

Grundwasser: Online-Biomonitoring und ökotoxikologische Bewertung

Dr. Almut Gerhardt

Einleitung

Das Grundwasser macht ca. 97 % des gesamten weltweiten Vorrates unseres fließenden Süßwassers aus. Der Oberflächenwasseranteil ist demnach nur 3 %. Etwa 75 % der Menschen in der Europäischen Union beziehen ihr Trinkwasser aus Grundwasserreserven. Aber Grundwasser hat auch eine Bedeutung als eigenes Ökosystem mit eigener Schutzwürdigkeit und zahlreichen wichtigen Ökosystemleistungen, z. B. Puffer und Vorrat in Feuchtgebieten und Böden oder Basisabfluß in Fließgewässern. Da Grundwasser sehr langsam fließt wirken sich Umweltbelastungen über eine lange Zeit negativ auf die Lebensgemeinschaften im Grundwasser aus und wirken trotz Sanierung noch lange nach. Deshalb ist hier die vermeidende Vorsorge wesentlich effizienter und effektiver als die nachsorgende Sanierung.

Die auf der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (2000/60/EG) aufbauende Grundwasserrichtlinie (2006/118/EG) setzt einheitliche Standards für die Quantität und chemische Qualität des Grundwassers und beinhaltet ein Verschlechterungsverbot sowie ein Verbesserungsgebot. Dabei werden neben Nitrat auch einige Biozide und Pestizide berücksichtigt. In der Europäischen Richtlinie zu Umweltqualitätsnormen (2008/105/EG) wurden für einige Schadstoffe basierend auf Literaturdaten zur Toxizität an Standardorganismen wie *Daphnia magna* Umweltsicherheitsnormen für Einzelsubstanzen festgelegt. Jedoch fehlt immer noch eine Bewertung von Stoffgemischen sowie der zahlreichen Transformationsprodukte organischer Schadstoffe, sowie eine realistische Bewertung mit Grundwasserzeigerarten.

Grundwasserlebewesen zeigen besondere Anpassungen an den speziellen Lebensraum und sollten deshalb auch für eine ökotoxikologische Bewertung von chemischen Belastungen in Grundwasserbiotopen herangezogen werden. Sie sind sehr langlebig, haben einen verlangsamten Stoffwechsel, d. h. sie können längere Zeiten hungern und sie haben eine geringe Fortpflanzungsrate. Im nährstoffarmen und lichtlosen Lebensraum besitzen sie oft weder Pigmente noch Augen. Sie treten eher in geringer Abundanz auf und weisen auch kleinräumig eine sehr

heterogene Verbreitung auf ([1, 2]). Als Lückensystembewohner sind sie eher wenig beweglich und wenig aktiv. Grundwasserlebensgemeinschaften hängen stark von der Hydrodynamik, der Geologie und den lokalen Kohlenstoffquellen ab.

Das Bioakkumulations-Biomonitoring von Metallen in Grundwasseramphipoden zeigte nur eine Korrelation mit Umweltkonzentrationen für stygophile aber nicht für stygobionte Arten [3], im Kontrast zu früheren Studien [4]. Generell hatten stygobionte Amphipoden höhere Metallkonzentrationen als stygophile, bedingt durch deren längeren Lebenszyklus und deren engeren Kontakt zu Sedimenten. Bisher konnte aber die These, dass Grundwasserarten empfindlicher gegenüber Schadstoffen als Oberflächenwasserarten seien weder verifiziert noch widerlegt werden [2]. Die Suche nach einzelnen stygobionten Indikatorarten für das Statusbiomonitoring von Grundwasserökosystemen war bisher nicht erfolgreich, da Grundwasserinvertebraten niedrige Abundanz, heterogene Verbreitung und starke Abhängigkeit von zeitlichen und lokalen hydrodynamischen abiotischen Bedingungen zeigen [2]. Wenn genügend organisches Material und Sauerstoff vorhanden ist, können auch Oberflächenwasserarten in Teile des Grundwassersystems einwandern [2].

Methoden

Bei der biologisch-ökotoxikologischen Bewertung von Grundwasserökosystemen können ökotoxikologische Untersuchungen als *offline* Ökotoxizitätstests im Labor oder als echtzeitbasiertes *online* Biomonitoring herangezogen werden. Hierbei werden ausgewählte Vertreter der Grundwasserfauna (z. B. Höhlenflohkrebs der Gattung *Niphargus*, Brunnenasseln der Gattung *Proasellus*, oder Hüpferlinge (Copepoda)) entweder gezielt einer Grundwasserprobe (entweder im Labor oder in einer Grundwassermessstelle im Freiland) ausgesetzt, in der Schadstoffbelastungen oder Nährstoffbelastungen vermutet werden.

