

Originalarbeiten

Entwicklung eines Sedimentbiotests mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* (Gastropoda: Prosobranchia)

Martina Duft¹, Michaela Tillmann¹, Ulrike Schulte-Oehlmann², Bernd Markert¹ und Jörg Oehlmann²

¹ Internationales Hochschulinstitut Zittau, Lehrstuhl Umweltverfahrenstechnik, Fachgruppe Ökotoxikologie, Markt 23, D-02763 Zittau

² Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Zoologisches Institut, Siesmayerstr. 70, D-60054 Frankfurt

Korrespondenzautorin: Dipl.-Biol. Martina Duft; e-mail: duft@ihi-zittau.de

DOI: <http://dx.doi.org/10.1065/uwsf2002.03.010>

Zusammenfassung. Derzeit bestehen nur wenige etablierte organismische Testverfahren zur Erfassung von reproduktionstoxischen Effekten, die eine Exposition gegenüber Gesamtsedimenten berücksichtigen. Ein hierfür gut geeigneter Testorganismus ist die parthenogenetische Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum*. Sie gehört zu den ovoviviparen (lebendgebärenden) Prosobranchiern und lebt in den obersten Schichten von Süß- und Brackwassersedimenten. Als empfindlicher Parameter zur Indikation reproduktionstoxisch wirkender Sedimentkomponenten erwies sich die Anzahl der (neugebildeten) Embryonen im Brutraum – dieser Endpunkt vermag zudem auf eventuell vorhandene östrogene Wirkstoffe im Sediment hinzuweisen. Mit Hilfe dieses 28 Tage umfassenden Biotests wurden in Laboruntersuchungen die Wirkungen verschiedener Umweltchemikalien, wie z.B. Triphenylzinn und Bisphenol A, auf *P. antipodarum* in umweltrelevanten Konzentrationsreihen getestet. Darüber hinaus wurde die Eignung des Biotests für die Ermittlung und Untersuchung der Wirkung komplexer Kontaminanten anhand von verschiedenen realen Flusssedimenten unterschiedlichen Belastungsgrades – aus Neiße und Oder – erprobt.

Schlagwörter: Biotests; Bioindikation; Bisphenol A; endokrine Disruptoren; Neiße; Oder; *Potamopyrgus antipodarum*; Prosobranchia; Sedimente; Triphenylzinn

Abstract. Development of a New Sediment Bioassay with the Freshwater Mudsnailed *Potamopyrgus antipodarum* (Gastropoda: Prosobranchia)

Currently, only few organismic biotest systems are available for the assessment of effects on reproduction, which consider an exposure toward whole sediments. A well-suited test organism is the parthenogenetic mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. This ovoviviparous prosobranch snail lives in the upper layers of freshwater and brackish sediments. The number of (unshelled) embryos turned out to be a very sensitive parameter for the indication of sediment components affecting reproduction. Additionally, this endpoint allows to signal possible estrogenic sediment compounds.

With this 28-day bioassay, laboratory tests on the effects of various chemicals on *P. antipodarum* were performed, e.g. triphenyltin and bisphenol A, in relevant environmental concentration ranges. Furthermore, the suitability of our test system for the investigation of complex and multiple level ranged contaminations was examined by means of various natural sediments from the Neiße and Odra rivers.

Keywords: Bioassays; bioindication; bisphenol A; endocrine disruption; Neiße; Odra; *Potamopyrgus antipodarum*; Prosobranchia; sediments; triphenyltin

Einleitung

Viele Schadstoffe, dabei insbesondere lipophile Kontaminanten, verfügen über die Eigenschaft, im Sediment, dem 'Gedächtnis des Wassers', zu akkumulieren. Diese Tatsache macht die Entwicklung von eigens dafür gestalteten Sediment-Biotests notwendig. Zur Erlangung belastbarer Testergebnisse für eine anschließende Interpretation und Risikobewertung empfehlen sich bei der Auswahl der Testorganismen vor allem sedimentbewohnende Arten. Im Gegensatz zu einem rein chemisch-analytischen Nachweis der Kontaminanten ermöglicht die Anwendung eines Biotests die Ermittlung der tatsächlichen Wirkung potenzieller Kontaminanten auf die Organismen selbst.

In den letzten Jahren wurden für zahlreiche Umweltchemikalien Studien veröffentlicht, die eine Beeinflussung des Hormonsystems bei Tieren (und Menschen) nahe legen

(de Fur et al. 1999). Diese auch als 'endokrine Disruptoren' bezeichneten hormonmimetischen Substanzen vermögen die Fortpflanzungsfähigkeit bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen negativ zu beeinflussen (Gist 1998). Dies kann gerade bei Wirbellosen weitreichende ökologische Folgen haben (Matthiesen und Gibbs 1998). In jüngster Zeit wurde verstärkt deutlich, dass insbesondere solche Testverfahren benötigt werden, welche die Identifizierung von endokrin wirksamen, geschlechtshormonähnlichen Substanzen ermöglichen. Vorderkiemerschnecken erwiesen sich dabei als besonders sensitive Organismen (Oehlmann et al. 2000, Schulte-Oehlmann et al. 2000a).

