



Reproduzierbarkeit und Eignung des Fischeitests mit *Danio rerio* nach DIN 38415-6 bzw. DIN EN ISO 15088 als Teil einer limnischen Biotestbatterie zur Bewertung nativer Sedimente und Baggergut

Abschlussarbeit im Rahmen der postgradualen Weiterbildung zum Fachökotoxikologen (GDCh/SETAC-Europe GLB)

vorgelegt von
Christian Koch
Ludwigshafen 2013

Betreuer:

Kursbetreuer:

Prof. Dr. Reinhard Debus

Bundesanstalt für Gewässerkunde:

Dipl.-Biol. Dierk-Steffen Wahrendorf

Kontakt:

koch_christian@hotmail.de

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
Zusammenfassung	VI
1 Einleitung	2
2 Material und Methoden	4
2.1 Der Zebrafisch <i>Danio rerio</i>	4
2.1.1 Einsatz als Testorganismus.....	4
2.1.2 Embryonalentwicklung und Eidifferenzierung.....	5
2.2 Versuchsprinzip.....	6
2.2.1 Gewinnung von Porenwasser und Eluat.....	6
2.3 Biotestpalette der BfG für die Sedimentbewertung.....	7
2.4 Bewertungssystem.....	8
2.5 Statistik.....	9
3 Ergebnisse	11
3.1 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des Fischeitests an Eluaten und Porenwasser natürlicher Sedimente und Baggergut.....	11
3.2 Ergebnisse des Fischeitests von Sedimenten und Baggergut.....	15
3.3 Ergebnisse der parallel durchgeführten Bioteste und Gegenüberstellung mit den Ergebnissen des Fischeitests.....	17
4 Diskussion	23
4.1 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des Fischeitests an Eluaten und Porenwasser natürlicher Sedimente und Baggergut.....	23
4.2 Ergebnisse des Fischeitests von Sedimenten und Baggergut.....	24
4.3 Ergebnisse der parallel durchgeführten Bioteste und Gegenüberstellung mit den Ergebnissen des Fischeitests.....	26
5 Ausblick	28

6 Literaturverzeichnis.....	29
7 Erklärung.....	31

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Adulter Zebrafisch (Dahm & Schönthaler).....	4
Abbildung 2: Embryonalentwicklung des Zebrafisches.....	6
Abbildung 3: Toxizitätsklassen zur Sedimentbewertung und Handhabungs- kategorien für die Baggergutverbringung (BfG-Merkblatt "Ökotoxikologische Baggergutuntersuchung", Stand: September 2011).....	9
Abbildung 4: Verteilung der ermittelten Toxizitäten aller untersuchten Proben.....	16
Abbildung 5: Häufigkeiten der ermittelten pT-Werte in den untersuchten Gewässern	16
Abbildung 6: Durchschnittliche pT-Werte der gesamten Biotestpalette für die einzelnen Gewässer.....	18
Abbildung 7: Empfindlichkeiten der verschiedenen Testsysteme gegenüber der getesteten Proben.....	27

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Richtwerte zur Interpretation von Kappa nach Altman (1991).....	10
Tabelle 2: Resultate der Doppelbestimmungen von Sedimenten.....	11
Tabelle 3: Übereinstimmungsmatrix der erhaltenen pT-Werte.....	12
Tabelle 4: Ergebnisse zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit des Fischeitests.	13
Tabelle 5: pT-Werte des Fischeitests für die versch. untersuchten Gewässer.....	17
Tabelle 6: pT-Werte für Probenahmestellen, für die Daten der gesamten Biotestpalette verfügbar sind.....	19

Abkürzungsverzeichnis

BfG	Bundesanstalt für Gewässerkunde
LB	Leuchtbakterien
LC50	Letale Konzentration mit erwartetem 50%igem Effekt
pT	<i>potentia Toxicologiae</i> , Maß für das ökotoxikologische Belastungspotential
PW	Porenwasser
RS	Referenzstelle
0	normal entwickelter Keim
0 (B)	normal entwickelter Keim ohne Blutkreislauf (nicht geforderter Endpunkt)
K	koagulierter Keim (letal)
H	kein Herzschlag (letal)
S	keine Somiten (letal)
C	keine Schwanzablösung (letal)

Zusammenfassung

Um Sedimente und Baggergut in Bezug auf ihr umweltschädigendes Potenzial bewerten zu können, führt die Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) neben physikochemischen Untersuchungen standardisierte Biotestverfahren mit Algen, Mikroorganismen und aquatischen Invertebraten durch. Diese reguläre Biotestpalette kann im Bedarfsfall um weitere Testsysteme wie z.B. den Fischeitest mit *Danio rerio* nach DIN 38415-6 bzw. DIN EN ISO 15088 erweitert werden, um zusätzliche ökotoxikologische Informationen einer weiteren Trophieebene oder zu weiteren Endpunkten zu erhalten. In den letzten Jahren hat die BfG im Rahmen der Baggergutbewertung umfangreiche Datensätze zu diesem Test zusammengetragen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ausgewertet wurden. Ziel der Arbeit war es, erste Schlüsse bezüglich der generellen Eignung des Testsystems und für die Bewertung von Sedimenten und Baggergut mit dem pT-Wert-System nach Krebs (1988, 2000) zu ziehen, zudem sollte die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse betrachtet werden. Des Weiteren wurde durch eine Gegenüberstellung der Fischeitestergebnisse mit den Ergebnissen der regulären Biotestpalette ermittelt, ob die Sensitivität des Fischeitests in ähnlichen Größenordnungen liegt wie die der routinemäßig angewandten Verfahren. Mit einem Kappa-Koeffizienten von 0,84 für die doppelt getesteten Sedimente ist der Fischeitest sehr gut reproduzierbar. Allerdings muss bei dieser Aussage berücksichtigt werden, dass die untersuchten Proben oft nur gering belastet waren und mit steigender Toxizität eventuell größere Diskrepanzen vorzufinden wären. Jedoch ist die Ermittlung von Messergebnissen mit geringen ökotoxikologischen Belastungen für die Bewertung von Baggergut genauso wichtig und aussagekräftig wie Ergebnisse mit höheren Belastungen, da die ökotoxikologische Untersuchung von Baggergut zur Sicherung der Umlagerungsfähigkeit und zur Prüfung der Unbedenklichkeit dient. Basierend auf den Ergebnissen des Fischeitests waren die untersuchten Sedimente der Hunte mit einem durchschnittlichen pT von 1,5 tendenziell am toxischsten, gefolgt vom Hamburger Hafen (pT=1,35), der Saale (pT=0,60), der Mittelbe (pT=0,50), der Tideelbe (pT=0,17) und der Ems (pT=0). Diese generelle Reihung von den höchsten ermittelten Toxizitäten (Hamburger Hafen und Hunte) zu den am wenigsten toxischen Sedimenten (Tideelbe, Ems)

scheint sich unter Einbeziehung der Daten der restlichen Biotestpalette und den Erfahrungen der BfG zur chemischen Sedimentbelastung zu bestätigen. An den resultierenden pT-Werten war zu erkennen, dass der Fischeitest durchaus in ähnlichen Größenordnungen auf die getesteten Proben reagierte wie die restlichen Testverfahren. In einigen Fällen hat der Fischeitest sensitiver als die restliche Biotestpalette reagiert und somit zu einem höheren pT-Wert geführt.

Auf Grundlage der ersten Ergebnisse zeigt sich, dass der Fischeitest eine zuverlässige und hilfreiche Methode sein kann, um Ergebnisse der vorhandenen Biotestpalette im Bedarfsfall um eine weitere Trophieebene und Endpunkte zu ergänzen.

1 Einleitung

Im Rahmen ihrer Arbeit führt die Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) in Zusammenarbeit mit den Wasser- und Schifffahrtsämtern Untersuchungen und Bewertungen bei der Umlagerung von Baggergut und natürlichen Sedimenten durch. Teil dieser Untersuchungen ist neben der Erfassung der chemischen Sedimentbelastung und Betrachtungen zu morphologischen Kennwerten (wie z.B. der Korngrößenverteilung) auch die Ermittlung des ökotoxikologischen Belastungspotentials mittels standardisierter Biotestverfahren. Im Rahmen dieser standardisierten Tests werden verschiedene Organismen als repräsentative Vertreter des jeweiligen terrestrischen und aquatischen Ökosystems wie z.B. Algen, Leuchtbakterien, Wirbellose oder Pflanzen dem zu untersuchenden Testgut gegenüber exponiert und deren Reaktionen gemessen und bewertet (Fent 2003). Diese Wechselwirkungen zwischen den Testorganismen und den getesteten Substanzen können sehr komplex sein und z.B. über einen unspezifischen, narkotischen Mechanismus auf die Zellmembran wirken oder eine selektive Toxizität hervorrufen, die zielgerichtet bestimmte Zellarten oder zelluläre Prozesse (Signalübertragung an Synapsen etc.) beeinträchtigt (Fent 2007). Um diese Wechselwirkungen der potentiell enthaltenen Schadstoffe auf die verschiedenartigen Organismen zu erfassen, sollten Ergebnisse einer möglichst breiten Biotestpalette zur Verfügung stehen (Calmano 2001). Als minimale Biotestpalette setzt die BfG im limnischen Bereich den akuten Toxizitätstest mit dem aquatischen Invertebraten *Daphnia magna*, den Wachstumshemmtest mit der Grünalge *Desmodesmus subspicatus* und den Leuchtbakterientest mit *Aliivibrio fischeri* ein. Diese Biotestpalette kann im Bedarfsfall um weitere ggf. erforderliche Testsysteme ergänzt werden. Eines der potentiell geeigneten, aber derzeit für die Bewertung noch nicht etablierten Testsysteme ist der Fischeitest mit *Danio rerio* nach DIN 38415-6 bzw. DIN EN ISO 15088. Mit Hilfe dieses Early-Life-Stage-Tests können im Vergleich zum Fischttest neben dem akuten LC50-Wert und der ersten nicht-mehr toxischen Verdünnungsstufe auch nicht-letale, teratogene Effekte erfasst werden. Seit mittlerweile seit ca. 1,5 Jahren beauftragt die BfG für ausgewählte Baggergut- und Sedimentproben Untersuchungen mit dem Fischeitest. Im Rahmen der Tests wurden Daten zu folgenden Endpunkten erhoben:

