

Einfluss kleiner Kläranlagen auf kleine Fließgewässer am Beispiel des Rambachs in Hessen

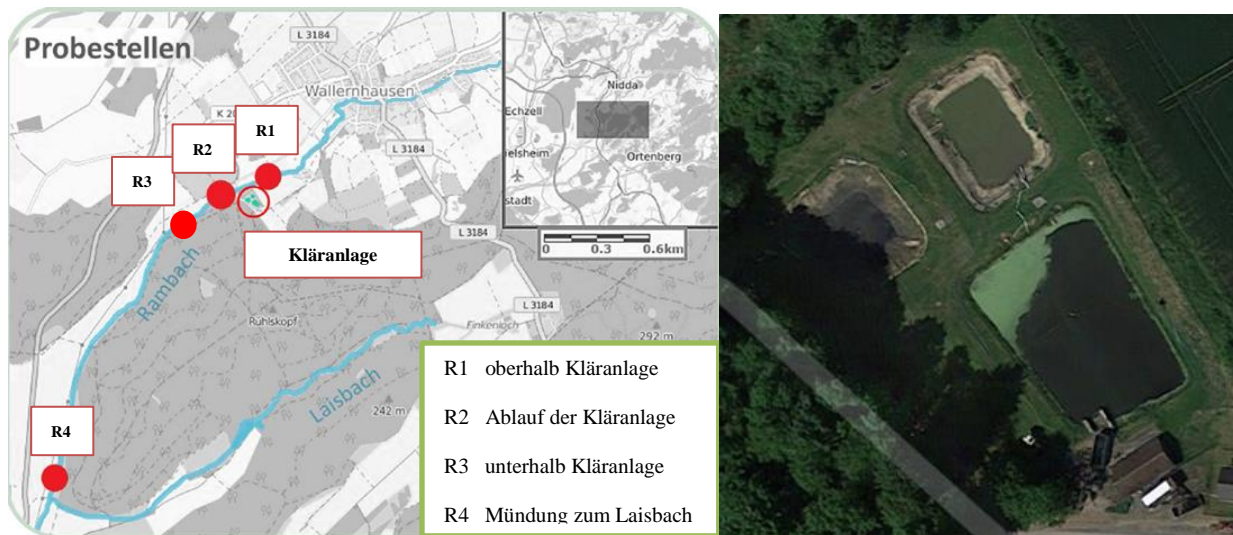


Abbildung 1: Codierung und Lage der Probestellen am Rambach (links) und Luftaufnahme der Kläranlage Wallernhausen am Rambach (rechts).

1 Hintergrund

Derzeit befinden sich nur etwa 8,2% der deutschen Oberflächengewässer in einem guten ökologischen Zustand [BMUB/UBA, 2016]. Einer der Hauptgründe für die Verfehlung der Zielvorgabe des guten ökologischen Zustandes gemäß EU-Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) ist die defizitäre Gewässerstruktur vieler Flüsse [BMUB/UBA, 2016; EU Kommission, 2007; Umweltbundesamt, 2017]. Über Jahrzehnte wurden Gewässer begradigt und kanalisiert, die Gewässersohle verbaut, und Querbauwerke wie Wehre beeinflussten die Durchgängigkeit für Organismen massiv [Reckow et al., 2005; Smith, Bode & Kleppel, 2007]. Degradierete Gewässer weisen daher eine reduzierte Habitatdiversität auf, die sowohl zu einer Abnahme der Biodiversität als auch zu einer Abnahme des Wiederbesiedlungspotenzials führt. Sundermann et al. (2011) konnten nachweisen, dass morphologische Renaturierungen zwar die Habitatdiversität erhöhen, dennoch erreichten lediglich drei von 25 untersuchten renaturierten Flüssen den guten ökologischen Zustand gemäß den Vorgaben der WRRL. Die Autoren vermuten, dass die schlechte Wasserqualität, die auf die Einleitung konventionell gereinigten Abwassers über Kläranlagenabläufe und auf diffuse Einträge aus der Landwirtschaft zurückzuführen ist, die Wiederansied-

lung der standorttypischen Tiere und Pflanzen in den renaturierten Flussabschnitten verhindert. Kläranlagen (KA) emittieren Schadstoffe wie Arzneimittel, Pestizide, Industriechemikalien und Körperpflegemittel, aber auch Nährstoffe wie Nitrat und Phosphat [Heberer, 2002; Schneider et al., 2015; Wick et al., 2009]. Diese Stoffe gelangen mit dem konventionell gereinigten Abwasser in die aquatische Umwelt, wo sie die Biodiversität bzw. die Zusammensetzung der aquatischen Lebensgemeinschaft maßgeblich beeinflussen [BMUB/UBA, 2016; Umweltbundesamt, 2017]. Die Zusammensetzung der Lebensgemeinschaft ist in der WRRL die Grundlage zur Bestimmung des ökologischen Zustands eines Gewässers, sodass eine Abnahme der Biodiversität in Folge der Einleitung von Kläranlagenabwässern mit einer Verschlechterung des ökologischen Zustandes einhergeht [Sundermann et al., 2011]. Dies verdeutlicht, dass neben der Gewässerstruktur auch die Wasserqualität eine entscheidende Rolle einnimmt, um den guten ökologischen Zustand eines Gewässers gemäß den Vorgaben der WRRL erreichen zu können. Das Hauptaugenmerk wissenschaftlicher Untersuchungen lag bislang auf dem Einfluss von KA der Größenklassen (GK) 3 bis 5, obwohl die sogenannten kleinen KA (GK 1 und 2) mit rund 66% deutlich häufiger in Hessen vorkommen [HMUKLV, 2017]. Die Fokussierung auf größere KA war vor allem