Anhand des hier vorgestellten Sediment-Biotests mit *Potamopyrgus antipodarum* soll beispielhaft die Wirkung von zwei umweltrelevanten Industriechemikalien (Bisphenol A (BPA), ein Xeno-Östrogen sowie das Xeno-Androgen Tri-

phenylzinn (TPhT)) auf die Fortpflanzungsfähigkeit der Zwergdeckelschnecke verdeutlicht werden. BPA zählt zu den Chemikalien, die weltweit quantitativ in größtem Umfang hergestellt werden (Heemken et al. 2000). Die bedeutendste Anwendung umfasst die Verwendung als Intermediat für die Kunststoffindustrie bei der Herstellung von Polycarbonaten und Epoxydharzen, jedoch wird die Verbindung auch als Bestandteil von Lebensmittelverpackungen eingesetzt (BUA 1997). Sedimente in der Elbe weisen Gehalte zwischen 66 und 343 µg BPA/kg (TG) auf (Heemken et al. 2000). Der $\log K_{OW}$ für BPA wird mit 2,2 bis 3,8 angegeben (BUA 1997, Staples et al. 1998), so dass davon auszugehen ist, dass diese Substanz ein moderates bis erhebliches Adsorptions- (an Sedimente) bzw. Akkumulationsvermögen (in Organismen) aufweist. TPhT wurde hauptsächlich in der Landwirtschaft als Fungizid (Brestan®) u.a. gegen Kartoffelfäule eingesetzt, und es fand sich zumindest früher auch als Bestandteil von Antifoulingfarben in der Schifffahrt wieder. Der $\log K_{OW}$ für TPhT wird mit 4,1 angegeben, d.h. es handelt sich also, auch im Vergleich zu BPA, um eine sehr lipophile Substanz und eine entsprechend starke Akkumulation in Sedimenten und Organismen ist zu erwarten (Fent 1996). Elbsedimente weisen Konzentrationen von <1 bis 15 µg TPhT-Sn/kg auf (Krinitz et al. 1999) und in der Schweiz wurden Sedimentgehalte von 18–2.690 µg TPhT-Sn/kg gemessen (Becker et al. 1992, Becker-Van Slooten und Tarradellas 1995). Auf EU-Ebene wird derzeit eine Risikobewertung für beide Substanzen durchgeführt, bei der neben den Wirkungen auf Wirbeltiere auch die Effekte auf Wirbellose berücksichtigt werden sollen.

Neben der Durchführung von Monosubstanztests mit ausgewählten Substanzen soll zudem die Eignung des Biotests an realen Freilandproben untersucht werden.

1 Material und Methoden

Die Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* gehört zur Klasse der Gastropoda, Unterklasse Prosobranchia (Vorderkiemerschnecken), Familie Hydrobiidae. Diese Schnecke ist bereits seit mehr als 100 Jahren in Europa heimisch, wobei sie jedoch streng genommen eine Neozoe in europäischen Gewässern darstellt. In der Mitte des 19. Jahrhunderts wurden Individuen aus Neuseeland mit dem Ballastwasser von Handelsschiffen nach Europa eingeschleppt, wo sie sich seitdem erfolgreich ausbreiten. Das Ursprungsland, die neuseeländischen Inseln (oder Antipoden) gaben dieser Art ihren Namen. In Europa wurde *P. antipodarum* jedoch zunächst unter dem Synonym *P. jenkinsi* bekannt (Ponder 1988).

Obwohl sich *P. antipodarum* in ihrem Herkunftsland auch biparental vermehren kann, bestehen die Populationen in Europa ausschließlich aus Weibchen, und männliche Exemplare werden nur äußerst selten gefunden (Falniowski 1979, Wallace 1979). Die Fortpflanzung erfolgt hier parthenogenetisch. In Neuseeland hingegen kommen beide Geschlechter gleichermaßen vor, wobei biparentale und parthenogenetische Populationen sympatrisch auftreten. Die Zwergdeckelschnecke bringt vollentwickelte Jungtiere zur Welt

(Ovoviviparie). Die bei vielen weiblichen Vorderkiemerschnecken charakteristische Kapseldrüse ist bei dieser Art zugunsten eines Brutraums modifiziert, in dem die Embryonen zunächst vor störenden Umwelteinflüssen relativ geschützt heranwachsen können. Im Brutraum finden sich Embryonen unterschiedlichster Entwicklungsstadien, wobei die Nachkommen immer so angeordnet sind, dass sich die ältesten Tiere nahe der Vaginalöffnung und die jüngeren, weniger weit entwickelten Exemplare weiter proximal (näher zum Zentrum gelegen) befinden (Abb. 1). Die Jungtiere werden schließlich durch die Vaginalöffnung in die Mantelhöhle und von dort nach außen entlassen. An vielen Fundorten tritt *P. antipodarum* in hohen Dichten, bis zu 24.000 Individuen/m² (Frenzel 1979), auf. Für die rasche und flächendeckende Ausbreitung ist dabei die besondere Fortpflanzungsstrategie von großem Vorteil: Bereits ein Weibchen reicht aus, um eine neue Population aufzubauen. Zudem ist die Zwergdeckelschnecke äußerst widerstandsfähig und vermag sogar die Passage durch einen Vogeldarm unbeschadet zu überstehen, was wiederum für die weitere Verbreitung von Vorteil ist.

