer und unspezifischer Reaktionen hervorrufen (Pflugmacher et al. 2001; Steinberg 2003; Steinberg et al. 2006) und bei der Testung des Schädigungspotenzials natürlicher Sedimente zu Falsch-Positiv-Ergebnissen führen. In Oberflächengewässern liegt der Anteil der Huminstoffe am DOC bei 60–80 % (Boggs et al. 1985), in limnischen Klargewässern bei ungefähr 50 % (Malcolm 1985). Da insbesondere in den vergangenen Jahren ein Anstieg des DOC in Nordamerika und Teilen Europas zu verzeichnen war (Roulet und Moore 2006; Worrall et al. 2003), gewinnt dieser Faktor zunehmend an Bedeutung bei der Bewertung oberirdischer Gewässer im Rahmen der EG-WRRL (Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik – Wasserrahmenrichtlinie).

2 Material und Methoden

2.1 Testdurchführung

Die Tests wurden in Anlehnung an die OECD-Richtlinie 225 (OECD 2007) mit folgenden Abwandlungen durchgeführt:

In jeder Testserie wurde für die einzelnen Behandlungsgruppen mit variierenden Torfgehalten einmalig für alle Testgefäße dieser Gruppe eine Sedimentschicht von 1,5 cm ausgewogen. Die Übersichtung des Sediments erfolgte im Verhältnis 1:4 mit rekonstituiertem Wasser (OECD 1992; OECD 2007). Die Anzahl der Testorganismen (eigene Laborzucht, mittlerer Fettgehalt 3,9 %; $n = 3$) im Testgefäß wurde auf 40 Organismen erhöht, um eine ausreichende Biomasse für die Rückstandsanalytik gewährleisten zu können. Abweichend von der Richtlinie betrug die Beleuchtungsstärke während der Versuche 0,1 bis 1 klx. Zweimal wöchentlich wurden in dem Überstandswasser von je einem Replikat pro Behandlungsgruppe folgende Parameter bestimmt: Temperatur (pT 100, technetics Da-

tenlogger & Messtechnik GmbH, Freiburg), gelöster Sauerstoff (OXI 197i, WTW GmbH, Weinheim), Ammoniumkonzentration (LCK 303, Hach-Lange GmbH, Düsseldorf) sowie der pH-Wert (pH 197-S, WTW GmbH, Weinheim). Die Organismen wurden am Testende aus dem Sediment gewaschen und zur Darmentleerung in rekonstituiertes Wasser gegeben. Aufgrund von Literaturangaben wurde eine Depurationszeit von sechs Stunden gewählt (Dreher 2006; Mount et al. 1999). Danach erfolgte die Bestimmung des Frischgewichts und Trockengewichts (gefriergetrocknet). Da ein Einfluss auf die Reproduktion aufgrund der erhöhten Besatzdichte im Gefäß nicht auszuschließen war, wurde nach Egeler et al. (2005) als Validitätskriterium ein Reproduktionsfaktor von 1,2 für das Kontrollsediment festgelegt.

2.2 Applikation der Testsubstanz

Die Nominalkonzentrationen der Modellsubstanzen p,p'-DDE, PCB 138 und PCB 153 (LGC Promochem, Wesel; Reinheit > 99,6 %) betragen je 50 µg/kg Sedimenttrockengewicht und lagen damit in einem für den Testorganismus nicht toxischen Bereich (Dreher 2006; Fisher et al. 1999). Die Zugabe der Substanzen erfolgte gemäß der OECD-Richtlinie 225 (2007) mit 0,24 mL Aceton (Supra Solv, Merck KGaA, Darmstadt) pro 1 g Sand (Quarzsand Klasse F 36, Quarzwerke Frechen) mit einer Äquilibrierungszeit von sieben Tagen. Zusätzlich wurden Lösungsmittelkontrollen (LKS) ohne Testsubstanz angesetzt. Die mittleren Schadstoffkonzentrationen betragen nach der Äquilibrierungszeit 43 µg/kg ± 7 % für PCB 153, 49 µg/kg ± 6 % für PCB 138 und 51 µg/kg ± 2 % für p, p'-DDE. Am Testende konnten folgende Konzentrationen ermittelt werden: 41 µg/kg ± 6 %, 48 µg/kg ± 6 % und 49 µg/kg ± 4 % (je $n = 3$). Auf eine Analyse des Überstands- und Porenwassers wurde aufgrund des hydrophoben Charakters der Testsubstanzen verzichtet.