Online-Biomonitoring dient der vollautomatischen kontinuierlichen biologischen Echtzeit-Überwachung der Auswirkungen von Schadstoffgemischen, mit ausge-

a Im Labor, Wasserwerk

Fotos und Grafik: LimCo International GmbH

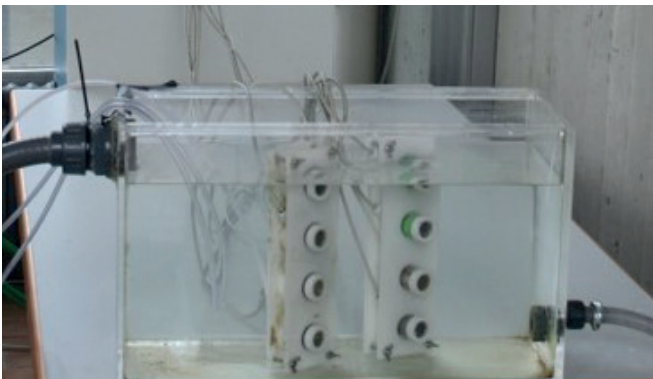


PC mit Software

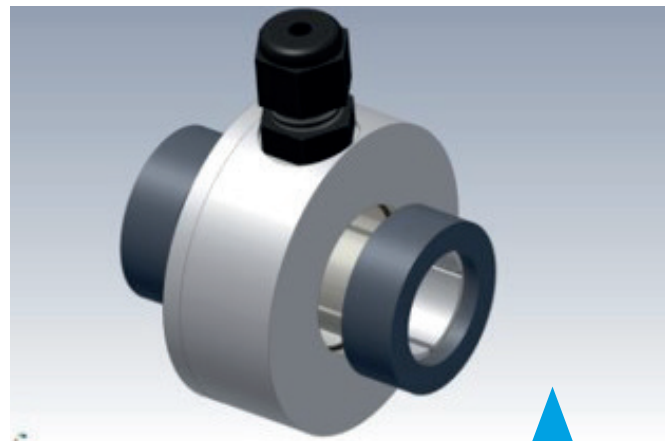
Messgerät



Messkammerblock mit 8 Mikrokammern (Copepoden)



b Im Feld, in situ mit Solarpanel und Speicherbatterien



Messkammern, einzeln in verschiedenen Größen für (Makrocrustaceaen)

Bild 1: Der Online-Grundwasserbiomonitor im Labor, Wasserwerk und Feld zur Bewertung und Überwachung der Grundwasserqualität hinsichtlich potentiell toxischer Auswirkungen von Schadstoffen und Chemikaliengemischen.

wählten, empfindlichen und für das zu überwachende Ökosystem repräsentativen Testarten. Es handelt sich also um einen kontinuierlich laufenden ökotoxikologischen Test, einen Toximeter.

Das Prinzip des online Biomonitoring folgt dem des „stellvertretenden Vorkosters“: wird die Testart durch einen in das System eindringenden Schadstoff oder Stoffgemisch beeinträchtigt, so sind auch andere Tierarten der Lebensgemeinschaft potentiell gefährdet. Online Biomonitoring liefert kontinuierlich Informationen über den Zustand der Testtiere in Echtzeit, wodurch Störungen sofort erkannt und Maßnahmen ohne Verzögerung eingeleitet werden können.

Durch online Biomonitoring können sowohl akute Einzelpulse als auch Summationseffekte wiederholter Schadstoffpulse, sowie Langzeiteffekte von Chemikalien und deren Gemischen aufgezeigt werden: es handelt sich also um eine Effektbasierte biologische Bewertungsmethode von Schadstoffgemischen mit Zeigertieren aus dem Ökosystem Grundwasser in Echtzeit.