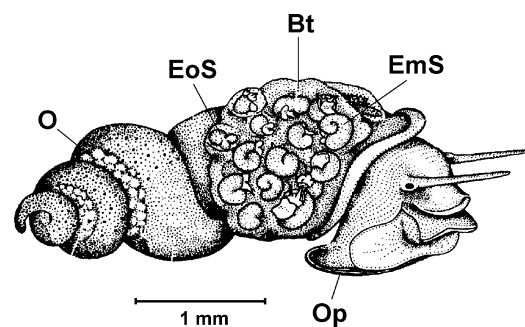


Abb. 1: *Potamopyrgus antipodarum* (Weibchen) nach dem Entfernen der Schale (verändert nach Fretter und Graham, 1994). O Ovar, Bt Brutraum, EoS Embryo ohne Schale, EmS Embryo mit Schale, Ed Eiweißdrüse, Op Operculum

Die Schalenhöhe der adulten Schnecken erreicht bis zu 6 mm. Die Zwergdeckelschnecke lebt in den oberen Schichten aquatischer Sedimente und ernährt sich von Pflanzen und Detritus. Während Trocken- oder Kälteperioden lebt diese Art komplett im Sediment eingegraben, um sich zu schützen. *P. antipodarum* findet sich nicht nur in limnischen Milieus, sondern tritt als euryhaline (salztolerante) Art auch in einigen Bereichen der Ostsee in Koexistenz mit anderen Hydrobiiden (Wattschnecken) vergesellschaftet auf.

Die hier vorgestellten Resultate berücksichtigen sowohl Expositionsversuche gegenüber Triphenylzinn und Bisphenol A in verschiedenen Konzentrationen, die künstlichen Sedimenten zugegeben wurden, als auch mit Freilandsedimenten aus Neisse und Oder. Für TPhT wurden 7 verschiedene Testansätze mit Konzentrationen von 10 bis 500 µg TPhT-Sn/kg nominal, für BPA 5 verschiedene Testansätze mit Konzentrationen von 1 bis 300 µg BPA/kg nominal analysiert. Um die Eignung des Tests für Freilanduntersuchungen zu überprüfen, wurden insgesamt 22 Sedimente aus der Neisse und der Oder untersucht. Die Beprobung erfolgte in etwa alle 20

km von der tschechisch-deutschen Grenze bei Zittau bis hin zur Mündung in die Ostsee bei Stettin. Von der Oder wurden sowohl auf deutscher, als auch auf polnischer Seite Sedimentproben genommen. Für diese Sedimente wurde zudem der Gehalt an Schwermetallen (DIN 38406 E 29, 1996), die Summe der EPA-PAK (DIN 38414 S 21, 1996) sowie die mittlere Korngröße durch Trockensiebung (DIN 66165, 1987) bestimmt.

Für unsere Versuche wurden Tiere eines im Jahre 2000 eingerichteten Brutstocks mit gesammelten Exemplaren aus dem Gievenbach bei Ibbenbüren, Münsterland, verwendet. Die Schnecken wurden in 10 l-Aquarien in einem Medium gehältert, dessen Zusammensetzung weitgehend an die natürlichen Bedingungen des Umgebungswassers im Gievenbach angepasst wurde (0,5 g NaHCO₃, 5 g CaCO₃ und 5 g Mineralsalz auf 10 l Aqua dest., Milli Q RG[®] und Milli RO plus[®], Millipore GmbH, Eschborn), und zwei- bis dreimal wöchentlich mit ca. 5 g/Aquarium einer gut zerkleinerten Mischung aus Tetra Phyll[®] und Fish Tamin[®] gefüttert. Ein zusätzlicher wöchentlicher Zusatz von 1 ml einer gesättigten Calciumcarbonat-Lösung diente dazu, ein ungestörtes Schalenwachstum zu ermöglichen.

Die Tests wurden in 1 l-Erlenmeyerkolben als statische Systeme (ohne Erneuerung des Wassers) durchgeführt. Die Belüftung erfolgte über Glaspipetten. Alle Versuche fanden unter konstanten Bedingungen bei 15 ± 1°C in einem klimatisierten Versuchsraum statt, wobei der Hell-Dunkel-Zyklus auf 16:8 h angepasst war. Pro Ansatz wurden 50 g Sediment (Trockengewicht) in das Testgefäß gegeben und mit 1 l Medium überschichtet. In dem sich anschließenden Zeitraum von ca. 4 Tagen wurde die Gleichgewichtseinstellung der Verteilung der Schadstoffe zwischen Wasser- und Sedimentphase angenommen. Auf einen längeren Zeitraum wurde verzichtet, um photochemische und mikrobiologische Abbauprozesse der Testsubstanzen zu minimieren. Nach diesem Zeitraum wurden jeweils 80 adulte Zwergdeckelschnecken in die Testgefäße eingesetzt und sukzessive nach 2, 4 und 8 Wochen (ausschließlich nach 4 Wochen für Freiland-sedimente) jeweils 20 Individuen pro Ansatz untersucht. Zu Beginn des Experiments erfolgte ebenfalls eine Untersuchung.

Ein geeignetes artifizielles Sediment aus 95% Quarzsand (F 36, Quarzwerke GmbH, Frechen) und 5% Buchenlaub (*Fagus sylvatica*, aus dem Nationalpark Rügen, grob gemahlen in einer Espressomühle, Siemens MC 23, München) diente als Kontrollsediment bzw. wurde für das Spiken der Testsubstanzen verwendet. Für das Spiken wurden jeweils 2 ml einer ethanolischen Lösung der zu testenden Konzentration auf das Kunstsediment appliziert und durch Rühren gut homogenisiert. Zum Abdampfen des Lösemittels wurden die Ansätze anschließend für 2–3 Tage im Dunklen inkubiert. Bei Monosubstanztestungen wurde zusätzlich eine Lösemittel- (100% Ethanol) und ggf. auch eine Positivkontrolle (z.B. Ethinylöstradiol für Östrogene) angesetzt.