eine Folge der Anstrengungen, die Stofffrachten in den Gewässern durch wasserwirtschaftliche Planungen und Maßnahmen zu reduzieren. KA der GK 1 bis 2 weisen im Vergleich zu größeren Anlagen eine geringere Reinigungsleistung auf. Sie verfügen oft nur über eine biologische Reinigungsstufe ohne Phosphorfällung und nicht über erweiterte Filtrationsstufen (z.B. Tuch-, Membran-, Aktivkohlefiltration). Zudem sind in Anlagen der GK 1 und 2 die Retentionszeiten des Abwassers deutlich kürzer [Da Silva et al., 2011; Singer et al., 2002]. Weil kleine KA oft an Oberläufen von Flüssen oder kleineren, nicht WRRL-relevanten Nebengewässern liegen, kommt es durch die Kläranlageneinleitungen zu einem hohen Anteil gereinigten Abwassers in den als Vorfluter dienenden Gewässerabschnitten. Die sich daraus ergebenden hohen Konzentrationen von Abwasserinhaltsstoffen sind gerade vor dem Hintergrund problematisch, dass im Oberlauf der Gewässer empfindliche Lebensgemeinschaften auftreten, die u.a. auch als Quellpopulationen für die unterhalb liegenden Gewässerabschnitte dienen. Ziel der vorliegenden Studie war deshalb die Untersuchung der Effekte der Einleitung gereinigten Abwassers einer KA der GK 2 auf die Organismen im als Vorfluter dienenden Bach. Dabei wurden unterschiedliche biologische Integrationsebenen, von Reagenzglas tests (In-vitro-Assays) zur Erfassung spezieller Wirkmechanismen toxischer Substanzen über Biotests mit einzelnen Stellvertreterarten (In-vivo-Untersuchungen) im Labor und Freiland bis hin zu Beeinflussungen der Lebensgemeinschaft im Freiland berücksichtigt. Zudem sollten die Auswirkungen einer Kläranlagenschließung untersucht und damit die Effizienz einer entsprechenden wasserwirtschaftlichen Maßnahme zur Verbesserung des ökologischen Zustands bewertet werden. Dazu wurden an einer kleinen KA sowohl vor als auch nach der Schließung entsprechende Untersuchungen durchgeführt.

1.1 Untersuchungsgebiet

Die untersuchte KA befand sich im Wetteraukreis, im Regierungsbezirk Darmstadt in Hessen und wurde von 1987 bis Ende November 2016 betrieben. Als Vorfluter diente der Rambach, der ein Einzugsgebiet von 11,9 km² und eine Länge von 7,8 km hat. Mit einer Ausbaugröße von 1.300 Einwohnerwerten zählte die KA zur GK 2 und bewältigte eine tägliche Schmutzfracht von 78 kg BSB₅ [AbwV, 1997]. Die KA verfügte über zwei Behandlungsstufen: eine automatische Rechenanlage für die mechanische Reinigung und eine biologische Stufe als Teichkläranlage mit zwei Belüftungsteichen, einem Nachklär- und einem Schönungsteich. Die hydraulische Retentionszeit des Abwassers betrug 8,6 Tage. Da im Einzugsgebiet des Rambachs keine größeren versiegelten Flächen vorhanden und somit die natürlichen

Abflussverhältnisse maßgebend sind [HGN, 2002], führte der Rambach durch die Einleitung der KA einen durchschnittlichen Abwasseranteil von 52,4%. Die untersuchte Fließstrecke des Rambachs betrug ca. drei Kilometer, wobei ein Einfluss der Gewässerstruktur auf mögliche Effekte an den jeweiligen Probestellen ausgeschlossen werden kann, da alle Probestellen die Strukturklasse 4 nach LANUV-Arbeitsblatt 18 (2012) aufweisen. Außerdem wurden die an den Probestellen entnommenen Sedimente hinsichtlich der Korngrößenverteilung und des Glühverlustes untersucht. Dabei traten keine signifikanten Unterschiede auf. Als Referenzstelle diente die Stelle R1, die sich ca. 100 m oberhalb des Kläranlagenablaufs befindet (Abb. 1). Darauf folgt die Probestelle R2, die den Ablauf der Kläranlage darstellt. 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs befindet sich die Probestelle R3 und 2,4 km unterhalb des Kläranlagenablaufs folgt die Probestelle R4, kurz vor der Mündung des Rambachs in den Laisbach.

1.2 Stellvertreterarten

Als Stellvertreterarten für die Untersuchungen am Rambach dienten der Bachflohkrebs *Gammarus fossarum* und die Neuseeländische Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum*. Die Gattung *Gammarus* ist ubiquitär verbreitet, stellt einen Großteil der Individuen und der Biomasse des Makrozoobenthos in den Fließgewässern dar und umfasst auch Arten, die empfindlich auf stoffliche Belastungen und damit auf Abwassereinleitungen reagieren [Peschke et al., 2014; Schirling et al., 2005; Schneider et al., 2015]. *P. antipodarum* wird unter anderem in einem standardisierten Biotest zur Testung von Chemikalien eingesetzt [OECD, 2016] und hat sich bei Freiland- und Laboruntersuchungen als geeignete und empfindliche Art für die Erfassung der Auswirkungen von Abwassereinleitungen erwiesen [Duft et al., 2007; Stalter, Magdeburg & Oehlmann, 2010].

1.2.1 *Gammarus fossarum* (Koch, 1835)

Der Bachflohkrebs *Gammarus fossarum* gehört der Ordnung der Flohkrebse (Amphipoda) an und stellt einen der häufigsten Bewohner kleiner und mittelgroßer Fließgewässer in Mitteleuropa dar. Oft tritt *G. fossarum* mit dem Gewöhnlichen Flohkrebs (*Gammarus pulex*) und dem Flussflohkrebs (*Gammarus roeseli*) vergesellschaftet auf [Janetzky, 1994; Kinzelbach & Claus, 1977; Teichmann, 1982]. Der Bachflohkrebs ist ein Allesfresser, ernährt sich aber bevorzugt von totem organischen Material (Detritus), wobei er eine wichtige Rolle als Falllaubzerkleinerer übernimmt und damit eine bedeutende Ökosystemfunktion wahrnimmt [Kelly, Dick & Montgomery, 2002]. *G. fossarum* ist getrenntgeschlechtlich.

Während der Hauptfortpflanzungszeit von Dezember bis September werden die Eier im sogenannten Marsupium, der Bruttasche, bis zum Schlupf der Jungtiere getragen [Pöckl & Humpesch, 1990]. Die für die Untersuchungen eingesetzten Exemplare von *G. fossarum* stammten aus einer Population nahe der Nidderquelle bei Sichenhausen (Vogelsbergkreis, Hessen) und wiesen eine Länge von mindestens 6 mm auf, um zu gewährleisten, dass sie geschlechtsreif waren [Pöckl & Humpesch, 1990].

