Almut Gerhardt, Kerstin Quindt

Abwassertoxizität und -überwachung mit den Bachflohkrebsen *Gammarus pulex* (L.) und *Gammarus tigrinus* (Sexton) (Crustacea: Amphipoda)

Waste water toxicity and bio-monitoring with *Gammarus pulex* (L.) und *Gammarus tigrinus* (Sexton) (Crustacea: Amphipoda)

Zusammenfassung

Die Toxizität von Abwasser einer kommunalen Kläranlage an verschiedenen Reinigungsschritten wurde mit zwei Arten von *Bachflohkrebsen (G. pulex, G. tigrinus)* in Kurzzeitexpositionen ermittelt. Die LC_{50} (96 h) des mechanisch vorgeklärten Rohabwassers entsprach einer Verdünnung von 1:12,5 *(G. tigrinus)* bzw. 1:40 *(G. pulex)*. *G. tigrinus* zeigte Verhaltensänderungen bei Verdünnungsstufen von < 1:250 in Form von gesteigerter Lokomotion (1:100 bis 1:50), Abnahme der Lokomotion und Ventilation (1:25 bis 1:10). Die LC_{50} (48 h) des Filtrats aus der Kammerfilterpresse entsprach für *G. tigrinus* einer Verdünnung von 1:12,5 (45,0 mg NH_4^+/l), bei reinem Ammonium von 1:12,5, entsprechend einer Konzentration von 30 mg NH_4^+/l. Bei der kontinuierlichen Überwachung des Kläranlagenablaufes zeigte sich eine Tagesperiodizität im Lokomotionsverhalten. *G. pulex* war durch einen Störfall im Betrieb mehr gestresst als *G. tigrinus*. Der Multispecies Freshwater Biomonitor erwies sich als sensitives Messgerät zur Überwachung von Störfällen und Qualität des Kläranlagenablaufs. Bei der Verwendung von lokal vorkommenden Testarten erhöht sich die ökologische Relevanz der Überwachung.

Summary

The toxicity of wastewater from a municipal water treatment plant at different stages of purification was tested in short-term exposures with *G. pulex* and *G. tigrinus*. The LC_{50} (96 h) of the mechanically purified raw water corresponded to a dilution of 1: 12.5 *(G. tigrinus)* and 1:40 *(G. pulex)*. *G. tigrinus* showed behavioural responses at sublethal dilution levels of below 1:250, i. e. increased locomotion (1:100 to 1:50) and decreased locomotion and ventilation (1:25 to 1:10). *G. tigrinus* showed an LC_{50} (48 h) of 45 mg NH_4^+/l in water from the filter press, corresponding to a dilution of 1:12.5, whereas the LC_{50} (48 h) of an ammonium solution was 30 mg NH_4^+/l. Continuous bio-monitoring of the effluent from the purification plant showed diurnal activity patterns in both species. *G. pulex* was more sensitive to operational disturbances in the purification plant than *G. tigrinus*. The Multispecies Freshwater Biomonitor proved to be a sensitive instrument for detecting such operational malfunctions and for monitoring effluent water quality. The ecological relevance can be enhanced by use of local test species.

1 Einführung

Biotestverfahren werden seit zwei Jahrzehnten in verschiedenen Bereichen der Gewässerüberwachung als Überwachungs- und Frühwarnsysteme zur Identifikation summarischer Schadstoffwirkungen eingesetzt (Schmitz et al. 1994). Ein effektives Überwachungssystem sollte sich nicht allein auf physikalisch-chemische Analysen stützen, denn eine Vollanalyse ist meist vom Aufwand und Zeitbedarf kaum durchführbar und unwirtschaftlich. Zum einen sind die chemischen Analysen wegen fehlender technischer Möglichkeiten in der Regel nur zeitlich-punktuell aus Stich- oder Mischproben durchführbar. Besonders für fließendes Wasser (Oberflächenwasser, Abwasser) ist dies sehr unbefriedigend, da sich die chemische Zusammensetzung ständig ändern kann und deshalb schnelles Eingreifen bei einer akuten Gefahrensituation nötig wird. Zum anderen geben gemessene Schadstoffkonzentrationen noch keine Information über die toxische Wirkung auf aquatische Organismen. Um also ein Gewässerökosystem vor toxischen Einleitungen zu schützen, müssen Organismen mit in die Überwachung aufgenommen werden. Biologische Frühwarnsysteme bilden somit eine sinnvolle Ergänzung zur chemischen Überwachungstechnik, da sie ökologisch relevant sind, schnell reagieren und die Gesamttoxizität des Wassers berücksichtigen. Aufgrund dessen sind in den letzten Jahren verschiedene online-Biotests entwickelt worden, z. B. Bakterientests, Algentests, Daphnientests, Muscheltests und Fischtests (Gerhardt 1999).

Der Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB) ist ein neuartiges, vielseitig einsetzbares online-Biotestgerät, welches sich in vielen wissenschaftlichen Studien zur Toxizität von Metallen und verschmutztem Oberflächenwasser bewährt hat (Gerhardt 2000a) und bei verschiedenen Anwendern (Flussüberwachung, Trinkwasseraufbereitung, Kläranlagen) in der Testphase befindet.

Störfälle in Kläranlagen können durch variierende Schadstoffkonzentrationen im Zulauf, z. B. bedingt durch Regenereignisse oder durch ungleichmässige Qualität des Abwassers von Direkteinleitern hervorgerufen werden. Im Ablauf muss eine bestimmte Wasserqualität eingehalten werden, die zur Zeit mit folgenden Parametern beschrieben wird: CSB, BSB_5, P, N, Leitfähigkeit, etc.

Ziel der Studie war es, die Gesamttoxizität des Wassers einer kommunalen Kläranlage an verschiedenen Stufen des Reinigungsprozesses zu testen und den Ablauf zu überwa-

chen, und zwar mit lokal im Vorfluter vorhandenen Testorganismen, zwei Arten von Bachflohkrebsen.

2 Material und Methoden

2.1 Auswahl und Funktionsweise der Kläranlage

Die für die Untersuchung ausgewählte Kläranlage liegt in NRW und besteht aus einer Altanlage (28 000 EW) und einer erweiterten Neuanlage (52 000 EW). Die Abwassermengen betragen für die jetzige Ausbaugrösse (80 000 E + EGW) bei Trockenwetter (Q-TW) 1300 m^3/h und bei Regenwetter zwei Q-TW. Die Kläranlage reinigt Abwasser aus einer Mischkanalisation und umfasst eine typische Kleinstadt sowie vier bis fünf direkt einleitende Industriebetriebe. Erhebliche Schwankungen in der Abwassermenge und Abwasserqualität sind in der Vergangenheit aufgetreten und haben zu Stör- und Ausfällen in der biologischen Reinigung sowie im Faulturm geführt. Um solche Zwischenfälle zu verhindern wurde im Zulauf ein online-Bakterientoximeter eingebaut. Dieses ist mit einer immobilisierten Wirbelbettbiologie ausgerüstet. Die Mikroorganismen sind wie der Belebtschlamm der Kläranlage an das Abwasser adaptiert. Toxische Effekte auf die Bakterien werden durch Atmungshemmung gemessen. Bei Überschreiten einer 20 % Atmungshemmung wird automatisch eine Abwasserverdünnung aktiviert.