- G_{Ei} : Geringste, nicht wirksame Verdünnungsstufe innerhalb eines Testansatzes, bei der mindestens 90% der Embryonen keinen Effekt im Sinne der Testvorschrift zeigen
- Anzahl der koagulierten Eier: Koagulation bedeutet, dass das Ei bzw. der Fischembryo in einem frühen Entwicklungsstadium abgestorben ist
- Ablösung des Schwanzes vom Dotter
- Fehlender Herzschlag: der Embryo gilt als tot, wenn innerhalb der Beobachtungszeit von 30 Sekunden kein Herzschlag erkennbar ist
- Keimung ohne Blutkreislauf
- Vorzeitiger Schlupf
- Fehlende Somitenanlage (Somiten sind Ursegmente aus dem Embryonalgewebe, aus denen sich später die Wirbelsäule sowie die Skelettmuskulatur entwickeln)

Ziel der Arbeit

Das Hauptziel dieser Arbeit bestand darin, die vorhandenen bislang gesammelten Datensätze zu diesem Biotest auszuwerten und anhand der Ergebnisse eine erste Abschätzung in Hinblick auf die Sensitivität des Testsystems zu erhalten. Ein weiteres Ziel war es, die Ergebnisse des Fischeitests denen der minimalen, standardmäßig eingesetzten Biotestpalette der BfG gegenüberzustellen und eventuelle Schlüsse in Bezug auf Sensitivität und Eignung ziehen zu können. Dazu wurden Fischeitests, Daphnientests, Algentests sowie Leuchtbakterientests an Porenwasser und Eluat von Sedimenten und Baggergut verschiedener Probenahmestellen in den Flüssen Elbe, Saale, Hunte, der Tideelbe, der Ems sowie an diversen Referenzstellen durchgeführt. Diese Datensätze enthalten die Rohdaten zu den Endpunkten zahlreicher Fischeitests, die mit nativen Sedimenten bzw. Baggergut aus dem gesamten Bundesgebiet durchgeführt wurden. Vor allem sollte im Rahmen dieser Arbeit geklärt werden, ob sich das Testsystem mit der vorgesehenen Bewertungsmethode (pT-Wert-System nach Krebs 1988, 2000) für die Untersuchung von Sedimenten und Baggergut eignet. Da einige der Sedimente in verdeckten Doppelbestimmungen untersucht wurden, war es ein weiteres Ziel dieser Arbeit, die Reproduzierbarkeit der erlangten Ergebnisse als weiteres Eignungskriterium zu untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Der Zebrabärbling *Danio rerio*

Der Zebrabärbling *Danio rerio* ist ein Fisch aus der Familie der Karpfenfische (Cyprinidae), lebt in stehenden sowie langsam fließenden Gewässern und ist in asiatischen Ländern wie Indien, Myanmar, Pakistan und Bangladesch beheimatet.

Der im Schwarm lebende Fisch erreicht eine ungefähre Größe von 4,5 cm und hat, wie in Abbildung 1 zu sehen ist, einen langgestreckten und schlank aufgebauten Körper mit zwei Paar Bartfäden am leicht oberständigen Maul. Vor allem zur Laichzeit sind die Weibchen in der Regel etwas blasser, größer und kräftiger als die männlichen Tiere, wobei letztere während der Paarungszeit über eine rötliche Färbung im Bereich des Bauches und der Afterflosse verfügen.



Abbildung 1: Adulter Zebrafisch *Danio rerio* (Dahm & Schönthaler)

2.1.1 Einsatz als Testorganismus

Im Biotest werden die frisch gelaichten Eier des Zebrabärblings eingesetzt. Die Entwicklung der befruchteten Eier kann durch im Wasser vorhandene Xenobiotika geschädigt und beeinträchtigt werden. Als Schädigung gelten gemäß der Norm der Tod der Embryonen sowie definierte Störungen der Embryonalentwicklung, die letztendlich zum Tod führen würden (siehe DIN EN ISO 15088:2009-06). Im Gegensatz zu Testorganismen wie Regenbogenforellen und Goldorfen, die ebenfalls in ökotoxikologischen Fischtests eingesetzt werden bzw. wurden, ist der Zebrabärbling in der Lage, sich potentiell ganzjährig zu reproduzieren (Nagel 2002). Dementsprechend ist gewährleistet, dass jederzeit ausreichend Eier für die Durchführung von Tests verfügbar sind. Die Eier von *Danio rerio* haben einen Durchmesser von ca. 1 mm und ein transparentes Chorion, wodurch die Embryonalentwicklung während bzw. nach der Expositionszeit gut zu untersuchen ist. Der

Organismus ist leicht zu kultivieren und laicht mit ca. 50 bis 300 Eiern pro Ablage eine ausreichende Menge an Eiern ab. Da sich *Danio rerio* innerhalb von drei Monaten bis zur Reproduktionsfähigkeit entwickelt, können relativ zeitnah auch langfristige (bzw. chronische) Effekte auf die Reproduktionsfähigkeit der Tiere untersucht werden, die sich aus den Eiern entwickelt haben.

2.1.2 Embryonalentwicklung und Eidifferenzierung

Die Embryonalentwicklung des Zebrafisches verläuft im Vergleich mit anderen Wirbeltieren sehr schnell. Innerhalb von 24 Stunden nach der Befruchtung entwickelt sich im Ei ein Embryo, der bereits alle Organanlagen des späteren adulten Fisches besitzt.

Die Eizelle beginnt sich bereits Minuten nach dem Ablachen und der Befruchtung zu teilen. Aus diesen ersten Zellen, die einer großen Dotterkugel aufsitzen (siehe Abbildung 2, oben links), bildet sich innerhalb von nur vier Stunden durch weitere Zellteilungen ein Haufen aus einigen tausend Zellen. Diese umwachsen in den folgenden sechs Stunden den Dotter. Nach zehn Stunden, dem sogenannten bud-Stadium, beginnt sich am oberen Pol der Kopf abzuzeichnen. Die ersten acht Somiten des Embryos sind nach ca. 18 Stunden entwickelt, zur gleichen Zeit sind das Vorläuferorgan der Augen sowie das Mittelhirn und im Rumpf die ersten Muskelpakete sichtbar. Kurze Zeit darauf beginnt der Schwanz sich zu strecken, und der nur 24 Stunden alte Fisch bewegt sich bereits im Ei. Die Organanlagen sind nun vollständig ausdifferenziert, die Somiten sind vollständig ausgebildet, das Herz-Kreislauf-System sowie Organe wie Leber und Niere beginnen zu arbeiten. Das schlagende Herz und der Blutstrom im Gefäßsystem sind sichtbar. Der Embryo wäre außerhalb seines Chorions bereits lebensfähig. Zwei Tage nach der Befruchtung ist die Larve vollends entwickelt und beginnt zu schlüpfen. Nach fünf Tagen schließlich hat sie ihren Vorrat im Dottersack aufgebraucht und sucht sich nun selbständig Futter. Nach dieser rasanten Entwicklung dauert es dann drei Monate, bis der juvenile Zebrafisch selbst reproduktionsfähig ist.