1.2.2 *Potamopyrgus antipodarum* (Gray, 1843)

Die Süßwasserschnecke *Potamopyrgus antipodarum* stammt ursprünglich aus Neuseeland, von wo sie mit dem Ballastwasser von Schiffen nach Europa eingeschleppt wurde, besiedelt aber mittlerweile ganz Europa sowie Teile Nordamerikas [Ponder, 1988; Städler et al., 2005]. In Europa treten ausschließlich weibliche Zwergdeckelschnecken auf, in Neuseeland dagegen beide Geschlechter [Ponder, 1988; Wallace, 1979]. Die Geschlechtsreife erreicht *P. antipodarum* nach ca. drei Monaten bei einer Größe von 3,0-3,5 mm [OECD, 2016; Tibbets et al., 2010]. Die Weibchen von *P. antipodarum* pflanzen sich in Europa durch Jungfernzeugung (parthenogenetisch) fort und bringen lebende Junge zur Welt [Winterbourn, 1970, 1973], wobei sich die Embryonen bis zum Schlupf der Jungtiere in einer Bruttasche entwickeln [Fretter & Graham, 1994]. *P. antipodarum* pflanzt sich ganzjährig fort, jedoch zeigen sich saisonale Schwankungen in der Embryonenzahl [Sieratowicz, 2012; Stange, 2012]. Da die Fortpflanzung von *P. antipodarum* spezifisch durch sogenannte reproduktionstoxisch wirkende Substanzen beeinflusst wird [Duft et al., 2007; Giudice & Young, 2010; Oehlmann et al., 2007], ist die Anzahl an Nachkommen in der Bruttasche ein wichtiger Indikator, um Auswirkungen einer chronischen Schadstoffexposition zu untersuchen. Die Zwergdeckelschnecken, die in dieser Studie eingesetzt wurden, besaßen eine Mindestgröße von 3,5 mm und stammten aus einer im Jahr 2015 mit Tieren aus dem Kalbach (Kalbach/Riedberg, Hessen) aufgebauten Zucht.

1.3 In-vivo-Verfahren

Zur Untersuchung der Effekte einer KA der GK 2 wurden sowohl vor als auch nach Außerbetriebnahme der KA Aktive und Passive Monitoring-Kampagnen sowie Laborversuche mit kombinierten Wasser/Sedimentproben mit den beiden Stellvertreterarten durchgeführt.

1.3.1 Aktives Monitoring

Für das Aktive Monitoring wurden an den Probestellen jeweils sechs Expositionsgefäßen mit je zwölf *G. fossarum* und jeweils zehn *P. antipodarum* für 28 Tage ausgebracht. Die Expositionsgefäße der Bachflohkrebse wurden zuvor mit konditionierten Schwarzerlenblättern (*Alnus glutinosa*), die der Zwergdeckelschnecken mit Karottenstücken aus biologischem Anbau *ad libitum* bestückt. Am Ende des Monitorings wurden die Tiere ins Labor geholt, und es wurden als Endpunkte die Körpergröße, Reproduktion, Anzahl eiertragender Weibchen und Mortalität untersucht.

1.3.2 Laborversuche

In den Laborversuchen wurden kombinierte Wasser/Sedimentproben von den jeweiligen Probestellen unter standardisierten Bedingungen (Temperatur, Sauerstoffgehalt, Hell/Dunkel-Rhythmus) an den beiden Stellvertreterarten getestet. Für die Untersuchungen mit den Zwergdeckelschnecken wurden zwei Replikate pro Probestelle sowie zwei Kontrollen mit je 20 Exemplaren von *P. antipodarum* angesetzt. Das Sediment der Kontrollgruppe bestand aus 95% Quarzsand und 5% Rotbuche (*Fagus sylvatica*; Trockenmasse). Als Medium für die Zwergdeckelschnecken wurde rekonstituiertes Wasser nach OECD (2016) verwendet. Für die Behandlungsgruppen der Zwergdeckelschnecken wurden pro Probestelle 400 mL des jeweiligen Flusswassers sowie 40 g des jeweiligen Sediments verwendet. Während des Expositionszeitraumes von 28 Tagen wurden die Expositionsgefäße belüftet und die Schnecken dreimal wöchentlich mit TetraPhyll gemäß OECD (2016) gefüttert sowie die Wasserparameter (pH-Wert, Leitfähigkeit, Sauerstoffgehalt und -sättigung) kontrolliert. Für die Untersuchungen mit den Bachflohkrebsen wurden vier Replikate pro Probestelle und sechs Kontrollreplikate mit je zwölf Exemplaren von *G. fossarum* angesetzt. Das Sediment der Kontrollgruppe bestand ebenfalls aus 95% Quarzsand und 5% Rotbuche (*Fagus sylvatica*; Trockenmasse), als Medium wurde jedoch rekonstituiertes Wasser nach OECD (2004) gewählt. Für die Behandlungsgruppen der Bachflohkrebse wurden pro Probestelle 200 mL des jeweiligen Flusswassers sowie 50 g des jeweiligen Sediments eingesetzt. Außerdem wurden alle Expositionsgefäße der Bachflohkrebse mit konditionierten Schwarzerlenblättern (*Alnus glutinosa*) *ad libitum* versehen. Während der 28-tägigen Exposition wurden die Expositionsgefäße belüftet und die Wasserparameter dreimal wöchentlich kontrolliert. Die Zwergdeckelschnecken und die Bachflohkrebse wurden anschließend auf dieselben Endpunkte wie die Tiere des Aktiven Monitorings untersucht.

1.3.3 Passives Monitoring

Beim Passiven Monitoring wurde eine Fläche von 1 m² mit Hilfe eines Surber-Samplers entsprechend der Strukturverteilung bzw. entsprechend der Habitatzusammensetzung nach Meier et al. (2006) beprobt. Dabei wurden pro Probestelle 72 Gammariden gesammelt und anschließend im Labor die Artenzusammensetzung nach Eggers & Martens (2001), das Geschlechtsverhältnis gemäß LANUV-Arbeitsblatt 14 (2012), die Reproduktionsleistung und die Anzahl eiertragender Weibchen bestimmt.

1.4 In-vitro-Verfahren

Spezifische, durch Wasserinhaltsstoffe ausgelöste toxische Wirkungen wurden zusätzlich mit Hilfe von In-vitro-Tests untersucht. Dabei kamen der Leuchtbakterientest und zwei Hefezelltests (Yeast Estrogen Screen, Yeast Dioxin Screen) zum Einsatz, um Hinweise auf mögliche Wirkmechanismen für die in den In-vivo-Untersuchungen (vgl. 1.3) beobachteten Effekte zu erhalten [Stalter, Magdeburg & Oehlmann, 2010]. Alle In-vitro-Tests wurden innerhalb von 24 Stunden durchgeführt, wobei für den Leuchtbakterientest und die Hefezelltests zuvor angereicherte Wasserproben nach Giebner et al. (2016) hergestellt wurden.

