

Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Umweltanalytik
der Technischen Universität München

Effekte hormonell wirksamer Substanzen auf das Zooplankton aquatischer Modellökosysteme

Gabriele Felicitas Severin-Edmaier

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung
des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. A. Melzer
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. A. Kettrup
2. Univ.-Prof. Dr. W. Huber

Die Dissertation wurde am 28.07.2000 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung
und Umwelt am 08.10.2000 angenommen.

Publikationen

Zeitschriften

Radix P., Severin G., Schramm K.-W., Kettrup A. Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disrupters. *Chemosphere* (eingereicht).

Jontofsohn M., Stoffels M., Schloter M., Pfister G., Jüttner I., Severin G., Hartmann A. Influence of Nonylphenol on the microbial community structure of a lake sediment. *Science of Total Environment* (eingereicht).

Vorträge

Severin G., Jüttner I., Pfister G., Schramm K.-W., Kettrup A. 2000. The effects of endocrine disruptors on the biocenosis of aquatic model ecosystems. Third SETAC World Congress, 21. bis 25. Mai 2000, Brighton, Großbritannien.

Severin G., Jüttner I., Pfister G., Schramm K.-W., Kettrup A. 2000. The effects of endocrine disruptors on the biocenosis of aquatic model ecosystems. ASLO World Congress of the American Society of Limnology and Oceanography, 5. bis 9. Juni 2000, Kopenhagen, Dänemark.

Poster

Lanzer R., Pfister G., Severin G., Schramm K.-W., Kettrup A. 1999. Evaluation of the toxicity of Nonylphenol in the embryonic development of *Lymnea stagnalis* (Linné) SECOTOX 99, Fifth European Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety. GSF-National Research Center, 15. bis 17. März 1999, Neuherberg/München.

Radix P., Severin G., Schramm K.-W., Kettrup A. 1999. Reproduction of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the assessment of endocrine disrupters. SECOTOX 99, Fifth European Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety. GSF-National Research Center, 15. bis 17. März 1999, Neuherberg/München.

Severin G., Sandmann E., Funk M., Huber W., Kettrup A. 1999. Mikrokosmos, Mesokosmos und Seenlitoral: Eine Gegenüberstellung der limnologischen Daten von Ökosystemen unterschiedlicher Größe. SETAC-Europe (German Language Branch) 4. Tagung, 13. bis 14. September 1999, Freising-Weißenstephan.

Severin G., Jüttner I., Pfister G., Schramm K.-W., Kettrup A. 1999. Effekte von Nonylphenol auf Zooplankton in Mikrokosmen. SETAC-Europe (German Language Branch) 4. Tagung, 13. bis 14. September 1999, Freising-Weihenstephan.

Severin G., Jüttner I., Pfister G., Schramm K.-W., Kettrup A. 2000. Effects of nonylphenol on the zooplankton of aquatic model ecosystems. Third SETAC World Congress, 21. bis 25. Mai 2000, Brighton, Großbritannien.

Hense B.A., Jüttner I., Severin G., Welzl G., Schramm K.-W., Kettrup A. 2000. Investigations on the phytoplankton in microcosms continuously exposed to the endocrine disruptor nonylphenol. Third SETAC World Congress, 21. bis 25. Mai 2000, Brighton, Großbritannien.

Severin G., Jüttner I., Pfister G., Schramm K.-W., Kettrup A. 2000. Effects of nonylphenol on the zooplankton of aquatic model ecosystems. ASLO World Congress of the American Society of Limnology and Oceanography, 5. bis 9. Juni 2000, Kopenhagen, Dänemark.

Hense B.A., Jüttner I., Severin G., Welzl G., Schramm K.-W., Kettrup A. 2000. Investigations on the effect of the endocrine disruptor nonylphenol on freshwater phytoplankton in continuously exposed microcosms. ASLO World Congress of the American Society of Limnology and Oceanography, 5. bis 9. Juni 2000, Kopenhagen, Dänemark.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1997 bis Juli 2000 am Institut für Ökologische Chemie des GSF-Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit in Neuherberg durchgeführt.

