

# BEURTEILUNG DER WASSERQUALITÄT MIT EINER BIOTESTBATTERIE

Zur Entwicklung eines Verfahrens zur Beurteilung der Wasserqualität von Oberflächengewässern mit einer Biotestbatterie wurden insgesamt 15 Proben von Standorten mit unterschiedlicher Landnutzung mit einer umfangreichen Palette von *In-vitro*- und *In-vivo*-Biotests untersucht. Ziel des Projektes war es, eine aussagekräftige und kosteneffiziente Teststrategie für zukünftige Monitoringprojekte zu ermitteln.

Cornelia Kienle; \* Nadine Bramaz; Andrea Schifferli; Daniel Olbrich; Inge Werner; Etienne Vermeirssen, Oekotoxzentrum

## RÉSUMÉ

### ÉVALUATION ÉCOTOXICOLOGIQUE DE LA QUALITÉ DE L'EAU À L'AIDE D'UNE BATTERIE DE BIOESSAIS

Une vaste batterie de bioessais a été utilisée pour évaluer la qualité de l'eau dans le cadre d'une étude pilote. Une palette de 14 bioessais *in vitro* et *in vivo*, pour la plupart standardisés, a été utilisée sur 15 échantillons de surface prélevés sur des sites d'exploitation extensive, agricole ou agricole et urbaine des terres.

En combinaison avec les résultats de mesures de paramètres abiotiques et d'analyses chimiques, il est possible d'obtenir une image globale de la qualité de l'eau. Les sites d'exploitation agricole et urbaine ont présenté les effets les plus importants, suivis par les sites d'exploitation agricole et extensive des terres.

Les bioessais qui présentaient la plupart des dépassements de seuils basés sur les effets étaient les tests avec gène rapporteur pour la perception des polluants et du stress oxydatif, de même que le test algues combiné (paramètre inhibition de la croissance) et les tests de toxicité aiguë avec des embryons et une lignée cellulaire de poisson. Le choix d'une batterie de tests doit être adapté à la problématique spécifique du projet. Les résultats de la campagne de mesures permettent de développer des propositions.

## EINLEITUNG

Ökotoxikologische Biotests stellen als Screening-Werkzeuge und/oder Frühindikatoren eine wichtige Brücke zwischen der Exposition, d. h. den gemessenen Chemikalien und den damit verbundenen Risiken für Wasserlebewesen, und Effekten auf Organismen in der Umwelt dar. Sie können sowohl mit einzelnen Zellen/einzelligen Organismen und Zelllinien (*in vitro*) als auch mit ganzen mehrzelligen Organismen (*in vivo*) und mit Organismen im Freiland (*in situ*) durchgeführt werden.

*In-vitro*-Biotests erfassen allgemeine, aber auch spezifische Wirkungen. Eine allgemeine Wirkung, die die Toxizität der Wasserproben als Ganzes analysiert, ist z. B. die Toxizität auf Zellen. Spezifische Wirkungen können dagegen oft auf eine bestimmte Gruppe von Stoffen zurückgeführt werden können (z. B. östrogen-aktive Stoffe, Photosynthese-hemmende Herbizide, neurotoxische Insektizide). Diese Wirkungen repräsentieren Vorgänge, die in Zellen und Organismen ablaufen. Damit können sie Hinweise auf mögliche Effekte auf Organismen in der Umwelt liefern. Ein sehr gut erforschtes und verstandenes Beispiel für solche Rückschlüsse ist die Wirkung von östrogen-aktiven Stoffen auf Wasserlebewesen. Hier wissen wir, ab welchem gemessenen Wert im *In-vitro*-Biotest Auswirkungen auf Fische im Gewässer zu erwarten sind [1–3]. Dieses Verständnis ist bei anderen Wirkungen noch nicht so weit fort-

\* Kontakt: [Cornelia.Kienle@oekotoxzentrum.ch](mailto:Cornelia.Kienle@oekotoxzentrum.ch)

(© AdobeStock)

geschritten, dennoch erlauben *In-vitro*-Biotests ein kosten- und zeiteffizientes Screening, um das Risiko bestimmter Stoffgruppen für Organismen in der Umwelt abzuschätzen und weitere Untersuchungen zu fokussieren.

Da ein einziger Biotest nicht alle möglichen Effekte auf verschiedene Organismen nachweisen kann, ist es sinnvoll, verschiedene *In-vitro*- und *In-vivo*-Biotests in einer «Biotestbatterie» zu kombinieren. Hierfür wurden in den letzten Jahren mehrere Vorschläge erarbeitet [4–11]. Die eingesetzten Biotestbatterien enthielten sowohl Biotests, die die Verstoffwechslung von Schadstoffen (Schadstoffmetabolismus), Störungen der hormonellen Regulation (endokrine Disruption), oxidativen Stress, mutagene Wirkungen, Wirkungen auf das Pflanzenwachstum und die -photosynthese und Wirkungen auf Invertebraten und auch Fische erfassen. Ein Vergleich mit sogenannten effektbasieren Schwellenwerten, d.h. Werten, unterhalb derer schädigende Auswirkungen auf Organismen bezuglich des gemessenen Effekts unwahrscheinlich sind, lässt eine Beurteilung des Risikos für Gewässerorganismen zu [12–14]. Die Anwendung einer solchen Biotestbatterie auf 14 bzw. 45

Fliessgewässerproben mit unterschiedlichen Landnutzungen in den Niederlanden hat gezeigt, dass die Biotestergebnisse ein differenziertes Bild der Belastung ermöglichen [4, 15].

Um ein praxistaugliches Verfahren für das Routinemonitoring mittels ökotoxikologischer Biotests zu entwickeln, wurde im aktuellen Projekt eine umfangreiche Biotestbatterie auf Wasserproben von ausgewählten Probenahmestellen mit unterschiedlichen Landnutzungen angewendet. Parallel dazu wurden zwei weitere Projekte zur Entwicklung einer Biotestbatterie für Sedimente und von Biomarkermethoden für Bachforellen an einer Auswahl der Stellen durchgeführt [16, 17]. Das Risiko für Wasserlebewesen wurde basierend auf effektbasierten, biotestspezifischen Schwellenwerten beurteilt. So wurden möglicherweise problematische Standorte identifiziert. Die Ergebnisse dieser effektbasierten Risikobewertung wurden zudem mit der Mischungsrisikobewertung basierend auf chemischen Messwerten verglichen. Schliesslich wurde die Eignung der eingesetzten Biotests beurteilt und ein Vorschlag für eine Biotestbatterie für weitere Monitoringprojekte in der Schweiz erarbeitet.

## STANDORTAUSWAHL UND PROBEHAHME

Im Projekt wurden Proben von 15 Standorten in sechs Kantonen mit unterschiedlichen Landnutzungen untersucht (12 Standorte aus den NAWA-Programmen und drei zusätzliche Standorte). Es wurden sowohl Standorte mit extensiver Landnutzung (EXT) als auch Standorte mit landwirtschaftlicher und landwirtschaftlicher und urbaner Landnutzung beprobt (AGR bzw. AGR+URB). Informationen zur Standortauswahl, Probenahme und Probenvorbereitung finden sich im Übersichtsartikel [18]. Die Wasserproben wurden chemisch-analytisch auf organische Stoffe und Metalle sowie mit ökotoxikologischen Biotests untersucht. Des Weiteren wurden abiotische Parameter gemessen und im Rahmen von zwei parallel durchgeführten Projekten Sedimentproben für Biotests und chemische Analytik [16] genommen und juvenile Bachforellen für Biomarkeranalysen beprobt [17]. In den ökotoxikologischen Biotests wurden 14-Tages-Mischproben untersucht. Hierfür wurden die 3,5-Tages-Mischproben mengenproportional zu 14-Tages-Mischproben vereinigt. Während und nach der Probenahme wurden