1.4.1 Leuchtbakterientest

Der Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348-1:2009-05 dient dem Nachweis der Basistoxizität mit dem Bakterium *Aliivibrio fischeri*. Giftige Substanzen bewirken bei dem Bakterium eine Unterdrückung der Lichtproduktion (Lumineszenz). Berechnet werden Effektkonzentrationen, die angeben, wie stark eine Wasserprobe angereichert werden muss, damit die Lichtproduktion der Bakterien um 50% unterdrückt wird. Je niedriger die Effektkonzentrationen ausfallen, desto toxischer ist die untersuchte Wasserprobe.

1.4.2 Yeast Estrogen Screen (YES)

Der Yeast Estrogen Screen (YES) mit *Saccharomyces cerevisiae* ist ein Hefezelltest zum Nachweis estrogenen Aktivitäten und wurde entsprechend Giebner et al. (2016) durchgeführt. Dabei werden gentechnisch veränderte Hefezellen angereicherten Wasserproben ausgesetzt. Bei Anwesenheit estrogen wirksamer Substanzen kann über eine Farbreaktion die estrogen Belastung ermittelt und in Estradiol-Äquivalent-Konzentrationen [ng EEQ/L] angegeben werden.

1.4.3 Yeast Dioxin Screen (YDS)

Der Yeast Dioxin Screen (YDS) mit *Saccharomyces cerevisiae* nutzt ebenfalls Hefezellen zum Nachweis dioxinähnlicher Aktivitäten in angereicherten Wasserproben. Das Testprinzip entspricht dem des YES; der Farbumschlag der Probe ist direkt proportional zur dioxinähnlichen Aktivität und wird in β -Naphthoflavon-Äquivalent-Konzentrationen [$\mu\text{g } \beta\text{-NF-EQ/L}$] angegeben.

2 Ergebnisse

An dieser Stelle werden aus Gründen der Übersichtlichkeit nur exemplarische Ergebnisse der Untersuchungen vorgestellt.

2.1 Aktives Monitoring

Vor der Schließung der KA wurden drei Aktive Monitoring-Kampagnen mit den beiden Stellvertreterarten im Juni, September und November 2016 durchgeführt. Nach Außerbetriebnahme der KA wurden zwei weitere Aktive Monitoring-Kampagnen in den Monaten Februar und Juni 2017 durchgeführt. Die Ergebnisse werden im Folgenden für die Kampagnen vor und nach der Kläranlagenschließung zusammengefasst. Abbildung 2 zeigt die prozentuale Mortalität der Bachflohkrebse nach 28-tägiger Exposition im Rambach. Vor der Kläranlagenschließung starben 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs (R3) in allen Kampagnen signifikant mehr Exemplare von *G. fossarum* als an der Referenzstelle R1 oberhalb des Kläranlagenablaufs ($p < 0,01$). Die Mortalität ist unterhalb des Kläranlagenablaufs mit ca. 50% fast doppelt so hoch wie an der Referenzstelle R1. Nach der Kläranlagenschließung liegt die Mortalität der Bachflohkrebse an den Probestellen R3 und R4 sowie der Referenzstelle R1 auf einem Niveau. Signifikante Unterschiede treten für die Mortalität nach der Außerbetriebnahme der KA nicht mehr auf.

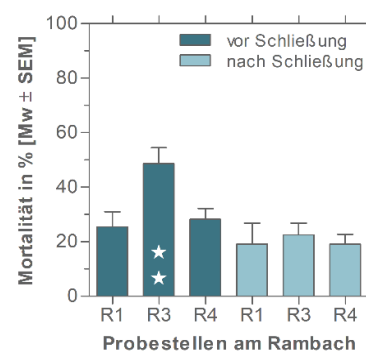


Abbildung 2: Prozentuale Mortalität von *Gammarus fossarum* im Aktiven Monitoring vor ($n = 18$) und nach der Schließung der KA ($n = 12$). Signifikante Effekte wurden mittels *one-way ANOVA* und Bonferroni's Multiple Comparison Test erfasst. ★ ★ = $p < 0,01$.

Abbildung 3 zeigt die durchschnittliche Reproduktionsleistung der Zwergdeckelschnecken nach 28-tägiger Exposition im Rambach vor als auch nach der Außerbetriebnahme der KA. In zwei von drei Untersuchungskampagnen vor der Kläranlagenschließung trat eine signifikante Abnahme der Reproduktionsleistung 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs (R3) auf (Mann-Whitney Test, $p < 0,05 - 0,01$). Nach der Kläranlagenschließung lag die Reproduktionsleistung der Zwergdeckelschnecken auf einem Niveau ohne signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsstellen.

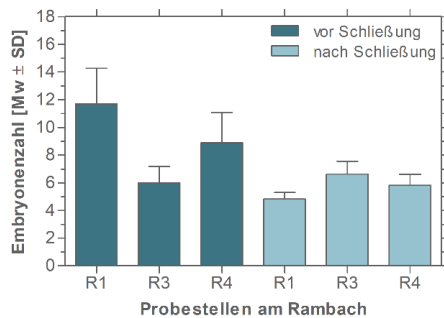


Abbildung 3: Reproduktionsleistung von *Potamopyrgus antipodarum* im Aktiven Monitoring vor (n = 18) und nach der Schließung der KA (n = 12). In 2 von 3 Untersuchungskampagnen trat eine signifikante Reproduktionsabnahme 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs (R3) vor der Schließung der KA auf (Mann-Whitney-Tests; $p < 0,05 - 0,01$).

2.1.1 Laborversuche

Vor der Kläranlagenschließung wurde ein Laborversuch im November 2016 mit den beiden Stellvertreterarten durchgeführt. Nach der Schließung der KA wurden zwei weitere Laborversuche im Februar und im Juni 2017 durchgeführt. Die Ergebnisse werden im Folgenden für die beiden Monate nach der Kläranlagenschließung zusammengefasst dargestellt. Abbildung 4 stellt die prozentuale Mortalität von *G. fossarum* nach 28-tägiger Exposition gegenüber kombinierten Wasser/Sedimentproben des Rambachs unter standardisierten Laborbedingungen vor und nach der Kläranlagenschließung dar. Vor der Außerbetriebnahme der KA trat in allen Untersuchungskampagnen eine signifikant erhöhte Mortalität 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs (R3) auf ($p < 0,01$). In den Laborversuchen starben 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs dreimal so viele Exemplare von *G. fossarum* wie an der Referenzstelle R1. Die Ergebnisse decken sich mit den Befunden des Aktiven Monitorings (vgl. Abbildung 2). Nach der Außerbetriebnahme der KA lag die Mortalität der Bachflohkrebs mit 15% bis 20% auf einem Niveau, ohne dass signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsstellen nach der Kläranlagenschließung auftraten. Auch dies deckt sich mit den Ergebnissen der Gammaridensterblichkeit im Aktiven Monitoring.