Das Mikrokosmenprojekt war Bestandteil des Querschnittsthemas „Ökotoxikologie“, an dem mehrere Institute des GSF-Forschungszentrums beteiligt waren. Für die biologische Konzeption des Versuchs sowie die fachliche Betreuung des Projektes zeichnete Frau Dr. I. Jüttner verantwortlich, der ich hierfür ebenso danken möchte, wie für ihre Mitarbeit beim Versuch mit Nonylphenol.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof A. Kettrup für die Vergabe des Themas und die wissenschaftliche Betreuung der Arbeit.

Das Zweitgutachten erstellte freundlicherweise Herr Prof. W. Huber (TU Weihenstephan). Ich danke ihm für die Übernahme des Korreferates sowie für die zeitweise Bereitstellung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut.

Herrn PD Dr. K.-W. Schramm danke ich für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, für seine stetige Diskussionsbereitschaft in fachlichen und organisatorischen Fragen und für seine Unterstützung bei auftretenden Problemen.

Herr Dr. B. Hense übernahm die Bearbeitung der Phytoplanktonproben und stellte seine Ergebnisse für diese Arbeit zur Verfügung. Ich danke ihm hierfür ebenso wie für sein offenes Ohr bei diversen Fragestellungen.

Herrn Dr. G. Pfister verdanke ich die Entwicklung der Dosierungsmethode und die Bestimmung der Nonylphenol-Konzentrationen im Wasser. Im Versuch mit Ethinylestradiol wurde die Analytik von Herrn Prof. Dr. K. Koci (University of Tirana) entwickelt und von Herrn Dr. C. Klimm mit Hilfe von Herrn T. Semlinger und Herrn F. Stadler durchgeführt. Ihnen allen gilt ebenfalls mein Dank. Herrn Dr. M. Seifert vom Lehrstuhl für Botanik der Technischen Universität München in Weihenstephan danke ich für die Durchführung der ELRA-Analytik der Wasserproben im Versuch mit Ethinylestradiol.

An der Entnahme von Sediment und Wasser, der Einrichtung der Mikrokosmen sowie der Beprobung während des Versuchs waren zahlreiche tatkräftige Helferinnen und Helfer beteiligt. Namentlich erwähnt seien hier Frau B. Beck (†), Frau M. Hofmann, Frau M. Jontofsohn, Herrn W. Jaser, Frau Dr. R. Lanzer, Herrn T. Semlinger, Frau G. Sigl und Herrn F. Stadler. Ihnen allen gilt mein herzlichster Dank für die Zusammenarbeit.

Herr Dr. G. Welzl (Institut für Biomathematik und Biometrie) hat viel Zeit und Ausdauer in die statistische Bearbeitung der Daten investiert. Für seine große Geduld und die Vermittlung des Verständnisses der multivariaten Analysen und nicht zuletzt für die angenehme Arbeitsatmosphäre bin ich ihm sehr dankbar.

Mit Frau E. Sandmann (TU Weihenstephan) verbindet mich neben langjähriger Freundschaft auch eine fachliche Zusammenarbeit. Ihrer zeitgleich durchgeführten Promotionsarbeit ist es zu verdanken, dass wir uns mit ihr bei der Einrichtung der Mikrokosmen bezüglich des Ammersees abstimmen, wodurch die gewonnenen Daten nach Abschluss der Einzelprojekte in einen größeren Zusammenhang gestellt werden können. Ich danke ihr für die Kooperation und die vielen fachlichen Gespräche und fruchtbaren Diskussionen, zu denen sie jederzeit bereit war.

Am Institut für Ökophysiologie und Botanik (TU Weihenstephan) erfolgte die Bearbeitung der Zooplanktonproben. Ich danke den Kollegen dort, insbesondere Herrn M. Funk, für die Unterstützung bei der Erarbeitung der Zooplankton-Taxonomie und das motivierende, gute Arbeitsklima.