Wirkung	Mechanismus	Test	Referenzsubstanz	Effektbasierter Schwellenwert
<b>Zelltoxizität</b>	Schädigung von Zellbestandteilen wie Membranen, Zellkern und Lysosomen	Cytotox-CALUX® (menschliche Zelllinie)	Tributylzinn-Azetat	
		Test mit Kiemenzellen von Regenbogenforellen (RTgill-W1) (ISO 21115:2019)	3,4-Dichloranilin	
<b>Oxidativer Stress</b>	Zellreaktion auf oxidativen Stress	Nrf2-CALUX®	Curcumin	10 µg/l CurEQ/l <sup>3</sup>
<b>Schadstoffmetabolismus</b>	Aktivierung von: – Zellantwort auf aromatische Kohlenwasserstoffe – Detektion und Entgiftung von Xenobiotika – Erkennen von Xenobiotika	PAH-CALUX®	Benzo[a]pyren	6,21, 62,1, 150 ng BaPEQ/l <sup>1,2,3</sup>
		DR (Dioxin Rezeptor)-CALUX®	2,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin (TCDD)	50 µg TCDD EQ/l <sup>3</sup>
		PFAS-CALUX® PXR-CALUX® (Pregnane X Rezeptor)	Perfluorooctansäure (PFOA) Nicardipine	3 µg PFOA EQ/l <sup>4</sup> 3, 5,4, 54 µg NicEQ/l <sup>3,2,1</sup>
<b>Endokrine Disruption</b>	Östrogenität Anti-Androgenität	ER-CALUX® (ISO 19040-3:2018)	17β-Estradiol	0,1–0,4 ng EEQ/l <sup>1,3</sup>
		Anti-AR-CALUX®	Flutamide	14,4 µg FluEQ/l <sup>1</sup>
<b>Gentoxizität</b>	Mutagenität	Ames-Fluktuations-Test (ISO 11350:2012)	2-Amino-Anthrazen, 4-Nitrochinolin-N-oxid, 2-Nitrofluoren	2-facher Anstieg über Basislinie
<b>Pflanzenwachstum</b>	Herbizide Wirkung	Kombinierter Grünalgentest	Diuron	70 ng DEQ/l (Photosystem II-Hemmung) <sup>1</sup> 130 ng DEQ/l (Wachstumshemmung) <sup>1</sup>
<b>Fortpflanzung, Überleben</b>	Nicht spezifisch, Zooplankton	Wasserflohtest (ISO 20665:2008) Ostracodentest (ISO 14371:2012)		20% Mortalität <sup>5</sup> 30% Fortpflanzung <sup>5</sup> 35% Wachstumshemmung <sup>6</sup>
<b>Frühentwicklung, Überleben</b>	Nicht spezifisch, Fisch	Fisch-Embryo-Akut-Toxizitäts (FET)-Test (OECD 236)	3,4-Dichloranilin	20% Mortalität und Schlupf 30% sublethale Effekte

<sup>1</sup>[12]; <sup>2</sup>[15]; <sup>3</sup>[14]; <sup>4</sup>[19]; <sup>5</sup>[20]; <sup>6</sup>[21]

Tab. 1 Angewendete Biotestbatterie zum Fliessgewässermonitoring in NAWA und deren effektbasierte Schwellenwerte. EQ = Equivalent.

die Proben gekühlt bei 2–8 °C gelagert. Die Proben wurden am Tag nach Ende der Probenahme weiterverarbeitet.

## ANGEWENDETE BIOTESTS

Die ausgewählten Tests (*Tab. 1*) umfassen neben *In-vivo*-Biotests, in denen die Proben nativ untersucht werden, auch *In-vitro*-Biotests. Da es sich bei letzteren meist um Kurzzeittests handelt, ist in der Regel eine Anreicherung der Proben nötig, um eine genügend hohe Empfindlichkeit innerhalb kurzer Expositionszeiten zu erreichen. Die Proben für die *In-vitro*-Biotests wurden daher über eine Festphasenextraktion angereichert und die Extrakte anschliessend in den Biotests evaluiert.

Ein Teil der *In-vitro*-Biotests und alle angewendeten *In-vivo*-Biotests sind international standardisiert und wurden, wenn verfügbar, nach den ISO-Versuchsprotokollen am *Oekotoxzentrum* und bei den externen Laboren *aQuaTox-Solutions Ltd* (CH), *Biodetection Systems* (BDS, NL), *Soluval Santiago* (CH) und *Xenometrix AG* (CH) durchgeführt.

Die Testbatterie deckt die folgenden wichtigen Schadstoffwirkungen und Stoffgruppen ab:

### Allgemeine Toxizität

Schadstoffe können allgemein toxisch auf Zellen wirken und z.B. Membranen, den Zellkern oder weitere Zellbestandteile schädigen [22]. Allgemein toxische Auswirkungen auf Zellen können sowohl mit menschlichen Zelllinien (Cytotox-CALUX®) [23] als auch mit einer Fischzelllinie erfasst werden (Zellinientest mit Kiemenzellen von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) (RTgill-W1) [24].

### Oxidativer Stress

Bei Belastung mit Schadstoffen kann sogenannter «oxidativer Stress» auftreten. Dieser wird durch reaktive Sauerstoffarten (*Reactive Oxygen Species*, ROS) verursacht, die in den Zellen als Reaktion auf eine Belastung gebildet werden können. Die zelluläre Abwehr gegen oxidativen Stress kann mit dem Nrf2-CALUX® erfasst werden [25].

### Auswirkungen auf den Stoffwechsel und die Schadstoffwahrnehmung

Eine Vielzahl von Stoffen werden durch Stoffwechselenzyme entgiftet. Einige können durch den Stoffwechsel auch

giftiger werden, wie z.B. polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH) und dioxinähnliche Verbindungen [26]. Mit dem PAH-CALUX® [27], dem DR-CALUX® [14, 27] und dem PFAS-CALUX® [19] wird die Zellantwort auf polyaromatische Kohlenwasserstoffe, dioxinähnliche und polyfluorierte Alkylverbindungen (PFAS) gemessen. Auch wurde ein Test einbezogen, der Auswirkungen auf die Schadstoffwahrnehmung erfasst (PXR-CALUX®) [12, 28].

### Störungen der hormonellen Regulation (endokrine Disruption)

Hormone regeln viele wichtige Vorgänge wie Wachstum, Entwicklung, Fortpflanzung, Stoffwechselaktivität und Verhalten bei Säugetieren, Wirbeltieren und Wirbellosen [26]. Um hormonelle Wirkungen zu erfassen, wurden Zelltests auf Östrogenität (ER-CALUX®) und Anti-Androgenität (Anti-AR-CALUX®) (beides verweiblichende Wirkungen) [23] eingesetzt.

### Erbgutschädigende Wirkung

Schadstoffe können das Erbgut schädigen und somit u. a. auch Auswirkungen auf die nachfolgenden Generationen haben [26]. Der Ames-Fluktuationstest [29] misst das Ausmass der vererbaren Erbgutveränderung (Mutagenität).

Es gibt weitere wichtige Wirkungen, die bisher nur unzureichend mit *In-vitro*-Biotests abgedeckt werden können, unter anderem die Neurotoxizität (z.B. [7]). Um diese und weitere Wirkungen zu erfassen, wurde die Biotestbatterie mit *In-vivo*-Biotests und daraus gewonnenen Biomarkeranalysen ergänzt:

### Beeinträchtigung des Wachstums und/oder der Fortpflanzung von Wasserwirbellosen

Wasserlebende Insekten und Krebstiere reagieren im Allgemeinen empfindlich auf neurotoxische Insektizide. Solche Wirkungen können durch standardisierte Tests mit Muschelkrebse (Ostracoden) oder Wasserflöhe (*Ceriodaphnia dubia*) erfasst werden [20, 21, 30].

### Fischtoxizität

Um negative Auswirkungen auf Fische zu untersuchen, wurde ein Test angewendet, der die Frühentwicklung und Sterblichkeit von Zebrafischembryonen und -larven (*Danio rerio*) erfasst [31]. Solche frühen Lebensstadien reagieren häufig besonders empfindlich auf eine Belastung

mit Schadstoffen. Ergänzend wurde in den Larven die Aktivität des Enzyms Acetylcholinesterase als Biomarker für Neurotoxizität gemessen. Dieses Enzym wird durch Organophosphat- und Carbamat-Insektizide, wie z.B. Chlorpyrifos oder Diazinon, gehemmt [32, 33].

### Herbizide Wirkung

Wirkungen auf die Photosynthese und das Wachstum von einzelligen Grünalgen (*Raphidocelis subcapitata*) wurden in einem kombinierten Algentest erfasst, in dem beide oben genannte Parameter in einem Test bestimmt werden können. Dieser Test wurde von *Kienle et al.* (2015, 2018) für eine Grobbeurteilung von abwasserbelasteten Gewässern vorgeschlagen [13]. Er hat sich als robust erwiesen, zeigt eine sehr gute Korrelation mit den Konzentrationen von Photosystem II-(PSII)-hemmenden Herbiziden (z.B. [3, 34]) und wurde bereits vielfach in Studien zur Beurteilung von Abwasser und Fließgewässerproben angewendet [13, 34–37]. Da es für den Endpunkt PSII-Hemmung bisher noch keinen standardisierten Test gibt, soll dieser Test in den nächsten Jahren auf ISO-Ebene standardisiert werden.