Der im Rahmen des BMBF-Projektes GroundCare (2015–2019) entwickelte Grundwasserbiomonitor (**Bild 1**) kann sowohl für ca. 1 mm große Testorganismen, z. B. Copepoden als auch für Makrocrustaceaen (> 0,5 cm) im Labor und im Feld eingesetzt werden. Er basiert auf einer technischen

Tabelle 1: Anleitung zur Durchführung von ökotoxikologischen Tests mit Grundwasser-Makrocrustaceen

Parameter	Akute Tests	Chronische Tests	Bemerkungen
Tierarten	<i>Niphargus/Niphargopsis</i> spp. Proasellus spp.	<i>Niphargus/Niphargopsis</i> spp. Proasellus spp.	
Herkunft	Freiland oder Zucht/Hälterung	Freiland oder Zucht /Hälterung	Alle Tests mit möglichst derselben Feldpopulation zum Fangzeitpunkt, 1 Woche Akklimatisierung vor den Tests
Transport	Regelbares Kühlaggregat (10 °C) oder Temp. vom Fundort	Regelbares Kühlaggregat (10 °C) oder Temp. vom Fundort	Konstante Temperatur von Fang bis zum Labor
Akklimatisierung	1 Woche vor dem Test	1 Woche vor dem Test	Schrittweise, falls die Testbedingungen stark von den Fundortbedingungen abweichen
Wasser	Herkunftswasser	Herkunftswasser, Standardwasser, Trinkwasser (ohne Chlor), Flaschenwasser (Mineralarm), Oberflächenwasser mit Trinkwasserqualität Wasserwechsel wöchentlich	Falls nicht genügend Herkunftswasser vorhanden ist, kann dieses mit anderen Wässern bekannter chemischer Zusammensetzung verdünnt werden. Wasser vor den Tests filtrieren.
Temperatur	10 °C	10 °C	immer < 15 °C
Gefäße	250 ml-Bechergläser (Gruppen). 50 ml Einzelexposition Messkammer des Grundwasserbiomonitors	Mindestens 250 ml Bechergläser (Gruppenexposition), Petrischalen (Einzelhaltung)	In Bechergläsern für offline Tests, im Grundwasserbiomonitor für online Tests.
Fütterung	keine	Feindetritussuspension vom Herkunftsort, vorgeweichte Eschenblätter	Wenig Fütterung, um den nährstoffarmen Zustand im Grundwasser zu imitieren
Substrat	Gebannter und steriler Quarzkies	Gebannter und steriler Quarzkies	Gegen Stress bei Gruppenexposition, Mimik eines Lückensystemes
Endpunkte, Dauer	Mortalität nach 24-96 h, oder kontinuierlich; Time-to-death/effect (Mortalität, Verhalten) individuell im Grundwasserbiomonitor	Testdauer: 4–6 Wochen Mortalität Verhalten, Fraß, Reproduktion, (wöchentlich)	
Tierdichte	5/200 ml (250 ml-Becherglas)	5/200 ml (250 ml Becherglas)	Ohne Belüftung, Abdeckung mit Parafilm
Replikat	3–5	3–5	Je nach vorhandener Anzahl Tiere
Konzentrationen	3–7	3–5	Je nach Anzahl vorhandener Tiere

Weiterentwicklung des bereits bestehenden Multispecies Freshwater Biomonitor®, welcher erfolgreich in Forschung und Praxis eingesetzt wird, z. B. für ökotoxikologische Tests und zur Überwachung von Flußwasser, Abwasser und Rohwasser für die Trinkwassergewinnung [5–8].

Der Grundwasserbiomonitor

Beim Grundwasserbiomonitor handelt es sich um ein *in situ* Online-Testsystem mit acht Messkammern, welche langsam vom zu untersuchenden Grundwasser durch-

strömt werden, und in welche jeweils ein Testorganismus einzeln untergebracht ist. Dabei kann das Grundwasser aus einer zu untersuchenden Messstelle entweder zunächst an die Oberfläche gepumpt und dann in den Biomonitor eingebracht werden, oder der Grundwasserbiomonitor wird direkt in der zu untersuchenden Grundwasser-Messstelle installiert.

In den Messkammern wird ein schwaches hochfrequentes (für Tiere unschädliches) Wechselstrom-Feld erzeugt, in welchem alle Bewegungen der Tiere anhand von Spannungsänderungen erfasst werden können. Tritt ein

Schadstoff in das System ein, führt das je nach seiner toxischen Wirkung und Schadstoffkonzentration, zu unterschiedlich stark ausgeprägten Veränderungen der Atmungs- und Bewegungsaktivität der Tiere, bis hin zu Ihrer vollständigen Inaktivität oder Tod. Das Atmungsverhalten wird über die Ventilation mit den Kiemen gemessen. All diese Veränderungen werden im Biomonitor detektiert und je nach Stärke der Effekte, wird eine Warnmeldung oder ein Alarm ausgelöst.