Vor der Untersuchung wurden die Tiere für 90 Minuten narkotisiert (2,5% MgCl₂-Lösung in destilliertem Wasser). Die individuelle Schalen- und Mündungshöhe wurde unter

dem Stereomikroskop mit Hilfe eines Messokulars auf 0,05 mm genau bestimmt, die Schale dann mit einem kleinen Schraubstock aufgebrochen und die Bruchstücke vorsichtig mit feinen Pinzetten und einem kleinen Pinsel vom Weichkörper entfernt, der in Abb. 1 dargestellt ist. Nun wurde der Brutraum vorsichtig eröffnet und die Anzahl neugebildeter Embryonen (ohne Schale) sowie reiferer Embryonen (mit Schale) bestimmt. Die Embryonen sind aufgrund des durchscheinenden Epithels des Brutsackes gut sichtbar. Um zu gewährleisten, dass kein Embryo übersehen wird, wurde die Bruthöhle ausgeräumt. Das äußere Erscheinungsbild der Geschlechtsorgane bzw. Drüsen wurde überprüft und ihre Ausdehnung auf 0,1 mm genau vermessen. Das Auftreten von Oozyten im Ovidukt sowie der Reifezustand des Ovars wurden ebenfalls protokolliert. Gleichzeitig wurde die eventuelle Mortalität in den Testansätzen erfasst.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Programms Prism[®], Version 2.01 (GraphPad Software, San Diego, USA) für Windows NT. Für jeden Ansatz wurden Mittelwert und Standardfehler (SEM) für die jeweiligen untersuchten Parameter aus 20 individuell bestimmten Einzelwerten berechnet. Um Unterschiede zwischen den Ansätzen bzw. im Vergleich zur Kontrolle festzustellen, wurden Ein-Wege-ANOVAs mit anschließendem Vergleich der Mittelwerte nach Tukey durchgeführt und die jeweiligen NOEC- und LOEC-Werte bestimmt. Nichtlineare Regressionen und entsprechende Effektkonzentrationen (EC₁₀ bzw. EC₅₀) wurden unter Verwendung eines reparameterisierten Weibull-Modells berechnet (Weltje 2002).

2 Ergebnisse und Diskussion

2.1 Effekte von Triphenylzinn auf die Embryonenproduktion

Es wurden 7 verschiedene Testansätze mit Konzentrationen von 10 bis 500 µg TPhT-Sn/kg nominal untersucht. Nach 4 Wochen Exposition (nicht dargestellt) war vor allem in den niedrigen Konzentrationen ein Rückgang der Embryonenproduktion (bis zu 75%) festzustellen, nicht jedoch in den höchsten Konzentrationen. **Abb. 2** zeigt die Ergebnisse nach 8-wöchiger Exposition gegenüber den gespikten Sedimenten. Dargestellt sind die Effekte auf die neugebildeten Embryonen.

TPhT bewirkte in allen getesteten Konzentrationen einen drastischen und signifikanten, konzentrationsabhängigen Rückgang der Embryonenproduktion im Vergleich zur Lösemittelkontrolle (ANOVA, $p < 0,05$). Der LOEC-Wert entsprach somit der niedrigsten getesteten Konzentration von 10 µg TPhT-Sn/kg, ein NOEC-Wert konnte in diesem Fall nicht bestimmt werden. Die Berechnung des EC₅₀ ergab einen Wert von 0,72 µg TPhT-Sn/kg.

2.2 Effekte von Bisphenol A auf die Embryonenproduktion

Es wurden 5 verschiedene Testansätze mit Konzentrationen von 1 bis 300 µg BPA/kg nominal untersucht. **Abb. 3** zeigt die Ergebnisse nach bereits 4-wöchiger Exposition gegenüber den gespikten Sedimenten. Dargestellt sind wiederum die Effekte auf die neugebildeten Embryonen.

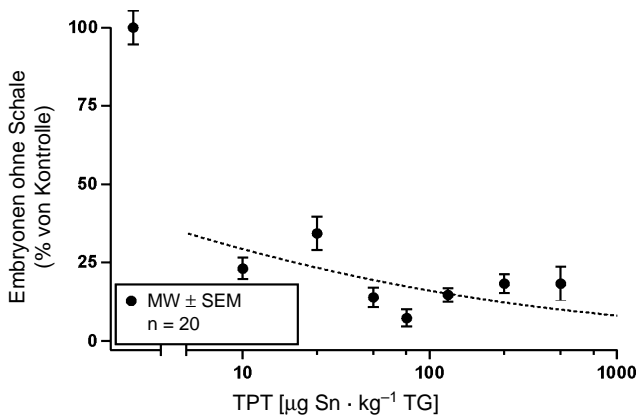


Abb. 2: Effekte verschiedener Konzentrationen von TPhT im Sediment ($\mu\text{g TPhT-Sn/kg}$): Anzahl der Embryonen (ohne Schale) von *P. antipodarum* in % der Anzahl in der Lösemittelkontrolle ($\text{MW} \pm \text{SEM}$) nach 8-wöchiger Exposition ($n = 20$). - - - Regressionslinie einer nichtlinearen Regression