Für die stete Hilfsbereitschaft, nicht nur bei Computer-Problemen, seien Frau I. Hoffmann und Herrn S. Achatz gedankt.

Ein herzliches Dankeschön geht an alle Mitdoktoranden, Kolleginnen und Kollegen im IÖC, die hier nicht namentlich erwähnt werden, die jedoch auf die ein oder andere Art zu einer angenehmen Arbeitsatmosphäre beigetragen haben.

Abschließend möchte ich all denen Dank sagen, die mich auf meinem bisherigen Weg begleitet und an mich geglaubt haben.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	14
1.1	Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung.....	14
1.2	Nonylphenol.....	16
1.2.1	Vorkommen in der Umwelt	16
1.2.2	Effekte von Nonylphenol.....	17
1.3	Ethinylestradiol	22
1.3.1	Vorkommen in der Umwelt	22
1.3.2	Effekte von Ethinylestradiol	22
1.4	Ökotoxikologische Testsysteme	23
1.5	Beurteilung endokriner Effekte in aquatischen Modellökosystemen	25
1.6	Zielsetzung der Arbeit.....	26
2	MATERIAL UND METHODEN	27
2.1	Testsubstanzen	27
2.1.1	Nonylphenol	27
2.1.2	Ethinylestradiol	27
2.2	Testsysteme - Mikrokosmen.....	27
2.2.1	Sediment	29
2.2.2	Wasser	30
2.2.3	Zooplankton.....	31
2.2.4	Durchmischungen der Wassersäulen beim Versuch mit Ethinylestradiol	32
2.3	Applikation der Testsubstanzen.....	32
2.3.1	Controlled-Release-Dosierung.....	32
2.3.2	Dosierung durch direkte Zugabe der Testsubstanz.....	34
2.3.3	Testkonzentrationen	34
2.4	Bestimmung von Nonylphenol im Wasser	35
2.4.1	Probenahme.....	35
2.4.2	Analytik.....	36
2.5	Bestimmung von Ethinylestradiol in Wasser	38
2.5.1	Probenahme.....	38
2.5.2	Analytik.....	38
2.6	Untersuchung der Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen	44

2.7	Chemisch-physikalische Messungen	45
2.7.1	Physikalische Parameter	45
2.7.2	Chemische Parameter	45
2.8	Entnahme von Wasser und Planktonproben.....	46
2.9	Bestimmung der Zooplanktonproben	47
2.10	Bestimmung der Phytoplanktonproben.....	48
2.11	Numerische Verfahren	49
2.11.1	Statistische Kenngrößen.....	49
2.11.2	Relative Abundanz	49
2.11.3	Populationsdynamik	50
2.11.4	Prozentuale Abweichung der Abundanzen vom Mittelwert der Kontrollen.....	50
2.11.5	Artenzahl, Diversität und Evenness	51
2.11.6	Stetigkeit.....	52
2.12	Statistische Methoden	53
2.12.1	Multivariate Verfahren.....	53
2.12.2	Univariate Verfahren.....	55
3	ERGEBNISSE.....	56
3.1	Konzentrationsverlauf der Modellchemikalien in den Mikrokosmen.....	56
3.1.1	Nonylphenol	56
3.1.2	Ethinylestradiol	57
3.2	Physikalisch-chemische Messungen.....	61
3.2.1	Sauerstoffsättigung und Temperatur.....	61
3.2.2	pH-Wert.....	63
3.2.3	Leitfähigkeit	65
3.2.4	Phosphat	70
3.2.5	Stickstoff.....	71
3.3	Zooplanktonpopulation beim Versuch mit Nonylphenol	76
3.3.1	Zooplanktonpopulation in den Kontrollen K1 bis K9 (NP-Versuch).....	76
3.3.2	Zooplanktonpopulation in Nonylphenol-Mikrokosmen NP1 bis NP7.....	92
3.3.3	Principal-Response-Curves (Zooplankton, NP-Versuch)	110
3.4	Phytoplanktonpopulation beim Versuch mit Nonylphenol.....	118
3.5	Zooplanktonpopulation beim Versuch mit Ethinylestradiol.....	128
3.5.1	Zooplanktonpopulation in den Kontrollen K1 bis K5 (EE-Versuch nach zweimaliger Durchmischung der Wassersäulen)	128
3.5.2	Zooplanktonpopulation in Ethinylestradiol-Mikrokosmen EE1 bis EE8.....	140
3.5.3	Principal-Response-Curves (Zooplankton, EE-Versuch).....	156
3.5.4	Wirkung der Durchmischungen der Wassersäulen auf das Zooplankton	158