2.3 Testmodifikationen

2.3.1 Testserie steigender Torfgehalt ST

Die erste Versuchsserie diente zur Ermittlung, inwieweit ein erhöhter Torfgehalt die Endpunkte Reproduktion und Biomassenzunahme fördern oder hemmen und damit die Testinterpretation erschweren kann. Die Organismen wurden in artifiziellen Sedimenten mit Torfgehalten von 5, 10 und 15 % exponiert (Weißtorf luftgetrocknet, H2–H5, Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste-Groß Hesepe). Die TOC-Gehalte lagen entsprechend bei 1,9, 3,7 und 5,3 % (Helios Analyser, Eltra GmbH, Neuss). Als Kontrollsediment (KS) diente die erste Behandlungsgruppe mit 5 % Torf. Die Sedimente wurden nicht dotiert. Je Behandlungsgruppe (5, 10,

15 % Torf) wurden drei Replikate angesetzt. Die Testdauer betrug 28 Tage.

2.3.2 Testserie steigender Torfgehalt in dotiertem Sediment (STD)

Zur Bestimmung des Einflusses auf die Bioverfügbarkeit der Modellsubstanzen erfolgte die Exposition der Organismen in der zweiten Versuchserie in dotierten Sedimenten mit steigendem Torfanteil. Um die Effekte des Torfgehalts auf die Biomasse zu reduzieren, lag der Torfanteil aufgrund der Ergebnisse der Serie ST bei 5, 7,5 und 10 %. Auf diese Weise konnte eine ausreichende Biomasse für die Rückstandsanalytik gewährleistet werden. Die TOC-Gehalte der Behandlungsgruppen mit dotierten Sedimenten (DS) lagen bei 2,2, 3,4 und 4,1 %. Entsprechend der OECD-Richtlinie wurde parallel ein Kontrollsediment mit 5 % Torf sowie zusätzlich Lösungsmittelkontrollen mit 5, 7,5 und 10 % Torf getestet (TOC: 2,2, 2,7, 3,3 %). Die Nominalkonzentrationen der Testsubstanzen in den Sedimenten betragen 50 µg/kg. Je Behandlungsgruppe wurden drei Replikate angesetzt. Die Testdauer betrug 14 und 28 Tage. Die Testauflösung nach 14 Tagen diente der Überprüfung des Akkumulationsverlaufs der Schadstoffe.

2.3.3 Testserie Perkutane Resorption bei steigendem Torfgehalt in dotiertem Sediment (P-STD)

Die Testserie wurde parallel zur Serie TDS mit identischen Sedimenten zur Ermittlung der perkutanen Resorption der Modellsubstanzen durchgeführt. Abweichend von der Richtlinie wurden keine synchronisierten Tiere eingesetzt. Die Organismen wurden direkt vor Versuchsbeginn geteilt und die posterioren Fragmente in die Testgefäße überführt. Diese Fragmente bilden innerhalb von sechs bis sieben Tagen einen neuen Kopflappen (Prostomium) aus und beginnen mit der Nahrungsaufnahme (Leppänen und Kukkonen 1998b; Liebig et al. 2005). Bis zu diesem Zeitpunkt sind sie lediglich perkutan exponiert. Je Behandlungsgruppe wurden sechs Replikate angesetzt. Die Testdauer betrug sechs Tage.

2.4 Rückstandsanalytik

Die chemische Analyse der Biotaprobieren erfolgte gaschromatografisch mithilfe eines Elektroneneinfangdetektors (GC/ECD). Für diesen Zweck wurden die gefriergetrockneten Wurmproben zunächst in der Mikrowelle extrahiert und mithilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatografie fraktioniert (Blübaum-Gronau und Claus 2005). Der Anreicherungsfaktor berechnete sich aus dem Quotienten der Konzentration der Testsubstanz in dem Organismus (µg/kg, Trockengewicht) und der nominalen Schadstoffkonzentration im Sediment (µg/kg; Trockengewicht).

2.5 Statistische Auswertung

Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit Statistica, Version 7.1 (StatSoft GmbH, Hamburg). Mittels einfaktorier Varianzanalyse wurde überprüft, ob sich die Behandlungsgruppen voneinander unterscheiden. Bei einem signifikanten Unterschied wurde mit dem Tukey HSD geprüft, welche Behandlungsgruppen voneinander abweichen ($p < 0,05$). In den Abbildungen mit Sternen gekennzeichnete Werte zeigen einen signifikanten Unterschied der Behandlungsgruppe zur Kontrolle an. Kreise deuten darauf hin, dass sich diese Behandlungsgruppe zudem auch von den anderen Behandlungsgruppen unterscheidet. Zur Darstellung der Effektstärke wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson r beziehungsweise das Bestimmtheitsmaß R^2 berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Testserie steigender Torfgehalt ST

Für den Testendpunkt Reproduktion zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen ($p > 0,1693$). Die Anzahl der Organismen reduzierte sich mit steigendem Torfgehalt und zeigte eine mittelstarke Korrelation ($R^2 = 0,4845$). Der Reproduktionsfaktor (Verhältnis Endbesatz zu Ausgangsbesatz) in der Kontrolle (= Behandlungsgruppe 5 % Torf) war mit 1,2 sehr gering. Bezogen auf die Biomasse konnte im Bereich 10 bis 15 % Torfanteil ein signifikanter Einfluss des Torfgehalts und eine signifikant negative Korrelation festgestellt werden ($p < 0,0334$; $R^2 = 0,7538$; Abb. 1). Das Frischgewicht erhöhte sich um einen Faktor von 1,8 im Vergleich zum Ausgangsgewicht.