Daraufhin können zeitnah die entsprechend erforderlichen Maßnahmen (z. B. chemische Wasseruntersuchungen) eingeleitet werden. Die Messkammern sind ja nach Tiergröße verschieden konzipiert: Der mikrofluidische Messkammerblock mit acht Mikro-Messzellen (Mikroimpedanz Sensor System, MSS) ist für Meiofauna oder frühe Larvenstadien (ca. 1 mm) geeignet und wurde im GroundCare Projekt mit dem fakultativ stygophilen Copepoden *Eucyclops serrulatus* getestet und validiert. Makrocrustaceen (> 5 mm) werden in einzelnen Durchflußmesskammern (5 cm lang, 2 cm innerer Durchmesser) ähnlich wie Gammariden im Multispecies Freshwater Biomonitor (MFB) exponiert.

Auswahl der Testarten

Der Einsatz von Grundwasserarten für die ökotoxikologische Bewertung und Überwachung der Grundwasser-ökosystemintegrität hat gegenüber dem stellvertretenden Einsatz von Oberflächen-Arten generell zahlreiche Vorteile:

- Grundwasser-Arten sind repräsentativ für die Lebensgemeinschaften im Grundwasser und erlauben dadurch eine adäquate Beurteilung von Störungen auf das Ökosystem.
- Grundwasser-Arten können gegenüber verschiedenen Belastungen empfindlicher sein als Oberflächenarten.
- Grundwasserarten sind einfacher in einem Langzeitbiomonitoring zu handhaben (längere Lebensdauer und keine künstliche Fütterung nötig).
- Grundwasser müsste bei der Verwendung von Oberflächenarten vorbehandelt werden (z. B. erwärmt, filtriert, mit Sauerstoff angereichert), wodurch Artefakte erzeugt werden, da es z. B. durch Ausfällungen zu einer chemischen Veränderung der Wasserbeschaffenheit, der Bioverfügbarkeit und der toxischen Auswirkungen kommen kann.
- Für die Langzeitüberwachung von wiederholten Pulsen oder chronischen Expositionen sind langlebige und empfindliche Testarten essentiell.

Der Grundwasserbiomonitor wurde im Rahmen von GroundCare entwickelt und mit folgenden Arten sowohl im Labor als auch im Feldversuch erfolgreich verwendet:

1) Mikrocrustaceen (Copepoden) können sehr empfindlich ggü. Schadstoffen sein und eignen sich zur Bewertung und Überwachung der Grundwasserqualität dort, wo sie eine dominante Komponente im GW-Ökosystem darstellen [9].

2) Makrocrustaceen (*Niphargus* spp., *Proasellus* spp.) eignen sich besonders dort, wo eine Langzeitüberwachung des Grundwassers sinnvoll ist, z. B. während der Applikation von Pestiziden, organischen/synthetischen Düngern innerhalb der Vegetationsperiode, um sowohl wiederholte Stoffpulse als auch chronische Langzeiteffekte von z. B. Pestiziden und Tierarzneimitteln über mehrere Wochen bis Monate zu erfassen.

Die Testarten können aus Feldpopulationen gesammelt werden oder aus einer Laborzucht entnommen werden. Die Entscheidung erfolgt je nach Fragestellung und Verfügbarkeit. Es gibt verschiedene Kriterien für die Auswahl der Testarten: Fehlen/Vorhandensein von potentiellen Testarten an der zu überprüfenden Messstelle; Ziel der Untersuchung und Typ des online Biomonitoring in Abhängigkeit von der Art der Belastung.

1. Vorhandensein/Fehlen eigener Fauna an der Messstelle

1.1) Messstelle mit Fauna: Hier erfolgt zunächst eine Probenahme mit Artbestimmung, danach die Auswahl einer lokal repräsentativen Testart, je nach Dominanz und Sensitivität.

1.2) Messstelle ohne eigene Fauna: Hier wird zunächst nach einer hydrolog./geolog. ähnlichen Messstelle in 50 km Umkreis gesucht, dabei auf bereits vorhandene Monitoringdaten zurückgegriffen. Falls eine vergleichbare Messstelle mit Fauna vorahnden ist wird wie unter 1.1. verfahren. Falls dies nicht gegeben ist muss nach alternativen Tierarten für das online Grundwasserbiomonitoring gesucht werden. Sofern es kommerziell erwerbliche Grundwasserkrebse aus Zuchten gibt, z. B. *Niphargus* spp. oder Copepoden sollte auf diese stygobionten Arten zurückgegriffen werden. Falls dies jedoch nicht möglich ist sollte auf stygophile, danach fakultativ stygophile und schließlich notfalls auf Oberflächenwasser verwandte Arten zurückgegriffen werden. Hier bietet sich *Gammarus fossarum* an, da dieser auch in Quellbereichen vorkommt, sich bereits im Langzeitbiomonitoring in Labor und Feld bewährt hat und oft ähnlich sensitiv wie *Niphargus* spp. ist [8, 10].