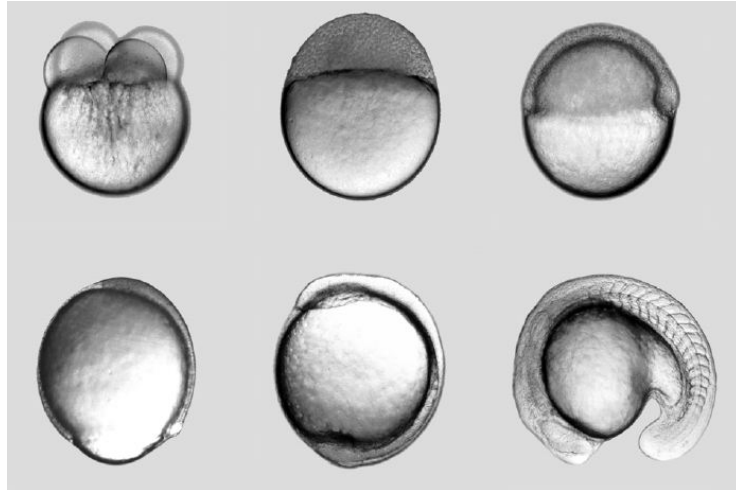


Abbildung 2: Embryonalentwicklung des Zebrafisches (Dahm & Schönthaler)

2.2 Versuchsprinzip

Zebrafische zeigen die Verhaltensweise, ca. 30 Minuten nach Beleuchtungsbeginn zu balzen und zu laichen. Auf diese Weise können frische Fischeier unmittelbar vor dem Beginn eines Tests gewonnen werden. Da der Zebrafisch ein Laichräuber ist, werden die Fischeier mittels eines rostfreien Laichrost von den adulten Tieren separiert. Es werden ausschließlich befruchtete, unverletzte Eier ohne auffällige Unregelmäßigkeiten zwischen dem 8- und 128-Zellstadium für die Versuchsdurchführung verwendet. Die von der BfG vergebenen Versuche und die Auswertung der Fischeitests wurden unter Beachtung der Richtlinie DIN 38415-6 bzw. DIN EN ISO 15088 von einem renommierten Prüflaboratorium mit GLP-Zertifizierung durchgeführt.

2.2.1 Gewinnung von Porenwasser und Eluat

Die Fischeitests, deren Ergebnisse im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet wurden, wurden ausnahmslos am wässrigen Testgut durchgeführt, das aus den Sedimentproben gewonnen wurde. Zwar gibt es auch eine an das Normverfahren angelegte Methodendurchführung mit direktem Sedimentkontakt der Testorganismen mit den zu untersuchenden Sedimentproben, allerdings können sich hierbei Störfaktoren wie geringer Sauerstoffgehalt im Sediment negativ auf die Versuchsdurchführung auswirken. Zudem würden sich bei der direkten Untersuchung des Testgutes über Verdünnungsreihen weitere Fragestellungen ergeben, z.B. zur Wahl des eingesetzten

Verdünnungssedimentes. Zudem ist diese Methodendurchführung noch nicht genormt.

Die gewonnenen Porenwässer und Eluate wurden noch am selben Tag der Testguterstellung im Test verwendet.

Gewinnung von Porenwässern: Das Sediment/Baggergut wird 20 Minuten bei 17000g zentrifugiert und der Überstand vorsichtig dekantiert. Bei hohem Schwebstoffgehalt kann ein zweiter Zentrifugationsschritt erforderlich sein (wird im Protokoll vermerkt). Nach 30 Minuten Wartezeit werden O₂-Gehalt, pH und die weiteren physikalisch-chemischen Parameter (Leitfähigkeit, Salinität und Ammonium-Stickstoff-Gehalt) gemessen. Wenn der Sauerstoffgehalt unter 5 mg/l liegt, wird das Porenwasser in einem offenen Becherglas mit einem Magnetrührstäbchen belüftet. Das Testgut wird vorsichtig aus der Mitte des gewonnenen Porenwassers entnommen.

Gewinnung von Eluaten (Süßwasserbereich): Bestimmung von Trockenrückstand und Wassergehalt in Anlehnung an DIN EN 12880 Teil 2a. Das Elutionsverhältnis von Sediment-Feststoffphase zu rekonstituiertem Wasser DIN 38 412 Teil 30 beträgt 1 : 3 (Trockenmasse zu Wasser). Für 24 Stunden wird die Probe nun mit ausreichendem Luftüberstand (mindestens die Hälfte des Volumens) bei geringer Geschwindigkeit (7 Umdrehungen pro Minute) eluiert. Das weitere Vorgehen entspricht dem der Porenwassergewinnung.

2.3 Biotestpalette der BfG für die Sedimentbewertung

Diese Arbeit soll mitunter eine erste Abschätzung abgeben, ob der Fischeitest mit *Danio rerio* prinzipiell geeignet ist, die vorhandene Biotestpalette der BfG im Bedarfsfall zu ergänzen. Zu dieser Biotestpalette gehören im Binnenbereich der Algentest mit *Desmodesmus subspicatus* nach DIN 38 412 Teil 33 (1991), der akute Daphnientest mit *Daphnia magna* nach DIN 38 412 Teil 30 (1989) sowie der Leuchtbakterientest mit *Aliivibrio fischeri* nach DIN EN ISO 11348-2 (2009). Je nach Salinität der vorhandenen Proben werden für den marinen Bereich bzw. den Brackwasserbereich außerdem der marine Algentest mit *Skeletonema costatum* und *Phaeodactylum tricornutum* nach DIN EN ISO 10253 (2006) und ebenso wie für den Süßwasserbereich der Leuchtbakterientest mit *Aliivibrio fischeri* nach DIN EN ISO 11348-2 (2009) eingesetzt.

2.4 Bewertungssystem

Die möglichen Konsequenzen von Baggergutumlagerungen werden im Bereich der Wasserschifffahrtsverwaltung (WSV) nach den Regelungen der Handlungsanweisung für den Umgang mit Baggergut im Binnenland (HABAB-WSV, BfG, 2000) prognostiziert. Sedimente sollten im Rahmen von Baggermaßnahmen nur dann im Gewässer umgelagert werden, wenn sie bestimmten Qualitätsanforderungen genügen, die der HABAB-WSV zu entnehmen sind. Neben Anforderungen zu Nährstoffen und Schadstoffen wie Schwermetalle, Phosphor und Ammonium sind auch Maßgaben zu ökotoxikologische Kriterien in den Handlungsanweisungen enthalten.

Zur Quantifizierung ökotoxikologischer Effekte von Umweltproben auf das jeweilige Testsystem wurde von der BfG das pT-Wertsystem entwickelt. Der pT-Wert (*potentia Toxicologiae* = toxikologischer Exponent) ist der negative binäre Logarithmus des ersten nicht mehr toxischen Verdünnungsfaktors in einer Verdünnungsreihe mit dem Verdünnungsfaktor 2. Der pT-Wert gibt an, um wieviele Male eine Probe im Verhältnis 1:2 verdünnt werden muss, damit sie nicht mehr toxisch wirkt (Krebs 1988, 2000). Mit Hilfe dieser Ökotoxizitätsskala ist eine leichte und verständliche Quantifizierung und Charakterisierung möglich. Ausschlaggebend für die Einstufung von Sedimenten und Baggergut in eine Toxizitätsklasse ist der pT-Wert des empfindlichsten Organismus innerhalb einer Testpalette. Dabei werden die Ergebnisse von Eluat- und Porenwasseruntersuchungen als gleichwertig angesehen und der empfindlichste der getesteten Organismen zur Bewertung herangezogen. Die Ergebnisse werden somit den pT-Werten bzw. ihren entsprechenden Toxizitätsklassen 0 = nicht belastet bis VI = sehr hoch belastet zugeordnet. Da oberhalb einer Verdünnungsstufe von 1:64 (Toxizitätsklasse VI) keine weiteren Klassen definiert wurden, ist bei Erreichen selbiger unbedingt auch der pT-Wert anzugeben, um die Toxizität der Probe auf das Testsystem hinreichend quantifizieren zu können. Die mit Hilfe der pT-Wert-Methode ermittelten Toxizitätsklassen werden, wie in Abbildung 3 zu sehen, in Bezug auf die Handhabung von Baggergut den Handhabungskategorien "nicht", "unbedenklich", "kritisch" und "gefährlich belastet" zugeordnet (HABAB-WSV 1999).

höchste Verdünnungsstufe ohne Effekt	Verdünnungsfaktor	pT-Wert	Toxizitätsklassen		Handhabungskategorien	
			7stufiges System	Bezeichnung	4stufige Bewertung	Bezeichnung
Originalprobe	2 ⁰	0	0	Toxizität nicht nachweisbar	0	nicht belastet
1:2	2 ⁻¹	1	I	sehr gering toxisch belastet	I	unbedenklich
1:4	2 ⁻²	2	II	gering toxisch belastet	II	belastet
1:8	2 ⁻³	3	III	mäßig toxisch belastet	III	kritisch
1:16	2 ⁻⁴	4	IV	erhöht toxisch belastet	IV	belastet
1:32	2 ⁻⁵	5	V	hoch toxisch belastet	V	gefährlich
≤ (1:64)	≤ 2 ⁻⁶	≥ 6	VI	sehr hoch toxisch belastet	VI	belastet

Abbildung 3: Toxizitätsklassen zur Sedimentbewertung und Handhabungskategorien für die Baggergutverbringung (BfG-Merkblatt "Ökotoxikologische Baggergutuntersuchung", Stand: September 2011)