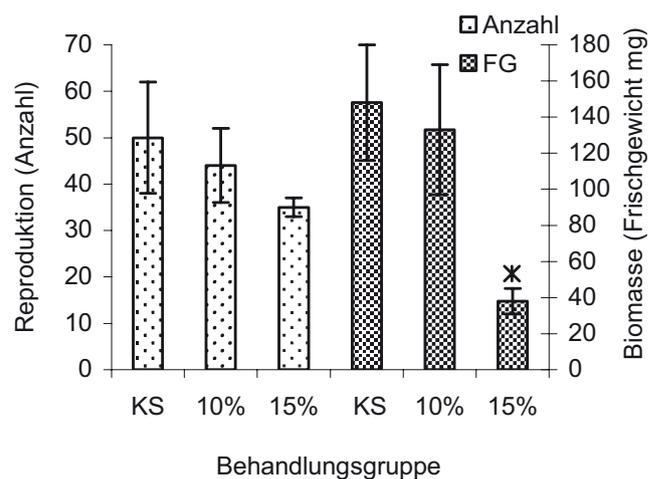


Abb. 1 Anzahl und Frischgewicht der Testorganismen am Testende (Serie ST) in Abhängigkeit von dem Torfgehalt im Sediment. Die Behandlungsgruppe 15 % Torf wies einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle auf

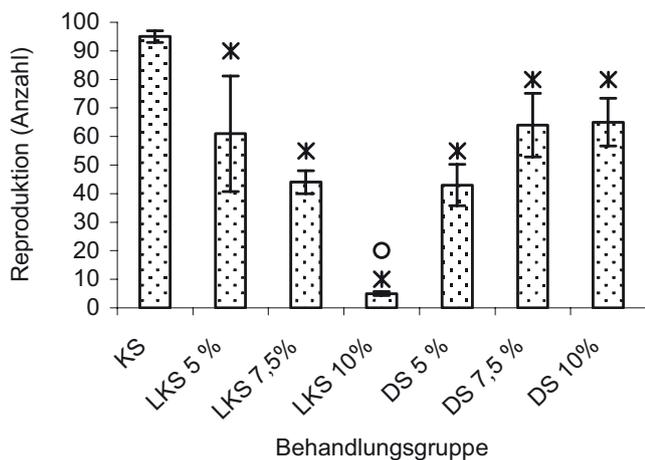


Abb. 2 Serie STD: Anzahl der Testorganismen nach 28 Tagen. Alle Behandlungsgruppen wiesen einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle auf. Die Anzahl in der Lösungsmittelkontrolle korrelierte signifikant negativ, in den dotierten Sedimenten signifikant positiv mit dem Sedimenttorfgehalt

3.2 Testserie steigender Torfgehalt in dotiertem Sediment (STD)

Im Vergleich zur Serie ST lag der Reproduktionsfaktor in der Kontrolle nach 28 Versuchstagen bei 2,3; die Biomasse nahm um einen Faktor von 2,7 zu. Die Testendpunkte unterschieden sich in nahezu allen Behandlungsgruppen signifikant von der Kontrolle (Abb. 2 und 3; $p < 0,0166$). Der deutliche Unterschied zwischen der Kontrolle und der Lösungsmittelkontrolle mit 5 % Torf deutet auf einen Einfluss des Lösungsmittels hin. Innerhalb der Behandlungsgruppen

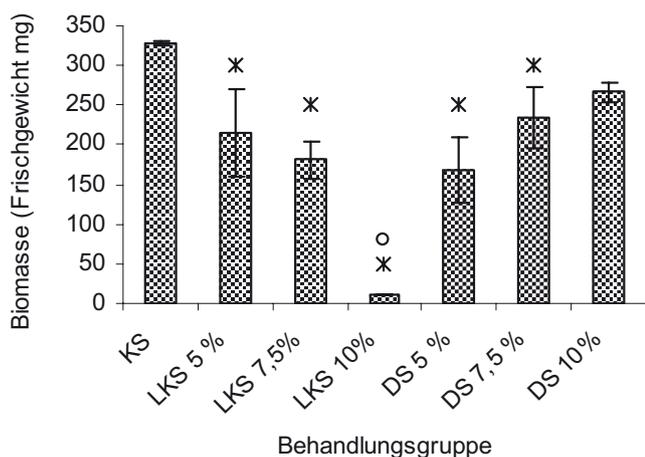


Abb. 3 Serie STD: Frischgewicht der Testorganismen nach 28 Tagen. Alle Behandlungsgruppen wiesen einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle auf. Das Frischgewicht der Organismen in der Lösungsmittelkontrolle korrelierte signifikant negativ, in den dotierten Sedimenten signifikant positiv mit dem Sedimenttorfgehalt