2. Ziel der Untersuchung

Auch das Ziel der Untersuchung bestimmt die Wahl der Testart.

2.1) operatives Biomonitoring: Bei einem lokalen operativen online Biomonitoring zur Verlaufskontrolle an einer bekannten Messstelle, z. B. um erfolgte Maßnahmen gegen erhöhten Stoffeintrag zu beurteilen und zu überwachen (Erfolgskontrolle, Verhinderung einer Verschlechterung).

rung) sollte ein Langzeitbiomonitoring mit stygobionter langlebiger Grundwasserfauna, d. h. Makrocrustaceen durchgeführt werden.

2.2) Investigatives Biomonitoring: Bei einem investigativen online Biomonitoring an einer Messstelle wo eine bestimmte Belastung vermutet wird kann im Ereignisfall eine kurzzeitige Exposition von stygobionten oder stygophilen Arten (Meio- oder Makrofauna) von einigen Tagen zur Abklärung ausreichen. Bei Kurzzeitexpositionen und dies besonders an Stellen wo Meiofauna dominant ist kann auf kurzlebige Copepoden zurückgegriffen werden.

3. Art der Belastung

Auch die Art der chemischen Belastung an der Messstelle ist entscheidend für die Wahl der Testart(en).

3.1) Erfassung akuter Pulsbelastungen: Zur Erfassung der Auswirkungen von kurzen Belastungsstößen, z. B. eine Gülle- oder Pestizidapplikation oder ein Starkregenereignis sollten die auf die vermuteten Stoffe/Stoffgemische empfindlichsten Grundwasserarten in Kurzzeitexpositionen verwendet werden. Hier eignen sich *Niphargus* spp., *Proasellus* spp. und Copepoden.

3.2) Langzeitüberwachung chronischer Effekte von Spurenstoffen: Hier eignen sich sehr langlebige stygobionte Makrocrustaceen, z. B. *Niphargus* spp.

3.3) Effekte von Oberflächenwassereinfluß können am besten mit einer Artenkombination von nahe Verwandten Makrocrustaceen untersucht werden, d. h. stygobionte *Niphargen* und *Gammariden*.

Anwendungsbeispiele

Ein ökotoxikologisches Grundwasser-Biomonitoring bietet z. B. in den folgenden Situationen einen entscheidenden Mehrwert:

- Wenn aufgrund der Landnutzungsform an der Oberfläche eine Beeinträchtigung des Grundwassers mit Schadstoffen/Nährstoffen oder -Gemischen (z. B. Pestiziden, Antibiotika, Nitrat) angenommen werden kann bzw. wahrscheinlich ist, ohne dass genau bekannt ist, um welche Stoffe es sich hierbei handelt und wann die Kontamination auftreten wird. Hier kann eine kontinuierliche Echtzeitüberwachung mit dem Grundwasserbiomonitor anzeigen, ob und wann eine die Fauna belastende Verunreinigung eintritt und welche Folgen dies auf die Testarten und potentiell auch auf die Lebensgemeinschaft hat (Stellvertreterprinzip). Darauf basierend, können z. B. durch einen Alarm des Grundwasserbiomonitors ereignisgesteuerte Wasserproben für nachfolgende chemische Untersuchungen eingeleitet werden, um die Art der Schadstoffe zu bestimmen, die zum Zeitpunkt des beobachteten toxischen Effektes herrschten um daraus entsprechende Schutzmaßnahmen abzuleiten.