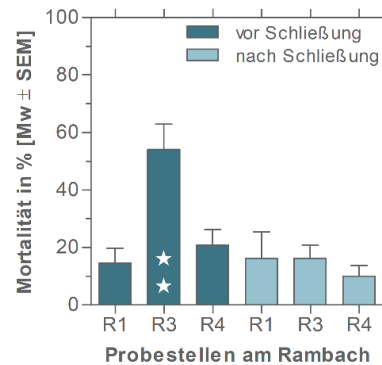


Abbildung 4: Prozentuale Mortalität von *Gammarus fossarum* in den Laborversuchen vor (n = 6) und nach der Schließung der KA (n = 12). Signifikante Effekte wurden mittels *one-way ANOVA* und Bonferroni's Multiple Comparison Test erfasst. ★★ = $p < 0,01$.

2.1.2 Passives Monitoring

Vor der Kläranlagenschließung wurden vier Passive Monitoring-Kampagnen in den Monaten April, Juni, Juli und September 2016 mit der Gattung *Gammarus* durchgeführt. Nach der Schließung der KA wurden zwei weitere Passive Monitoring-Kampagnen im Februar und im Juni 2017 durchgeführt. Die Ergebnisse werden im Folgenden für die Kampagnen vor bzw. nach der Kläranlagenschließung zusammengefasst dargestellt. Abbildung 5 stellt die Artenzusammensetzung der Gammaridengemeinschaft des Rambachs vor und nach der Kläranlagenschließung dar. Vor der Außerbetriebnahme unterschieden sich die Artenzusammensetzungen an den Probestellen R3 und R4 in allen Untersuchungskampagnen signifikant von der Referenzstelle R1 ($p < 0,001$). An R3 und R4 kamen deutlich mehr *Gammarus roeseli* vor, die toleranter auf Abwässer reagieren als *G. fossarum* oder *G. pulex* [Hübner, 2007]. Nach der Kläranlagenschließung glichen sich die Artenzusammensetzungen an R3 und R4 der Referenzstelle R1 an, und es traten keine signifikanten Unterschiede mehr auf.

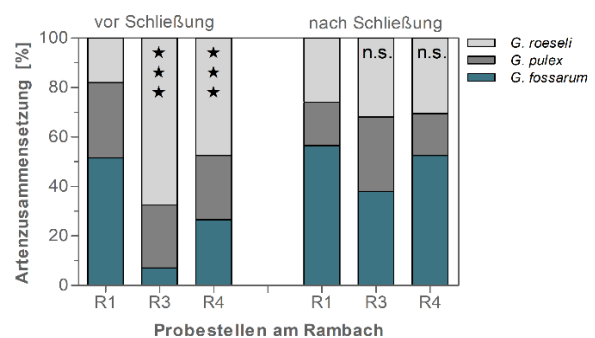


Abbildung 5: Artenzusammensetzung der Gammaridengemeinschaft vor (n = 4) und nach der Schließung der KA (n = 2). Signifikante Effekte wurden mit Hilfe des *Chi²-Tests* erfasst. ★★★ = $p < 0,001$.

2.2 In-vitro-Verfahren

2.2.1 Leuchtbakterientest

Vor der Schließung der KA wurden für vier Untersuchungskampagnen Leuchtbakterientests im Juni, September, Oktober und November 2016 durchgeführt. Nach Außerbetriebnahme der KA wurden bei zwei weiteren Kampagnen Leuchtbakterientests in den Monaten Februar und Juni 2017 durchgeführt. Die Ergebnisse werden für die Kampagnen vor und nach der Kläranlagenschließung zusammengefasst dargestellt.

Abbildung 6 zeigt die Ergebnisse des Leuchtbakterientests mit angereicherten Wasserproben des Rambachs vor und nach der Schließung der KA. Vor der Schließung traten die niedrigsten Effektkonzentrationen und damit die höchsten Toxizitäten der Wasserproben im Ablauf der KA (R2) und 100 m unterhalb des Ablaufs (R3) auf. An diesen Probenstellen waren die Wasserextrakte signifikant toxischer als an der Referenzstelle R1 ($p < 0,01$). Nach der Kläranlagenschließung wurde die Lumineszenz der Bakterien an keiner der Untersuchungsstellen mehr gehemmt und die Effektkonzentrationen liegen auf einem Niveau.

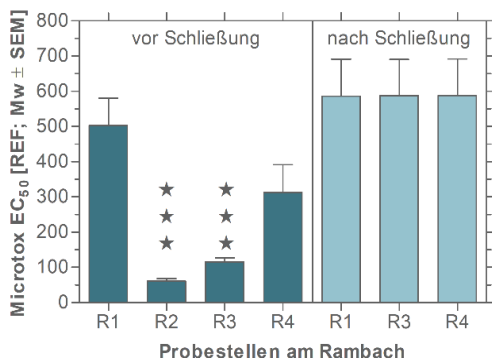


Abbildung 6: Toxizität der angereicherten Wasserproben des Rambachs vor ($n = 12$) und nach der Schließung der KA ($n = 6$). Signifikante Effekte wurden mittels *one-way* ANOVA und Bonferroni's Multiple Comparison Test erfasst. $*** = p < 0,001$.

2.2.2 Yeast Estrogen Screen (YES)

Vor der Schließung der KA wurden bei drei Untersuchungskampagnen im Juni, September und Oktober 2016 YES-Tests durchgeführt. Nach Außerbetriebnahme der KA wurden bei zwei weiteren Kampagnen YES-Tests in den Monaten Februar und Juni 2017 durchgeführt. Die Ergebnisse werden für die Kampagnen vor und nach der Kläranlagenschließung zusammengefasst dargestellt.

Abbildung 7 stellt die Ergebnisse des YES mit angereicherten Wasserproben des Rambachs vor und nach der Kläranlagenschließung dar. Vor der Außerbetriebnahme der KA traten signifikant höhere estrogenen Aktivitäten

im Kläranlagenablauf (R2), 100 m unterhalb des Kläranlagenablaufs (R3) sowie 2,4 km unterhalb des Kläranlagenablaufs (R4) auf ($p < 0,01$). Nach der Schließung der KA traten keine signifikant erhöhten estrogenen Aktivitäten mehr auf.