Die Kläranlage umfasst die üblichen drei Reinigungsstufen mit folgender Ausstattung: Die mechanische Stufe besteht aus einer Rechenanlage (Siebbandrechen und Gegenstromrechen), dem Sandfang und dem Vorklärbecken (Grobentschlammung mit verkürzter Aufenthaltszeit von 20 Minuten). Die biologische Stufe besteht aus einem Kombibecken (Misch- und Ausgleichsbecken, Bio-P-Becken I und II, Havariebecken), der Belebungsanlage und dem Nachklärbecken. In der biologischen Reinigung kommt das Bio-Denipho-Verfahren nach Krüger-Hölter zum Einsatz. Im Altteil der Anlage wird mit alternierender Denitrifikation, im Neuteil mit intermittierender Denitrifikation gearbeitet. Die Nachklärung besteht im Altteil der Kläranlage aus einem Rundbecken mit Boden- und Schwimmschlammräumung (Durchflusszeit von 5,5 Stunden), im Neuteil der Kläranlage aus zwei Rundbecken mit Räumungseinheiten (Durchflusszeit von 13 Stunden).

Die Schlammbehandlung nach Voreindickung und Vorentwässerung erfolgt im Faulturm (20 Tage). Danach erfolgt die Konditionierung mit Eisenchloridlösung und Kalkhydrat und anschließende Entwässerung in einer Kammerfilterpresse. Der so behandelte Schlamm wird landwirtschaftlich genutzt. Das Wasser aus der Kammerfilterpresse wird wieder dem Zulauf zugeführt.

Das gereinigte Abwasser fließt in einen Bach, der bereits stark durch salzhaltige Industrieabwässer vorbelastet ist.

2.2 Auswahl des online-Biotests

Im Zulauf der Kläranlage steht bereits ein online-Bakterientoximeter, welches dazu dient die Einleitung von toxischem Wasser in die biologische Reinigungsstufe zu melden und durch Verdünnung zu mildern, damit die Reinigungsleistung der Mikroorganismenbiocoenose nicht beeinträchtigt wird. Der verwendete Bakterientest schneidet jedoch in einer Studie vom Umweltbundesamt (UBA 1994) in der Bewertung hinsichtlich Sensibilität und Bedienungsintervalle eher schlecht ab. Mikroorganismen reagieren nicht unbedingt auf alle im Kläranlagenzulauf sporadisch auftretenden Schadstoffe, z. B. Stärkeabwässer. Außerdem treten in der biologischen Reinigungsstufe auch höhere Organismen auf, von Protozoa bis Insektenlarven (z. B. Chironomiden), die erheblich zur ökologischen Balance im Belebtschlammbecken und somit zur Optimierung der Reinigungsleistung beitragen. Aus diesen Gründen wäre es sinnvoll, bereits den Zulauf mit einem online-Biotest mit höheren Invertebraten zu ergänzen. Der Kläranlagenablauf gelangt in ein Fliessgewässer, in welchem aufgrund der Salzbelastung nur noch wenige Invertebraten vorkommen. Es wäre sinnvoll, den Ablauf mit einem online-Biotest mit eben diesen lokalen Testorganismen zu überwachen. Aus den genannten Gründen wurde der Multispecies Freshwater Biomonitor gewählt, da hier alle Arten von Wassertieren überwacht werden können. Aufgrund der vielen Messkanäle (bis zu 96) können z. B. drei verschiedene Tierarten mit jeweils 32 Organismen individuell betrachtet werden. Da jede Tierart verschiedene Schadstofftoleranzen aufweist, erhöht sich beim MFB die ökologische Relevanz.

2.3 Funktionsweise des MFB

Der MFB besteht aus Messkammern, Messgerät und PC/Laptop und wurde am Ablauf des Nachklärbeckens installiert (Bild 1).

Die Messkammern (3 cm lang, 2 cm Durchmesser) bestehen aus Plexiglasrohren mit beidseitigem Gewinde, auf welches Schraubverschlüsse aus PVC-Ringen und eingeklebter Nylongaze (0,5 mm Maschenweite) passen. Über die gesamte Kammerlänge sind vier gleich große V4A-Edelstahlplatten in gleichem Abstand zueinander an den Kammerinnenwänden befestigt. Die jeweils gegenüber liegenden Platten dienen als Elektrodenpaar. Ein Elektrodenpaar dient der Generierung eines hochfrequenten Wechselstromfeldes (100 kHz), das andere Elektrodenpaar dient der Messung der Änderung der Impedanz, hervorgerufen durch Bewegungen des Tieres in der Messkammer (Gerhardt 2000a, 2000b; Gerhardt et al. 1994).

Der MFB misst quantitativ das Bewegungsspektrum des Tieres (Amplitude, Frequenz der Signale), welches aus verschiedenen, unterscheidbaren Verhaltensweisen bestehen kann, z. B. Lokomotion (nieder-frequente Signale mit hohen Amplituden) und Ventilation mit den Kiemen oder anderen Körperanhängen (hoch-frequente Signale von meist

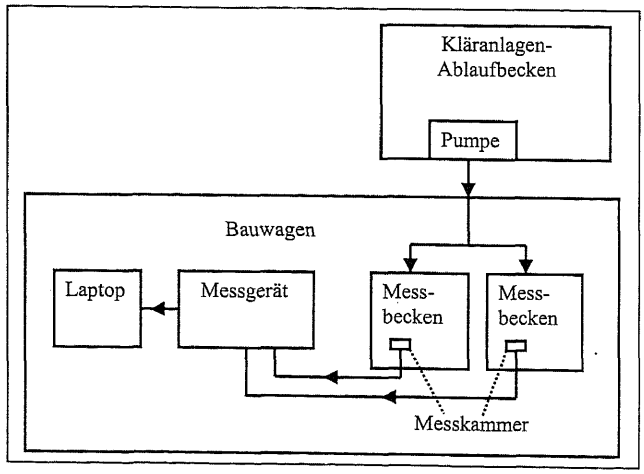


Bild 1 Der Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB), bestehend aus dem Impedanzmessgerät, Messkammern in Durchflussaquarien und Laptop, exponiert am Kläranlagenablauf

Figure 1 *The Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB) consisting of the impedance converter, test chambers in flow-through aquaria and laptop – here effluent from the municipal waste water purification plant*

nur einer Frequenz und geringer Amplitude) (Gerhardt et al. 1994). Das Prinzip der Datenauswertung beruht auf einer Fast Fourier Transformation der gemessenen Bewegungssignale (Gerhardt et al. 1998). Die Alarmgenerierung erfolgt bei einer festzulegenden Abweichung des aktuellen Messwertes von einem Prognosewert, der sich aus dem fließenden Mittelwert der x letzten Messungen in den Alarmkanälen (das sind zusammengefasste x Messkanäle) berechnet. Diese Berechnung wird für alle im originalen Bewegungssignal auftretenden Frequenzen durchgeführt und dann wahlweise zu zwei Bändern zusammengefasst. Bei Über-/Unterschreitung der Alarmschwelle wird ein Verhaltens-Alarm angezeigt. Weiterhin gilt die Überschreitung einer festzulegenden Zeit der Inaktivität (x Messungen) als Signal des Todes. Wenn x % der Tiere dieses Signal über einen festgelegten Zeitraum geben wird ein Mortalitäts-Alarm angezeigt.

Das Messgerät ist kompakt in seinen Abmessungen und weist einen robusten Aufbau auf. Die Messaufnahme erfolgt synchron und wird über intelligente Mikrokontrollerkarten gesteuert. Hochempfindliche Messverstärker sorgen für die Erfassung auch kleinster Bewegungen, z. B. Ventilation mit den Kiemen.