3.6	Gegenüberstellung des Zooplanktons in den Kontrollen 1998 und 1999.....	178
4	DISKUSSION.....	182
4.1	Konzentrationsverlauf der Modellchemikalien.....	182
4.1.1	Nonylphenol	182
4.1.2	Ethinylestradiol	182
4.2	Funktionelle Parameter	182
4.3	Zooplankton.....	183
4.3.1	Rotatoria.....	183
4.3.2	Cladocera	185
4.3.3	Copepoda.....	186
4.4	Phytoplankton (Nonylphenol).....	187
4.5	Planktonökologie	190
4.5.1	Kontrollen K1 bis K9 (NP-Versuch).....	190
4.5.2	Nonylphenol-Mikrokosmen (NP1 bis NP7).....	191
4.5.3	Ethinylestradiol-Mikrokosmen	193
4.6	Eignung der Mikrokosmen als ökotoxikologische Testsysteme	194
4.6.1	Versuchsdesign	195
4.6.2	Statistische Auswertung	196
4.6.3	Recovery	197
4.6.4	Strukturelle und funktionelle Veränderungen	198
4.6.5	Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Testsystemen auf die natürliche Umwelt....	198
4.6.6	Referenzcharakter des Versuchs mit Ethinylestradiol	200
5	ZUSAMMENFASSUNG	201
6	AUSBLICK.....	204
7	LITERATURVERZEICHNIS	205
8	ANHANG	223

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Toxizitätswerte von Nonylphenol für <i>Daphnia</i> sp.....	19
Abb. 2:	Strukturformeln von 17 α -Ethinylestradiol, 17 β -Estradiol und einigen Isomeren von Nonylphenol.....	21
Abb. 3:	Schema eines Mikrokosmos	27
Abb. 4:	Anordnung der Mikrokosmen in der Teichanlage des Instituts für Bodenökologie (GSF-Forschungszentrum in Neuherberg)	28
Abb. 5:	Mikroseparator	37
Abb. 6:	Nonylphenol-Konzentrationen in den Mikrokosmen	57
Abb. 7:	Ethinylestradiol-Konzentrationen in den Mikrokosmen (Controlled Release).....	58
Abb. 8:	Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen EE1 bis EE5 (ELRA).....	58
Abb. 9:	Ethinylestradiol-Konzentrationen in den Mikrokosmen (direkte Zugabe)	59
Abb. 10:	Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen EE1 bis EE5 (ELRA).....	60
Abb. 11:	Temperatur und Sauerstoffsättigung in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	66
Abb. 12:	pH und Leitfähigkeit in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	67
Abb. 13:	Temperatur und Sauerstoffsättigung in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)	68
Abb. 14:	pH und Leitfähigkeit in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol).....	69
Abb. 15:	o-PO ₄ -Phosphat in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	70
Abb. 16:	o-PO ₄ -Phosphat in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)	71
Abb. 17:	NH ₄ -N in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	72
Abb. 18:	NO ₃ -N in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	73
Abb. 19:	NH ₄ -N in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol).....	74
Abb. 20:	NO ₃ -N in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)	74
Abb. 21:	Artenzahl, Diversität und Evenness in den Kontrollen (Nonylphenol)	77
Abb. 22:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K1 und K2 (Nonylphenol)	79
Abb. 23:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K3 und K4 (Nonylphenol)	80
Abb. 24:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K5 und K6 (Nonylphenol)	81
Abb. 25:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K7 und K8 (Nonylphenol)	82
Abb. 26:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K9 (Nonylphenol)	83
Abb. 27:	Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Kontrollen (Nonylphenol).....	84
Abb. 28:	%ABW _K der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Nonylphenol)	86
Abb. 29:	Populationsdynamik von <i>Keratella</i> spp. und <i>Lecane</i> spp. (Kontrollen NP).....	88
Abb. 30:	Populationsdynamik von <i>Polyarthra</i> spp. und <i>Synchaeta</i> spp. (Kontrollen NP)	89
Abb. 31:	Populationsdynamik von <i>Daphnia longispina</i> und <i>Chydorus sphaericus</i> (Kontrollen NP)	90
Abb. 32:	Populationsdynamik der Entwicklungsstadien von <i>Eucyclops serrulatus</i> (Kontrollen NP)	91
Abb. 33:	Artenzahl, Diversität und Evenness in den Mikrokosmen (Nonylphenol)	93
Abb. 34:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP1 und NP2	95
Abb. 35:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP3 und NP4	96
Abb. 36:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP5 und NP6	97
Abb. 37:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP7.....	98
Abb. 38:	Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	101