2.5 Statistik

Reproduzierbarkeit der Fischeitest-Ergebnisse: Ein geeignetes Quantifizierungsmaß zur Bewertung der Übereinstimmungsgüte bei Vorliegen kategorialer Merkmale wie dem pT-Wert ist Cohen's Kappa-Koeffizient. Dieser beruht auf der prozentualen Übereinstimmung, hat gegenüber dieser allerdings den Vorteil, dass es ein zufallskorrigiertes Übereinstimmungsmaß ist. Das heißt, dass das Verhältnis der beobachteten Übereinstimmungen zu der durch Zufall erwarteten Übereinstimmung berücksichtigt wird. Da es sich im Falle der Reproduzierbarkeit des Fischeitests lediglich um Ordinaldaten handelte, wurde das nicht-gewichtete Kappa zur Bestimmung von Urteilsübereinstimmung bzw. Nicht-Übereinstimmung verwendet. Basis von Cohens Kappa sind konkordante Urteile zweier Beobachter (Grouven et al. 2007).

$$K = \frac{po - pe}{1 - pe}$$

K = Kappa-Koeffizient nach Cohen

po = gemessener Übereinstimmungswert

pe = zufällig erwartete Übereinstimmung

Richtwerte zur Interpretation von Kappa wurden von Landis und Koch (1977) sowie von Altman (1991) wie in Tabelle 1 dargestellt festgelegt:

Tabelle 1: Richtwerte zur Interpretation von Kappa nach Altman (1991)

Resultierendes Kappa	Übereinstimmungsstärke
< 0,2	Schwach
0,21 – 0,40	Leicht
0,41 – 0,60	Mittelmäßig
0,61 – 0,80	Gut
0,81 – 1,00	Sehr gut

3 Ergebnisse

3.1 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des Fischeitests an Eluaten und Porenwasser natürlicher Sedimente und Baggergut

Eines der Ziele der Arbeit war es, die Reproduzierbarkeit der Fischeitests zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden die Sedimentproben diverser Referenzstellen sowie zweier Proben aus der Tideelbe verdeckt doppelt an das Labor vergeben, um die Resultate miteinander zu vergleichen. Wie in Tabelle 2 zu sehen ist, handelt es sich bei diesen Doppelbestimmungen um Porenwasser und Eluate der Tideelbe sowie der Referenzstellen Bimmen, Ehrenbreitstein, Bad Abbach und Jochenstein. Die hierbei gemessenen pT-Werte sind in nachfolgender Tabelle 2 gelistet.

Tabelle 2: Resultate der pT-Doppelbestimmungen von Sedimenten

Entnahmeort	Probe	Matrix	Bestimmung 1 [pT]	Bestimmung 2 [pT]
Tideelbe	110315	Porenwasser	2	2
		Eluat	0	0
Tideelbe	110313	Porenwasser	1	1
		Eluat	0	0
Referenzstelle Bimmen	110692	Porenwasser	0	0
		Eluat	1	1
Referenzstelle Ehrenbreitstein	110694	Porenwasser	0	0
		Eluat	0	1
Referenzstelle Bad Abbach	110696	Porenwasser	0	0
		Eluat	1	1
Referenzstelle	110698	Porenwasser	0	0
		Eluat	0	0

In der Übereinstimmungsmatrix (Tabelle 3) sind die Resultate beider Bestimmungen zur Berechnung von Cohens Kappa aufgeführt. Hierbei wurden die Ergebnisse von Eluatproben und Porenwasserproben zusammen dargestellt.

Tabelle 3: Übereinstimmungsmatrix der erhaltenen pT-Werte

	Bestimmung 2								
	pT0	pT1	pT2	pT3	pT4	pT5	pT6	Σ	
Bestimmung 1	pT0	7	1	0	0	0	0	0	8
	pT1	0	3	0	0	0	0	0	3
	pT2	0	0	1	0	0	0	0	1
	pT3	0	0	0	0	0	0	0	0
	pT4	0	0	0	0	0	0	0	0
	pT5	0	0	0	0	0	0	0	0
	pT6	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	7	4	1	0	0	0	0	12

Daraus ergibt sich:

$$po = \frac{7 + 3 + 1}{12} = 0,917$$

$$pe = \left(\frac{7}{12} * \frac{8}{12}\right) + \left(\frac{4}{12} * \frac{3}{12}\right) + \left(\frac{1}{12} * \frac{1}{12}\right) = 0,479$$

$$K = \frac{0,917 - 0,479}{1 - 0,479} = 0,84$$

Die Daten zu den relevanten Endpunkten, die zur Bestimmung des pT-Wertes erhoben wurden, sind in Tabelle 4 dargestellt. Hierbei sind nur die Ergebnisse der Proben aufgeführt, die mindestens zu einem pT-Wert von 1 führten. Mögliche Endpunkte, die in keinem der Fälle beobachtet wurden, sind in der Tabelle 4 nicht gelistet.

Die erfassten Endpunkte waren:

- normal entwickelter Keim
- normal entwickelter Keim ohne Blutkreislauf (nicht geforderter Endpunkt)
- koagulierter Keim (letal)
- kein Herzschlag (letal)
- keine Somiten (letal)
- keine Schwanzablösung (letal)

Tabelle 4: Ergebnisse zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit des Fischeitests

Probe	Verdünnungs- stufe	Mortalität	Anzahl Embryonen in der jeweiligen Kategorie			
			[%]	0	0(B)	K
Tideelbe, BfG-Nr. 110313 Porenwasser 1. Bestimmung	Original	60	4		6	
	1:2	10	8	1		1
	1:4	0	10			
	1:8	0	10			
	1:16	0	10			
	1:32	0	10			
	1:64	0	10			
Tideelbe, BfG-Nr. 110313 Porenwasser 2. Bestimmung	Original	80	2		7	1
	1:2	0	10			
	1:4	0	10			
	1:8	0	10			
	1:16	0	10			
	1:32	0	10			
	1:64	0	10			
Tideelbe, BfG-Nr. 110315 Porenwasser 1. Bestimmung	Original	100			10	
	1:2	60	3	1	6	
	1:4	10	8	1	1	
	1:8	0	10			
	1:16	10	9		1	
	1:32	0	10			
	1:64	0	10			
Tideelbe, BfG-Nr. 110315 Porenwasser 2. Bestimmung	Original	100			10	
	1:2	60	4		6	
	1:4	0	10			
	1:8	0	10			
	1:16	0	10			
	1:32	0	10			

	1:64	0	10			
Referenzstelle Bimmen Eluat 1. Bestimmung	Original	50	4	1	3	2
	1:2	0	8	2		
	1:4	0	8	2		
	1:8	10	9	1		
	1:16	0	10			
	1:32	10	8	1	1	
	1:64	10	8	1	1	
Referenzstelle Bimmen Eluat 2. Bestimmung	Original	50	3	2	5	
	1:2	10	7	2	1	
	1:4	0	6	4		
	1:8	10	7	2	1	
	1:16	0	10			
	1:32	0	9	1		
	1:64	10	9		1	
Referenzstelle Bad Abbach Eluat 1. Bestimmung	Original	20	8		2	
	1:2	0	10			
	1:4	0	10			
	1:8	10	7	2	1	
	1:16	0	9	1		
	1:32	10	8	1	1	
	1:64	10	9		1	
Referenzstelle Bad Abbach Eluat 2. Bestimmung	Original	30	6	1	2	1
	1:2	10	8	1	1	
	1:4	0	9	1		
	1:8	0	10			
	1:16	10	9		1	
	1:32	10	7	2	1	
	1:64	0	8	2		
Referenzstelle Ehrenbreitstein Eluat 1. Bestimmung	Original	0	10			
	1:2	10	9		1	
	1:4	0	10			
	1:8	0	9	1		
	1:16	10	7	2	1	
	1:32	0	7	3		
	1:64	10	6	3	1	
Referenzstelle Ehrenbreitstein Eluat 2. Bestimmung	Original	20	6	2	2	
	1:2	10	8	1	1	
	1:4	10	5	4	1	
	1:8	10	4	5	1	
	1:16	10	7	2	1	
	1:32	0	9	1		
	1:64	0	8	2		

Wie in Tabelle 4 zu erkennen ist, sind die jeweiligen Mortalitäten bei der 1. Bestimmung und der 2. Bestimmung mit Ausnahme von einem Fall (Referenzstelle Ehrenbreitstein, Eluat) vergleichbar und führen dementsprechend zu übereinstimmenden pT-Werten. In der Tabelle 4 ist neben den letalen Endpunkten (H = fehlender Herzschlag, S = fehlende Somitenbildung und C = nicht erfolgte Schwanzablösung) der Endpunkt 0 (B) = normal entwickelter Keim ohne Blutkreislauf gelistet. Bei diesem Endpunkt waren teilweise zwar deutlich abweichende Werte zwischen der 1. Bestimmung und der 2. Bestimmung feststellbar, allerdings wirken sich diese Werte nicht auf den resultierenden pT-Wert aus, da es sich hierbei um einen nicht von der Richtlinie geforderten Endpunkt handelt.