Die Bedienersoftware basiert auf Windows-NT 4.0 und ist als Multitasking-Programm einfach und übersichtlich gestaltet. Da der MFB generell alle sich bewegenden Wassertiere benutzen kann, sind die Programmeinstellungen allgemein und flexibel gehalten, z. B. hinsichtlich der Festlegung von Verhaltensweisen/-bändern, Störlevels, Messintervall, Verstärkung und Signalamplitude, Benennung und Gruppierung von Messkanälen sowie Alarmkriterien (Gerhardt 1999, 2000a, 2000b). Druckfunktionen sowie Datenexport in gängige Programme wie Excel, Power Point, Word und Statistika sind gegeben.

2.4 Auswahl der Testorganismen

Die *Gattung Gammarus* sp. (Crustacea) ist in fast allen Arten von aquatischen Biotopen weit verbreitet, 56 Arten sind in europäischen Gewässern aufgezeichnet worden (Illies 1978). Sie sind wichtige Glieder der aquatischen Nahrungsnetze, da sie einerseits sowohl lebendes als auch totes Pflanzenmaterial mit Mikroorganismenaufwuchs fressen und andererseits bedeutende Fischnährtiere darstellen. Gammariden sind das ganze Jahr über in allen Größenklassen zu finden. *G. pulex* ist sensibel gegenüber einem breiten Bereich von Toxinen (Williams et al. 1984) und wurde als Standardorganismus für Toxizitätstests empfohlen (Pascoe et al. 1984). *G. pulex* ist in Gewässern der Saprobie-Güteklasse II–III zu finden und ist ein Teilregulierer in der Sauerstoffaufnahme (Toman und Dall 1998). Neue Toxizitätstests berücksichtigen *G. pulex* mit folgenden Parametern: Fressaktivität (Taylor et al. 1993), Praecopula Separation (Pascoe et al. 1994) und Scope for Growth (Maltby et al. 1990).

Die Krebse zeigen ausgeprägte Drift und eine diese (zu etwa 50 %) kompensierende stromaufwärts gerichtete aktive Wanderung (Garmendia-Tolosa und Axelsson 1993). Drift als Folge von Schadstoffen wurde als Fluchtreaktion beschrieben (Gunkel et al. 1983). *Gammarus pulex* kommt im Gewässer oberhalb der Salzeinleitungen vor und wird unterhalb von *Gammarus tigrinus* abgelöst. Die Wasserqualität des Gewässers entspricht nach dem Saprobienindex der Güteklasse II–III, unterhalb der Salzeinleitungen jedoch Güteklasse IV, da verödet (nur noch *G. tigrinus* und *Chironomus* sp.). *G. tigrinus* ähnelt in seinem Verhalten dem *G. pulex*, beide Arten sind Konkurrenten, jedoch ist *G. tigrinus* resistenter gegen Sauerstoffmangel (Vobis 1973) und erreicht seine sexuelle Reife schon bei einer Größe von 4 mm (Hynes 1954). Die Kombination aus schneller Wachstumsrate, früher sexueller Reife und hoher Fekundität machen *G. tigrinus* zu einem sich schnell ausbreitenden, verwandte Arten verdrängenden Organismus (Chambers 1977).

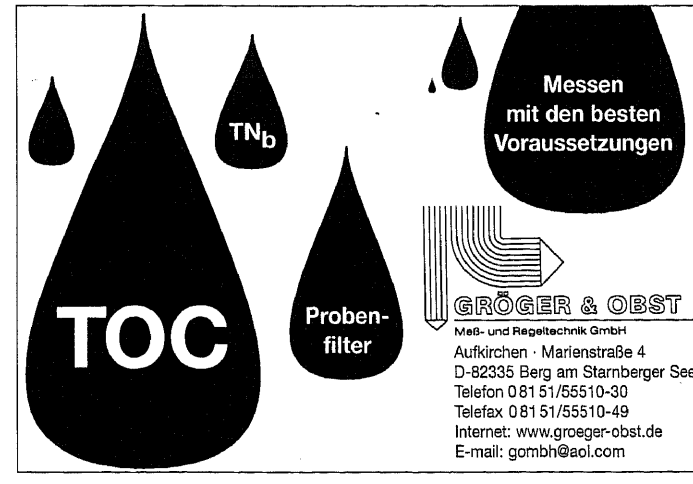
Das Normalverhalten von *Gammarus* sp. im MFB setzt sich aus einem Wechsel von Lokomotions- und Ruhephasen mit Ventilation zusammen (Bild 2). Die Lokomotion setzt sich aus verschiedenen vorwiegend niederfrequenten Signalen im Bereich 0,5 bis 2,5 Hz mit großer Amplitude zusammen, während die Ventilation aus Signalen mit geringer Amplitude und meist nur einer höheren Frequenz (> 2 Hz) besteht (Gerhardt 1995). Bei Stressreaktionen zeigt sich eine typische Verhaltensänderung in Form von einer initialen Fluchtreaktion gefolgt von vermehrter Ventilation mit höherer Ventilationsfrequenz (> 4 Hz), welche im sog. "Stepwise Stress Model" beschrieben ist (Gerhardt 1999, 2000a).

2.5 Versuchsaufbau

Toxizität des Kläranlagenzulaufes:
Effekte auf Überleben und Verhalten

G. pulex und *G. tigrinus* wurden einer Serie von folgenden Verdünnungen des Zulaufwassers ausgesetzt: unverdünnt (1:1), 1:10, 1:25, 1:50, 1:100, 1:250, 1:500 und 1:1000. Die Verdünnungen wurden mit Wasser des Kläranlagenablaufes bereitet, da dieses weniger belastet war als das Bachwasser am Ablauf der Kläranlage. Daneben wurden eine Kontrolle mit Kläranlagenablauf und eine mit Bachwasser als Referenzen geführt. In jedem Verdünnungsschritt wurden zehn Tiere in insgesamt 500 ml Wassergemisch in ein Becherglas ohne Belüftung, mit Futter (ein vorkonditioniertes Buchenblatt aus dem Bach oberhalb der Kläranlage) und ohne Durchströmung exponiert. Der Versuch wurde im Doppelansatz durchgeführt. Jeden Tag wurde das Wassergemisch aus frischem Zulauf und Ablauf bereitet. Das hat den Nachteil wechselnder Schadstoffkonzentrationen, jedoch den Vorteil, dass das Wasser nicht durch Bakterientätigkeit, Sauerstoffschwund und/oder chemische Degradation verändert ist (Gunkel 1994). Jeden Tag wurde beim Umsetzen der Tiere in neues Wassergemisch das Überleben registriert. Der Versuch dauerte vier Tage.