Abb. 39:	%ABW _{NP} bei Rotatoria, Cladocera und Copepoda	103
Abb. 40:	Populationsdynamik von <i>Lecane</i> spp. und <i>Keratella</i> spp. (Nonylphenol).....	106
Abb. 41:	Populationsdynamik von <i>Polyarthra</i> spp. und <i>Synchaeta</i> spp. (Nonylphenol).....	107
Abb. 42:	Populationsdynamik von <i>Daphnia longispina</i> und <i>Chydorus sphaericus</i> (Nonylphenol).....	108
Abb. 43:	Populationsdynamik der Entwicklungsstadien von <i>Eucyclops serrulatus</i> (Nonylphenol).....	109
Abb. 44:	Principal-Response-Curves und Species-Scores für alle Arten des Zooplanktons (Nonylphenol).....	111
Abb. 45:	Principal-Response-Curves und Species-Scores für Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Nonylphenol)	112
Abb. 46:	Korrelation des cdt-Wertes der 1. Komponente mit dem Logarithmus der NP-Konzentration.....	113
Abb. 47:	Regressionsgeraden der Wochen 6 bis 11 für NP2 bis NP7	114
Abb. 48:	Schnittpunkte der Regressionsgeraden mit der oberen Grenze des 95%-Konfidenzintervalls.....	115
Abb. 49:	cdt-Werte und NP-Konzentrationen (logarithmiert) in der Postapplikationsphase (Woche 12 bis 16).....	117
Abb. 50:	Artenzahl, Diversität und Evenness des Phytoplanktons (Nonylphenol).....	119
Abb. 51:	Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft in K2 und K3 (Nonylphenol)	122
Abb. 52:	Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft in NP2 und NP4 (Nonylphenol).....	123
Abb. 53:	Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft in NP5 und NP7 (Nonylphenol).....	124
Abb. 54:	Zelldichte und Phytoplanktonbiomasse in den Mikrokosmen (Nonylphenol).....	126
Abb. 55:	Principal-Response-Curves und Species-Scores der Phytoplanktonklassen (Nonylphenol).....	127
Abb. 56:	Artenzahl, Diversität und Evenness in den Kontrollen (Ethinylestradiol).....	129
Abb. 57:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K1 und K2 (Ethinylestradiol)	131
Abb. 58:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K3 und K4 (Ethinylestradiol)	132
Abb. 59:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K5 (Ethinylestradiol)	133
Abb. 60:	Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Kontrollen (Ethinylestradiol)	134
Abb. 61:	%ABW _K der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Ethinylestradiol)	136
Abb. 62:	Populationsdynamik von <i>Chydorus sphaericus</i> , <i>Daphnia longispina</i> und <i>Ceriodaphnia reticulata</i> (Kontrollen EE)	138
Abb. 63:	Populationsdynamik der verschiedenen Entwicklungsstadien von <i>Eucyclops serrulatus</i> (Kontrollen EE).....	139
Abb. 64:	Artenzahl, Diversität und Evenness in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol).....	141
Abb. 65:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE1 und EE2.....	143
Abb. 66:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE3 und EE4.....	144
Abb. 67:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE5 und EE6.....	145
Abb. 68:	Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE7 und EE8.....	146
Abb. 69:	Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)	148
Abb. 70:	%ABW _{EE} bei Rotatoria, Cladocera und Copepoda	150