3.2 Ergebnisse des Fischeitests von Sedimenten und Baggergut

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Sedimente und Baggergut ausgewählter Probenahmestellen der Flüsse Saale, Hunte, Ems, der Mittelalbe und der Tideelbe, des Hamburger Hafens sowie diverser Referenzstellen untersucht. Insgesamt wurden aus diesen Gebieten 69 Sedimentproben auf ihre Toxizität gegenüber der Fischembryonenentwicklung geprüft. Wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben, wurde von jeder Probe Porenwasser und Eluat erzeugt und mit den Biotesten untersucht. Insgesamt liegen somit Daten zu 138 Testgütern vor. Die Verteilung der ermittelten Sediment- und Baggerguttoxizitäten der getesteten Testgüter kann Abbildung 4 entnommen werden. Enthalten sind alle gemessenen Ergebnisse incl. der verdeckten Doppelbestimmungen. Wie in Abbildung 4 zu sehen ist, waren von 138 untersuchten Proben 98 Proben nicht und 32 in unbedenklichem Maße belastet. Lediglich 8 der untersuchten Testgüter waren kritisch belastet mit einem ermittelten pT von 3.

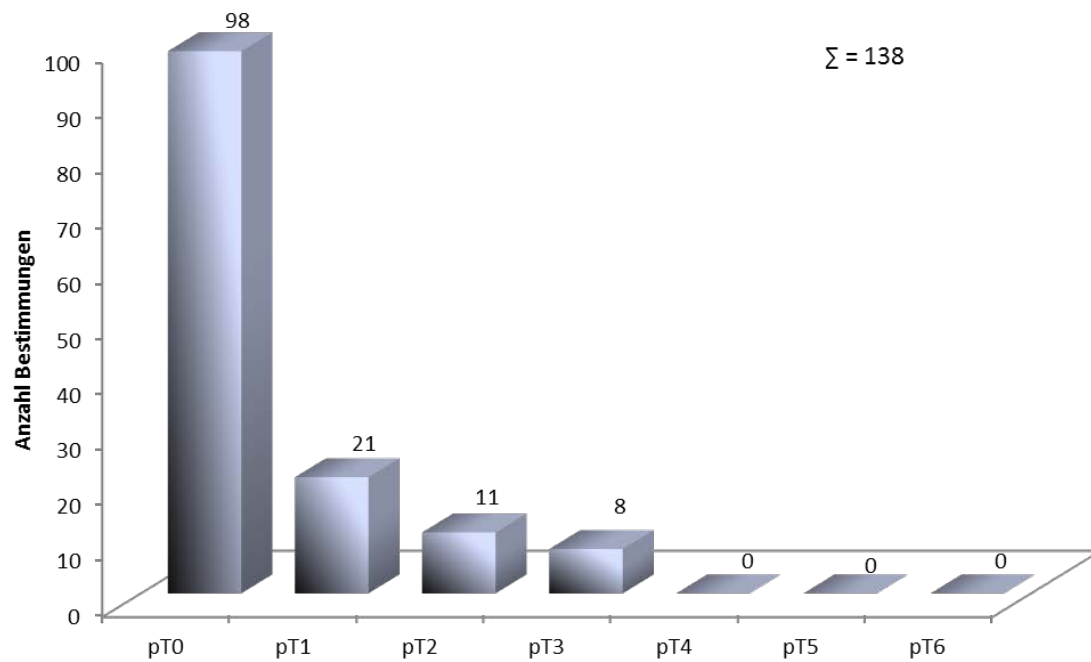


Abbildung 4: Verteilung der ermittelten Toxizitäten aller untersuchten Proben

Um ersichtlich zu machen, welche Werte aus welchen Gewässern stammen, wurden in Abbildung 5 die Häufigkeiten der ermittelten pT-Werte in den einzelnen Gewässern bzw. der einzelnen Referenzstellen dargestellt.

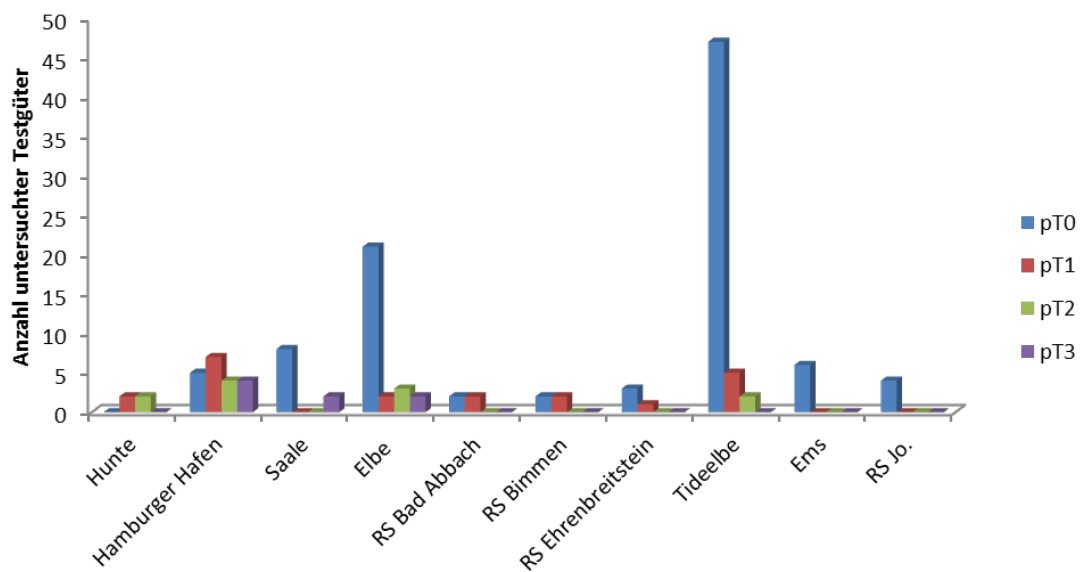


Abbildung 5: Häufigkeiten der ermittelten pT-Werte in den untersuchten Gewässern

Abbildung 5 veranschaulicht deutlich, dass ein Großteil der vorhandenen Proben aus der Tideelbe und der Elbe stammen und im Gegensatz zu den Proben des Hamburger Hafens meist unbelastet waren. Die kritischen Werte wurden für Abschnitte des Hamburger Hafens und der Saale ermittelt. Um die festgestellten Toxizitäten für die untersuchten Flussabschnitte grob zusammenzufassen, wurden die z.T. geringen Untersuchungsumfänge für die weiteren Betrachtungen als repräsentativ für den jeweiligen Gewässerabschnitt angenommen. Tatsächlich ist ein solches Vorgehen nicht ganz korrekt, da sich die Belastungen auch innerhalb der betrachteten Gewässerabschnitte unterscheiden können. Ausgehend von einer repräsentativen Verteilung der Probenahmestellen würden sich somit die in Tabelle 5 dargestellten, durchschnittlichen Toxizitätswerte für die jeweiligen Gewässer ergeben.

Tabelle 5: pT-Werte des Fischeitests für die versch. untersuchten Gewässer

	pT0	pT1	pT2	pT3	Σ	durchschnittlicher pT
Hunte	0	2	2	0	4	1,50
Hamburger Hafen	5	7	4	4	20	1,35
Saale	8	0	0	2	10	0,60
Elbe	21	2	3	2	28	0,50
RS Bad Abbach	2	2	0	0	4	0,50
RS Bimmen	2	2	0	0	4	0,50
RS Ehrenbreitstein	3	1	0	0	4	0,25
Tideelbe	47	5	2	0	54	0,17
Ems	6	0	0	0	6	0,00
RS Jo.	4	0	0	0	4	0,00

3.3 Ergebnisse der parallel durchgeführten Bioteste und Gegenüberstellung mit den Ergebnissen des Fischeitests

Unter den vorhandenen 138 Testgütern, die mit dem Fischeitest auf ihre Sedimenttoxizität gegenüber Fischembryonen hin untersucht wurden, wurden 79 Proben außerdem mit der restlichen Biotestbatterie der BfG (siehe Kapitel 2.3) untersucht. Die Ergebnisse hiervon sollen durch eine Gegenüberstellung der Daten erste Anhaltspunkte über die Eignung des Fischeitests für die Sedimentbewertung liefern. Hierzu sollen z.B. die maximalen Toxizitätswerte der Sedimente für die einzelnen

Testsysteme betrachtet werden und eventuelle Korrelationen ausfindig gemacht werden. Der Fischeitest soll nicht die Ergebnisse der anderen Bioteste widerspiegeln. Allerdings ist anzunehmen, dass in den Sedimenten mit höheren Toxizitäten im Fischeitest auch tendenziell die höheren Belastungen gegenüber den anderen Biotesten festgestellt werden.

In der Abbildung 6 sind die durchschnittlichen pT-Werte von Leuchtbakterientest, Daphnientest, Algentest sowie dem Fischeitest für die einzelnen untersuchten Gewässer abgebildet. Ausgehend von einer Repräsentativität der Ergebnisse ergibt sich für die einzelnen untersuchten Gewässer folgendes Bild (Abbildung 6).