G. tigrinus wurde gemäß oben beschriebenem Versuchsaufbau einer Verdünnungsserie aus Zulauf mit Ablauf (1:1, 1:10, 1:25, 1:50, 1:100 und 1:250) sowie den beiden Referenzen im Doppelansatz exponiert. Jeden Tag wurden fünf zu-



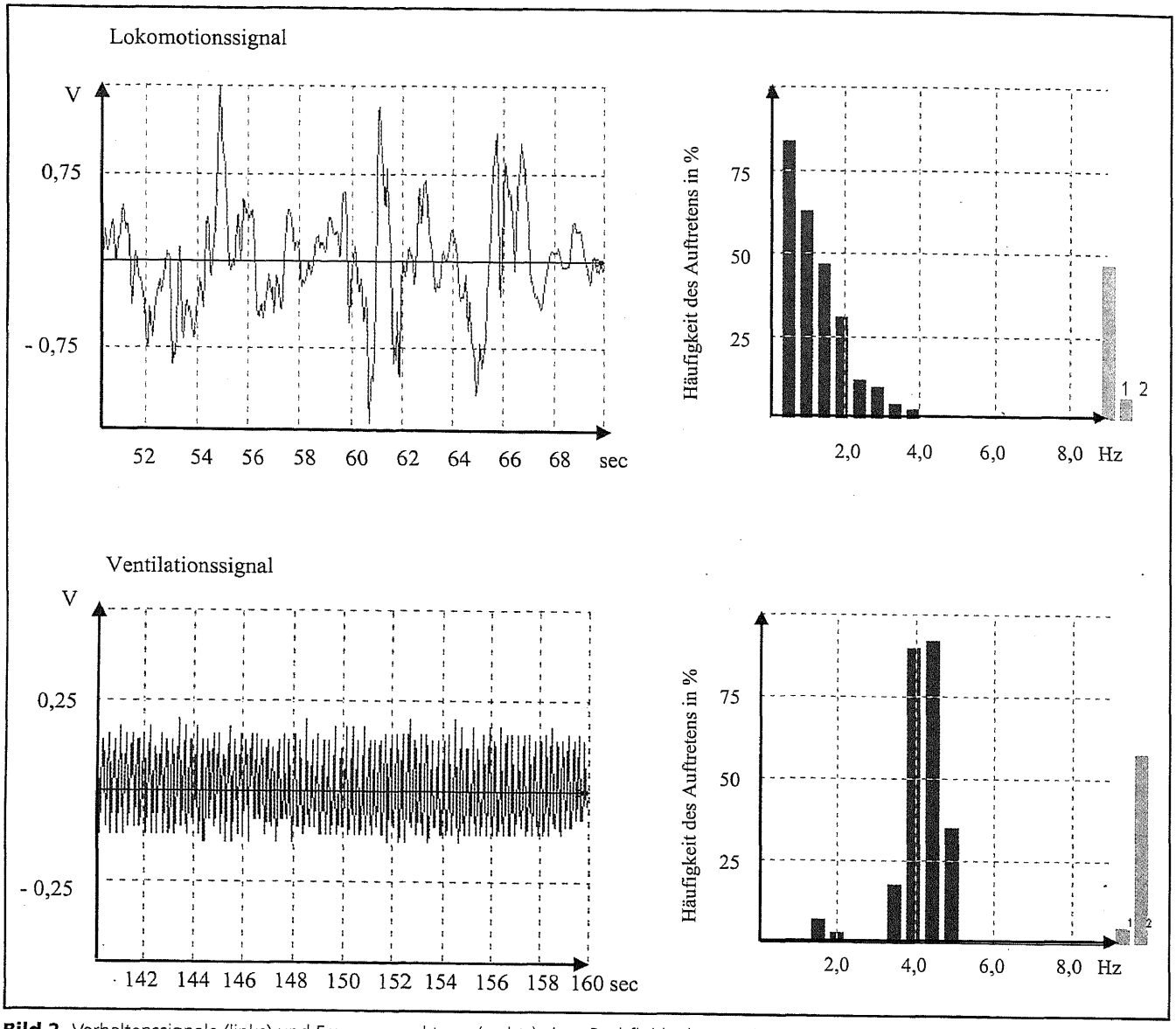


Bild 2 Verhaltenssignale (links) und Frequenzspektrum (rechts) eines Bachflohkrebses: Lokomotion/Schwimmen und Stress-Ventilation. Die einzelnen Frequenzen können auch zu zwei Bändern beliebiger Breite (Gerhardt et al. 1994, Gerhardt 1999) wie rechts im Frequenzspektrum zu sehen, zusammengefasst werden

Figure 2 *Behavioural signal (left) and frequency spectrum (right) of a gammarid: Locomotion/swimming and stress-ventilation. Single frequencies might be summarized to two bands of given width (Gerhardt et al. 1994, Gerhardt 1999), presented to the right of the frequency spectrum*

fällig ausgewählte Tiere aus jeder Verdünnungsstufe und Replikat im Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB) nach einer Akklimatisierungszeit von 15 Minuten gemessen und das Verhaltensmuster quantitativ für eine Dauer von 250 Sekunden dreimal hintereinander erfasst.

Toxizität des Filtrats aus der Kammerfilterpresse im Vergleich zu einer Ammoniumsulfat-Lösung: Überleben

G. tigrinus wurde gemäß oben beschriebenem Versuchsaufbau einer Verdünnungsserie aus Filtrat der Kammerfilterpresse (1:1) und Ablauf in folgenden Konzentrationen (1:10, 1:25, 1:50, 1:100 und 1:250) sowie der oben genannten Referenzen im Doppelansatz für vier Tage exponiert. Das Filtrat der Kammerfilterpresse ist als sehr toxisch anzusehen, da es aus dem beim Klärprozess anfallenden Schlamm nach chemischer Konditionierung mit Metallen und Salzen ausgepresstes Wasser ist. Deshalb wurde auf einen Versuch mit *G. pulex* verzichtet. Täglich wurden der pH-Wert und die Ammoniumkonzentration im Wassergemisch registriert.

Parallel dazu wurde *G. tigrinus* einer Konzentrationsreihe von Ammoniumsulfat verdünnt in Kläranlagenablauf (Referenz) mit folgenden Konzentrationen exponiert: 1, 2, 5, 10, 25, 50, 100, 250 und 500 mg NH_4^+/l. Dabei wurde täglich der pH-Wert gemessen und im circumneutralen Bereich gehalten, um eine Reaktion zu Ammoniak zu vermeiden.

Überwachung des Kläranlagenablaufes (Online-Feldversuch)

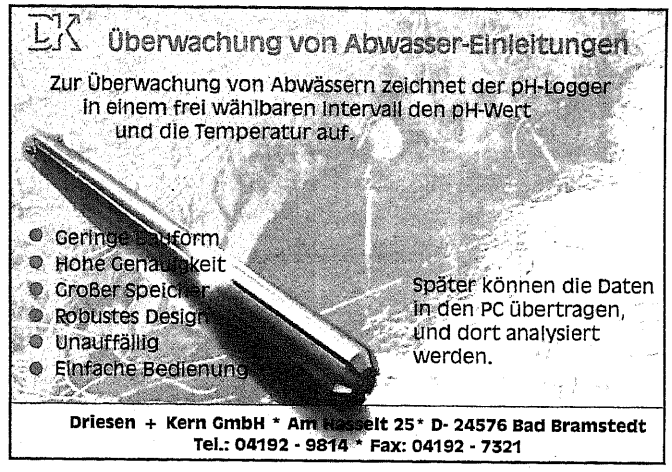
Der MFB wurde in einem Bauwagen neben dem Kläranlagenablauf aus dem Nachklärbecken aufgestellt. Mit einer Tauchpumpe wurde Wasser aus dem Auslaufbecken (gemeinsames Auslaufbecken für die Alt- und Neuanlage) ca. 5 m hoch in zwei Durchflussaquarien (15 l) aus Plexiglas mit Auslauf oben gepumpt. Das Wasser wurde nicht gefiltert oder anders vorbehandelt. Die Messkammern wurden mit Klemmen auf dem Aquarienboden fixiert, je 17 Stück pro Aquarium. Je ein *Gammarus* sp. wurde in die Messkammern zusammen mit einem 5 mm großen Blattstückchen als Fut-

terquelle gesetzt. Im ersten Versuch wurde *G. tigrinus* (R: 2, N: 14) vom Bach unterhalb des Kläranlagenablaufes, im zweiten Versuch wurden *G. tigrinus* (R: 2, N: 14) und *G. pulex* (R: 2, N: 14) exponiert, letzterer von oberhalb der Salz- und Kläranlageneinleitungen.