- Wenn bei der faunistischen Bewertung eine geringe Besiedlungsdichte mit Grundwasserfauna oder eine Besiedlung mit Oberflächen-Arten aufgetreten ist, in Kombination mit dem Verdacht einer eventuellen anthropogenen Störung (z. B. bei erhöhten DOC-Konzentrationen und Temperaturen, bei niedrigen Sauerstoff-Konzentrationen oder beim Verdacht auf Spuren-schadstoffe). In einem solchen Fall kann der Grundwasserbiomonitor zur Aufklärung beitragen: überleben die lokalen, oder regional typischen stygobionten Testarten im zu untersuchenden Grundwasser nicht oder nur für kurze Zeit, so kann davon ausgegangen werden, dass die am Standort festgestellte faunistische Besiedlung anthropogen beeinträchtigt ist. Bleiben dagegen die sorgfältig ausgewählten Testorganismen auch in einem Langzeitbiomonitoring am Leben, so erscheinen die Besiedlungsdichte und die Artenzusammensetzung an dieser Stelle natürlicherweise gering. Diese Prüfung sollte bereits nach einer ersten, spätestens aber nach wiederholter abnormer faunistischer GW-Beprobung an der entsprechenden GW-Messstelle stattfinden, indem der online Grundwasserbiomonitor dort für mehrere Wochen mit zwei verschiedenen regional typischen und sensitiven Testarten installiert wird. Eine ergänzende chemische Detailanalytik kann bei Alarmen im Grundwasserbiomonitor Hinweise auf die Zusammensetzung des Stoffgemisches geben.
- Wenn die untersuchten Messstellen innerhalb eines Wasserschutzgebiets liegen, da hier ein bzgl. der Daseinsvorsorge erhöhter Schutzbedarf verlangt wird. Hierbei kann der Grundwasserbiomonitor eine sofortige Erkennung von Störungen anzeigen und die Einleitung von weiteren Maßnahmen in Gang setzen, z. B. ereignisgesteuerte Wasserprobenahme, Stopp der Grundwasserzufuhr ins Wasserwerk, etc.

Im Projekt GroundCare wurde der Grundwasserbiomonitor mit Amphipoden aus dem Grundwasser (*Niphargopsis casparyi*) und Oberflächenwasser (*Gammarus fossarum*) zur ökotoxikologischen Testung von Schadstoffen wie Kupfer, Bisphenol A und Nitrat [8, 10, 11] verwendet sowie für die Überwachung der Rohwasserqualität in Wasserwerken [8] und Grundwasser im Feld unter Einfluss künstlicher Düngung und Beregnung [13]. Deshalb wird hier auf die entsprechenden Publikationen verwiesen, ohne die Ergebnisse zu wiederholen.

Wird im Rahmen der oben beschriebenen Fälle bei der Anwendung des Grundwasserbiomonitors *in situ* mit einer oder mehrerer Testarten innerhalb von einer Woche eine solche akute Beeinträchtigung festgestellt, kommt es zur Einstufung „akut toxisch“. Im Folgenden werden hier ergänzend weitergehende Labortests und chemische Untersuchungen mit dem Wasser der GW-Messstelle angeraten, um einerseits die Stoffe zu detektieren und andererseits die Toxizität und

deren Wirkmechanismen für Mensch und Tier zu ermitteln. Wird im Rahmen der oben beschriebenen Fälle bei der Anwendung des Grundwasserbiomonitors *in situ* mit einer oder mehrerer Testarten innerhalb von vier bis sechs Wochen, z. B. bei wiederholter Applikation von Düngern oder Pestiziden eine chronische Beeinträchtigung festgestellt, kommt es zur Einstufung „chronisch toxisch“. Im Folgenden werden hier ergänzend weitergehende Labortests und chemische Untersuchungen mit dem Wasser der GW-Messstelle angeraten, um einerseits die Stoffe zu detektieren und andererseits die Toxizität und deren Wirkmechanismen für Mensch und Tier zu ermitteln. Das Vorschalten des online Grundwasserbiomonitorings erlaubt ein kosteneffizientes schrittweises Vorgehen, sodass teure chemische Detailanalytik gezielt (ereignisgesteuert) und sparsam eingesetzt werden kann und arbeitsintensive ökotoxikologische Tests reduziert werden können (nach dem 3R Prinzip: Tierversuche vermeiden, verringern, verbessern) und chemische Analytik direkt an den ereignisabhängigen Wasserproben, das heißt mit der vermutlich höchsten Stoffkonzentration durchgeführt werden können.

Ökotoxikologische Tests im Labor

Sollte es an den Grundwassermessstellen zu Auffälligkeiten kommen (z. B. rasches Sterben im Grundwasserbiomonitor, Faunendefiziten, chemische Abnormitäten) sollten ergänzend Labortests zur Ökotoxikologie, vorzugsweise an stygobionten Grundwasserkrebstieren, z. B. *Niphargus* spp., *Proasellus* spp., Copepoden durchgeführt werden.

Zucht der Versuchstiere

Bei einer Hälterung für ökotoxikologische Versuchszwecke, empfehlen sich Arten, welche in ihrer Verbreitung repräsentativ sind. Die Gattung *Niphargus* ist mit über 300 Arten die artenreichste Gattung von Süßwasserflohkrebsen und in Europa eine der wichtigsten Gruppen der Grundwasserfauna [12]. Die Hälterung des Grundwasseramphipoden von z. B. *Niphargopsis casparyi* hat sich bewährt, da sie sich problemlos über mehrere Monate bis Jahre einfach durchführen lässt.