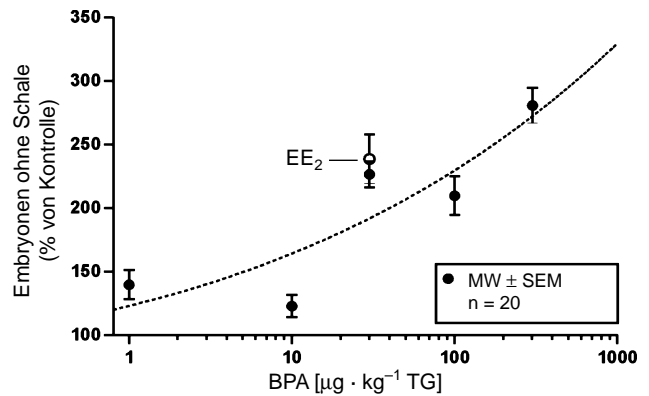


Abb. 3: Effekte verschiedener Konzentrationen von BPA im Sediment ($\mu\text{g BPA/kg}$): Anzahl der Embryonen (ohne Schale) von *P. antipodarum* in % der Anzahl in der Lösemittelkontrolle ($\text{MW} \pm \text{SEM}$) nach 4-wöchiger Exposition ($n = 20$). - - - Regressionslinie einer nichtlinearen Regression. o Resultat der Positivkontrolle Ethinylöstradiol (EE_2)

BPA bewirkte in allen getesteten Konzentrationen einen signifikanten und konzentrationsabhängigen Anstieg der Embryonenproduktion im Vergleich zur Lösemittelkontrolle ab einer Konzentration von $30 \mu\text{g BPA/kg}$ (ANOVA, $p < 0,05$). Ein 50%iger Anstieg des Effektes in der Kontrolle wurde für eine Konzentration von $5,2 \mu\text{g BPA/kg}$ graphisch ermittelt. Der LOEC-Wert entsprach in dieser Versuchsreihe der Konzentration von $30 \mu\text{g BPA/kg}$, der NOEC-Wert lag bei $10 \mu\text{g BPA/kg}$. Für die höheren Konzentrationen wurde eine Steigerung der Embryonenproduktion um 100 bis 200% beobachtet. Als Positivkontrolle wurde Ethinylöstradiol, ein potentes Östrogen, verwendet. Auffallend ist der nahezu identische Effekt von Ethinylöstradiol und BPA bei einer Konzentration von $30 \mu\text{g/kg}$. Die Untersuchung nach 8-wöchiger Exposition (nicht abgebildet) ergab einen Anstieg der Embryonenproduktion auch für die beiden niedrigsten Konzentrationen von 1 und $10 \mu\text{g BPA/kg}$ um bis zu 150%.

2.3 Ergebnisse des Oder-Neiße-Monitorings

Insgesamt wurden 22 Sedimente aus der Neiße und der Oder untersucht. Von der Oder wurden sowohl auf deutscher, als auch auf polnischer Seite Sedimentproben genommen. **Abb. 4** zeigt die Ergebnisse des Oder-Neiße-Monitorings, wobei jeweils die Hemmwerte der Gesamtembryonzahl in % im Vergleich zum Kontrollsediment nach 4-wöchiger Exposition dargestellt sind. Die Einteilung der Sedimente in 5 ökologische Zustandsklassen anhand der Hemmung der Embryonzahl bei *P. antipodarum* erfolgte in Anlehnung an die EU-Wasserrahmenrichtlinie (Europäische Gemeinschaft 1999), wonach Klasse 3 einen signifikant veränderten, mäßig anthropogen beeinflussten ökologischen Zustand bezeichnen soll. Klasse 1 gibt die ungefähre Hintergrundbelastung und damit einen sehr guten ökologischen Zustand wieder. Die ökologische Zustandsklasse 2 (gut) ist durch geringe Abweichungen vom Normalzustand gekennzeichnet und stellt das Schutzziel dar. Stärkere Veränderungen der biologischen Qualitätskomponenten werden der Klasse 4 (unbefriedigender ökologischer Zustand), erhebliche Veränderungen der Klasse 5 (schlechter ökologischer Zustand) zugeordnet.

Wie **Abb. 4** zeigt, war für die Neiße vor allem nahe der tschechischen Grenze (N1) eine stärkere Hemmung der Embryonenzahl zu beobachten, weiter auch bei Pechern (N 6) und Forst (N 9) nach dem Zufluss der Legnitzka. Die Stelle Ratzdorf wurde sowohl vor, als auch nach dem Zusammenfluss von Neiße (N 10) und Oder (O 11) beprobt. Deutlich erkennbar war hier die Reaktion der Zwergdeckelschnecken auf den möglichen Einfluss von Schadstoffen aus der polnischen Oder. Nach Eisenhüttenstadt (O12–15) traten ebenfalls starke Hemmungen der Embryonenzahl auf, möglicherweise durch den Zufluss des stark kontaminierten Oder-Spree-Kanals. Bei Kietz/Kostrzyn (O 20) lässt sich ein Einfluss der stark belasteten Warta auf das Testergebnis vermuten. In der Regel riefen die Sedimente der Probestellen auf deutscher Seite weniger starke Hemmungen hervor – ausschließlich bei Frankfurt/Slubice (O 16) war das Sediment der polnischen Seite unauffälliger. Die stärkste Wirkung zeigte das Sediment aus Groß-Neuendorf (O 21) und wird somit als einziges der höchsten ökologischen Zustandsklasse 5 zugeordnet. Hinweise auf ein östrogenes Potenzial