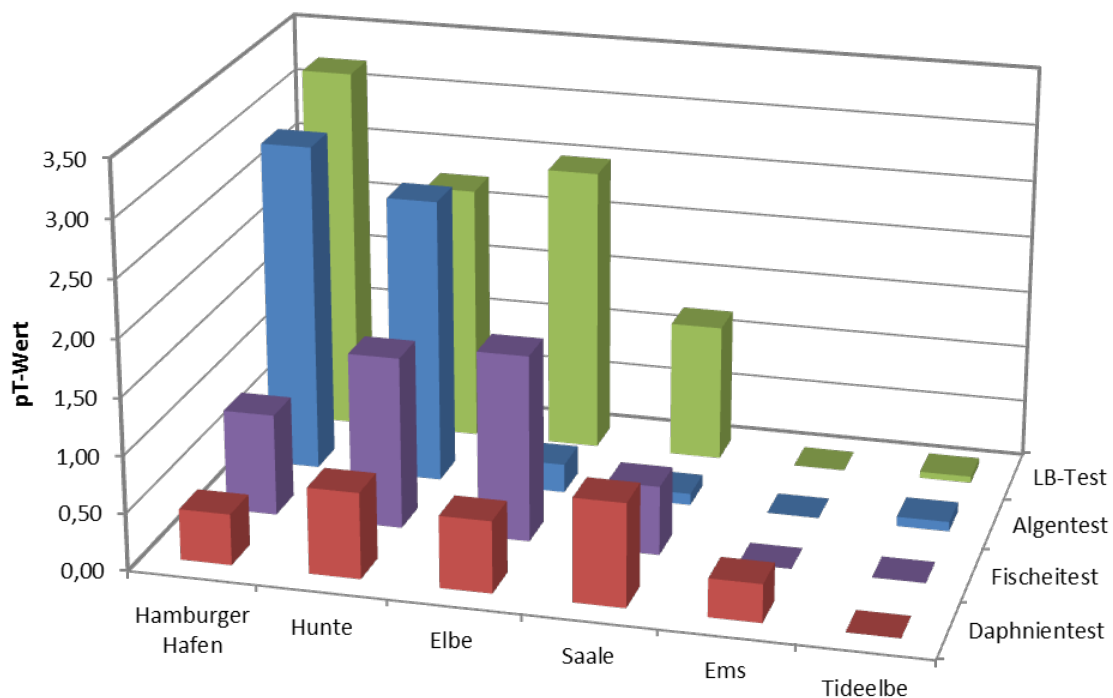


Abbildung 6: Durchschnittliche pT-Werte der gesamten Biotestpalette für die einzelnen Gewässer

Abbildung 6 zeigt, dass die Proben aus dem Hamburger Hafen vor allem auf Leuchtbakterien und Algen die toxischste Wirkung hatten. Wie in Tabelle 6 zu erkennen ist, wurde für die Probe HH 12-2-12 aus dem Hamburger Hafen mit einem pT-Wert von 6 die höchste Sedimenttoxizität ermittelt. In drei weiteren Sedimenten des Hamburger Hafens konnte insgesamt fünfmal ein pT-Wert von 5 beobachtet werden. In zahlreichen Proben der Tideelbe hingegen sowie der Ems konnten selbst in den unverdünnten Testansätzen keine toxischen Effekte ausfindig gemacht werden

(pT 0). In Tabelle 6 sind die Ergebnisse der einzelnen Biotestverfahren für die verschiedenen Sedimentproben nach absteigendem, durchschnittlichen pT-Wert gelistet. Hierbei ist darauf zu achten, dass dies nicht zwangsläufig dem jeweilig absolut höchsten ermittelten pT-Wert (pT max.) entspricht, nach welchem die Sedimentbewertung letztendlich erfolgt.

Tabelle 6: pT-Werte für Probenahmestellen, für die Daten der gesamten Biotestpalette verfügbar sind

Gewässer	Probe	Matrix	Algen-test [pT]	Daphnien-test [pT]	Leucht-bakterien-test [pT]	Fischei-test [pT]	Ø pT	pT max.
Hamburger Hafen	HH 12-2-12	Eluat	5	2	6	3	4,00	6
Hamburger Hafen	HH 12-2-08	Eluat	5	0	5	1	2,75	5
Hamburger Hafen	HH 12-2-13	Eluat	3	1	5	1	2,50	5
Hamburger Hafen	HH 12-2-15	Eluat	5	0	5	0	2,50	5
Hunte	1050940 6-020	Porenwasser	2	2	4	2	2,50	4
Elbe	100318	Eluat	1	2	4	2	2,25	4
Hamburger Hafen	HH 12-2-22	Eluat	1	1	4	2	2,00	4
Elbe	100318	Porenwasser	0	2	2	3	1,75	3
Saale	100394	Porenwasser	1	3	0	3	1,75	3
Hunte	1050940 6-022	Porenwasser	2	1	3	1	1,75	3
Elbe	100329	Eluat	1	0	4	1	1,50	4
Hunte	1050940 6-022	Eluat	3	0	2	1	1,50	3
Elbe	100359	Eluat	0	1	4	0	1,25	4
Hamburger Hafen	HH 12-2-14	Eluat	2	0	2	1	1,25	2
Saale	110717	Porenwasser	0	2	3	0	1,25	3

Hunte	1050940 6-020	Eluat	3	0	0	2	1,25	3
Elbe	100329	Poren- wasser	0	0	2	2	1,00	2
Elbe	100340	Eluat	0	0	4	0	1,00	4
Hamburger Hafen	HH 12-2- 5	Eluat	2	0	2	0	1,00	2
Saale	100394	Eluat	0	1	3	0	1,00	3
Saale	110721	Poren- wasser	0	3	1	0	1,00	3
Elbe	100340	Poren- wasser	0	0	0	3	0,75	3
Saale	100329	Poren- wasser	0	0	0	3	0,75	3
Elbe	100359	Poren- wasser	0	0	0	2	0,50	2
Hamburger Hafen	HH 12-2- 03	Eluat	2	0	0	0	0,50	2
Saale	100329	Eluat	0	0	2	0	0,50	2
Saale	110717	Eluat	0	0	2	0	0,50	2
Hamburger Hafen	HH 12-2- DS	Eluat	1	0	0	0	0,25	1
Saale	110721	Eluat	0	0	1	0	0,25	1
Tideelbe	110237	Poren- wasser	1	0	0	0	0,25	1
Tideelbe	110251	Poren- wasser	1	0	0	0	0,25	1
Tideelbe	110263	Poren- wasser	0	0	1	0	0,25	1
Tideelbe	110264	Poren- wasser	0	0	1	0	0,25	1
Tideelbe	110267	Poren- wasser	1	0	0	0	0,25	1
Ems	Q 2_5	Poren- wasser	0	1	0	0	0,25	1
Ems	Q 5_5	Poren- wasser	0	1	0	0	0,25	1
Saale	110719	Poren- wasser	0	0	0	0	0,00	0
Saale	110719	Eluat	0	0	0	0	0,00	0

Tideelbe	110237	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110238	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110238	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110239	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110239	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110240	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110240	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110242	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110242	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110243	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110243	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110246	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110246	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110247	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110247	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110250	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110250	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110251	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110260	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110260	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110261	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110261	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110263	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110264	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110267	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110306	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0

Tideelbe	110306	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110307	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110307	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110308	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Tideelbe	110308	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Ems	Q 0_5	Porenwasser	0	0	0	0	0,00	0
Ems	Q 0_6	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Ems	Q 2_6	Eluat	0	0	0	0	0,00	0
Ems	Q 5_6	Eluat	0	0	0	0	0,00	0

4 Diskussion

4.1 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des Fischeitests an Eluaten und Porenwasser natürlicher Sedimente und Baggergut

Wie der Übersicht (Tabelle 2) der verdeckt doppelt vergebenen Fischeitests zu entnehmen ist (Kapitel 3.1), lagen die Ergebnisse der untersuchten Proben nur in einem Bereich, bei dem Wirkungen eher gering waren. Der höchste ermittelte pT-Wert wurde an einer Porenwasserprobe aus der Tideelbe ermittelt und betrug pT 2. Insgesamt wurden Fischeitests mit Porenwasser sowie Eluat sechs verschiedener Proben doppelt vergeben und untersucht. Von diesen zwölf möglichen Vergleichen wurden bei sieben sowohl im Porenwasser als auch im Eluat konnten keinerlei toxische Effekte basierend auf dem pT-Wert festgestellt werden. Bei den übrigen fünf wurden pT-Werte von 1 bis 2 bestimmt. Von den zwölf verfügbaren Ergebnissen ergab sich bei elf eine vollkommene Übereinstimmung der ermittelten pT-Werte. Lediglich beim Eluat der Referenzstelle Ehrenbreitstein unterschied sich der pT-Wert des Eluates zwischen beiden Bestimmungen um eine Größenordnung.