Akute und chronische Testdesigns

Die Durchführung der Toxizitätstests mit stygobionten Grundwasserkrebsen kann sich generell an den vorhandenen OECD Testrichtlinien zu vergleichbaren Arten aus dem Oberflächengewässerbereich orientieren, sollte aber an die Bedingungen im Grundwasser angepasst werden. Um erste Daten zur Ökotoxizität von ausgewählten Indikatorschadstoffen zu erhalten wurden im Projekt GroundCare erstmals akute und chronische Toxizitätstests unter möglichst realitätsnahen Grundwasserbedingungen durchgeführt. Akute Tests mit Vertretern der Gattungen *Niphargopsis* spp.

und *Proasellus* spp. wurden mit im Feld gesammelten Tieren und dem dort entnommenen Wasser (akute Tests) bzw. mit gefiltertem Oberflächenwasser von Trinkwasserqualität (z. B. Bodenseewasser) bei 10 °C im Dauerdunkel in Thermostatschranken durchgeführt. Die akuten Tests (24–96 Std.) können an die EPA Testguideline für *Gammarus* spp. (OPPTS 850.120, US-EPA, 1996) angelehnt werden oder kontinuierlich im Grundwasserbiomonitor bei individueller Exposition als dynamischer Toxtest durchgeführt werden. Während im ersten Fall das Überleben nach festgesetzten Zeiten, z. B. 24 oder 96 Std. visuell ermittelt wird, kann das Überleben und das Verhalten der einzelnen Tiere im Grundwasserbiomonitor in Echtzeit kontinuierlich und quantitativ aufgezeichnet werden. Dies erlaubt zusätzlich zur „fixed-endpoint“ Analyse auch die detailliertere Methode der „Time-to-Effect“ Analyse für jedes Individuum. Zählt man z. B. visuell die toten Tiere nach 24 Std. (fixed endpoint = 24 Std.) weiß man nicht wie viele Tiere davon schon bereits nach 12, 18 oder 20 Std. gestorben sind. Letzteres erlaubt aber die kontinuierliche Messung der Einzeltiere über die 24 Std. im Grundwasserbiomonitor. So kann sich herausstellen, dass die Tiere eigentlich fast alle schon nach viel kürzer Zeit als die festgesetzten 24 Std. gestorben sind, d. h. der Stoff viel toxischer ist als angenommen wurde [13].

Die akuten Tests werden ohne Fütterung und ohne Belüftung in 250 ml Bechergläsern mit sterilem gebrannten Quarzkies als Substrat ausgeführt. Das Substrat dient den Tieren als Versteck und Schutz vor potenziellem Kannibalismus und Vermeidung von Stress, da die Tiere Lückensysteme gewohnt sind. Es wurden z. B. Tests mit 20 Tieren pro Konzentration in 3–4 Gruppen (Replikate) a fünf Tiere pro Becherglas, mit 100 ml Testlösung erfolgreich durchgeführt. Die chronischen Tests werden ebenfalls im Thermostatschrank (10 °C) im Dauerdunkel durchgeführt, aber die größeren hier benötigten Wassermengen bedingt durch wöchentliche Wechsel der Testlösung erfordern entweder einen einfachen, nahegelegenen Zugang zum Grundwasser der Herkunftsstelle der Tiere oder die Verwendung anderen Wassers, z. B. filtriertes (100 µm) Oberflächenwasser von Trinkwasserqualität oder Flaschenwasser mit geringem Mineral-/Salzgehalt und ohne Kohlensäure. Die wöchentliche Zugabe von Feindetritus-suspensionen vom Herkunftsort und konditionierte Eschenblätter (N. Rütz pers. Mitteilung) dienen als Nahrungsquelle. Der Feindetritus vom Herkunftsort erhält das gewohnte mikrobielle Milieu. Die Laufzeit der chronischen Tests sollte mindestens 4–6 Wochen betragen, um dem längeren Lebenszyklus und dem langsameren Stoffwechsel und Wachstum der Tiere Rechnung zu tragen. In chronischen Tests sollten neben dem Überleben und dem Verhalten (visuell oder im Grundwasserbiomonitor) auch das Fraßverhalten und ggf. Reproduktionsrelevante Parameter (Paarbildung, Zahl der Eigelege, etc.) berücksichtigt werden. Erste akute und chronische Toxizitätstests zeigten, dass *Niphargopsis casparyi* sensitiver auf Schadstoffe reagieren

kann als der Oberflächenverwandte Amphipode *Gammarus fossarum* [8, 10, 14].