Abb. 71: Populationsdynamik von <i>Ceriodaphnia reticulata</i> und <i>Daphnia longispina</i> (Ethinylestradiol)	153
Abb. 72: Populationsdynamik von <i>Chydorus sphaericus</i> und <i>Sida crystallina</i> (Ethinylestradiol)	154
Abb. 73: Populationsdynamik der Entwicklungsstadien von <i>Eucyclops serrulatus</i> (Ethinylestradiol)	155
Abb. 74: Principal-Response-Curves und Species-Scores für alle Arten des Zooplanktons (Ethinylestradiol)	156
Abb. 75: Principal-Response-Curves und Species-Scores für Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Ethinylestradiol)	157
Abb. 76: Artenzahl, Diversität und Evenness in den Mikrokosmen	159
Abb. 77: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K1 und K2 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	161
Abb. 78: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K3 und K4 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	162
Abb. 79: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K5 und EE1 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	163
Abb. 80: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE2 und EE3 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	164
Abb. 81: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE4 und EE5 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	165
Abb. 82: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE6 und EE7 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	166
Abb. 83: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE8 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	167
Abb. 84: Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	169
Abb. 85: %ABW _{K+EE} der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	171
Abb. 86: Populationsdynamik von <i>Synchaeta</i> spp., <i>Polyarthra</i> spp. und <i>Lecane</i> spp. (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	174
Abb. 87: Populationsdynamik von <i>Daphnia longispina</i> und <i>Chydorus sphaericus</i> (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	175
Abb. 88: Populationsdynamik von <i>Sida crystallina</i> und <i>Ceriodaphnia reticulata</i> (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	176
Abb. 89: Populationsdynamik der verschiedenen Entwicklungsstadien von <i>Eucyclops serrulatus</i> (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)	177
Abb. 90: Wirkungsgefüge der Planktonorganismen in den Kontrollen (NP-Versuch)	191
Abb. 91: Wirkungsgefüge der Planktonorganismen in mit Nonylphenol belasteten Mikrokosmen	192
Abb. 92: Wirkungsgefüge in den Mikrokosmen beim Versuch mit Ethinylestradiol	194

Tabellenverzeichnis

<i>Tab. 1: Toxizitätswerte und östrogene Wirkung von Nonylphenol auf einige ausgewählte Zooplanktonorganismen (nach Servos 1999)</i>	<i>20</i>
<i>Tab. 2: Bezeichnung der Mikrokosmen während der Freilandversuche 1998 (NP) und 1999 (EE):</i>	<i>28</i>
<i>Tab. 3: Geplante mittlere Nonylphenol-Konzentrationen in den Mikrokosmen</i>	<i>34</i>
<i>Tab. 4: Geplante mittlere Ethinylestradiol-Konzentrationen in den Mikrokosmen</i>	<i>35</i>
<i>Tab. 5: Regressionsgleichungen, R^2 und NP-Konzentrationen beim Schnittpunkt der linearen Regressionen für Woche 6 bis 11 (NP2 bis NP7) mit der oberen Grenze des 95%-Konfidenzintervalls</i>	<i>115</i>
<i>Tab. 6: Geschätzte prozentuale Abundanzabnahmen der Copepoden und Cladoceren bei der Applikation von Nonylphenol</i>	<i>116</i>
<i>Tab. 7: Artenzahl und Stetigkeit der Rotatorien in den Kontrollmikrokosmen</i>	<i>179</i>
<i>Tab. 8: Artenzahl und Stetigkeit der Cladoceren in den Kontrollmikrokosmen</i>	<i>180</i>
<i>Tab. 9: Artenzahl und Stetigkeit der Copepoden in den Kontrollmikrokosmen</i>	<i>180</i>
<i>Tab. 10: Artenzahl und Stetigkeit der sonstigen Zooplanktonorganismen in den Kontrollmikrokosmen</i>	<i>181</i>

Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ABW	Abweichung
ANOVA	Varianzanalyse (engl. <u>a</u> nalysis of <u>v</u> ariance)
APEO	Alkylphenoethoxylat
cdt	canonischer Koeffizient (Funktionswert der PRC)
CLASSIC	<u>C</u> ommunity <u>L</u> evel <u>A</u> quatic <u>S</u> ystem <u>S</u> tudies <u>I</u> nterpretation <u>C</u> riteria
DDE	Dichlordiphenyldichlorethen
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DES	Diethylstilbestrol
EAC	Ökologisch akzeptable Konzentration
EC 50	<u>E</u> ffective <u>c</u> oncentration (50 %)
EE	<u>E</u> thinylestradiol
ELRA	<u>E</u> nzyme <u>l</u> inked <u>r</u> eceptor <u>a</u> ssay
EPA	<u>E</u> nvironmental <u>P</u> rotection <u>A</u> gency
Fa.	Firma
HARAP	<u>H</u> igher-tier <u>A</u> quatic <u>R</u> isk <u>A</u> ssessment for <u>P</u> esticides
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (engl. <u>H</u> igh <u>p</u> erformance <u>l</u> iquid <u>c</u> hromatography)
K	<u>K</u> ontrolle (unbelasteter Mikrokosmos)
LDPE	Low Density Polyethylen
LF	Leitfähigkeit
LOEC	<u>L</u> owest <u>o</u> bserved <u>e</u> ffect <u>c</u> oncentration
M	molar, Molekulargewicht
N	normal
nNP	geradkettiges Nonylphenol
NOEC	<u>N</u> o <u>o</u> bserved <u>e</u> ffect <u>c</u> oncentration
NP	<u>N</u> onylphenol
OECD	<u>O</u> rganization for <u>E</u> conomic <u>C</u> ooperation and <u>D</u> evelopment
p.a.	zur Analyse
PCA	Hauptkomponentenanalyse (engl. Principal Component Analysis)
PCBs	<u>P</u> olychlorierte <u>B</u> iphenyle
PE	<u>P</u> olyethylen
PP	<u>P</u> olypropylen
PRCs	<u>P</u> rincipal- <u>R</u> esponse- <u>C</u> urves
RDA	Redundanzanalyse
SAR	<u>S</u> tructure <u>A</u> ctivity <u>R</u> elationship
SOP	Standardarbeitsanweisung
spp.	Spezies
SS	Species-Scores
STABW	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TBT	Tributylzinn
tNP	technisches Nonylphenol
TPP	4- <u>t</u> ert- <u>P</u> entylphenol
UV	Ultraviolett
VA	Edelstahl
v/v	Volumenanteile
Vol.	Volumen

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung

„Ein Hormon ist eine physiologisch aktive Substanz, die in speziellen Organen produziert und mit dem Blut zu Zielorganen transportiert werden kann, wo sie ihre spezifische Wirkung bei niedrigen Konzentrationen entfaltet. Das endokrine System ist demnach ein biologisches Regulationssystem, ähnlich dem Nervensystem.“ (JCIA 1997)

Seit Beginn der 90er Jahre werden Störungen des Hormonsystems, verursacht durch Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung, von Wissenschaftlern und der interessierten Öffentlichkeit mit besonderer Aufmerksamkeit beobachtet. Es handelt sich um Substanzen, die durch eine den Hormonen ähnliche Wirkung charakterisiert sind und die aus diesem Grund die Bezeichnung „endokrine Disruptoren“ tragen.