## RISIKOBEURTEILUNG

### EFFEKTBASIERTE RISIKOBEURTEILUNG

Um die Ergebnisse aller Biotests zu vergleichen, wurde eine effektbasierte Risikobeurteilung durchgeführt. Hierfür wurden effektbasierte Risikoquotienten (RQ<sub>bio</sub>) als Verhältnis von gemessenem Wert im Biotest und dem jeweiligen effektbasierten Schwellenwert berechnet [38]. Somit konnten *In-vitro*-Biotests, bei denen Äquivalenzkonzentrationen (ng/l) berechnet werden, und *In-vivo*-Biotests, bei denen Effektkonzentrationen (% native Probe) bestimmt werden, gut in eine Gesamtbeurteilung einbezogen werden. Es ist jedoch zu beachten, dass der maximale RQ<sub>bio</sub> für *In-vivo*-Biotests 4 bis 5 beträgt, abhängig von den jeweiligen effektbasierten Schwellenwerten (*s. Tab. 1*), während der RQ<sub>bio</sub> für *In-vitro*-Biotests mit BEQ-Werten höher sein kann.

Um einen Gesamteindruck über die RQ<sub>bio</sub> aller Biotests zu erhalten und zu evaluieren, ob Unterschiede zwischen den Standorttypen vorhanden sind, wurde die Summe der RQ<sub>bio</sub> je Standort durch Aufaddieren der Risikoquotienten der einzelnen Biotests gebildet [39]. Zusätzlich wurden die RQ<sub>bio</sub> für ver-

schiedene Organismengruppen (Algen, Invertebraten und Fische) evaluiert und mit dem chemischen Risikoquotienten ( $RQ_{chem}$ , s. nächster Abschnitt) verglichen. Um zu beurteilen, welche Biotests am meisten Effekte in den Wasserproben anzeigten, wurde – neben der Beurteilung mit effekt-basierten Risikoquotienten – auch der Anteil an Überschreitungen von effektbasierten Schwellenwerten bestimmt und verglichen.

**MISCHUNGSRISIKOBEURTEILUNG, BASIEREND AUF CHEMISCHEN MESSWERTEN**

Das chronische Risiko, basierend auf den chemisch-analytischen Messwerten ( $RQ_{chem}$ ), wurde berechnet, indem die gemessene Konzentration für eine Einzelsubstanz durch das jeweilige chronische Umweltqualitätskriterium geteilt wurde [40, 41]. Für jeden Stoff wurde sowohl das Gesamtrisiko als auch das Risiko für einzelne Organismengruppen berechnet, d.h. für Pflanzen ( $RQ_{chem p}$ ), für Invertebraten ( $RQ_{chem i}$ ) und für Vertebraten ( $RQ_{chem v}$ ). Für die Berechnung des Gesamt-Mischungsrisikos wurden anschliessend die  $RQ_{chem}$  der Einzelstoffe aufaddiert ( $\sum RQ_{chem}$ ). Auch hierbei wurden das Gesamtrisiko und das Risiko für einzelne Organismengruppen einbezogen.

**ERGEBNISSE**

**EFFEKTBASIERTE RISIKOBEURTEILUNG ALLER STANDORTE**

Betrachtet man die Summe der  $RQ_{bio}$  je Standort, zeigten sich Unterschiede zwischen den drei Standorttypen. So war die Summe der  $RQ_{bio}$  bei Standorten mit landwirtschaftlicher und urbaner Landnutzung (AGR+URB) am höchsten, gefolgt von Standorten mit landwirtschaftlicher Landnutzung (AGR) und jenen mit extensiver Landnutzung (EXT) (Fig. 1, Tab. 2). Unter den EXT-Standorten zeigte der Lochgraben (LOG) das höchste Risiko, bei den AGR-Standorten war es der Ruisseau de Gi (RG), und bei den AGR+URB-Standorten war es Boiron de Morges (BOI). LOG und BOI waren auch die einzigen Standorte mit Effekten auf Sedimentinvertebraten (*Chironomus riparius*) im Projekt «Biotestbatterie Sediment» [16].

Boiron de Morges, aus der Gruppe der AGR+URB-Standorte, war der einzige Standort, bei dem eine Mutagenität im Ames-Fluktuationstest gemessen wurde,

auch konnten eine sehr hohe Zelltoxizität (Cytotox-CALUX®,  $RQ_{bio} = 15$ ), Auswirkungen auf die Schadstoffwahrnehmung (PXR-CALUX®,  $RQ_{bio} = 5$ ) und die Entwicklung von Fischembryonen ( $RQ_{bio} = 2$ ), ebenso wie Matrixeffekte auf die Fischzelllinie ( $RQ_{bio} = 1$ ) gemessen werden. Zwei weitere AGR+URB-Standorte mit deutlichen Effekten waren der Landgrabe und der Furtbach: Der  $RQ_{bio}$  war bei neun bzw. sieben Parametern  $\geq 1$ , wobei die höchsten Werte für den PXR-CALUX® gemessen wurden ( $RQ_{bio} = 4,1$

bzw. 2,6). Im Landgrabe wurden auch eine hohe Wachstumshemmung der Algen ( $RQ_{bio} = 4$ ) und Auswirkungen auf Fischembryonen ( $RQ_{bio} = 2,5-2,8$ ) gemessen. Bei den AGR-Standorten zeigte der Ruisseau de Gi die deutlichsten Effekte mit  $RQ_{bio} \geq 1$  bei sieben Parametern. Die stärksten Überschreitungen traten hier für den Nrf2-CALUX® ( $RQ_{bio} = 3,6$ ) und den PXR-CALUX® ( $RQ_{bio} = 2,4$ ) auf. EXT-Standorte wiesen grösstenteils weniger Effekte auf als die anderen beiden Standorttypen. Hier war der Lochgraben der Standort

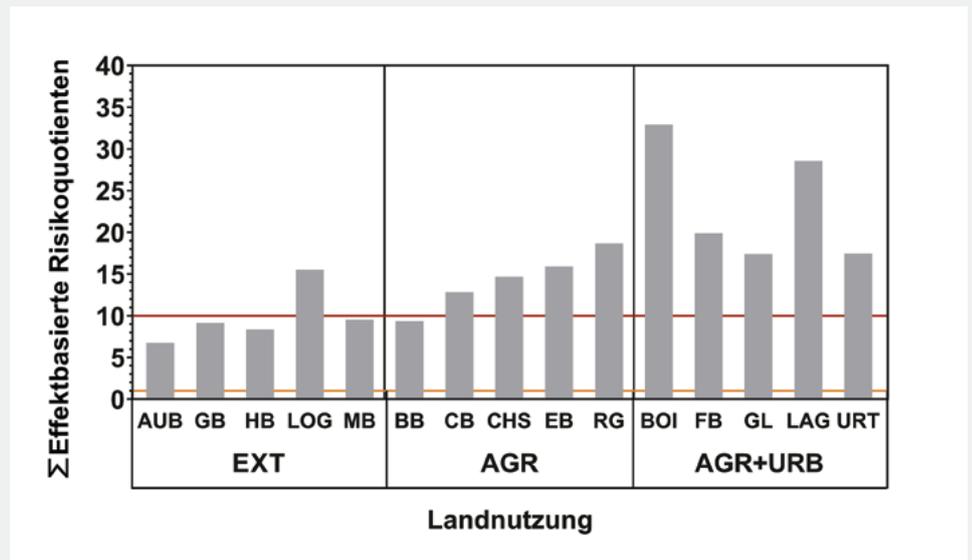


Fig. 1 Summe der effektbasierten Risikoquotienten ( $RQ_{bio}$ ) für alle Standorte. Landnutzung: EXT = extensiv; AGR = landwirtschaftlich; AGR+URB = landwirtschaftlich und urban. Die Linien markieren eine  $\sum RQ_{bio}$  von 1 bzw. von 10.