In Bezug auf die einzelnen Endpunkte (siehe Tabelle 4) lässt sich bei der Doppelbestimmung der Tideelbeprobe 110313 ebenso wie bei der Tideelbeprobe 110315 eine deutliche Übereinstimmung feststellen. Die unverdünnte Probe 110313 (Porenwasser) bewirkte eine Mortalität der Embryonen von 60 bzw. 80%, welche fast ausschließlich auf eine Koagulation der Keime zurückzuführen war. Eine ähnliche Konstellation ergab sich bei der Probe 110315 (Porenwasser), bei der in der unverdünnten Probe eine Mortalität von 100% und in der Verdünnungsstufe 1:2 eine Mortalität von 60% festzustellen war. Auch hier war die Hauptursache für das Absterben der Keime in sämtlichen Fällen eine Koagulation der Fischeier.

Ebenso wie die Proben der Tideelbe wiesen auch die Resultate der verschiedenen Referenzstellen deutliche Übereinstimmungen in Bezug auf die einzelnen Endpunkte auf. Fast alle letalen Effekte waren auch hier auf eine Koagulation der Fischeier zurückzuführen.

Da die Doppelbestimmungen ohne jeweils weitere Replikate erfolgten, ist eine statistische Untermauerung der Ergebnisse nicht ohne weiteres möglich. Basierend auf dem errechneten Kappa-Koeffizienten von 0,84 und der Kappa-Interpretation nach Altman (1991) und Landis und Koch (1977) lässt sich allerdings eine sehr gute

Reproduzierbarkeit der Testergebnisse feststellen. Dennoch sollten die Ergebnisse mit gewissen Vorbehalten betrachtet werden, da die doppelt vorhandenen und getesteten Proben mit einem maximalen pT-Wert von 2 eher im geringen Belastungsbereich lagen. Es wäre z.B. denkbar, dass Sedimente und Baggergut mit höheren Toxizitätsklassen zu größeren Diskrepanzen zwischen den resultierenden pT-Werten führen als dies bei verhältnismäßig gering toxischen Proben der Fall ist. Um die Reproduzierbarkeit der Fischeitests in toxisch höher belasteten Proben genauer untersuchen zu können, wäre eine erneute gedoppelte Durchführung mit deutlicher belasteten Sedimenten hilfreich. Somit könnte eventuell auch für höher belastete Proben eine belegbare Aussage bezüglich der Reproduzierbarkeit für Sedimentuntersuchungen getätigt werden. Abschließend lässt sich feststellen, dass sich Testergebnisse mit dem Fischeitest im ökotoxikologisch gering belasteten Bereich auf Basis der vorliegenden Daten gut reproduzieren lassen. Dieser Bereich ist für die Bewertung von Baggergut genauso wichtig wie die Bereiche höherer Belastungen, da die ökotoxikologische Untersuchung von Baggergut zur Sicherung der Umlagerungsfähigkeit und zur Prüfung der Unbedenklichkeit dient.

4.2 Ergebnisse des Fischeitests von Sedimenten und Baggergut

Ergebnisse des Fischeitests sind für zahlreiche Probenahmestellen der Flüsse Elbe, Saale, Hunte, der Tideelbe, der Ems, des Hamburger Hafens und einiger Referenzstellen verfügbar. Von den 138 ermittelten pT-Werten war bei 98 Werten keine toxischen Wirkungen auf die Fischembryonen nachweisbar. Unbedenkliche toxische Belastungen (pT-Wert von 1 und 2) konnten bei insgesamt 31 Proben nachgewiesen werden. Lediglich bei ca. 6% aller Proben wurde eine kritische toxische Belastung festgestellt. Unter den kritisch belasteten Proben befanden sich vier Proben aus dem Hamburger Hafen (HH12-2-08/PW, HH12-2-12/Eluat, HH12-2-12/PW und HH12-2-17/PW) und jeweils zwei Proben der Mittel- und Untere Elbe (100318/PW und 100340/PW) sowie der Saale (100394/PW und 100329/PW). In Hinblick auf die Sensitivität des Testsystems könnte dies eventuell bedeuten, dass selbiges relativ unempfindlich gegenüber den in den Sedimenten vorhandenen Xenobiotika ist. Wahrscheinlicher ist allerdings, dass die untersuchten Sedimente generell niedrige Belastungen aufweisen.

Zudem soll mit der Untersuchung von Baggergut die Unbedenklichkeit einer vorgesehenen Umlagerungsmaßnahme ermittelt werden, um so sicherzustellen, dass akute adverse Wirkeffekte an der Verbringstelle vermieden werden. Ist bekannt, dass Baggergut eine hohe Schadstoffbelastung aufweist, wird es nicht innerhalb des Gewässers umgelagert und ökotoxikologische Untersuchungen entfallen. Da für einige der untersuchten Proben neben den ökotoxikologischen Untersuchungen auch chemische Sedimentanalysen durchgeführt wurden, könnten deren Resultate auf Gehalte bekannter Schadstoffe hin untersucht werden. Im Rahmen dieser Analysen wurden Verbindungen untersucht, die aufgrund ihrer Verwendung oder Entstehung häufig vorkommen, adsorptiv gegenüber Sedimentpartikeln sind, bioakkumulativ sind und/oder schlecht biologisch abgebaut werden und/oder toxisch sind. Hierzu gehören u.A. Mineralölkohlenwasserstoffe (MKW) als Hinweis auf Mineralölverunreinigungen, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), Schwermetalle, Nährstoffe wie Ammonium, und zinnorganische Verbindungen wie Tributylzinn, das häufig als Antifoulingmittel u.a. in Schiffsanstrichen verwendet wurde. Allerdings ist im wässrigen Auszug der untersuchten Sedimente (Porenwasser und Eluate) aufgrund der Art der Probengewinnung und der physikalisch-chemischen Eigenschaften nur ein Teil der tatsächlich in den Sedimenten vorhandenen Schadstoffe präsent. Insbesondere gilt dies für besonders adsorptive und schlecht wasserlösliche Substanzen. Zudem bilden auch die chemischen Analysen nur einen Teil der vorhandenen Schadstoffbelastung ab, da nur ausgewählte besonders problematische Stoffe analysiert werden (z.B. prioritäre und prioritär gefährliche Stoffe). Zudem handelt es hierbei auch um Stoffe, die oftmals eher langfristige und chronische Wirkeffekte gegenüber den Organismen und der Biozönose aufweisen können.

In Abbildung 5 sind die ermittelten pT-Werte für die einzelnen untersuchten Gewässer dargestellt. Wie hier zu sehen ist, wurden die meisten Fischeitests mit Proben der Tideelbe (54 Proben), der Elbe (28 Proben) und dem Hamburger Hafen (20 Proben) durchgeführt. Bei 47 der Tideelbeproben und 21 der Elbeproben wurden basierend auf dem pT-Wert-System keine nachweisbaren toxischen Effekte detektiert. In Tabelle 5 wurde ein durchschnittlicher pT-Wert für die einzelnen Gewässer gebildet. Dies sollte lediglich dazu dienen, einen groben Gesamteindruck für die Sedimentqualität der jeweiligen Flüsse zu bekommen. Dieser Betrachtung

liegt die Annahme zugrunde, dass die Probennahmestellen repräsentativ verteilt sind. Da einzelne Gewässerabschnitte durch zahlreichen Faktoren wie z.B. Punktquellen in Form von Direkt/Indirekteinleitern oder diffuseren Quellen wie landwirtschaftlichem Drift und Run-off beeinflusst sein können, kann eine Aussage über die Toxizität eines Gewässers bzw. dessen Sedimente schlecht verallgemeinert werden. Aus diesem Grunde sowie dem geringen und evtl. nicht repräsentativen Probenumfang von einigen Gewässern soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass es sich bei den gemittelten pT-Werten lediglich um einen groben Vergleich handelt.

Den vorliegenden Daten nach wären dementsprechend die Sedimente der Hunte mit einem durchschnittlichen pT-Wert von 1,50 die am höchsten belasteten, vor denen des Hamburger Hafens mit einem Wert von 1,35 und denen der Saale mit 0,60. Die am wenigsten belasteten Proben stammten aus der Ems (pT = 0,0) und der Tideelbe (pT = 0,17). Diese Abfolge scheint sich unter Einbeziehung der Daten der restlichen Biotestpalette (Daphnientest, Algentest und Leuchtbakterientest) und den Erfahrungen der BfG zur chemischen Sedimentbelastung zu bestätigen.

4.3 Ergebnisse der parallel durchgeführten Bioteste und Gegenüberstellung mit den Ergebnissen des Fischeitests

In Abbildung 6 sind die ermittelten pT-Werte für die verschiedenen Testmethoden und Gewässer dargestellt. Diesen Daten nach reagiert der Fischeitest in vergleichbaren Dimensionen auf die untersuchten Testgüter der nativen Sedimentproben wie die regulär eingesetzte Biotestpalette (Daphnientest, Algentest und Leuchtbakterientest, siehe Kapitel 2.3). Um dies anschaulich darzustellen, wurden in Abbildung 7 die Ergebnisse, die für alle vier Testverfahren vorhanden sind, auf 100% normiert. Dieser Darstellung zufolge scheint der Fischeitest auf die vorliegenden Proben tendenziell weniger empfindlich als der Leuchtbakterientest und der Algentest, aber sensitiver als der Daphnientest zu reagieren.