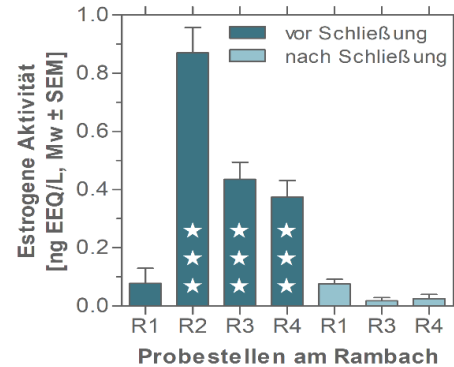


Abbildung 7: Estrogene Aktivität der angereicherten Wasserproben des Rambachs vor ($n = 9$) und nach der Schließung der KA ($n = 6$). Signifikante Effekte wurden mittels *one-way* ANOVA und Bonferroni's Multiple Comparison Test erfasst. $*** = p < 0,001$.

2.2.3 Yeast Dioxin Screen (YDS)

Vor und nach der Schließung der KA wurden bei jeweils drei Untersuchungskampagnen YDS-Tests durchgeführt. Die Ergebnisse werden für die Kampagnen vor und nach der Kläranlagenschließung zusammengefasst dargestellt.

Abbildung 8 zeigt die dioxinähnliche Aktivität der angereicherten Wasserproben des Rambachs vor und nach der Kläranlagenschließung. Vor der Kläranlagenschließung traten an den Probenstellen R2 bis R4 signifikant erhöhte dioxinähnliche Aktivitäten im Vergleich zur Referenzstelle R1 auf ($p < 0,01$). Nach der Kläranlagenschließung zeigte keine der Probenstellen eine dioxinähnliche Wirkung.

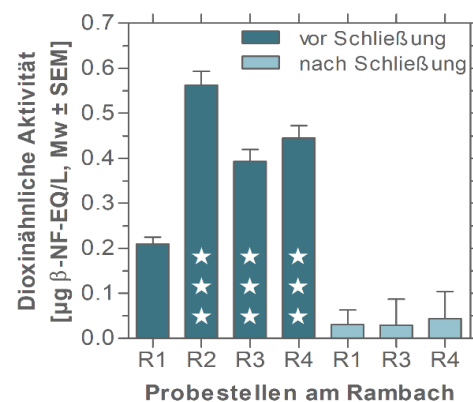


Abbildung 8: Dioxinähnliche Aktivität der angereicherten Wasserproben des Rambachs vor ($n = 9$) und nach der Schließung der KA ($n = 9$). Signifikante Effekte wurden mittels *one-way* ANOVA und Bonferroni's Multiple Comparison Test erfasst. $*** = p < 0,001$.

3 Fazit

Anhand der vorliegenden Ergebnisse wird deutlich, dass die Kläranlage der GK 2 vor der Außerbetriebnahme erhebliche Auswirkungen auf die in den In-vivo-Untersuchungen eingesetzten Stellvertreterarten und die im Rambach lebende Gammaridengemeinschaft hatte (Abb. 2-5).

Die Artenzusammensetzung der Gammariden unterschied sich vor der Kläranlagenschließung signifikant von der der Referenzstelle, da unterhalb des Kläranlagenablaufs deutlich weniger *Gammarus fossarum* vorkamen (Abb. 5). Eigene unveröffentlichte Untersuchungen (Brett-Smith, 2018) im Hinblick auf für aquatische Lebensgemeinschaften kritische Abwasseranteile zeigen, dass die Dichte von *G. fossarum* bei steigendem Abwasseranteil abnimmt, während die Dichte von *Gammarus roeseli* mit steigendem Abwasseranteil zunimmt. Auch die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass vor der Kläranlagenschließung deutlich mehr *G. roeseli* an den Probestellen unterhalb des Kläranlagenablaufs auftraten. Nach der Kläranlagenschließung glich sich die Artenzusammensetzung an den Probestellen unterhalb des Kläranlagenablaufs an die der Referenzstelle an. Dies verdeutlicht, dass die Kläranlagenschließung zum Rückgang der Effekte auf der Gemeinschaftsebene und damit zur Erholung des Gewässers führt.

Dasselbe Bild konnte auch in den Aktiven Monitoring-Kampagnen mit den Stellvertreterorganismen beobachtet werden. Die Zwergdeckelschnecken reagierten vor der Kläranlagenschließung mit einer verringerten Fortpflanzung (Abb. 3), die Bachflohkrebse starben sowohl bei einer Exposition im Freiland (Abb. 2) als auch in den Laborversuchen (Abb. 4) deutlich häufiger unterhalb des Kläranlagenablaufs. Diese Effekte verschwinden nach der Kläranlagenschließung vollständig. Auch die In-vitro-Tests bestätigen die Ergebnisse. Sowohl im Leuchtbakterientest (Abb. 6) als auch im YES (Abb. 7) und YDS (Abb. 8) traten vor der Schließung der KA signifikante Effekte auf, die danach vollständig zurückgingen.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Abwassereinleitung über die KA maßgeblich zum schlechten ökologischen Zustand des Gewässers beiträgt und die ermittelten Effekte aus der schlechten Wasserqualität resultieren. Da vergleichbare Effekte im Freiland und unter standardisierten Laborbedingungen auftraten, ist davon auszugehen, dass Faktoren wie die Gewässerstruktur, die Wassertemperatur und die Fließgeschwindigkeit in dieser Untersuchung keinen Einfluss auf die Ergebnisse besitzen und somit vernachlässigbar sind.