2.6 Statistik

Die Mortalität in den Laborversuchen wurde nach der Probit-Regressionsmethode (Weber 1986) berechnet. Probits über 8 und unter 2 wurden nicht berücksichtigt.

Signifikante Unterschiede in Datenserien basierend auf Mittelwerten von 14 Messkammern wurden mit dem Paarvergleichs-T-test oder bei Vergleich von mehr als zwei Gruppen mit ANOVA bestimmt.



3 Ergebnisse

3.1 Wasserchemie

Die chemischen Parameter des Wassers zeigten im Kläranlagenzulauf eine hohe BSB- und CSB-Belastung und Schwankungen beider Parameter an, bedingt durch Variationen der Abwasserqualität und -quantität der Direkteinleiter sowie Variationen im Regenwasseranteil (Tabelle 1). Die Reinigungsleistung der Kläranlage bewirkte eine Verringerung des BSB um zwei Größenordnungen und eine Verringerung des CSB um ein bis zwei Größenordnungen. Im Ablauf wurde hinsichtlich der Werte für BSB_5 und NH_4^+ eine Güteklasse von II–III erreicht. Im Bach wurden zeitweise NH_4^+ Werte von > 1 und sehr hohe Leitfähigkeiten erreicht, bedingt durch salzhaltige Industrieabwässer, sodass hier eine Güteklasse von III–IV vorlag. Das Filtrat der Kammerfilterpresse zeichnete sich durch hohe CSB- und NH_4^+-Belastung aus.

3.2 Toxizität des Kläranlagenzulaufes: Effekte auf Überleben und Verhalten

Die Gesamtsterblichkeit von *G. pulex* nach Ablauf des Versuches war in allen Konzentrationen höher als die von *G. tigrinus*. Die LC_{50} (96 h) lag für *G. tigrinus* bei einer Verdünnung des Zulaufs mit Ablauf von 1:10 und bei *G. pulex* bei einer Verdünnung von 1:40, jedoch waren die Mortalitäten der beiden Arten aufgrund von hoher Streuung insgesamt nicht signifikant verschieden (Paarvergleichs-T-test).

Die mittlere Zusammensetzung des Zulaufs während der Versuche war gleich, jedoch gab es tägliche Schwankungen im CSB (Min.: 514,0 mg/l, Max.: 1641,0 mg/l) und NH_4^+ (Min.: 30 mg/l, Max.: 73,2 mg/l), welche zur Streuung in den Überlebenskurven beigetragen haben.

Bei den Verdünnungsstufen 1:10 und 1:25, also im lethalen Bereich ließ sich eine eindeutige Abnahme der Lokomotionsaktivität und bei 1:25 auch in der Ventilation im Verlauf der Expositionszeit bei *G. tigrinus* erkennen (Bild 3). Bei stärkeren Verdünnungen des Zulaufwassers stellte man jedoch im Expositionsverlauf eine Zunahme der Lokomotionsaktivität (1:50 und 1:100), während noch geringere Konzentrationen des Zulaufes (1:250) keine Auswirkungen auf das Verhalten der Tiere hatten.

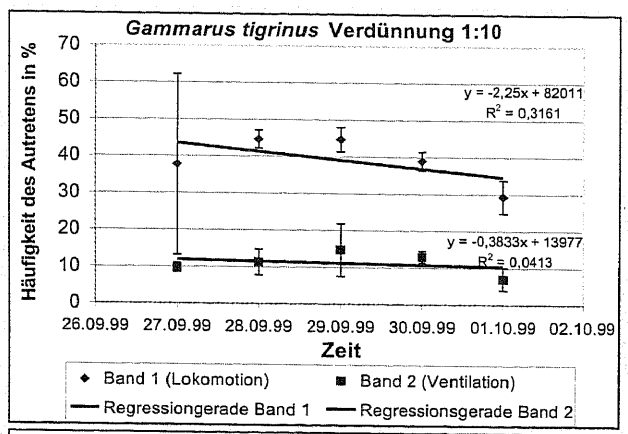
3.3 Toxizität des Filtrats aus der Kammerfilterpresse und der Ammonium-Lösung: Überleben

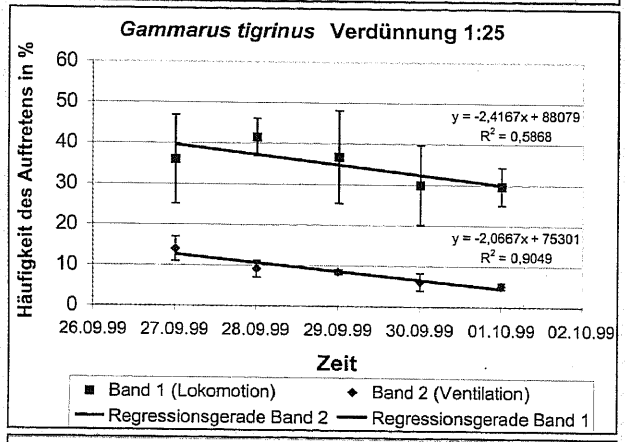
G. tigrinus hatte in dem unverdünnten Filtrat der Kammerfilterpresse nicht einmal eine Stunde überlebt, welches auf

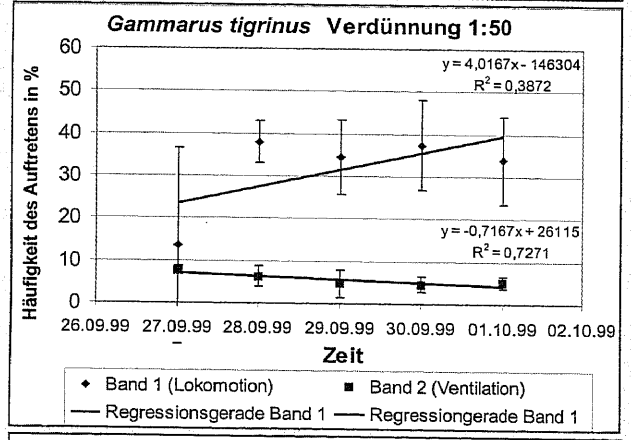
Tabelle 1 Chemische Analysen des Abwassers der Kläranlage und des Vorfluters. Monatsmittelwerte bzw. Einzeluntersuchung für Kafi (= Kammerfilterpresse) und Bachwasser

***Table 1** Chemical analyses of waste water from the municipal purification plant and the receiving stream. Monthly means and single water analyses for the filter press and the receiving stream*

Wasser	BSB_5 mg/l	CSB mg/l	NH_4-N mg/l	NO_3-N mg/l	P-ges mg/l	Temp. °C	pH-Wert	Kond. µS/cm	Cl* mg/l
Zulauf/ *Raw water inflow*									
August 1999	315,0	876,5	59,8	–	14,1	19,4	8,5	1250,7	–
September 1999	395,0	1029,5	37,1	–	15,8	19,5	8,2	1352,2	0,5
Ablauf/ *Effluent*									
August 1999	7,0	32,1	0,7	3,8	0,6	–	7,6	–	–
September 1999	6,0	32,6	0,8	3,2	0,5	–	7,9	–	–
Kafi/ *Filter press*									
14. 09. 1999	–	2416,0	550,0	–	3,4	26,0	8,6	8620,0	–
Bach/ *Stream*									
24. 08. 1999	–	< 15,0	1,5	2,7	0,1	–	7,5	2250,0	–
14. 09. 1999	–	16,8	0,2	1,7	0,1	–	7,4	648,0	–