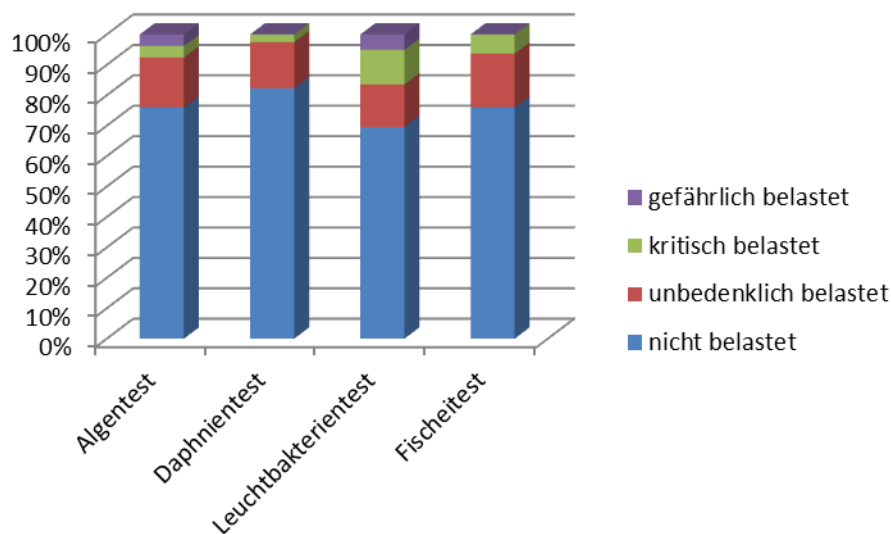


Abbildung 7: Empfindlichkeiten der verschiedenen Testsysteme gegenüber den getesteten Proben

Auf Grundlage der ersten Ergebnisse scheint der Fischeitest eine zuverlässige und hilfreiche Methode sein, um Ergebnisse der vorhandenen Biotestpalette im Bedarfsfall um eine weitere Trophieebene und zusätzliche Wirkorte zu ergänzen. Der Fischeitest reagierte auf einige Sedimente empfindlicher als die im Regelfall eingesetzten Bioteste (Probe 100340, Elbe sowie Probe 100329, Saale).

Bei den Ergebnissen zu den Toxizitäten der verschiedenen Proben ist auffällig, dass Proben, die mit einem Test der Testpalette durchgeführt wurden, evtl. sehr starke Effekte auf die jeweiligen Organismen haben, während andere Organismen völlig unbeeinträchtigt blieben. Ein Beispiel hierfür sind die höher belasteten Proben HH 12-2-08, HH 12-2-12, HH 12-2-13 und HH 12-2-15 aus dem Hamburger Hafen. Wie in Tabelle 6 zu sehen ist, reagierten *Desmodesmus subspicatus* und *Aliivibrio fischeri* sehr sensitiv auf die Proben, während *Daphnia magna* und die Fischeier von *Danio rerio* größtenteils deutlich unempfindlicher gegenüber diesen Sedimenten waren.

Wie Tabelle 6 zu entnehmen ist, erhielten die bereits erwähnten, höher belasteten Proben aus dem Hamburger Hafen ihre sehr hohen Toxizitätsklassen durch die Ergebnisse der Algen- und Leuchtbakterientests, während die Daphnien und die Fischeier diesen gegenüber recht tolerant waren. Dies ist wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Sensitivitäten der Testorganismen gegenüber bestimmter in diesen Sedimenten vorhandener Schadstoffe zurückzuführen.

5 Ausblick

Um die Reproduzierbarkeit der Fischeitests genauer untersuchen zu können, wären weitere Doppeluntersuchungen von Sedimenten mit höheren Belastungspotentialen erstrebenswert. Somit könnte eventuell auch für höher belastete Proben eine belegbare Aussage bezüglich der Reproduzierbarkeit mit diesem Testsystem getätigt werden.

Für viele der getesteten Sedimente sind chemische Sedimentanalysen vorhanden. Anhand der vorhandenen Daten aus den chemischen Sedimentanalysen und den physiko-chemischen Parametern der Testgüter könnte in weiterführenden Untersuchungen geprüft werden, ob bestimmte Störgrößen Einfluss auf den Fischtest haben.

Zahlreiche Ergebnisse sind verfügbar, die mit Proben aus verschiedenen Gewässern mit dem Fischeitest und der übrigen Biotestbatterie durchgeführt wurden. An den resultierenden pT-Werten war zu erkennen, dass der Fischeitest durchaus in ähnlichen Größenordnungen auf die getesteten Proben reagierte wie die restlichen Testverfahren. In einigen Fällen hat der Fischeitest sensitiver als die restliche Biotestpalette reagiert und somit zu einem höheren pT-Wert geführt. Auch um dieses Phänomen genauer untersuchen zu können, wären weitere Daten von Sedimenten mit höheren Belastungspotentialen hilfreich.

Außer für die Bestimmung der Reproduzierbarkeit wurden alle Proben lediglich einmal mit dem Testverfahren untersucht. Um weitere statistisch untermauerte Aussagen bezüglich der erzeugten Ergebnisse zu erhalten, sollten die durchgeführten Versuche in mehrfacher Anzahl realisiert werden. Dies könnte in Hinblick auf die Sensitivität des Fischeitests und dessen Reproduzierbarkeit zusätzliche und genauere Ergebnisse liefern.

6 Literaturverzeichnis

- BfG (2000): Handlungsanweisung für den Umgang mit Baggergut im Binnenland (HABAB-WSV) .- 2. überarbeitete Fassung. Erstellt im Auftrag des BMVBW. Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz, BfG-1251.
- BfG (2011): BfG-Merkblatt "Ökotoxikologische Baggergutuntersuchung" - Ökotoxikologische Untersuchung von Sedimenten, Eluaten und Porenwässern.- Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz, 2011.
- Calmano, W. (2001): Untersuchung und Bewertung von Sedimenten, Vorwort, Springer Verlag, Heidelberg, Berlin New York
- Cohen J (1960) A coefficient of agreement for nominal scales. Educational and Psychological Measurement 10:37-46
- DIN EN ISO 15088 ("Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (Danio rerio); ISO 15088:2007, Deutsche Fassung EN ISO 15088:2008)
- Fent, K. (2003): Ökotoxikologie. 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Fent, K. (2007): Ökotoxikologie. 2. überarb. u. erw. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Grouven U., Bender R., Ziegler A., Lange S. (2007): Der Kappa-Koeffizient. Dtsch med Wochenschr 2007; 132: e65-e68, DOI: 10.1055/s-2007-959046
- Krebs, F. (1988): Der pT-Wert: Ein gewässertoxikologischer Klassifizierungsmaßstab. GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium 32: 293-296 zugleich GIT Edition Umweltanalytik-Umweltschutz 1: 57-63
- Krebs, F. (2000): Ökotoxikologische Bewertung von Baggergut aus Bundeswasserstraßen mit Hilfe der pT-Wert-Methode.- Hydrologie und Wasserbewirtschaftung 44: 301-307
- Krebs, F. (2001): Ökotoxikologische Baggergutuntersuchung, Baggergutklassifizierung und Handhabungskategorien für Baggergutumlagerungen.- In: W. Calmano (Hrsg.): Untersuchung und Bewertung von Sedimenten - ökotoxikologische und chemische Testmethoden. Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg: 333-352
- Landis, J.R. & Koch, G.G. (1977): The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. Biometrics 33, 159-174
- Peters, C. & W. Ahlf (2003): Validieren, Harmonisieren und Implementieren eines minimalen biologischen Testsets zur Bewertung mariner Wasser- und Sedimentproben.- UBA Texte 87/ 03, Umweltbundesamt Berlin. Weber, J.,

Kreutzmann, J., Plantikow, A., Pfitzner, S., Claus, E., Manz, W. & P. Heining (2006): A Novel Particle Contact Assay with Yeast *Saccharomyces cerevisiae* for Ecotoxicological Assessment of Freshwater Sediments.- *JSS - J Soils & Sediments* 6 (2), 84-91

Online:

http://de.wikipedia.org/wiki/Cohens_Kappa

Dahm, R. & Schönthaler, H.: Der Zebrafisch in der Forschung: Ein kleiner Fisch schlägt hohe Wellen. http://www.muenchner-wissenschaftstage.de/mwt2003/content/e5/e278/e541/filetitle/Dahm_Schoenthaler_ger.pdf, Online-Dokument, abgerufen am 16.08.2012

7 Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Abschlussarbeit im Rahmen der postgradualen Weiterbildung zum Fachökotoxikologen (GDCh/SETAC-Europe GLB) selbstständig verfasst habe und dass das bearbeitete Thema nicht Bestandteil meiner Routinearbeit beim Arbeitgeber ist.

Christian Koch