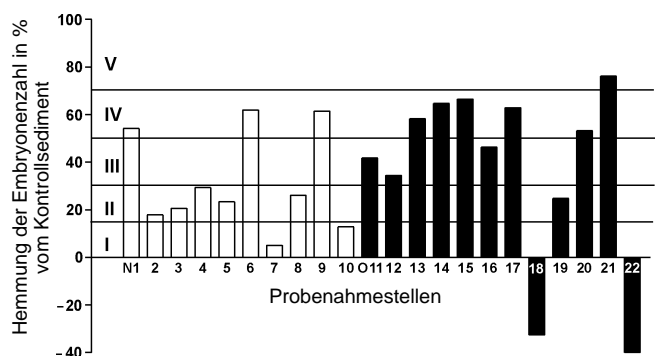


Abb. 4: Ergebnisse des Biomonitorings mit *P. antipodarum* an Sedimenten aus Neiße und Oder: Hemmwerte der Gesamtembryonzahl in % der Gesamtembryonzahl im Kontrollsediment nach 4-wöchiger Exposition. 1–22: Nummerierung der Probenahmestellen, ausgehend von der tschechischen Grenze bis zur Mündung in die Ostsee. Helle Säulen bezeichnen Probestellen aus der Neiße (N), dunkle Säulen Odersedimente (O). I–V: ökologische Zustandsklassen gemäß EU-WRRL (1999)

der Sedimente zeigten sich für die Sedimente aus Lebus (D, O 18) und Hohenwutzen (O 22).

Es ist zu beachten, dass ein Rückgang der Embryonenzahl nicht nur durch Androgene, sondern auch durch andere Stressoren wie Schwermetalle, PAK etc. ausgelöst werden kann (Oetken 1999). Beobachtet wird bei Freilanduntersuchungen sozusagen der 'Nettoeffekt'. Zudem ist bei realen Umweltpollen auch stets der Einfluss anderer Parameter, wie z. B. Korngröße, organischer Kohlenstoffgehalt, Salinität, Temperatur etc. zu berücksichtigen. Der Einfluss dieser abiotischen Sedimentparameter wurde in weiteren Versuchsreihen bereits untersucht und soll an anderer Stelle beschrieben werden. Es zeigte sich dabei, dass die Testergebnisse kaum durch diese Parameter beeinträchtigt werden.

Tabelle 1 gibt daher zudem die Schwermetall-Gehalte sowie deren Einteilung in Belastungsklassen nach Wachs (1991) und LAWA (1998), die Summe der EPA-PAK, den TOC-Gehalt und die mittlere Korngröße für die untersuchten Probestellen an. Zumeist sind gute Übereinstimmungen zwischen Schadstoffgehalten und Hemmungen der Embryonenzahl zu erkennen. Beobachtete Unterschiede, z.B. zwischen geringen Wirkungen im Biotest und relativ hohen analytisch bestimmten Schadstoffkonzentrationen, können darauf zurückzuführen sein, dass gemessene Schadstoffe nicht bioverfügbar (beispielsweise durch einen hohen organischen Kohlenstoffgehalt oder Feinpartikelgehalt gebunden) vorliegen. Es muss auch berücksichtigt werden, dass ein sehr geringer

Gehalt an organischem Kohlenstoff ein ungünstiges Nahrungsangebot abbildet. Für den Fall, dass nur niedrige Schadstoffgehalte bestimmt wurden, aber eine starke Wirkung im Biotest vorlag, kann eine Vielzahl von anwesenden Verbindungen verantwortlich sein, die analytisch nicht bestimmt wurden. Zudem besteht die Möglichkeit von additiven oder synergistischen Wirkungen verschiedener Kontaminanten.

3 Schlussfolgerungen und Ausblick

Im Weiteren ist folgendes Untersuchungsprogramm geplant: Zum einen sollen weitere Verdachtssubstanzen getestet werden, wie z.B. Nonyl- und Octylphenol sowie verschiedene Fungizide. Zum anderen werden Substanzgemische aus Östrogenen und Androgenen untersucht werden, um Informationen über Wechselwirkungen der Substanzen zu gewinnen. Schließlich sollen noch weitere Freilandsedimente aus Donau und Rhein getestet werden, um diese zu charakterisieren.

Die bisherigen Testergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass *P. antipodarum* einen guten Indikator für allgemeine Gewässerbelastungen darstellt, Aussagen zur Substanzspezifität von Effekten allerdings nur eingeschränkt zulässt. Aufgrund der in den bisherigen Versuchsreihen erzielten Ergebnisse ist eine Untersuchung der Schnecken nach 4 und zusätzlich nach 8 Wochen zu empfehlen. Als vielversprechender Endpunkt im Test kann die Anzahl der Embryonen gewertet werden, wobei die Anzahl der neugebildeten Embryonen ohne Schale den empfindlichsten Parameter darstellt.

Tabelle 1: Zusammenstellung der gemessenen Schwermetallgehalte [$\mu\text{g/g}$] in den Sedimenten der jeweiligen Probestellen aus Neiße (N) und Oder (O) sowie die ermittelten Belastungsklassen (BK) nach Wachs (1991) bzw. LAWA (1998), der gemessenen PAK-Gehalte als Summe der 16 EPA-PAK [$\mu\text{g/g}$], des organischen Kohlenstoffgehalts (TOC in %) und der mittleren Korngröße (KG) sowie deren Einteilung in Kornklassen nach Schwoerbel (1994); MS: Mittelsand, GS: Grobsand