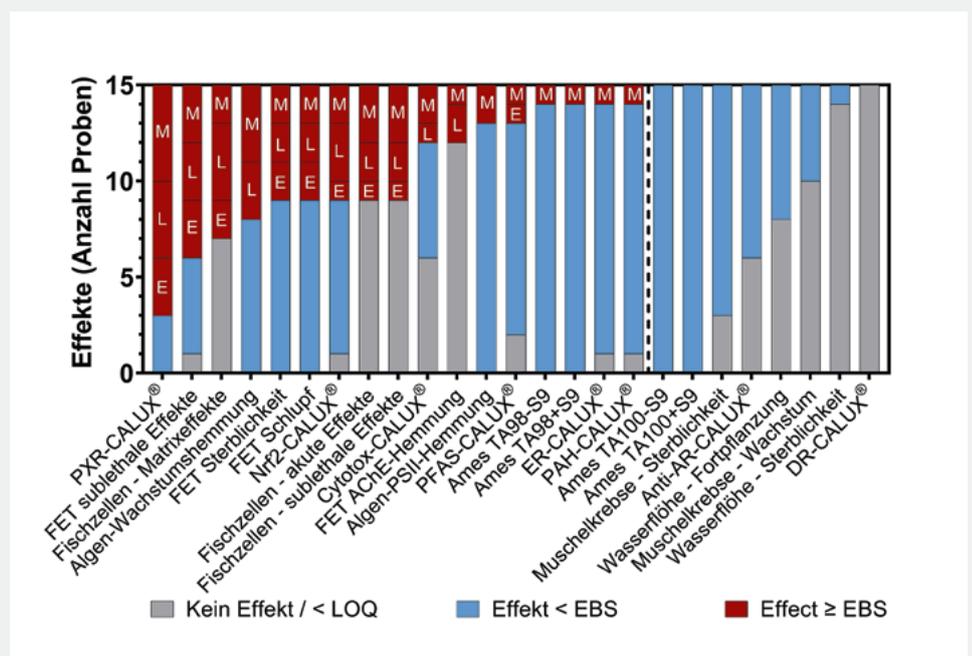


Fig. 2 Anzahl der Proben mit Effekten über dem effektbasierten Schwellenwert (EBS). E = Standort mit extensiver Landnutzung; L = Standort mit landwirtschaftlicher Landnutzung; M = Standort mit landwirtschaftlicher und urbaner Landnutzung (gemischt); FET = Fisch-Embryo-Toxizitätstest.

		Landnutzung		Extensiv			Landwirtschaft					Landwirtschaft + Urban					
Wirkung / Effekt		Biotest	AUB	GB	HB	LOG	MB	BB	CB	CHS	EB	RG	BOI	FB	GL	LAG	URT
<b>Biotests mit angereicherten Proben</b>																	
Zelltoxizität	Cytotox-CALUX®																
Oxidativer Stress	Nrf2-CALUX®																
Aktivierung des Schadstoffmetabolismus	PXR-CALUX®																
	PAH-CALUX®																
	PFAS-CALUX®																
	DR-CALUX®																
Endokrine Disruption	ER- und Anti-AR-CALUX®																
Mutagenität	Ames-Fluktuationstest																
PSII-Hemmung	Kombinierter Algentest																
Wachstumshemmung																	
<b>Biotests mit nativen Proben</b>																	
Wachstum und Sterblichkeit	Sediment-Kontakttest mit Muschelkrebse																
Fortpflanzung und Sterblichkeit	Fortpflanzungstest mit Wasserflöhen																
Sterblichkeit und Schlupf	Fisch-Embryo-Toxizitätstest																
Sublethale Effekte																	
AChE-Hemmung																	
Akute, sublethale und Matrix-Effekte	Fischzellinientest																

AUB Aubonne, GB Glariseggerbach, HB Hemishoferbach, LOG Lochgraben, MB Möhlinbach  
 BB Beggingerbach, CB Le Combagnou, CHS Chrümmlisbach, EB Eschelisbach, RG Ruisseau de Gi  
 BOI Boiron de Morges, FB Furtbach, GL Glatt, LAG Landgraben, URT Urtenen

Tab. 2 Effektbasierte Risikoquotienten. Die Farben geben die Höhe der Risikoquotienten wieder: blau = 0 bis <1; rot = 1 bis Maximalwert.

mit den stärksten Effekten ( $RQ_{bio} \geq 1$  bei fünf Wirkungen). Der Standort mit den geringsten Effekten in den Biotests war der Hemishoferbach mit nur zwei von 25 gemessenen Parametern über dem effektbasierten Schwellenwert ( $RQ_{bio} = 1,9$  im PXR-CALUX® und 1,3 bei sublethalen Effekten im Fischembryotest). Vergleicht man den Anteil an Überschreitungen von effektbasierten Schwellenwerten (EBS) (Fig. 2), um einen Gesamtüberblick über die Reaktionen in den Biotests zu bekommen, wird deutlich, dass von insgesamt 25 gemessenen Parametern 17 Parameter in 10 Biotests Überschreitungen der jeweiligen EBS anzeigten. Die Biotests mit den meisten Überschreitungen waren der PXR-CALUX®, der Fisch-Embryo-Toxizitätstest (FET), der Test mit der Fischzelllinie und der kombinierte Algentest (Endpunkt Wachstumshemmung). An AGR+URB- bzw. AGR-Standorten traten insgesamt mehr Überschreitungen von EBS auf als an EXT-Standorten. Keine Überschreitungen von EBS wurden in Tests mit Wasserwirbellosen, im Anti-AR-CALUX® und im DR-CALUX® gemessen. Beim Test mit Muschelkrebse

entspricht das den bisherigen Erfahrungen mit Oberflächengewässerproben.

**BEISPIELE VON ERGEBNISSEN – ALGEN UND FISCHE**

Im kombinierten Algentest wurde der effektbasierte Schwellenwert für PSII-Hemmung von 70 ng Diuronäquivalenten (DEQ)/l an zwei AGR+URB-Standorten überschritten (Landgrabe und Furtbach) (Fig. 3A). Die DEQ-Werte dieser Standorte unterschieden sich signifikant von den AGR- und EXT-Standorten. Die Biotestergebnisse deuten somit auf eine sehr gute bis gute Wasserqualität in Bezug auf PSII-Hemmung an allen EXT- und AGR-Standorten und auf eine mässige Wasserqualität an zwei AGR+URB-Standorten hin. Beim Endpunkt Wachstumshemmung wurde der effektbasierte Schwellenwert von 130 ng DEQ/l an vier AGR+URB-Standorten und an drei AGR-Standorten überschritten, wohingegen die Werte für die EXT-Standorte alle unterhalb des Schwellenwertes lagen (Fig. 3B). Die Wasserqualität in Bezug auf die Hemmung des Algenwachstums war damit an allen EXT-Standorten gut, wohingegen die Mehrzahl der AGR- bzw. AGR+URB-

Standorte eine mässige bis ungenügende Wasserqualität aufwiesen.

Die in dieser Studie gemessenen Werte sind vergleichbar mit früheren Messungen in Oberflächengewässern in der Schweiz z.B. im Rahmen der Projekte *EcoImpact* [34], *AquaSan* und *NAWA SPEZ* [36]. Negative Auswirkungen auf Fische (Sterblichkeit  $\geq 10\%$ ) wurden mit dem Fisch-Embryo-Toxizitätstest an allen AGR+URB-Standorten, an vier AGR-Standorten und an drei EXT-Standorten gemessen (Fig. 4). Des Weiteren traten auch Auswirkungen auf die Entwicklung der Fischembryonen und -larven an zehn dieser Standorte auf, ebenso wie Hemmungen des Enzyms Acetylcholinesterase an drei Standorten (Beggingerbach, Ruisseau de Gi und Furtbach). Die Ergebnisse im FET zeigen eine teilweise Übereinstimmung mit den Ergebnissen im Fischzellinientest (Tab. 2): An acht von zehn Standorten mit gemessenen Effekten  $\geq$  EBS im FET wurden auch Wirkungen im Fischzellinientest gemessen, an zwei Standorten zeigte nur der FET an und an fünf Standorten nur der Fischzellinientest. Beide Biotests zeigen eine akute Toxizität der Umweltproben an.

**MISCHUNGSRIKOBEBURTEILUNG AUF BASIS VON CHEMISCHEN MESSWERTEN**

Die chemische Analytik zeigte chronische ökotoxikologische Mischungsrisiken an allen drei Standorttypen auf, an EXT-Standorten für Invertebraten und Vertebraten und an AGR- und AGR+URB-Standorten für Pflanzen, Invertebraten und Vertebraten (Tab. 3). Es zeigte sich, dass vor allem Pyrethroid-Insektizide wie Cypermethrin, Deltamethrin, lambda-Cyhalothrin und Permethrin ebenso wie teilweise auch Tefluthrin für das hohe bis sehr hohe chronische Mischungsrisiko an den Standorten verantwortlich waren. Überschreitungen von Umweltqualitätskriterien gab es ausserdem auch für die Insektizide Chlorpyrifos, Fenvalerat, Thiachloprid, Fipronil und Fenoxycarb, für die Herbizide Metazachlor und Propyzamid und für das Schmerzmittel Diclofenac.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der ökotoxikologischen Risikobeurteilung für die einzelnen Standorttypen basierend auf einerseits Biotests und andererseits chemischer Analytik verglichen und diskutiert.