Tabelle 1 Serie STD: Anreicherungsfaktor Wurm/Sediment nach 14 und 28 Tagen. Mit zunehmendem TOC-Gehalt im Sediment sinkt die Bioverfügbarkeit der Schadstoffe

	PCB 138	PCB 153	p,p'-DDE
5 % Torf 14 d	13	13	11
7,5 % Torf 14 d	7	7	5
10 % Torf 14 d	5	5	4
5 % Torf 28 d	13	13	9
7,5 % Torf 28 d	6	6	4
10 % Torf 28 d	5	5	3

LKS und DS zeigten sich, mit Ausnahme des LKS 10 % Torf, keine signifikanten Unterschiede. Die Organismenanzahl in der Lösungsmittelkontrolle korrelierte signifikant negativ, in den Behandlungsgruppen mit dotiertem Sediment signifikant positiv mit dem Torfgehalt im Sediment ($R^2 = \text{LKS: } 0,7676; \text{DS: } 0,4917$).

Die Anreicherungsfaktoren stiegen bis zum 14. Versuchstag auf ein Maximum von 13 für PCB 153 bei 5 % Torf. Bis zum 28. Versuchstag blieben die Anreicherungsfaktoren nahezu konstant mit Werten von 13 für PCB 138 und 153 sowie 9 für p,p'-DDE. Mit zunehmenden Torfgehalt war eine Abnahme der Anreicherungsfaktoren zu beobachten ($R^2 = 0,8787$; Tabelle 1).

3.3 Testserie perkutane Resorption bei steigendem Torfgehalt in dotiertem Sediment (P-STD)

Die Regeneration des Prostomiums war bei einigen Testorganismen bereits nach sechs Tagen abgeschlossen. Da nicht auszuschließen war, dass einige Testorganismen trotz Testauflösung Nahrung aufgenommen hatten, wurde eine Depuration über 6h durchgeführt. Mit einem maximalen Anreicherungsfaktor von 1,6 für PCB 138 wurden die Modellschubstanzen nur in einem geringen Maße über die Haut aufgenommen. Im Vergleich zur Serie STD lag die durchschnittliche perkutane Aufnahme der Schadstoffe bei 12 %, während die Aufnahme über den Verdauungstrakt bei 88 % lag. Mit zunehmendem Torfgehalt wurden die Anreicherungsfaktoren der einzelnen Modellschubstanzen kleiner. Ab einem Torfgehalt von 7,5 % konnte mit Anreicherungsfaktoren < 1 keine Akkumulation der Schadstoffe beobachtet werden (Tabelle 2).

Tabelle 2 Serie P-STD: Anreicherungsfaktor Wurm/Sediment nach 6 Tagen

	PCB 138	PCB 153	p,p'-DDE
5 % Torf	1,6	1,1	1,2
7,5 % Torf	0,9	0,5	0,7
10 % Torf	0,7	0,5	0,7

4 Diskussion

Zwischen der ersten und zweiten Versuchsserie zeigten sich deutliche Unterschiede in Reproduktion und Biomassezunahme. Die unterschiedliche Entwicklung der Organismen kann von ihrem physiologischen Zustand abhängig sein. Innerhalb der hausinternen Zucht wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Reproduktionsversuche durchgeführt (Ergebnisse nicht dargestellt). Dabei zeigten sich deutliche Unterschiede im Reproduktionsverhalten. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass sich die Tiere trotz Synchronisation aufgrund des unterschiedlichen physiologischen Zustands der eingesetzten Zuchtorganismen verschieden entwickeln. Bei der routinemäßigen Anwendung des Testverfahrens zur Gefährdungsabschätzung von Sedimenten könnte sich dies negativ auswirken.

Die Höhe der ermittelten Anreicherungsfaktoren der Serien STD und P-STD bestätigen die von Gaskell et al. (2007) beschriebene ingestive Aufnahme von Schadstoffen als Hauptexpositionsrouten für die Akkumulation hydrophober, sedimentgebundener Kontaminanten (Tabelle 2). Für andere hydrophobe Schadstoffe wurde ein höheres Maß an perkutaner Resorption ermittelt (Conrad et al. 2002; Leppänen und Kukkonen 1998b; Loonen et al. 1997). Der hohe Anteil ingestiver Schadstoffaufnahme in den vorliegenden Testergebnissen könnte in der Testdurchführung begründet sein. Die Tiere befanden sich auf dem Sediment und hatten nur zum Überstandswasser und der Sedimentoberfläche Kontakt (Abb. 4). Unter natürlichen Bedingungen gräbt sich das Tier in das Sediment ein und ist zusätzlich über das Porenwasser exponiert. Demnach waren nicht alle Expositionsrouten in gleichem Maße berücksichtigt.