Danksagung

Die Studie wurde im Rahmen des Projektes GroundCare (2015-2019; Nr. 033W037H) durchgeführt und vom BMBF im Rahmen von ReWaM (Regionales Wasserressourcen-Management für den nachhaltigen Gewässerschutz in Deutschland) co-finanziert. Folgenden Personen wird für ihre Kommentierung des Manuskriptes gedankt: N. Rütz, M. Avramov, H.J. Hahn, C. Griebler, H. Mohrscheid.

Literatur

- [1] Thulin, B. & Hahn, H. J. (2008): Ecology and living conditions of groundwater fauna, Technical Report (TR-08-06) of the Svensk Kärnbränslehantering (SKB), Stockholm.
- [2] Mösslacher, F. & Notenboom, J. (1999): Groundwater Biomonitoring. In: Gerhardt, A. (ed): Biomonitoring of polluted water. Environmental Research Forum, 9, 119–140. TTP, Zürich.
- [3] Plenet, S. (1995): Freshwater amphipods as biomonitors of metal pollution in surface and interstitial aquatic systems. Freshwater Biology 33, 127–137.
- [4] Plenet, S.; Marmonier, P.; Gibert, J.; Stanford, J.A.; Bodeergat, A.M.; Schmidt, C.M. (1992): Groundwater Hazard Evaluation: A perspective for the use of interstitial and benthic invertebrates as sentinels of aquifer metallic contamination. 319-319. In: Stanford JA & JJ Simons (eds): Proc. 1st intern. Conference Groundwater Ecology, American Water RESOURCE Association; Bethesda, MD, USA.
- [5] Gerhardt, A.; Clostermann, M.; Fridlund, B.; Svensson E. (1994): Monitoring of behavioral patterns of aquatic organisms with an impedance conversion technique. Environment International 20 (2), 209–219.
- [6] Gerhardt, A.; Kienle, C.; Allan, I.J.; Greenwood, R.; Guigues, N.; Fouiliac, A.M.; Mills, G.A.; Gonzales, C. (2007): Biomonitoring with *Gammarus pulex* at the Meuse (NL), Aller (GER) and Rhine (F) rivers with the online Multispecies Freshwater Biomonitor[®]. Journal of Environmental Monitoring JEM, Vol. 9, 979–985.
- [7] Bühler et al. 2014 (fehlt)
- [8] Grimm, C. & Gerhardt, A. (2018): Sensitivity towards copper: comparison of stygal and surface water species' biomonitoring performance in water quality surveillance. Intern. J. Sci. Res. Environm. Sci. Toxicology 3 (1), 15 pp., March 2018, open access.
- [9] Di Lorenzo, T.; Di Marzio, W.D.; Sáenz, M.; Baratti, M.E.; Dedonno, A.A.; Iannucci, A.; Cannicci, S.; Messina, G.; Galassi, D.M.P. (2014): Sensitivity of hypogean and epigeal freshwater copepods to agricultural pollutants. Environmental Science and Pollution Research, 21, 4643–4655.
- [10] Gerhardt, A. (2020): Sensitivity towards Nitrate: Comparison of groundwater versus surface water crustaceans. Journal of Soil and Water Science 4 (1), open access.
- [11] Gerhardt, A. (2018): Suitability of *Eucyclops serrulatus* (Fischer 1851) (Crustacea: Copepoda) for online biomonitoring of water quality in the new Microimpedance Sensor System[®]. Current Topics in Toxicology, 14, 29–39, open access.
- [12] Gerhardt, A.; Janssens de Bisthoven, L.; Mo, Z.; Wang, C.; Yang, M.; Wang, Z. (2002): Short-term responses of *Oryzias latipes* (Pisces: Adrianichthyidae) and *Macrobrachium nipponense* (Crustacea: Palaemonidae) to municipal and pharmaceutical wastewater in Beijing, China: survival, behaviour and biochemical biomarkers. Chemosphere 47, 35–47.
- [13] Gerhardt, A.; Badouin, N.; Weiler, M. (2020): In situ online biomonitoring of groundwater quality with freshwater amphipods. Current Topics in Toxicology, March 2020, open access.
- [14] Väinölä R.; Witt J.D.S.; Grabowski, M.; Bradbury, J.H.; Jazdzewski, K.; Sket, B. (2008): Global diversity of amphipods in freshwater. Hydrobiologia 595 (1), 241–255.

Autorin:

Dr. Almut Gerhardt

LimCo International GmbH

almutg@web.de, www.limco-int.com