**Standorte mit extensiver Landnutzung**

Bei den EXT-Standorten wurden Überschreitungen von chronischen Umweltqualitätskriterien an drei von fünf Standorten gemessen (Tab. 4). Hierfür waren maximal ein bis zwei Stoffe verantwortlich. Es wurde kein chronisches Mischungsrisiko für Pflanzen basierend auf der chemischen Analytik ( $\sum RQ_{chem P}$ ) erwartet. Dieses Ergebnis spiegelt sich gut in den Ergebnissen des kombinierten Algentests wider,  $RQ_{bio}$  war immer  $<1$  (Tab. 2 und Fig. 3).

Dahingegen identifizierte die chemische Analytik chronische Mischungsrisiken für Invertebraten an drei Standorten (Hemishoferbach, Lochgraben und Möhlinbach). Es wurden jedoch kaum Effekte in den Invertebraten-Tests gemessen: Im Fortpflanzungstest mit Wasserflöhen wurde eine signifikant verringerte Nachkommenzahl im Möhlinbach gemessen (Daten nicht gezeigt), Auswirkungen auf Muschelkrebse traten keine auf. Mischungsrisiken konnten auf wenige Stoffe zurückgeführt werden. Im Hemishoferbach überschritt die Konzentration des Pyrethroids Deltamethrin das chronische Umweltqualitätskriterium mit Risiken für Invertebraten und Vertebraten, und die Pyrethroide Cypermethrin und

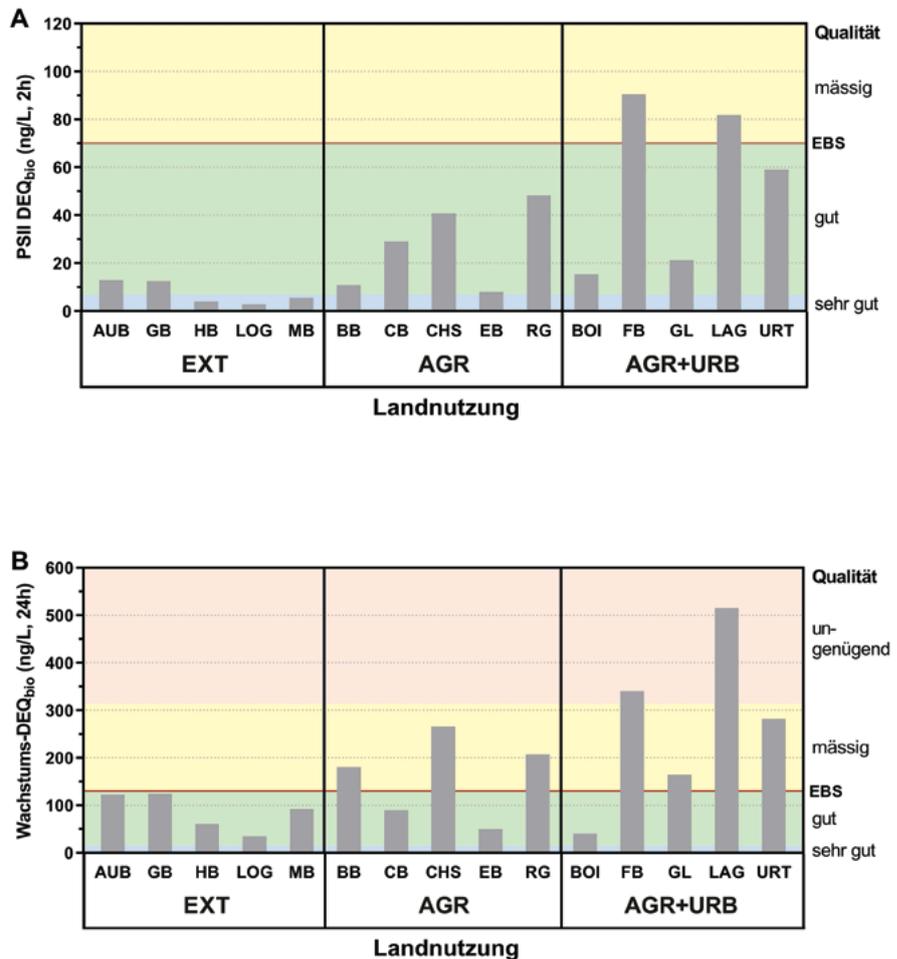


Fig. 3 Ergebnisse des kombinierten Algentests: Diuron-Äquivalenz-Konzentration (DEQ, ng/l) für PSII-Hemmung (A) und Wachstumshemmung (B). Landnutzung: EXT = extensiv; AGR = landwirtschaftlich; AGR+URB = landwirtschaftlich und urban. EBS = Effektbasierter Schwellenwert.

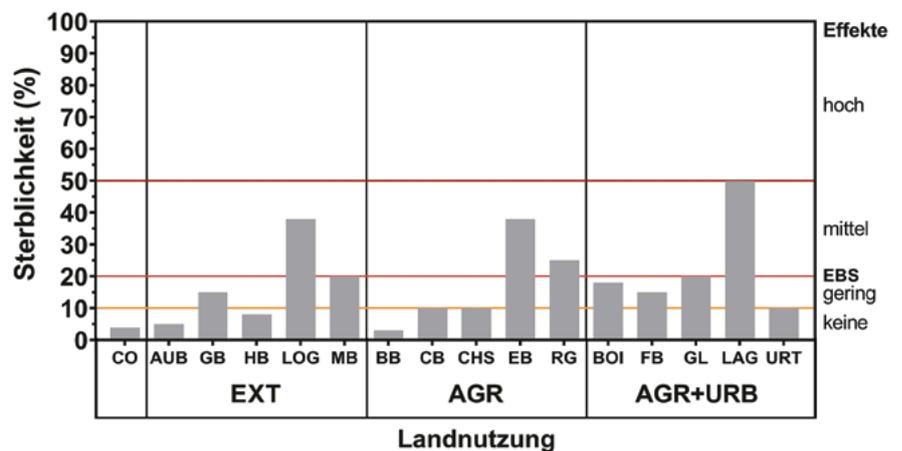


Fig. 4 Fisch-Embryo-Toxizitäts-Test – Sterblichkeit (%) der Testorganismen an den untersuchten Standorten. CO = Kontrolle. Landnutzung: EXT = extensiv; AGR = landwirtschaftlich; AGR+URB = landwirtschaftlich und urban. Die Linien zeigen die Bewertungsstufen der Effekte an.

		Landnutzung		Extensiv					Landwirtschaft					Landwirtschaft + Urban				
		AUB	GB	HB	LOG	MB	BB	CB	CHS	EB	RG	BOI	FB	GL	LAG	URT		
<b>Chemische Analytik</b>	Chronisches Mischungsrisiko gesamt	0,2	0,8	35	2,0	29	8,9	21	2,9	6,1	47	8,2	53	2,9	1023	17		
<b>Pflanzen</b>																		
<b>Chemische Analytik</b>	Chronisches Mischungsrisiko	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	1,2	0,6	2,4	0,8	0,6	0,5	16	0,2	1,3	1,0		
<b>Algen</b>	Wachstumshemmung	0,9	1,0	0,5	0,3	0,7	1,4	0,7	2,0	0,4	1,6	0,3	2,6	1,3	4,0	2,2		
<b>Algen</b>	PSII-Hemmung	0,2	0,2	0,1	0,0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,7	0,2	1,3	0,3	1,2	0,8		
<b>Invertebraten</b>																		
<b>Chemische Analytik</b>	Chronisches Mischungsrisiko	0,2	0,8	35	2,0	29	7,7	21	0,8	5,4	47	7,8	39	2,8	1022	17		
<b>Muschelkrebse</b>	Wachstum und Sterblichkeit	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2	0,0	0,0	0,3	0,2	0,8	0,1	0,2	0,1		
<b>Wasserflöhe</b>	Fortpflanzung und Sterblichkeit	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2		
<b>Vertebraten</b>																		
<b>Chemische Analytik</b>	Chronisches Mischungsrisiko	0,0	0,0	35	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	6,8	2,3	952	6,0		
<b>Fischembryonen</b>	Sterblichkeit und Schlupf	0,3	0,8	0,4	1,9	1,0	0,2	0,5	0,5	1,9	1,3	0,9	0,8	1,0	2,5	0,5		
	Sublethale Effekte	0,0	0,7	1,3	3,2	1,0	0,9	1,8	0,9	2,0	1,4	2,2	1,3	0,9	2,8	0,8		
	AChE-Hemmung	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0		
<b>Fisch-Zelllinie</b>	Akute, sublethale und Matrix-Effekte	0,0	1,0	0,0	2,0	0,0	1,0	1,0	2,0	2,0	1,0	1,0	2,0	1,0	2,0	2,0		

AUB Aubonne, GB Glariseggerbach, HB Hemishoferbach, LOG Lochgraben, MB Möhlinbach  
 BB Beggingerbach, CB Le Combagnou, CHS Chrümlisbach, EB Eschelisbach, RG Ruisseau de Gi  
 BOI Boiron de Morges, FB Furtbach, GL Glatt, LAG Landgraben, URT Urtenen

Tab. 3 Ergebnisse der Mischungsrisikobeurteilung basierend auf den Daten der chemischen Analytik und der Biotests.