Das Maximum der Anreicherungsfaktoren wurde in der Serie STD bereits nach 14 Versuchstagen erreicht und zeigte bis zum 28. Versuchstag nur geringe Unterschiede (Tabelle 1). Da innerhalb der ersten 14 Tage aufgrund des hohen Nahrungsangebots mit einer erhöhten Fressrate zu rechnen ist, kann von einer vermehrten Schadstoffaufnahme ausgegangen werden. Im weiteren Versuchsverlauf verringert sich das Nahrungsangebot. Zudem nehmen frisch fragmentierte

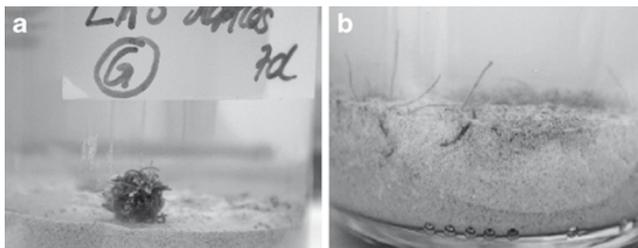


Abb. 4 **a** Serie P-TDS: posteriore Fragmente der Testorganismen auf dem Sediment, **b** in das Sediment (hier KS) eingegrabene Testorganismen

Tiere bis zur Prostomium-Bildung keine Nahrung auf. Aus den genannten Gründen kann daher die Schadstoffaufnahme bis zum Versuchsende stagnieren. Diese Stagnation ist nicht gleichzusetzen mit steady state, dessen Erreichen eine Überprüfung der Anreicherungsfaktoren über die Versuchsdauer von 28 Tagen hinaus erfordern würde.

Die Bioverfügbarkeit und Aufnahme von Schadstoffen wird neben der Expositionsrouten nachweislich von den Sedimenteigenschaften beeinflusst (Leppänen und Kukkonen 1998a). Insbesondere der Anteil an organischem Kohlenstoff im Sediment stellt einen limitierenden Faktor für die Verfügbarkeit von Kontaminanten dar (Höss et al. 1997; Lake et al. 1990). In den Versuchsserien STD und P-STD nahmen mit zunehmendem Torfgehalt durch die Sorption an partikulär gebundenem und gelöstem organischem Kohlenstoff sowohl die perkutane als auch die ingestive Bioverfügbarkeit der Modellsubstanzen und damit ihre Anreicherungsfaktoren ab (Tabelle 1 und 2). Nikkilä et al. (2003) untersuchten bereits den Einfluss des Sedimentkohlenstoffgehalts auf die Bioverfügbarkeit von Pentachlorphenol und 2,4,5-Trichlorphenol für *Lumbriculus variegatus*. In anderen Untersuchungen wurde der Zusammenhang zwischen der Bioverfügbarkeit von Schadstoffen und dem DOC-Gehalt der wässrigen Phase ermittelt. Dabei zeigte sich in allen Untersuchungen mit steigendem Kohlenstoffgehalt ebenfalls eine geringere Substanzverfügbarkeit (Doig und Liber 2006; Haitzer et al. 1998; Wiegand et al. 2007).

Aufgrund des Verteilungsgleichgewichts zwischen fester und gelöster Phase ist bei einem erhöhten Torfanteil im Sediment mit einer Zunahme der gelösten organischen Substanz zu rechnen (Höss et al. 2001). In Oberflächengewässern liegen die DOC-Gehalte im Bereich von 1 bis 10 mg/L, in eutrophen Gewässern bei 30 mg/L (Fent 2003). In Sedimenten mit 5 % Torf wurde exemplarisch die DOC-Konzentration im Überstandswasser mit 34 mg/L bestimmt. Da Lumbriciden in Gewässern mit moderatem Gehalt an organischem Material leben (Brinkhurst und Gelder 1991), könnte ein hoher Huminstoffgehalt zu Stress führen. Für das Biotransformationsphase-II-Enzym Glutathion-S-Transferase und das antioxidative Enzym Katalase konnte, ähnlich der Detoxifikationsreaktion für Xenobiotika, bereits für unterschiedliche Organismen ein Anstieg der Enzymaktivität bei erhöhter Huminstoffexposition nachgewiesen werden (Pflugmacher et al. 2001; Steinberg 2003; Wiegand et al. 2007). Diese Stresssituation kann sich ab einer gewissen Expositionsdauer negativ auf die Testendpunkte auswirken und bei Sedimenttestungen zu Falsch-Positiv-Ergebnissen führen. Zudem ist nicht auszuschließen, dass in der Serie STD das Lösungsmittel einen Einfluss auf die Testendpunkte hatte, da sich KS und LKS 5 % trotz gleicher Torfanteile in den Testendpunkten signifikant unterschieden. Berücksichtigt man den Lösungsmittelleffekt zunächst nicht und vergleicht LKS 5 % mit den anderen Behandlungsgruppen, lassen sich sowohl negative