Nr.	Probestelle	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	BK Wachs	BK LAWA	PAK	TOC (%)	KG (μm)	Kornklasse
N1	Hartau	0,86	35,8	38,2	24,6	90,7	138	2,2	1,3	4,44	1,37	574	MS
N2	Zittau vor Kläranlage	0,96	64,3	55,0	37,6	63,9	461	2,5	2,0	4,32	2,17	352	MS
N3	Zittau nach Kläranlage	0,81	47,8	48,2	34,6	64,9	436	2,3	2,0	7,16	1,45	349	MS
N4	Ostritz Marienthal	0,67	36,9	31,8	20,9	40,2	150	2,1	1,3	3,11	0,74	407	MS
N5	Görlitz	1,27	65,7	47,3	37,4	61,6	285	2,5	2,0	7,45	3,30	458	MS
N6	Pechern	0,09	5,98	2,92	5,79	7,47	22,7	1,5	1,0	0,10	0,14	748	GS
N7	Rothenburg	0,29	15,0	9,37	11,8	16,5	49,3	1,8	1,0	1,10	0,69	418	MS
N8	Bad Muskau	0,46	37,9	27,6	12,9	82,6	151	2,2	1,3	1,97	0,90	393	MS
N9	Forst (Grießen)	0,15	9,32	6,93	8,84	10,6	41,2	1,8	1,0	0,60	0,41	529	MS
N10	Ratzdorf	0,08	7,80	2,20	7,75	5,91	31,6	1,7	1,0	0,28	0,21	486	MS
O11	Ratzdorf	0,19	9,77	6,19	7,77	10,9	32,8	1,6	1,0	0,28	0,38	369	MS
O12	Eisenhüttenstadt	3,33	86,8	105	35,3	120	633	2,8	2,8	5,87	1,12	252	MS
O13	Eisenhüttenstadt (PL)	1,16	24,9	22,9	13,3	35,1	214	2,1	1,5	2,38	3,26	282	MS
O14	Aurith	0,42	19,3	11,4	7,95	15,7	88,5	1,8	1,0	1,87	0,65	479	MS
O15	Aurith (PL)	5,56	107	286	46,3	272	977	2,9	4,0	9,97	3,72	1103	GS
O16	Frankfurt/Oder (PL)	0,34	10,4	8,46	11,8	24,0	110	1,8	1,0	0,23	0,19	1406	GS
O17	Frankfurt/Oder	0,39	13,6	8,67	9,72	19,1	122	1,8	1,0	1,67	0,76	714	GS
O18	Lebus	0,24	9,54	6,33	6,14	12,7	65,6	1,7	1,0	1,63	0,31	750	GS
O19	Kietz	0,49	20,2	12,3	10,8	23,4	124	2,0	1,0	1,48	3,26	382	MS
O20	Kietz (PL)	3,61	96,1	110	39,2	118	859	2,8	3,0	5,64	0,87	340	MS
O21	Groß-Neuendorf	0,43	14,0	13,2	7,96	24,8	104	1,8	1,0	1,39	0,77	448	MS
O22	Hohenwutzen (PL)	0,17	5,72	2,47	3,97	7,71	9,82	1,4	1,0	0,17	0,20	226	MS

Den in den hier vorgestellten Versuchsreihen ermittelten Effektkonzentrationen (LOEC von 30 µg BPA/kg bzw. 50%iger Anstieg der Embryonenzahl im Vergleich zur Kontrolle bei 5,2 µg BPA/kg) stehen Umweltkonzentrationen im Bereich von 66–343 µg BPA/kg gegenüber. Analog erwiesen sich auch die Effektkonzentrationen für TPhT (LOEC von 10 µg TPhT-Sn/kg, EC₅₀ von 0,72 µg TPhT-Sn/kg) im Vergleich zu Umweltkonzentrationen im Bereich von 18–2690 µg TPhT-Sn/kg als äußerst niedrig. *P. antipodarum* reagiert somit besonders empfindlich auf die getesteten Substanzen.

Diese hohe Sensitivität gegenüber Testsubstanzen in Labor-experimenten sowie eine gute Abbildung der Wirkungen komplexer Belastungen in Freiland-sedimenten kennzeichnen die Zwergdeckelschnecke *P. antipodarum* als vielversprechenden Testorganismus für ein zukünftiges Effektmonitoring, wie auch bereits Untersuchungen an Sedimenten der Elbe sowie an Hamburger Hafensedimenten gezeigt haben (Duft et al. 2000, Schulte-Oehlmann et al. 2000b). Ebenso geeignet erscheint der Test für einen Einsatz als Standardtest zur Sedimentbewertung, der zudem ein Grobscreening für eine Auswahl an endokrin wirksamen Substanzen erlaubt.

Danksagung. Wir danken Simone Ziebart, Ulrike Schneider und Marika Goth für die tatkräftige Unterstützung bei der Schneckenbetreuung, der Bestimmung des organischen Kohlenstoffgehalts und bei der Korngrößenbestimmung, Heike Heidenreich, Gerlinde Liepelt und Petra Jork für die Element- und PAK-Analytik sowie Lennart Weltje für hilfreiche Diskussionen. Für Unterstützung bei der Sedimentprobenahme danken wir dem Umweltbundesamt, des Landesumweltamt Brandenburg und Anna Pyka. Auch den anonymen Gutachtern sei für ihre Kommentare gedankt.