Die Farben geben die Höhe der Risikoquotienten wieder: blau = 0 - <1; rot = 1 - Maximalwert. Das chronische Mischungsrisiko gesamt ist die Summe aller chronischen Risikoquotienten, inklusive derer, für die keine Zuordnung zu den Organismengruppen vorlag, das war u.a. bei Cyfluthrin und Tefluthrin der Fall. Daher besteht an einzelnen Stellen z. B. beim Beggingerbach und beim Furtbach eine Diskrepanz zwischen dem chronischen Mischungsrisiko gesamt und dem höchsten Mischungsrisiko für die einzelnen Organismengruppen.

Tefluthrin bestimmten das chronische Mischungsrisiko für Invertebraten im Lochgraben. Im Möhlinbach war das Insektizid Fenoxycarb für das chronische Risiko für Invertebraten verantwortlich. Die Erklärung für die Unterschiede in der Risikobewertung durch Biotests und chemische Analytik liegt hier bei den in den Biotests eingesetzten Arten und deren Empfindlichkeit für die risikoreichste Stoffgruppe der Pyrethroid-Insektizide. Die im Projekt eingesetzten Testorganismen sind im Vergleich zu Amphipoden relativ unempfindlich (100-1000fach) gegenüber Pyrethroiden [42]. Hier zeigt sich eine Einschränkung der angewendeten Biotestbatterie, für die, vor allem aus Gründen der Robustheit und Reproduzierbarkeit, standardisierte Biotests mit Wasserflöhen und Muschelkrebse als Vertreter der Invertebraten ausgewählt wurden. Für Amphipoden, die die empfindlichste Organismengruppe für Pyrethroide darstellen [42], gibt es derzeit noch keinen standardisierten Biotest. Amphipoden sind jedoch ökologisch äusserst bedeutsam, daher sollten in Zukunft unbedingt auch Tests mit Amphipoden standardisiert und durchgeführt werden.

Betrachtet man die chronischen Mischungsrisiken für Vertebraten, so bestand aufgrund der chemischen Analytik nur an einem EXT-Standort ein chronisches Risiko (Hemishoferbach) (Tab. 3). An diesem Standort wie auch am Lochgraben und Möhlinbach traten im Biotest jedoch deutliche sublethale Effekte bei Fischembryonen auf, teilweise wurden auch Auswirkungen auf den Schlupf und das Überleben gemessen, ebenso wie eine erhöhte Toxizität im Fischzellintest (Tab. 2 u. 3, Fig. 4). Diese Ergebnisse deuten klar auf akute Risiken für Fische hin, die dafür verantwortlichen Stoffe wurden jedoch von der chemischen Analytik nicht erfasst. Auch die gemessenen Werte von abiotischen Parametern und Metallen lieferten keine Erklärung für die erhöhte Toxizität. An drei EXT-Standorten (Aubonne, Hemishoferbach und Lochgraben) wiesen Ergebnisse des Tests für Schadstoffwahrnehmung (PXR-CALUX®) auf erhöhte Schadstoffkonzentrationen hin (Tab. 2). Effekte in diesem Test können nicht einer bestimmten Schadstoffgruppe zugeordnet werden, da er auf eine Vielzahl von Stoffen reagiert und daher lediglich anzeigt, ob Schadstoffe präsent sind oder nicht. Des Weiteren war der  $RQ_{bio}$

$\geq 1$  im Möhlinbach beim Nrf2-CALUX®, der oxidativen Stress anzeigt, und im Glariseggerbach beim PFAS-CALUX®, der eine Zellantwort auf polyfluorierte Alkylverbindungen anzeigt. Die Ergebnisse der chemischen Analytik liefern hier keine Information über die Ursachen, jedoch deuten die Biotestergebnisse auf mögliche Auswirkungen dieser Stoffgruppen auf Wasserorganismen hin.

Standorte mit landwirtschaftlicher Landnutzung

An allen AGR-Standorten bestand in den Wasserproben ein chronisches Mischungsrisiko. Grundsätzlich waren an diesen Standorten ein bis drei Stoffe hauptverantwortlich für Überschreitungen von Umweltqualitätskriterien. Chronische Mischungsrisikoquotienten für Pflanzen waren am Beggingerbach und am Chrümlisbach  $\geq 1$  (Tab. 3). Das deckt sich gut mit den Ergebnissen des Biotests mit Grünalgen: An beiden Standorten wurde der effektbasierte Schwellenwert für Algenwachstum überschritten (Tab. 2 und Fig. 3). Dies bedeutet, dass die Analytik alle relevanten Stoffe erfasst hat und der Biotestorganismus sensitiv auf diese Stoffe reagiert.

Chronische Mischungsrisikoquotienten für Invertebraten waren an vier von fünf AGR-Standorten  $\geq 1$  (Tab. 3), wobei Ruisseau de Gi ( $\sum \text{RQ}_{\text{chem}} \text{ I} = 47$ ) und Le Combagnou ( $\sum \text{RQ}_{\text{chem}} \text{ I} = 21$ ) die höchsten Werte zeigten. Dieses erhöhte Mischungsrisiko spiegelte sich nur zu einem geringen Teil in den Biotests mit Invertebraten wider. Zwar war das Wachstum von Muschelkrebse beim Ruisseau de Gi signifikant verringert (Daten nicht gezeigt), der zugehörige effektbasierte Schwellenwert wurde jedoch nicht überschritten (Tab. 2). Auch hier kann die Art der Stoffe, die für Überschreitungen verantwortlich waren, eine mögliche Erklärung für die Unterschiede liefern. Die Risiken waren, wie bei EXT-Standorten, überwiegend auf Pyrethroid-Insektizide zurückzuführen, auf die weder Muschelkrebse noch Wasserflöhe am empfindlichsten reagieren. Am Beggingerbach waren das die Pyrethroide Cypermethrin und lambda-Cyhalothrin, am Ruisseau de Gi kam zu diesen beiden Stoffen noch das Insektizid Fipronil dazu. Am Chrümlisbach basierten die Risiken auf den Pyrethroiden lambda-Cyhalothrin und Permethrin. Eine Ausnahme stellte der Eschelisbach dar, wo das gemessene Risiko auf das Neonicotinoid Thiacloprid zurückzuführen war.

Für Vertebraten bestand auf der Grundlage der chemischen Daten an keinem der AGR-Standorte ein chronisches Mischungsrisiko. Jedoch zeigte der Fischembryotest am Eschelisbach, ebenso wie an Le Combagnou und Ruisseau de Gi sublethale Effekte und teilweise auch eine erhöhte Sterblichkeit der Embryonen bzw. Larven (Tab. 2 und Fig. 4). Am Ruisseau de Gi trat zusätzlich eine Hemmung des Enzyms Acetylcholinesterase auf. Am stärksten waren diese Beeinträchtigungen am Eschelisbach, was auch durch den Fischzellintest bestätigt wurde (Daten nicht gezeigt). Dieser Befund lässt sich mit den Ergebnissen der chemischen Analytik von organischen Stoffen nicht erklären (Tab. 3). Erhöhte Konzentrationen von Metallen und anderen abiotischen Parametern könnten hier jedoch eine Rolle gespielt haben. Beispielsweise überschritt Kupfer an allen drei Standorten den Grenzwert der Gewässerschutzverordnung (bis zu 2,3fach). Im Eschelisbach war zusätzlich der Nitratwert über dem Grenzwert (1,5fach). Solche Überschreitungen konnten allerdings z.B.

nicht im Lochgraben als EXT-Standort gemessen werden. Hier wurden ähnlich hohe Effekte auf Fischembryonen- und -larven wie im Eschelisbach gemessen.