(LKS) als auch positive (DS) Korrelationen zwischen dem Torfgehalt im Sediment und den Testendpunkten ermitteln. Ein Zusammenhang zwischen dem Torfanteil und der Reproduktion sowie der Biomasse der Organismen lässt sich daher vermuten. Das Ergebnis des Tukey-Tests zeigte zudem einen signifikanten Unterschied zwischen der Lösungsmittelkontrolle 10 % Torf und den übrigen Behandlungsgruppen. In der ersten Versuchsserie zeigten die Testendpunkte in dem betrachteten Bereich (5–10 % Torf) keinen signifikanten Einfluss des Torfanteils. Es ist daher davon auszugehen, dass ein weiterer Parameter die Testendpunkte beeinflusste. Im LKS 10 % wurde temporär eine erhöhte Ammoniakkonzentration festgestellt. Ammonium steht in einem primär pH- und sekundär temperaturabhängigen Gleichgewicht mit dem toxischen Zellgift Ammoniak. Eine erhöhte NH_4^- -Konzentration und ein pH-Wert > 8 kann zu toxischen Effekten des NH_3 führen und die Testinterpretation erschweren. Schubauer-Berigan et al. (1995) geben für die pH-Werte 7,8 und 8,6 eine LC_{50} -Konzentration des NH_4 von 20,6 und 5,4 mg/L an. Im Überstandswasser des LKS 10 % war zeitweise eine NH_4^+ -Konzentrationen > 10 mg/L und ein pH-Wert von 8,3 zu verzeichnen, daher sind toxische Effekte nicht auszuschließen.

In den dotierten Sedimenten korrelierten hingegen die Testendpunkte positiv mit einem steigendem Torfgehalt (Abb. 2 und 3). Vermutlich ist durch die Sorption der Schadstoffe an dem organischen Material neben deren Bioverfügbarkeit auch die Verfügbarkeit der Huminstoffe reduziert. Insbesondere Fulvosäuren gelten mit einer Molekülmasse von 0,5 bis 1 kDa als membrangängig (Steinberg 2003; Steinberg et al. 2006). Durch die mögliche Aggregation zwischen Schadstoff und Huminstoffen (Pacheco et al. 2003) könnten die gebildeten Konglomerate zu groß oder zu polar sein, um die Biomembranen zu passieren (Haitzer et al. 1998). Ebenso könnte die Enzymaktivität bereits durch den erhöhten Huminstoffgehalt ihr Maximum erreicht haben, sodass in Kombination mit beiden PCB und p,p'-DDE die Enzymresonanz gehemmt ist (Wiegand et al. 2007).

5 Schlussfolgerungen

Verschiedene Faktoren können das Testergebnis des Sedimenttoxizitätstests mit dem Testorganismus *Lumbriculus variegatus* beeinflussen. Neben dem physiologischen Zustand der Tiere können natürliche Umweltchemikalien die Testinterpretation erschweren. Hohe Gehalte an organischem Material in Sedimenten führen zu erhöhten Huminstoffkonzentrationen in der wässrigen Phase. Huminstoffe, insbesondere membrangängige Fulvosäuren, können zu oxidativem Stress und Transformationsprozessen führen, die sich negativ auf die Testendpunkte auswirken. Speziell bei der Testung natürlicher Sedimente, die sich in Gehalt und Ursprung organischer Materials unterscheiden, kann dies zu Falsch-Positiv-

Ergebnissen führen. Zudem ist nicht auszuschließen, dass im Falle der Chemikaliertestung anhand der OECD-Richtlinie 225 bereits der Huminstoffgehalt im Überstandswasser des Kontrollsediments mit 5 % Torfanteil zu Enzymreaktionen führen kann. Bei der Bewertung von Toxizitätstests und Bioakkumulationsstudien mit *Lumbriculus variegatus* sollte daher der mögliche Einfluss gelöster organischer Substanzen auf den Testorganismus berücksichtigt werden.