Literatur

- Becker K, Merlini L, de Bertrand N, de Alencastro LF, Tarradellas J (1992): Elevated levels of organotins in Lake Geneva: bivalves as sentinel organism. *Bull Environ Contam Toxicol* 48, 37-44
- Becker-Van Slooten K, Tarradellas J (1995): Organotins in Swiss lakes after their ban: assessment of water, sediment, and *Dreissena polymorpha* contamination over a four-year period. *Arch Environ Contam Toxicol* 29, 384-392
- BUA (1997): Bisphenol A (2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)propan). Stoffbericht 203 des Beratergremiums für umweltrelevante Altstoffe (BUA). Hirzel, Stuttgart
- DIN 66165 (1987): Bestimmung der Partikelgrößenverteilung eines dispersen Gutes durch Siebanalyse. In: Fachgruppe Wasserchemie der GDCh und Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (ed): Deutsche Verfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Band 1 VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo u. Beuth Berlin, Wien, Zürich
- DIN 38406 E 29 (1996): Bestimmung von 61 Elementen durch Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS). In: Fachgruppe Wasserchemie der GDCh und Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (ed): Deutsche Verfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Band 1. VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo & Beuth, Berlin, Wien, Zürich
- DIN 38414 S 21 (1996): Bestimmung von 6 polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). In: Fachgruppe Wasserchemie der GDCh und Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (ed): Deutsche Verfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Band 1. VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo & Beuth, Berlin, Wien, Zürich
- De Fur PL, Crane M, Ingersoll C, Tattersfield L (eds) (1999): Endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testing and assessment. *Proceedings of the Workshops on Endocrine Disruption in Invertebrates*, 12-15 December 1998, Noordwijkerhout, The Netherlands. SETAC Press, Pensacola
- Duft M, Tillmann M, Schulte-Oehlmann U, Oehlmann J (2000): Akut- und Reproduktionstoxizitätstest mit *Potamopyrgus antipodarum* und Test mit *Hinia (Nassarius) reticulata* zur Erfassung des androgenen Potenzials in Hamburger Gewässersedimenten. *Forschungsbericht für die Umweltbehörde Hamburg*, Auftrags-Nr. H21-583, 23 S
- Europäische Gemeinschaft (1999): Gemeinsamer Standpunkt (EG) Nr. 41/1999 – Richtlinie zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, C 343/1-72
- Falniowski A (1979): A male of *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith 1889) in Poland. *Basteria* 43, 109-111
- Fent K (1996): Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit Rev Toxicol* 26, 1-117
- Frenzel P (1979): Untersuchungen zur Biologie und Populationsdynamik von *Potamopyrgus jenkinsi* (Smith) (Gastropoda: Prosobranchia) im Litoral des Bodensees. *Arch Hydrobiol* 85, 448-464
- Fretter V, Graham A (1994): *British prosobranch molluscs. Their functional anatomy and ecology*. Ray Society, London
- Gist GL (1998): National Environmental Health Association position on endocrine disrupters – adopted July 2, 1997. *J Environ Health* 60, 21-23
- Heemken OP, Theobald N, Heibel H, Stachel B (2000): Endokrin wirksame Stoffe in der Elbe, in Nebenflüssen und in der Nordsee. *Forschungsbericht für die Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (ARGE)*, Hamburg
- Krinitz J, Stachel B (1999): Herkunft und Verteilung von Organozinnverbindungen in der Elbe und in Elbenebenflüssen. *Forschungsbericht für die Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (ARGE)*, Hamburg
- Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) (1998): Beurteilung der Wasserbeschaffenheit von Fließgewässern in der Bundesrepublik Deutschland – Chemische Gewässergüteklassifikation. *Kulturbuchverlag*, Berlin
- Matthiesen P, Gibbs PE (1998): Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environ Toxicol Chem* 17, 37-43
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Markert B (2000): Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology* 9, 383-397
- Oetken M (1999): Biologisches Effektmonitoring zur Überwachung gering bis kritisch belasteter Fließgewässer am Beispiel der Neiße unter besonderer Berücksichtigung von Schwermetallen. *Dissertation*, Internationales Hochschulinstitut Zittau, 168 S
- Ponder WF (1988): *Potamopyrgus antipodarum* – a molluscan coloniser of Europe and Australia. *J Moll Stud* 54, 271-285
- Schulte-Oehlmann U, Duft M, Tillmann M, Markert B, Oehlmann J, Stachel B (2000a): Biologisches Effektmonitoring an Sedimenten der Elbe mit *Potamopyrgus antipodarum* und *Hinia (Nassarius) reticulata* (Gastropoda, Prosobranchia). *Forschungsbericht für die Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (ARGE)*, Hamburg, 46 S
- Schulte-Oehlmann U, Watermann B, Tillmann M, Scherf S, Markert B, Oehlmann J (2000b): Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part II: Triphenyltin as a xeno-androgen. *Ecotoxicology* 9, 399-412
- Schwoerbel J (1994): *Methoden der Hydrobiologie, Süßwasserbiologie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, 231 S
- Staples CA, Dorn PB, Klecka GM, O'Block ST, Harris LR (1998): A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere* 36, 2149-2173
- Wachs B (1991): Ökobilanz der Schwermetallbelastung von Fließgewässern. In: Mühlhölzl W (ed): *Aktuelle chemische und biologische Wasser- und Schlammanalytik: Anwendung, Ergebnisse und deren ökologische Bewertung*. Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie, 45. Oldenbourg-Verlag, München, Wien, S 295-335
- Wallace C (1979): Notes on the occurrence of males in populations of *Potamopyrgus jenkinsi*. *J Moll Stud* 45, 61-67
- Weltje L (2002): Bioavailability of lanthanides to freshwater organisms – speciation, accumulation and toxicity. PhD Thesis, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands

Eingegangen: 21. 11. 2001 · Akzeptiert: 08. 03. 2002
OnlineFirst: 19. 03. 2002