Standorte mit landwirtschaftlicher und urbaner Landnutzung

Auch bei den AGR+URB-Standorten war bei allen Standorten ein chronisches Mischungsrisiko vorhanden (Tab. 3). Basierend auf den Ergebnissen der chemischen Analytik zeigte sich, dass an diesen Standorten meist nicht einzelne, sondern mehrere Stoffe hauptverantwortlich für chronische Einzel- und Mischungsrisikoquotienten  $\geq 1$  waren – im Landgraben waren das z.B. neun verschiedene Stoffe. Die  $\sum \text{RQ}_{\text{chem}}$  lag bei bis zu 1000, einem Vielfachen davon, was an AGR-Standorten gemessen worden war. Das chronische Mischungsrisiko für Pflanzen war an drei Standorten, dem Furtbach, dem Landgraben und der Urtenen  $\geq 1$ . Im kombinierten Algentest wurden bei den AGR+EXT-Standorten effektbasierte Schwellenwerte für PSII- und Wachstumshemmung im Landgraben und im Furtbach überschritten und jener für Wachstumshemmung an den Standorten Glatt und Urtenen (Tab. 2 und Fig. 3). Das heisst, die Risiken basierend auf chemischer Analytik und Biotests stimmten i.d.R. gut überein.

Für die Gruppe der Invertebraten war der chronische Mischungsrisikoquotient an allen fünf Standorten  $\geq 1$ . Hier spiegelte sich dieses erhöhte Risiko kaum in den Ergebnissen der Biotests wider: Im Test mit Muschelkrebse trat ein signifikant verringertes Wachstum der Testorganismen am Standort Boiron de Morges auf, auch wurde ein leicht verringertes Überleben der Testorganismen im Landgraben gemessen (Daten nicht gezeigt). Effektbasierte Schwellenwerte wurden jedoch nicht überschritten (Tab. 2). Meist waren mehrere Stoffe für  $\sum \text{RQ}_{\text{chem}}$ -Werte  $\geq 1$  verantwortlich: In der Glatt war es das Schmerzmittel Diclofenac und bei Boiron de Morges das Pyrethroid Permethrin und das Insektizid Fipronil. Beim Furtbach wurden das Pyrethroid lambda-Cyhalothrin, das Insektizid Fipronil, die Herbizide Metazachlor und Propyzamid und Diclofenac in Werten über dem chronischen Umweltqualitätskriterium gemessen und an der Urtenen die Pyrethroide Cypermethrin und Permethrin und die Insektizide Chlorpyrifos und Fipronil. Beim Land-

graben kamen zu den bereits genannten Stoffen noch weitere dazu: die Pyrethroide Deltamethrin und Fenvalerat und das Insektizid Thiacloprid.

Für Vertebraten wurden basierend auf der chemischen Analytik chronische Mischungsrisiken an vier Standorten (Boiron de Morges, Furtbach, Glatt, Landgraben und Urtenen) identifiziert, wobei Landgraben ( $\sum \text{RQ}_{\text{chem}} \text{ V} = 950$ , hauptverantwortlich Deltamethrin) und Furtbach ( $\sum \text{RQ}_{\text{chem}} \text{ V} = 7$ , hauptverantwortlich Diclofenac) die höchsten Risiken aufwiesen. Beim Fisch-Embryo-Toxizitätstest wurden die höchsten sublethale Effekte in Boiron de Morges, Furtbach und Landgraben gemessen, die Probe vom Landgraben bewirkte zudem eine Sterblichkeit von 50% und die Probe vom Furtbach eine Hemmung des Enzyms Acetylcholinesterase in den Fischembryonen und -larven (Tab. 2 und Fig. 4). Die gemessenen Effekte korrespondieren somit gut mit den chronischen Mischungsrisiken, obwohl es eigentlich Tests zur Bestimmung einer akuten Toxizität sind. Insgesamt erwies sich der Landgraben als am stärksten belasteter Standort. Basierend auf den Ergebnissen der angewendeten Biotests und dem Vergleich mit der chemischen Analytik wurde ein Vorschlag für eine Biotestbatterie für weitere Monitoringprojekte ausgearbeitet, der im Folgenden vorgestellt wird.

#### BIOTESTBATTERIE ZUM MONITORING VON OBERFLÄCHENGEWÄSSERN

Für die Auswahl der Biotestbatterie lag der Fokus auf standardisierten und bald standardisierten Tests, da damit eine möglichst grosse Robustheit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erzielt werden kann. Basierend auf den Ergebnissen der Messkampagne schlagen wir folgendes Set vor.

- zwei bis vier Reportergentests (CALUX® Panel) z. B. für oxidativen Stress, östrogene Aktivität und Schadstoffmetabolismus
- den kombinierten Algentest
- den Fischzellintest und/oder Fischembryo-Toxizitäts-Test mit Zebraquärlingen über 120 Stunden
- Einen Test mit Invertebraten, am besten Crustaceen, da diese in vielen Fällen die Organismengruppe mit den höchsten Mischungsrisiken darstellte. Hierfür kann z.B. der Fortpflanzungstest mit Wasserflöhen angewendet werden, die u. a. empfindlich auf viele



Ökotoxikologische Biotests erlauben ein kosten- und zeiteffizientes Screening, um das Risiko bestimmter Stoffgruppen für Organismen in der Umwelt abzuschätzen. Im Bild: Team vom Oekotoxzentrum mit Fischen aus dem Hemishoferbach zu den Füßen. Die Wasserproben befinden sich in den Kühlboxen im Auto.

Insektizide reagieren. Für Pyrethroid-Insektizide sind Amphipoden nach bisherigem Kenntnisstand die empfindlichste Gruppe, allerdings gibt es für diese Organismengruppe derzeit noch keinen standardisierten Biotest für Wasserproben. Daher sollte diese Insektizidgruppe weiterhin mit der chemischen Analytik erfasst werden. Zudem ist es wichtig, dass Biotests mit Amphipoden standardisiert werden.

Abhängig von der spezifischen Fragestellung kann die Testbatterie mit zu-

sätzlichen CALUX®-Tests auf z. B. weitere endokrine Wirkungen, die Aktivität von polyfluorierten Alkylverbindungen und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen und/oder einem Test auf Mutagenität/Gentoxizität erweitert werden. Dies ist vor allem dann sinnvoll, wenn es Hinweise auf das Vorhandensein solcher Stoffe an den zu untersuchenden Stellen gibt. Insgesamt sollte die Auswahl von Biotests für eine Biotestbatterie zum Monitoring der Wasserqualität von Oberflächengewässern auf die projektspezifische Fragestellung und die verfügbaren finanziellen Ressourcen angepasst werden.

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

Ökotoxikologische Biotests ermöglichen die Bewertung von Schadstoffgemischen in Umweltproben, da nicht alle vorhandenen Stoffe gemessen werden können. Sie stellen als Screening-Werkzeuge und/oder Frühindikatoren eine wichtige Brücke zwischen der Exposition, d. h. den gemessenen Chemikalien, und den damit verbundenen Risiken für Wasserlebewesen und Effekten auf Organismen in der Umwelt dar. Zudem erlauben sie ein kosten- und zeiteffizientes Screening, um das Risiko bestimmter Stoffgruppen für Organismen in der Umwelt abzuschätzen und weitere Untersuchungen zu fokussieren. Basierend auf den Ergebnissen dieses Projekts und von früheren Studien

kann der Algentest als Screeningtool für Herbizideneffekte empfohlen werden. Die Resultate zeigen eine gute Übereinstimmung mit der Chemie. Des Weiteren werden Fischzellinientests bzw. Tests mit Fischembryonen und -larven empfohlen, da diese Biotests Risiken anzeigen, die durch die chemischen Messungen übersehen werden. Umweltproben mit unbekannter Zusammensetzung stellen für die chemische Analytik im Routinemonitoring häufig eine Herausforderung dar. Die Aussagekraft der chemischen Risikobewertung ist immer nur auf die gemessenen Konzentrationswerte und dazu passende Qualitätskriterien beschränkt. Bei den Invertebraten können im Moment vor allem die Wirkungen von Pyrethroid-Insektiziden nicht mit einem adäquaten Biotest abgedeckt werden, da keine standardisierten Biotests für Amphipoden als empfindlichste Organismengruppe vorhanden sind.