KA der GK 1-3 sind meist an Flussoberläufen und kleineren Gewässern lokalisiert. Vor allem in niederschlagsarmen Sommermonaten ist der prozentuale Anteil des gereinigten Abwassers am Gewässerabfluss sehr hoch (> 60%), was die sensiblen Lebensgemeinschaften der Flussoberläufe, die u.a. auch als Quellpopulationen für größere Gewässer dienen, massiv beeinträchtigt. Daher sind entwässerungsstrukturelle oder auch technische Maßnahmen an KA der GK 1-3 ebenso von Relevanz. Größere KA (GK 4-5) sind hingegen zumeist an Flussmittel- und -unterläufen und größeren Strömen angesiedelt. Ihr prozentualer Anteil am Gewässerabfluss ist geringer. Hier kann die stoffliche Zusammensetzung des Abwasserstroms ggf. mit betriebstechnischen Maßnahmen oder erweiterten Abwasserreinigungsverfahren qualitativ soweit verbessert werden, dass ein guter Gewässerzustand erreicht werden könnte (vgl. Fundneider et al. 2018). Die Umsetzung von „end-of-the pipe“-Lösungen (z.B. Aktivkohlefiltration, Ozonierung) für KA der GK 1-3 ist aber aus Kostengründen für die Betreiber dieser Anlagen dauerhaft nicht realisierbar. Daher sollte bei KA der GK 1-3 auch geprüft werden, ob eine Schließung und Überleitung des Abwassers zu größeren KA oder die Zusammenlegung benachbarter KA machbar ist. Im Zuge dessen sollte bedacht werden, dass es zu Veränderungen des lokalen Wasserhaushalts kommen kann und Gewässer temporär trockenfallen könnten. Es bleibt aber zu diskutieren, ob dies nicht auch als natürliche biologische Gegebenheit zu betrachten ist, die an anderen, nicht abwasserbeeinflussten Nebengewässern regelmäßig zu beobachten ist. Dort angesiedelte Lebensgemeinschaften sind an Trockenstress adaptiert, unterscheiden sich aber hinsichtlich ihres Arteninventars von solchen, die in Gewässern vorkommen, die durch „künstliche“ Zuflüsse gespeist werden.

Unsere Untersuchung zeigt, dass eine entwässerungsstrukturelle Maßnahme, wie die Schließung der untersuchten Kläranlage der GK 2, sinnvoll ist und eine wirksame und vergleichsweise kosteneffiziente wasserwirtschaftliche Maßnahme darstellt, um den ökologischen Zustand eines Gewässers verbessern zu können. Die Forderung von Fundneider et al. (2018) bei der Maßnahmenplanung auch die Aufnahmekapazität des angebundenen Oberflächengewässers zu berücksichtigen, erscheint auch unter biologischen Gesichtspunkten sinnvoll, denn für den Fortbestand biologischer Lebensgemeinschaften sind weniger die Stofffrachten, als die Stoffkonzentrationen von Bedeutung.

4 Literatur

- AbwV (1997): Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung – AbwV). <https://www.gesetze-im-internet.de/abwv/AbwV.pdf>
- BMUB/UBA (2016): Die Wasserrahmenrichtlinie – Deutschlands Gewässer 2015. Bonn, Dessau.
- Brett-Smith C. (2018): Ableitung von ökotoxikologischen Schwellenwerten für ausgesuchte Umweltchemikalien mit Hilfe der TITAN-Analyse. Goethe-Universität Frankfurt, Deutschland (in Bearbeitung).
- Da Silva B.F., Jelic A., López-Serna R., Mozeto A.A., Petrovic M. & Barceló D. (2011): Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere*, 85, 1331-1339.
- DIN EN ISO 11348-1:2009-05: Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest) – Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakterien (ISO 11348-1:2007).
- Duft M., Schmitt C., Bachmann J., Brandelik C., Schulte-Oehlmann U. & Oehlmann J. (2007): Prosobranch snails as test organisms for the assessment of endocrine active chemicals – an overview and a guideline proposal for a reproduction test with the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Ecotoxicology*, 16(1), 169-182.
- Eggers T.O. & Martens A. (2001): Bestimmungsschlüssel der Süßwasser-Amphipoda (Crustacea) Deutschlands. *Lauterbornia*, 42, 1-68.
- EU Kommission (2007): Towards sustainable water management in the European Union. First stage in the implementation of the Water Framework Directive 2000/60/EC. Commission staff working document. Accompanying document to the communication forum from the commission to the European Parliament and the council. COM (2007) 128 final.
- Fretter V. & Graham A. (1994): British prosobranch molluscs – Their functional anatomy and ecology. Ray Society, England.
- Fundneider T., Flick K., Kraft O., Härtel L. & Lackner S. (2018): Immissionsbasierte Maßnahmen in der Siedlungswasserwirtschaft für einen ganzheitlichen Gewässerschutz. *WissensWert*, Nr. 4, 1-10.
- Giebner S., Ostermann S., Straskraba S., Oetken M., Oehlmann J. & Wagner M. (2016): Effectivity of advanced wastewater treatment: reduction of in vitro endocrine activity and mutagenicity but not of in vivo reproductive toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12.
- Giudice B.D. & Young T.M. (2010): The antimicrobial triclocarban stimulates embryo production in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29, 966-970.
- Heberer T. (2002): Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 131, 1-2, 5-17.
- HGN (2002): Retentionskataster Flussgebiet Laisbach mit Rambach. Flussgebiets-Kennzahl: 24818. http://static.hlug.de/medien/wasser/rkh/berichte/24818_Laisbach.pdf
- HMUKLV (2017): Beseitigung von kommunalen Abwässern in Hessen – Lagebericht 2016. https://umwelt.hessen.de/sites/default/files/media/hmuelv/internetfassung-lagebericht_2016_mit-anlage1.pdf
- Hübner G. (2007): Ökologisch-faunistische Fließgewässerbewertung am Beispiel der salzbelasteten Werra und ausgewählter Zuflüsse. Dissertation, University Kassel, Kassel, Germany.
- Janetzky W. (1994): Distribution of the genus *Gammarus* (Amphipoda: Gammaridae) in the River Hunte and its tributaries (Lower Saxony, northern Germany). *Hydrobiologia*, 294, 23-34.
- Kelly D.W., Dick J.T.A. & Montgomery W.I. (2002): The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): shredders, predators, or both? *Hydrobiologia*, 485, 199-203.
- Kinzelbach R. & Claus W. (1977): Die Verbreitung von *Gammarus fossarum* Koch 1835, *Gammarus pulex* (Linnaeus 1758) und *Gammarus roeseli* Gervais 1835, in den linken Nebenflüssen des Rheins zwischen Wieslauter und Nahe. *Crustaceana Supplements*, 4, 164-172.
- LANUV-Arbeitsblatt 14 (2012): Taxonomie für die Praxis: Bestimmungshilfen – Makrozoobenthos (1). https://www.lanuv.nrw.de/uploads/tx_commerce-downloads/40014.pdf
- LANUV-Arbeitsblatt 18 (2012): Gewässerstruktur in Nordrhein-Westfalen. Kartieranleitung für die kleinen bis großen Fließgewässer. https://www.lanuv.nrw.de/uploads/tx_commercedownloads/40018.pdf
- Meier C., Haase P., Rolaufts P., Schindehütte K., Schäll F., Sundermann A. & Hering D. (2006): Methodisches Handbuch Fließgewässerbewertung. Handbuch zur Untersuchung und Bewertung von Fließgewässern auf der Basis des Makrozoobenthos vor dem Hintergrund der EG-Wasserrahmenrichtlinie.