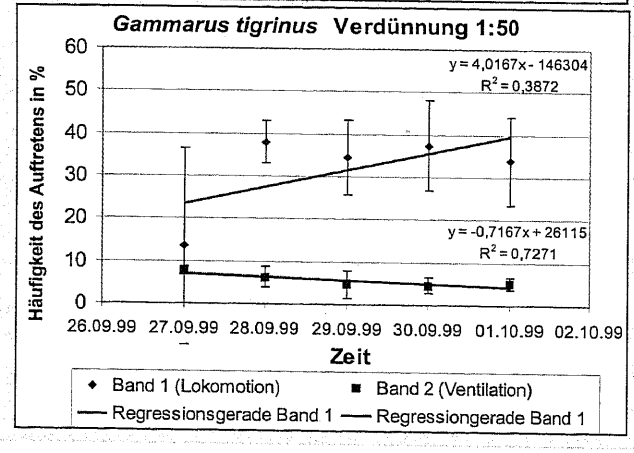


Bild 3 Verhaltensänderungen von *Gammarus tigrinus* in Abhängigkeit von der Expositionszeit und der Konzentration des Kläranlagenzulaufwassers in den Verdünnungsstufen 1:10, 1:25, 1:50 und 1:100

Figure 3 *Behavioural responses of* Gammarus tigrinus *to the following dilution series of raw water in the purification plant in relation exposure time: 1:10, 1:25, 1:50 and 1:100*

eine hohe Toxizität hinweist. In dieser Konzentration lag der pH-Wert bei 12, sodass Ammonium in toxisches Ammoniak umgewandelt wurde. In allen anderen Verdünnungen lag der pH-Wert bei 8,1 (Standardabweichung: 0,2). Insgesamt war die Sterblichkeit in allen Verdünnungsstufen hoch und die LC_{50} (48 h) wurde bei einer Verdünnungsstufe von 1:12,5 erreicht, entsprechend einer NH_4^+-Konzentration von 45 mg/l.

Im Versuch mit Ammoniumsalz gelöst in Kläranlagenablauf zeigte *G. tigrinus* eine LC_{50} (48 h) von 30 mg/l bei einem pH-Wert von 7,7.

3.4 Überwachung des Kläranlagenablaufes (Online-Feldversuch)

Gammarus tigrinus

G. tigrinus zeigte in beiden replikaten Versuchsansätzen jeweils bestehend aus 14 Messkammern mit je einem Organismus eine ausgeprägte Tagesperiodik in seiner lokomotorischen Aktivität, mit verstärkter Schwimmaktivität am Tag (Bild 4). Am 30. 08. 1999 trat ein Störfall in der Kläranlage auf, bedingt durch vermehrte Stärkekonzentration im Zulauf und daraus resultierender Schwimmschlammbildung in der biologischen Reinigungsstufe. Dieser Schwimmschlamm wurde zusammen mit in den Belebtschlammbecken lebenden Chironomiden in den Ablauf ausgeschwemmt. Da hierbei Chironomiden in die Messkammern gelangten wurde der Versuch abgebrochen.

Gammarus tigrinus und Gammarus pulex

In diesem Versuch war bei beiden Arten die Tagesrhytmik deutlich schwächer ausgeprägt als im vorherigen Versuch. Ein Störfall (Pumpenausfall) am 16. 09. 1999 bewirkte, dass die Versuchsbecken leerliefen, Messkammern trocken gefallen waren und sich die Mortalität der Tiere erhöhte. Die beiden Tierarten unterschieden sich signifikant im Lokomotions- und Ventilationsverhalten ($p < 0{,}001$ Paarvergleichs-T-test); *G. pulex* war durch den Pumpenausfall mehr gestresst als *G. tigrinus* und reagierte mit Flucht, Stressatmung und Mortalität (Bild 5).

4 Diskussion

4.1 Laborversuche: Kläranlagenzulauf, Kammerfilterpresse, Ammonium

Die Überwachung der Toxizität des Zulaufs mit den beiden *Gammarus*-Arten zeigte eine leicht erhöhte Sensitivität von *G. pulex* gegenüber *G. tigrinus*. *G. pulex* kam im Bach nur oberhalb der Einleitungen von salzhaltigen Industrieabwässern vor, während *G. tigrinus* unterhalb der Kläranlage heimisch war und somit sowohl an salzhaltige Industrieabwässer als auch an die variierende Abwasserqualität aus dem Kläranlagenablauf adaptiert war. Zwei verschiedene Populationen von *G. pulex* wurden in einem Feldversuch im MFB kupferhaltigem Oberflächenwasser exponiert, wobei die Reinwasserpopulation sensitiver reagierte als die lokal angepasste Population (Gerhardt et al. 1998). Ähnliche Ergebnisse wurden für *G. pulex* Populationen in ihren Reaktionen auf Kläranlagenabwasser gefunden (Crane und Maltby 1991).

Während bei niedrigen Zulaufkonzentrationen eine gesteigerte Aktivität bei *G. tigrinus* festgestellt wurde, ließ die Aktivität (Lokomotion und Ventilation) bei höheren Konzentrationen nach. Diese Reaktionsweise folgte nur teilweise dem "Stepwise Stress Model" (Gerhardt 2000a), eine nach diesem Modell erhöhte Ventilationsaktivität und Ventilationsfrequenz blieb aus. Dies kann darauf zurück zu führen

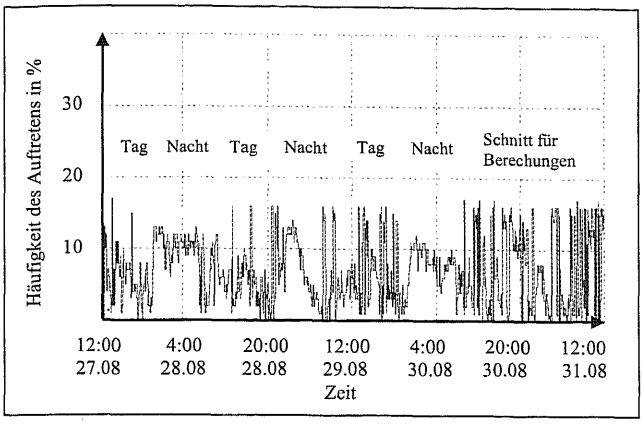


Bild 4 Tagesperiodische Aktivität von *Gammarus tigrinus* im Online-Feldversuch am Kläranlagenablauf. „Schnitt für Berechnungen" kennzeichnet den Störfall. Band 1: Lokomotion, Band 2: Stress-Ventilation

Figure 4 *Diurnal activity patterns of* Gammarus tigrinus *in the online in situ test at the outlet. "Schnitt für Berechnungen" characterizes operational malfunctions in the purification plant*

sein, dass das Abwasser verschiedenartige Schadstoffe enthielt, welche unterschiedliche und eventuell gegensätzliche Reaktionen bei Gammariden auslösen. Verstärkte Fluchtreaktionen bei *G. pulex* wurden bei Expositionen mit niedrigen pH-Werten (< 6,2) (Corta 1967) und Metallen (zusammengefasst in Gerhardt, 2000a) gefunden.

Haupttoxin scheint Ammonium im Zulauf zu sein. Dort wurden Werte erreicht, die in einer reinen Ammoniumsulfatlösung bei circumneutralem pH-Wert akut toxisch sind. Der Zulauf erhielt Rücklaufwasser von der Kammerfilterpresse, welches durch hohe pH-Werte in Kombination mit immens hohen Ammoniumwerten belastet war.