Die Studie hat somit auch gezeigt, wie wichtig weitere Standardisierungen und Validierungen von Biotests sind. Auch neue Methoden, wie z. B. molekulare Ansätze können zum weiteren Verständnis der Schadstoffwirkungen beitragen (s. auch Arbeiten im Projekt «Biomarker» [17]). Ebenso bedürfen die effektbasierten Schwellenwerte teilweise noch einer weiteren Validierung anhand von Studien mit Einzelstoffen und weiteren Feldstudien.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Arlos, M.J. et al. (2018): Modeling the exposure of wild fish to endocrine active chemicals: Potential linkages of total estrogenicity to field-observed intersex. *Water Research* 139: p. 187–197
- [2] Kidd, K.A. et al. (2007): Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104(21): p. 8897–901
- [3] Vermeirssen, E.L.M. et al. (2005): Characterization of the estrogenicity of swiss midland rivers using a recombinant yeast bioassay and plasma vitellogenin concentrations in feral male brown trout. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24(9): p. 2226–2233
- [4] De Baat, M.L. et al. (2019): Effect-based nationwide surface water quality assessment to identify ecotoxicological risks. *Water Research* 159: p. 434–443
- [5] Di Paolo, C. et al. (2016): Bioassay battery interlaboratory investigation of emerging contaminants in spiked water extracts – Towards the implementation of bioanalytical monitoring

## DANKSAGUNG

Zusätzlich zu den bereits im Übersichtsartikel [18] aufgelisteten Personen möchten die Autoren den folgenden Personen für ihre wertvollen Beiträge und/oder Kommentare danken: *Stephan Fischer* (aQuaTox Solutions Ltd, CH), *Kristin Schirmer* (Eawag, aQuaTox Solutions Ltd, CH), *Peter Behnisch*, *Emiel Felzel* (Biodetection Systems, NL), *Sergio Santiago* (Soluval Santiago, CH), *Dimitrios Spiliotopoulos*, *Cécile Koelbert* (Xenometrix AG, CH) und *Rébecca Beauvais*, *Sarah Bratschi*, *Carmen Casado-Martinez*, *Benoît Ferrari*, *Anne-Sophie Voisin*.

Diese Studie wurde durch das Bundesamt für Umwelt BAFU und das Oekotoxzentrum kofinanziert.

- tools in water quality assessment and monitoring. *Water Research* 104: p. 473–484
- [6] Escher, B.I. et al. (2014): Benchmarking organic micropollutants in wastewater, recycled water and drinking water with in vitro bioassays. *Environ. Sci. & Technol.* 48(3): p. 1940–56
- [7] Kienle, C. et al. (2015): Methoden zur Beurteilung der Wasserqualität anhand von ökotoxikologischen Biotests. Studie im Auftrag des BAFU. Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL, Dübendorf
- [8] Neale, P.A. et al. (2017): Development of a bioanalytical test battery for water quality monitoring: Fingerprinting identified micropollutants and their contribution to effects in surface water. *Water Research* 123: p. 734–750
- [9] Brack, W. et al. (2019): Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. *Environmental Sciences Europe* 31(1)
- [10] Altenburger, R. et al. (2019): Future water quality monitoring: improving the balance between exposure and toxicity assessments of real-world pollutant mixtures. *Environmental Sciences Europe* 31(1)
- [11] Brack, W. et al. (2017): Towards the review of the European Union Water Framework management of chemical contamination in European surface water resources. *Science of the Total Environment* 576: p. 720–737
- [12] Escher, B.I. et al. (2018): Effect-based trigger values for in vitro and in vivo bioassays performed on surface water extracts supporting the environmental quality standards (EQS) of the European Water Framework Directive. *Science of the Total Environment* 628–629: p. 748–765
- [13] Kienle, C. et al. (2018): Grobbeurteilung der Wasserqualität mit Biotests – Ökotoxikologische Biotests zur Beurteilung von abwasserbelasteten Gewässern. *Aqua & Gas* 4: p. 40–48
- [14] van der Oost, R. et al. (2017): SIMONI (smart integrated monitoring) as a novel bioanalytical strategy for water quality assessment: Part I-model design and effect-based trigger values. *Environmental Toxicology and Chemistry* 36(9): p. 2385–2399
- [15] De Baat, M.L. et al. (2020): Advancements in effect-based surface water quality assessment. *Water Research* 183: 116017
- [16] Casado-Martinez, C. et al. (2023): Évaluation de la qualité des sédiments par une batterie de bioessais. *Aqua & Gas* 4: p. 34–41
- [17] Voisin, A.-S. et al. (2023): Un outil biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'eau avec la truite de rivière. *Aqua & Gas* 4: p. 42–48
- [18] Kienle, C. et al. (2023): Ökotoxikologische Biotests und Biomarker zur Beurteilung der Wasser- und Sedimentqualität. *Aqua & Gas* 4: p. 18–22
- [19] Behnisch, P.A. et al. (2021): Developing potency factors for thyroid hormone disruption by PFASs using TTR-TRβ CALUX® bioassay and assessment of PFASs mixtures in technical products. *Environment International* 157
- [20] International Organization for Standardization (2012): Water quality – Determination of fresh water sediment toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda), ISO 14371:2012
- [21] Casado-Martinez, M.C. et al. (2016): The sediment-contact test using the ostracod *Heterocypris incongruens*: Effect of fine sediments and determination of toxicity thresholds. *Chemosphere* 151: p. 220–224
- [22] Cobb, J.P. et al. (1996): Mechanisms of cell injury and death. *British Journal of Anaesthesia* 77(1): p. 3–10
- [23] Van der Linden, S.C. et al. (2008): Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environmental Science and Technology* 42(15): p. 5814–5820
- [24] International Organization for Standardization (2019): Water quality – Determination of acute toxicity of water samples and chemicals to a fish gill cell line (RTgill-W1). ISO 21115:2019
- [25] Van der Linden, S.C. et al. (2014): Development of a panel of high-throughput reporter-gene assays to detect genotoxicity and oxidative stress. *Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 760: p. 23–32
- [26] Fent, K. (2013): Ökotoxikologie, Umweltchemie – Toxikologie – Ökologie. 4 ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag. 377
- [27] Pieterse, B. et al. (2013): PAH-CALUX, an optimized bioassay for AhR-mediated hazard identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as individual compounds and in complex mixtures. *Environmental Science and Technology* 47(20): p. 11651–11659
- [28] Alygizakis, N.A. et al. (2019): Characterization of wastewater effluents in the Danube River Basin with chemical screening, in vitro bioassays and antibiotic resistant genes analysis. *Environment International* 127: p. 420–429
- [29] International Organization for Standardization (2012): Water quality – Determination of the genotoxicity of water and waste water – Salmonella/microsome fluctuation test (Ames fluctuation test). ISO 11350
- [30] International Organization for Standardization (2008): Water quality – Determination of chronic toxicity to *Ceriodaphnia dubia*. ISO 20665:2008
- [31] OECD (2013): OECD Guideline for testing of chemicals 210: Fish, Early-life Stage Toxicity Test
- [32] Küster, E. (2005): Cholin- and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Danio rerio*) and their potential use for insecticide hazard assessment. *Aquatic Toxicology* 75(1): p. 76–85.
- [33] Kienle, C. (2005): Wirkung von unterschiedlichen Schadstoffen und Schadstoffkombinationen auf das Verhalten und die Vitalität des Zebraärlings (*Danio rerio*) mit und ohne zusätzlichen Umweltstress. Dissertation. Eberhard-Karls-Universität Tübingen
- [34] Kienle, C., et al. (2019): Effects of treated wastewater on the ecotoxicity of small streams – Unravelling the contribution of chemicals causing effects. *PLOS ONE* 14(12): e0226278
- [35] Kienle, C., et al. (2022): Evaluation of a full-scale wastewater treatment plant with ozonation and different post-treatments using a broad range of in vitro and in vivo bioassays. *Water Research* 212
- [36] Langer, M. et al. (2017): Hohe Ökotoxikologische Risiken in Bächen. *Aqua & Gas* 4: p. 58–68
- [37] Neale, P.A., et al. (2017): Integrating chemical analysis and bioanalysis to evaluate the contribution of wastewater effluent on the micropollutant burden in small streams. *Science of the Total Environment* 576: p. 785–795
- [38] Escher, B.; Neale, P.; Leusch, F. (2021): *Bioanalytical Tools in Water Quality Assessment*. IWA Publishing
- [39] De Baat, M.L. et al. (2020): Advancements in effect-based surface water quality assessment. *Water Research* 183: 116017
- [40] Junghans, M., Kunz, P.; Werner, I. (2013): Toxizität von Mischungen – Aktuelle praxisorientierte Ansätze für die Beurteilung von Gewässerproben. *Aqua & Gas* 5: p. 54–61
- [41] Doppler, T. et al. (2020): Mikroverunreinigungen im Gewässermonitoring. *Aqua & Gas* 7/8: p. 44–53.
- [42] Deanovic, L.A. et al. (2013): Comparing the effectiveness of chronic water column tests with the crustaceans *Hyalella azteca* (order: Amphipoda) and *Ceriodaphnia dubia* (order: Cladocera) in detecting toxicity of current-use insecticides. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32(3): p. 707–712