- http://www.gewaesser-bewertung.de/files/meier_handbuch_mzb_2006.pdf
- OECD (2004): OECD guideline for testing of chemicals. *Daphnia sp.*, Acute Immobilisation Test. No. 202, France.
- OECD (2016): OECD guideline for testing of chemicals. *Potamopyrgus antipodarum* Reproduction Test. No. 242, France.
- Oehlmann J., Di Benedetto P., Tillmann M., Duft M., Oetken M. & Schulte-Oehlmann U. (2007): Endocrine disruption in prosobranch molluscs: evidence and ecological relevance. *Ecotoxicology*, 16, 29-43.
- Peschke K., Geburzi J., Köhler H.R., Wurm K. & Triebkorn R. (2014): Invertebrates as indicators for chemical stress in sewage-influenced stream systems: Toxic and endocrine effects in gammarids and reactions at the community level in two tributaries of Lake Constance, Schussen and Argen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 106, 115-125.
- Pöckl M. & Humpesch U.H. (1990): Intra- and inter-specific variations in egg survival and brood development time for Austrian populations of *Gammarus fossarum* und *G. roeseli* (Crustacea: Amphipoda). *Freshwater Biology*, 23, 441-455.
- Ponder W.F. (1988): *Potamopyrgus antipodarum* – a molluscan colonizer of Europe and Australia. *Journal of Molluscan Studies*, 54, 271-285.
- Porth M. & Schüttrumpf H. (2017): Wasser, Energie, Umwelt – Aktuelle Beiträge aus der Zeitschrift Wasser und Abfall I. Springer Vieweg, Wiesbaden.
- Reckhow K.H., Arhonditsis G.B., Kenney M.A., Hauser L., Tribo J., Wu C. (2005): A predictive approach to nutrient criteria. *Environmental Science & Technology*, 39, 2913-2919.
- Schirling M., Jungmann D., Ladewig V., Nagel R., Triebkorn R. & Köhler H.R. (2005): Endocrine effects in *Gammarus fossarum* (Amphipoda): influence of wastewater effluents, temporal variability, and spatial aspects on natural populations. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49(1), 53-61.
- Schneider I., Oehlmann J. & Oetken M. (2015): Impact of an estrogenic sewage treatment plant effluent on life-history traits of the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 50(3), 272-281.
- Sieratowicz A. (2012): Development and pre-validation of a reproduction test with the mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* for endocrine disruptors and other chemicals. Dissertation, Goethe-University, Frankfurt, Germany.
- Singer H., Müller S., Tixier C. & Pillonel L. (2002): Triclosan: Occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: Field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science and Technology*, 36, 4998-5004.
- Smith A.J., Bode R.W. & Kleppel G.S. (2007): A nutrient biotic index (NBI) for use with benthic macroinvertebrate communities. *Ecological Indicators*, 7, 371-386.
- Smith V.H., Tilman G.D. & Nekola J.C. (1999): Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*, 100, 179-196.
- Stackelberg P.E., Gibs J., Furlong E.T., Meyer M.T., Zaugg S.D., Lippincott R.L. (2007): Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Science of the Total Environment*, 377, 255-272.
- Städler T., Frye M., Neiman M. & Lively C.M. (2005): Mitochondrial haplotypes and the New Zealand origin of clonal European *Potamopyrgus*, an invasive aquatic snail. *Molecular Ecology*, 14, 2465-2473.
- Stalter D., Magdeburg A. & Oehlmann J. (2010): Comparative toxicity assessment of ozone and activated carbon treated sewage effluents using an *in vivo* test battery. *Water Research*, 44, 2610-2620.
- Stange D. (2012): Mechanisms of endocrine disruption in Caenogastropods – androgenic and estrogenic pathways. Dissertation, Goethe-University, Frankfurt, Germany.
- Sundermann A., Antons C., Cron N., Lorenz A.W., Hering D. & Haase P. (2011): Hydromorphological restoration of running waters: effects on benthic invertebrate assemblages. *Freshwater Biology*, 56, 1689-1702.
- Teichmann W. (1982): Lebensabläufe und Zeitpläne von Gammariden unter ökologischen Bedingungen. *Schlitzer Produktionsbiologische Studien* 48, *Archiv für Hydrobiologie Supplements*, 64, 240-306.
- Tibbets T.M., Krist A.C., Hall R.O. & Riley L.A. (2010): Phosphorus-mediated changes in life history traits of the invasive New Zealand mudsnail (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia*, 163, 549-559.
- Umweltbundesamt (2017): Gewässer in Deutschland: Zustand und Bewertung. Dessau-Roßlau. http://www.gewaesser-bewertung.de/files/170829_uba_fachbroschure_wasse_rwirtschaft_mit_anderung_bf.pdf
- Völker J., Vogt T., Castronovo, Wick A., Ternes T.A., Joss A., Oehlmann J. & Wagner M. (2017): Extended anaerobic conditions in the biological wastewater

- treatment: higher reduction of toxicity compared to target organic micropollutants. *Water Research*, 116, 220-230.
- Wallace C. (1979): Notes on the occurrence of males in populations of *Potamopyrgus jenkinsi*. *Journal of Molluscan Studies*, 45, 61-67.
- Wick A., Fink G., Joss A., Siegrist H. & Ternes T.A. (2009): Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. *Water Research*, 43(4), 1060-1074.
- Winterbourn M. (1970): The New Zealand species of *Potamopyrgus* (Gastropoda: Hydrobiidae). *Malacologia*, 10, 283-321.
- Winterbourn M. (1973): A guide to the freshwater Mollusca of New Zealand. *Tuatara*, 20, 141-158.

Herausgeber: Projektverbund NiddaMan, Frankfurt am Main, März 2018

AutorInnen: Denise Brettschneider, Felix Harth, Andrea Misovic, Matthias Oetken, Ulrike Schulte-Oehlmann, Jörg Oehlmann (Aquatische Ökotoxikologie, Institut für Ökologie, Evolution und Diversität der Goethe-Universität Frankfurt, Max-von-Laue-Str. 13, D-60438 Frankfurt am Main)

Kontakt: Brettschneider@bio.uni-frankfurt.de

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Institut für
sozial-ökologische
Forschung



EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