6 Empfehlungen und Perspektiven

Um Hinweise auf den für das Testergebnis kritischen DOC-Konzentrationsbereich zu erhalten, sind weitere Untersuchungen zum Einfluss der Menge an organischem Material im Sediment und folglich der DOC-Konzentration im Überstandswasser empfehlenswert. Zudem ist nicht auszuschließen, dass sich, insbesondere in natürlichen Sedimenten, die Kohlenstoffqualität auf die Testendpunkte auswirkt. Demzufolge könnte die Testung unterschiedlicher Kohlenstoffquellen auf mögliche Einflussfaktoren aufmerksam machen.

Abkürzungsverzeichnis

DOC	gelöster organischer Kohlenstoff
DS	dotiertes Sediment
EG-WRRL	Europäische Wasserrahmenrichtlinie
KS	Kontrollsediment
LC	letale Konzentration
LKS	Lösungsmittelkontrollsediment
PCB 138	2, 2', 3, 4, 4', 5'-Hexachlorbiphenyl
PCB 153	2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexachlorbiphenyl
POC	partikulär gebundener organischer Kohlenstoff
p,p'-DDE	1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorphenyl)ethen
P-STD	perkutane Resorption bei steigendem Torfgehalt in dotiertem Sediment
STD	steigender Torfgehalt in dotiertem Sediment
TOC	organischer Gesamtkohlenstoff
ST	steigender Torfgehalt

Danksagung Frau Daniela van der Sant und Herrn Gerd Henke danken die Autoren für ihre Unterstützung bei der Testdurchführung und der Analyse der Biotproben.

Literatur

- ASTM (2000) Standard guide for determination of the bioaccumulation of sediment-associated contaminants by benthic invertebrates, E1688-00. ASTM International 2004 Annual Book of Standards, West Conshohocken
- Blübaum-Gronau E, Claus E (2005) Teil I: Einfluß von Expositionsbedingungen in Bioakkumulationsstudien. SETAC-GLB e. V., Jahrestagung, Basel, 28.–30. 9. 2005, Tagungsband S 156