Die LC_{50} (24 h) für Ammoniak liegt für *G. pulex* bei 4,3 (adulte) und 6,2 (juvenile) mg/l, verbunden mit gesteigerter Ventilationsrate (Maltby 1995). In unseren Versuchen wurden für Ammonium sowohl aus der reinen Lösung bei neutralem pH als auch aus dem Filtrat der Kammerfilterpresse bei alkalischem pH-Wert um das 10fache höhere LC_{50}-Werte (48 h) gefunden. Das mag daran liegen, dass im getesteten Wasser Interaktionen mit anderen Inhaltsstoffen stattgefunden haben könnten und somit die Toxizität vermindert haben. Die gefundenen Werte lagen jedoch im Bereich der LC_{50}-Werte für *Ceriodaphnia dubia* und *Pimephales promelus* (Burkhard und Jenson 1993). Für *Chironomus riparius* wurden LC_{50} (96 h) von 9,4 mg NH_3-N l^{-1} in Brunnenwasser und 7,8 mg NH_3-N l^{-1} in Kläranlagenablauf festgestellt (Monda et al. 1995). Ammonium erwies sich als toxischer bei höherem (pH 8,6) als bei niedrigem (pH 6,3) pH-Wert, was darauf schließen lässt, dass die nicht-ionisierte Form toxischer ist als das Ammonium-Ion (Schubauer-Berigan und Monson 1995).

4.2 Online Überwachung des Kläranlagenablaufes – Testorganismen

Die gesteigerte Tagesaktivität der Gammariden im Biomonitor lässt sich im Sommer durch die hohen Temperaturen erklären. Im Sommer zeigt *G. pulex* allgemein höhere Aktivität, in Form von Aufwärtswanderungen im Gewässer, besonders tagsüber (Hultin 1971). *G. pseudolimnaeus* zeigte höhere Aktivität am Tage unabhängig von der Strömungsgeschwindigkeit wenn kein Substrat vorhanden war, oder bei Verringerung der Strömung (Wallace et al. 1975). Dies könnte die gesteigerte Aktivität in unserem Feldversuch bei Ausfall der Pumpe erklären. Damit war die Strömung unterbrochen, die Becken liefen leer, das in den Kammern vorhandene Restwasser stagnierte, erwärmte sich, wodurch sich die Sauerstoffverhältnisse eventuell verschlechtert haben – Faktoren die zu Aktivitätssteigerung führen (Vobis 1973, Wallace et al. 1975).

4.3 Störfallhäufigkeit

Während der Versuche traten zwei Störfälle auf.

1. Infolge erhöhter Stärkeabwässer im Zulauf bildete sich Blähschlamm, welcher mit anheftenden Chironomiden aus der biologischen Reinugungsstufe in den Ablauf und somit in den Biomonitor ausgeschwemmt wurde. Eine eindeutige Reaktion von *G. tigrinus* darauf konnte nicht festgestellt werden, da die eingetragenen Chironomiden

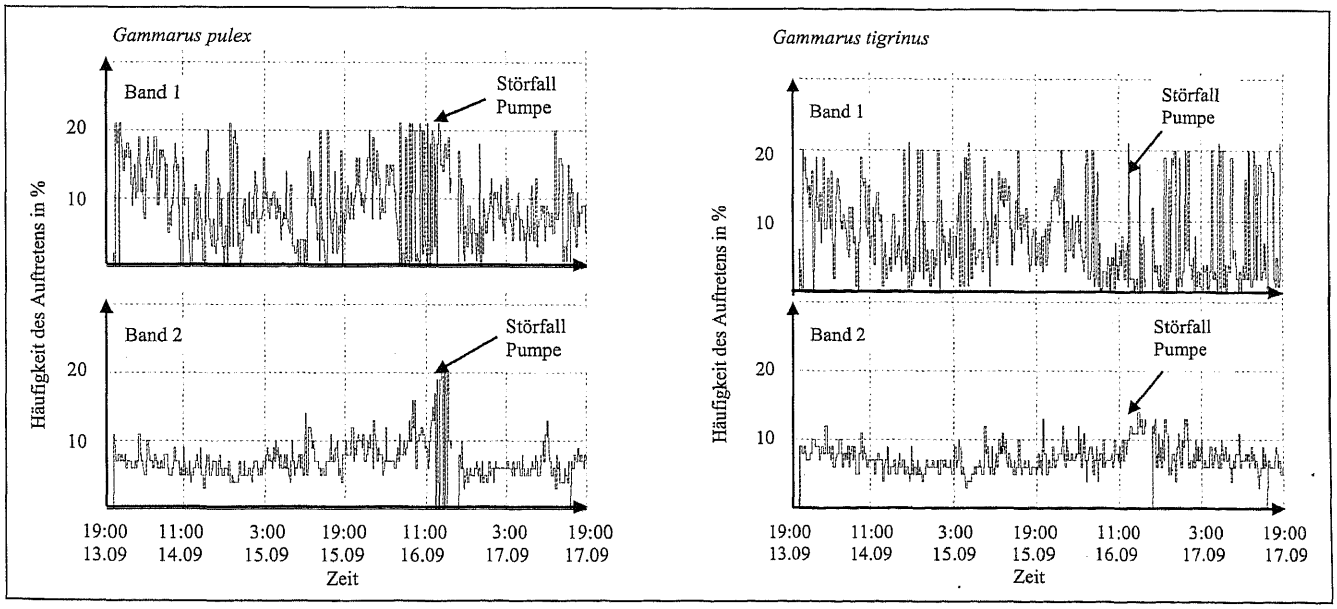


Bild 5 Reaktion von *Gammarus pulex* und *Gammarus tigrinus* auf einen Pumpenausfall (Pfeil) im Online-Feldversuch. Band 1: Lokomotion, Band 2: Stress-Ventilation

Figure 5 *Response of* Gammarus pulex *and* Gammarus tigrinus *to a break down of the water pump (arrow) in the online in situ test. Band 1: Locomotion, Band 2: Stress-Ventilation*

die verstärkt im Biomonitor gemessene Aktivität mit bewirkt haben könnten. Dieser Störfall hielt ca. drei Wochen an.

2. Ein Pumpenausfall wurde direkt und umgehend durch gesteigerte Aktivität der Gammariden im MFB angezeigt.

4.4 Multispecies Freshwater Biomonitor in der Kläranalge

Da das Zulaufwasser nur in Verdünnungen von >1:40 innerhalb von vier Tagen nicht zu erhöhter Mortalität führt, müsste das Zulaufwasser für eine kontinuierliche Überwachung mit Gammariden verdünnt werden. Bisher wird das Zulaufwasser mit einem Bakterientest überwacht, der aber nicht den Störfall durch erhöhte Stärkefabrikabwässer angezeigt hat. Stärke als Substrat für Bakterien mag einen Bakterientest nicht, einen Invertebratentest jedoch zu einer messbaren Reaktion führen.

Abgesehen von den beiden Störfällen, die es in Zukunft durch den Einsatz eines Biomonitors zu verringern gilt, funktionierte der neue Multispecies Freshwater Biomonitor mit Gammariden als Testorganismen gut. Die Möglichkeit, in der biologischen Reinigungsstufe vorhandene Invertebraten (z. B. Chironomiden) in der Überwachung dieser Stufe zu nutzen bietet sich im eingesetzten Biomonitor an, da auch diese Organismen typische und messbare Verhaltensreaktionen zeigen (Gerhardt und Janssens de Bisthoven 1995).