- Boggs S, Livermore D, Seitz MG (1985) ANL-84-78. Argonne National Laboratory, Argonne
- Brinkhurst RO, Gelder SR (1991) Annelida: *Oligochaeta* and *Branchiobdellida*. In: Thorp JH, Covich AP (eds) Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press Inc., San Diego
- Carter CW, Suffet IH (1982) Binding of DDT to Dissolved Humic Materials. *Environ Sci Technol* 16:735–740
- Claus E, Tippmann P, Heininger P (2002) Anwendung differenzierter Untersuchungsmethoden zur Sedimentbewertung. *Umweltwiss Schadst Forsch* 14:3–7
- Conrad AU, Comber SDW, Simkiss K (2002) Pyrene bioavailability; effect of sediment chemical contact time on routes of uptake in an oligochaete worm. *Chemosphere* 49:447–454
- Doig LE, Liber K (2006) Influence of dissolved organic matter on nickel bioavailability and toxicity to *Hyalella azteca* in water-only exposures. *Aquat Toxicol* 76:203–216
- Dreher S (2006) Einfluß der Expositionsbedingungen auf Biomasse und Reproduktion sowie die Bioakkumulation organischer Schadstoffe in *Lumbriculus variegatus*. Diploma Thesis, Fachhochschule Bingen
- Egeler P, Meller M, Schallnaß H-J, Gilberg D (2005) Validation of a sediment toxicity test with the endobenthic aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus* by an international Ring Test. ECT-Ökotoxikologie GmbH, Flörsheim/Main
- Feiler U, Ahlf W, Höss S, Seiler T-B, Hollert H, Melbye K, Neumann-Hensel H, Meller M, Weber J, Heininger P (2005) Das SeKT Verbundprojekt: Definitionen von Referenzverbindungen, Kontrollsedimenten und Toxizitätsschwellen für limnische Sedimentkontakttests. *Umweltwiss Schadst Forsch* 17:250–251
- Fent K (2003) Ökotoxikologie. Umweltchemie – Toxikologie – Ökologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York
- Fisher SW, Chordas III SW, Landrum PF (1999) Lethal and sublethal body residues for PCB intoxication in the oligochaete, *Lumbriculus variegatus*. *Aquat Toxicol* 45:115–126
- Gaskell PN, Brooks AC, Maltby L (2007) Variation in the bioaccumulation of a sediment-sorbed hydrophobic compound by benthic macroinvertebrates: patterns and mechanisms. *Environ Sci Technol* 41:1783–1789
- Haitzer M, Höss S, Traunspurger W, Steinberg CEW (1998) Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms – A Review. *Chemosphere* 37:1335–1362
- Höss S, Haitzer M, Traunspurger W, Gratzner H, Ahlf W, Steinberg C (1997) Influence of particle size distribution and content of organic matter on the toxicity of copper in sediment bioassays using *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). *Water Air Soil Pollut* 99:689–695
- Höss S, Henschel T, Haitzer M, Traunspurger W, Steinberg CW (2001) Toxicity of cadmium to *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in whole sediment and pore water – The ambiguous role of organic matter. *Environ Toxicol Chem* 20:2794–2801
- Lake JL, Rubinstein NI, Lee HI, Lake CA, Heltshe JSP (1990) Equilibrium partitioning and bioaccumulation of sediment-associated contaminants by infaunal organisms. *Environ Toxicol Chem* 9:1095–1106
- Leppänen MT, Kukkonen JVK (1998a) Relationship between reproduction, sediment type, and feeding activity of *Lumbriculus variegatus* (Müller): implications for sediment toxicity testing. *Environ Toxicol Chem* 17:2196–2202
- Leppänen MT, Kukkonen JVK (1998b) Relative importance of ingested sediment and pore water as bioaccumulation routes for pyrene to oligochaete (*Lumbriculus variegatus*, Müller). *Environ Sci Technol* 32:1503–1508
- Liebig M, Egeler P, Oehlmann J, Knacker T (2005) Bioaccumulation of ¹⁴C-17 α -ethinylestradiol by the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus* in spiked artificial sediment. *Chemosphere* 59:271–280
- Loonen H, Muir D, Parson JR, Govers HAJ (1997) Bioaccumulation of polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins in sediment by oligochaetes: influence of exposure pathway and contact time. *Environ Toxicol Chem* 16:1518–1525
- Malcolm RL (1985) Geochemistry of stream fulvic and humic substances. In: Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P (eds) Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Wiley-Interscience, New York, pp 181–209
- Mount DR, Dawson TD, Burkhard LP (1999) Implications of gut purging for tissue residues determined in bioaccumulation testing of sediment with *Lumbriculus variegatus*. *Environ Toxicol Chem* 18:1244–1249
- Nikkilä A, Halme A, Kukkonen JVK (2003) Toxicokinetics, toxicity and lethal body residues of two chlorophenols in the oligochaete worm, *Lumbriculus variegatus*, in different sediments. *Chemosphere* 51:35–46
- OECD (1992) Guideline for the testing of chemicals No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD, Paris
- OECD (2007) Guideline for the testing of chemicals No. 225: Sediment-Water *Lumbriculus* Toxicity Test Using Spiked Sediment. OECD, Paris
- Pacheco ML, Pena-Méndez EM, Havel J (2003) Supramolecular interactions of humic acids with organic and inorganic xenobiotics studied by capillary electrophoresis. *Chemosphere* 51:95–108
- Pflugmacher S, Tidwell LF, Steinberg CEW (2001) Dissolved humic substances can directly affect freshwater organisms. *Acta Hydrochim Hydrob* 29:34–40
- Phipps GL, Ankley GT, Benoit DA, Mattson VR (1993) Use of the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus* for assessing the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants. *Environ Toxicol Chem* 12:269–279
- Richtlinie 2000/60/EG (2000) Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik – WASSERRAHMENRICHTLINIE, ABI Nr L 327 vom 22. 12. 2000, S 1; 2455/2001/EG – ABI Nr L 331 vom 15. 12. 2001, S 1; geändert durch Beitrittsakte 2003, RL 2008/32/EG – ABI Nr L 81 vom 20. 3. 2008, S 60
- Roulet N, Moore TR (2006) Browning the waters. *Nature* 444:283–284
- Schubauer-Berigan MK, Monson PT, West CW, Ankley GT (1995) Influence of pH on the toxicity of ammonia to *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus*. *Environ Toxicol Chem* 14:713–717
- Steinberg CEW (2003) Ecology of Humic Substances in Freshwaters: Determinants from Geochemistry to Ecological Niches, 1. Aufl. Springer, Heidelberg Berlin
- Steinberg CEW, Kamara S, Perokhotskaya VY, Manusadzianas L, Karasyova TA, Timofeyev MA, Jie Z, Paul A, Meinelt T, Farjalla VF, Matsuo AY, Burnison K, Menzel R (2006) Dissolved humic substances – ecological driving forces from the individual to the ecosystem level? *Freshw Biol* 51:1189–1210
- Wiegand C, Pehkonen S, Akkanen J, Penttinen O-P, Kukkonen JVK (2007) Bioaccumulation of paraquat by *Lumbriculus variegatus* in the presence of dissolved natural organic matter and impact on energy costs, biotransformation and antioxidative enzymes. *Chemosphere* 66:558–566
- Worrall F, Burt T, Shedden R (2003) Long term records of riverine dissolved organic matter. *Biogeochemistry* 64:165–178
- Zhao Y-H, Lang P-Z (1996) Evaluation of the partitioning of hydrophobic pollutants between aquatic and solid phases in natural systems. *Sci Total Environ* 177:1–7