Die Zahl der Störfälle, die Toxizität des Abwassers und somit Verschlechterung der Reinigungsleistung könnten durch folgende Maßnahmen verringert werden:

1. Installation von Biomonitoren vor der biologischen Reinigungsstufe,
2. Massnahmen zur Verbesserung der N-Elimination,
3. verringerte Rückfuhr des Wassers aus der Kammerfilterpresse und
4. Entfernung des Ammoniums mit Zeolith (Burkhard und Jenson 1993).

Danksagung

Die Autoren bedanken sich für die freundliche und hilfreiche Unterstützung der Verantwortlichen und Mitarbeiter der Kläranlage.

Literatur

Burkhard, L. P. und Jenson, J. J. (1993): Identification of Ammonia, Chlorine, and Diazinon as Toxicants in a Municipal Effluent. Arch. Environm. Contam. Toxicol. 25, 506–515.

Corta, H. H. (1967): Response of *Gammarus pulex* (L.) to modified environment. II. Reactions to abnormal hydrogen ion concentration. Crustaceana 3, 1–10.

Crane, M. und Maltby, L. (1991): The lethal and sublethal responses of *Gammarus pulex* to stress: Sensitivity and sources of variation in an *in situ* bioassay. Environm. Toxicol. Chem. 10, 1331–1339.

Garmendia-Tolosa, A. J. und Axelsson, B. (1993): Gammarus, their biology, sensitivity and significance as test organisms. IVL-report B 1095, Swedish Environm. Research Institute, Stockholm, 88 pp.

Gerhardt, A.; Clostermann, M.; Fridlund, B. und Svensson, E. (1994): Monitoring of behavioral patterns of aquatic organisms with an impedance conversion technique. Environment International 20 (2), 209–219.

Gerhardt, A. (1995): Monitoring behavioural responses to metals in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea) with impedance conversion. Environm. Science & Pollution Research 2 (1), 15–23.

Gerhardt, A. und Janssens de Bisthoven, L. (1995): Behavioural, developmental and morphological responses of *Chironomus* gr. *thummi* larvae (Diptera) to aquatic pollution. Journal of Aquatic Ecosystem Health 4, 205–214.

Gerhardt, A.; Carlsson, A.; Ressemann, C. und Stich, K. P. (1998): A new online biomonitoring system for *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea): *In situ* test below a copper effluent in South Sweden. Environm. Science & Technology 32 (1), 150–156.

Gerhardt, A. (1999): Recent trends in online biomonitoring. In: Gerhardt, A. (ed.): Biomonitoring of Polluted Water-Reviews on Actual Topics, 95-118, Trans Tech Publications Ltd, Zürich, Switzerland (2000).

Gerhardt, A. (2000a): A new Multispecies Freshwater Biomonitor for ecologically relevant control of surface waters. In: Butterworth, F. M.; Gonsebatt Bonaparte, M. E. and Gunatilaka, A. (eds.): Biomonitors and biomarkers as indicators of environmental change: A Handbook, Vol. 2, Plenum Press (in press).

Gerhardt, A. (2000b): Der Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB) und seine Anwendungsmöglichkeiten in Forschung und Monitoring von Wasserqualität. Deutsche Gesellschaft für Limnologie, Jahrestagung 1999, Rostock Bd. 2, 972–977, Tutzing.

Gunkel, G.; Hoppe, C.; Koswig, M.; Voll, M. und Axt, G. (1983): Die Fluchtreaktion von Fischen als Grundlage eines Fischtestes. Vom Wasser 61, 199–215.

Gunkel, G. (ed) (1994): Bioindikation in aquatischen Ökosystemen. Bioindikation in limnischen und küstennahen Ökosystemen. Grundlagen, Verfahren und Methoden. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 540 pp.

Hultin, L. (1971): Upstream movements of *Gammarus pulex* (Amphipoda) in a South Swedish stream. Oikos 22, 329–347.

Hynes, H. B. N. (1954): The ecology of *Gammarus duebeni* Liljeborg and ist occurrence in freshwater in Western Britain. Journal Animal Ecology 23, 38–84.

Chambers, M. R. (1977): The population ecology of *Gammarus tigrinus* (Sexton) in the reed beds of the Tjeukemeer. Hydrobiologia 53 (2), 155–164.

Illies, J. (ed.) (1978): Limnofauna Europaea. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 532 pp.

Maltby, L.; Naylor, C. und Calow, P. (1990): Effect of stress on a freshwater benthic detritivore: Scope for Growth in *Gammarus pulex*. Ecotox. and Environm. Safety 19, 285–291.

Maltby, L. (1995): Sensitivity of the crustaceans *Gammaurs pulex* (L.) and *Asellus aquaticus* (L.) to short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: obersevations and possible mechanisms. Water Research 29 (3), 781–787.

Monda, D. P.; Galat, D. L.; Finger, S. E. und Kaiser, M. S. (1995): Acute Toxicity of Ammonia (NH3-N) in Sewage Effluent to *Chironomus riparius:* II. Using a generalized Linear Model. Arch. Environm. Contam. Toxicol. 28, 385–390.

Pascoe, D.; Kedwards, T. J.; Maund, S. J.; Muthi, E. und Taylor, E. J. (1994): Laboratory and field evaluation of a behavioural bioassay – The *Gammarus pulex* (L.) precopula separation (GaPPS) test. Water Research 28 (2), 369–372.

Schmitz, P.; Irmer, U. und Krebs, F. (1994): Automatische Biotestverfahren in der Gewässerüberwachung. In: Pluta, H. J., Knie, J. & R. Leschber (eds.): Biomonitore in der Gewässerüberwachung. Schriftenreihe des Vereins f. Wasser-, Boden- und Lufthygiene 93, 1–19, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Schubauer-Berigan, M. K. und Monson, P. D. (1995): Influence of pH on the toxicity of ammonia to *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus*. Environm. Toxicol. Chem. 14 (4), 713–717.

Taylor, E. J.; Jones, D. P. W.; Maund, S. J. und Pascoe, D. (1993): A new method for measuring the feeding activity of *Gammarus pulex* (L.). Chemosphere 26 (7), 1375–1381.

Toman, M. J. und Dall, P. C. (1998): Respiratory levels and adaptations in four freshwater species of *Gammarus* (Cruatacea: Amphipoda). Internat. Rev. Hydrobiol. 83 (3), 251–263.

UBA (Umweltbundesamt) (ed.) (1994): Continuous Biotests for Water Monitoring of the River Rhine. Summary, Recommendations, Description of Test Methods. Umweltbundesamt Texte 58, Berlin 27 pp.

Vobis, H. (1973): Rheotaktisches Verhalten einiger *Gammarus*-Arten bei verschiedenem Sauerstoffgehalt des Wassers. Helgoländer Wiss. Meeresunters. 25, 495–508.

Wallace, R. R., Hynes, H. B. N. und Kaushik, N. K. (1975): Laboratory experiments on factors affecting the activity of *Gammarus pseudolimnaeus* Bousfield. Freshwater Biology 5, 533–546.

Weber, E. (1986): Grundriss der Biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag, Jena, 534–640.

Williams, K. A.; Green, D. W. J. und Pascoe, D. (1984): Toxicity Testing with Freshwater Macroinvertebrates: Methods and Application in Environmental Management. In: Pascoe, D. and Edwards, R. W. (eds.): Freshwater Biological Monitoring, 81–93, Pergamon Press, London.

Anschriften der Verfasserinnen

Dr. Almut Gerhardt, LimCo International, An der Aa 5, 49477 Ibbenbüren, E-Mail: limco.int@t-online.de;
Kerstin Quindt, Fachhochschule Münster, Abt. Steinfurt, FB Versorgungs- und Entsorgungstechnik, 48565 Steinfurt