Der Begriff der hormonellen Wirksamkeit beschränkte sich zunächst auf die Betrachtung von *in-vivo*-Effekten:

„Eine endokrin oder hormonell wirksame Umweltchemikalie wird definiert als ein von außen zugeführter Stoff, der in Synthese, Ausscheidung, Transport, Bindung, Wirkung oder Eliminierung von natürlichen Hormonen in den Körper eingreift, die für die Aufrechterhaltung des hormonellen Gleichgewichtes, die Fortpflanzung, die Entwicklung und/oder das Verhalten verantwortlich sind.“ (EPA 1995)

Ebenfalls bezogen auf den Einzelorganismus, jedoch unter Berücksichtigung der Wirkung auf seine Nachkommen, werden endokrine Wirkungen gemäß folgender Definition verstanden:

„Ein endokrin (hormonell) wirksamer Stoff ist eine von außen zugeführte Substanz, die zu gesundheitsschädlichen Effekten in einem intakten Organismus oder in seinen Nachkommen führt, aufgrund von Veränderungen in den endokrinen (hormonellen) Funktionen.“ (Tattersfield *et al.* 1997)

Die ökotoxikologische Relevanz dieser auch als „Pseudohormone“ bezeichneten Substanzen erforderte allerdings eine erweiterte Betrachtung der Wirkungen auf der Ebene von Populationen, wie sie durch folgende Definition gegeben ist:

„Ein Pseudohormon ist eine von außen zugeführte Substanz, die die endokrinen (hormonellen) Funktionen verändert und schädliche Effekte auf der Ebene des Organismus, seiner Nachkommen und/oder (Unter)populationen von Organismen verursacht.“ (EPA 1997)

Die meisten bisher bekannten endokrinen Disruptoren sind östrogener Natur, d.h. sie wirken wie das weibliche Geschlechtshormon Estradiol. Beispiele solcher bekannter und potenzieller Xenooestrogene sind in sehr verschiedenen Verbindungsklassen zu finden. Unter anderem zählen zu ihnen Pestizide (z.B. Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT), Toxaphen, Atrazin), Industriechemikalien (z.B. Alkylphenole, Bisphenol A, Polychlorierte Biphenyle (PCBs), Nitrotoluol, Tributylzinn (TBT)), Schwermetalle (z.B. Blei, Cadmium) und nicht zu vergessen synthetische Steroidhormone (z.B. Ethinylestradiol (EE), Diethylstilbestrol (DES)) (Greim 1998, Gist 1998). Sie alle haben eine direkte oder indirekte hormonelle Wirkung auf Mensch und Tier und sind so in der Lage, das Hormongleichgewicht des Organismus zu stören (Fent 1998, Oehlmann *et al.* 1996).

In verschiedenen Publikationen wird von Abnormalitäten bei Invertebraten, Fischen, Amphibien, Reptilien, Vögeln und Säugern berichtet, die auf die hormonelle Wirkung von Umweltchemikalien zurückzuführen sind. Die gleichzeitige Ausbildung von männlichen und weiblichen Reproduktionsorganen sowie die Änderung des Geschlechts und ein daraus resultierender Rückgang der Populationen einer marinen Gastropodenart konnte in verschiedenen Arbeiten auf den Einfluss von TBT zurückgeführt werden (Bryan *et al.* 1986, Bettin *et al.* 1996, Gibbs *et al.* 1988, Matthiessen & Gibbs 1998). Einige Forschergruppen stellten Anzeichen für Feminisierung oder Maskulinisierung von Fischen fest, die Haushalts- und Industrieabwässern ausgesetzt waren (Bortone *et al.* 1989; Purdom *et al.* 1994, Harries *et al.* 1996 & 1997). Ebenfalls berichtet wurde von Störungen der sexuellen Differenzierung beim männlichen Karpfen (*Cyprinus carpio*), dessen verschiedene Entwicklungsstadien dem Alkylphenol 4-tert-Pentylphenol (TPP) ausgesetzt wurden (Gimeno *et al.* 1997). Ähnliche Untersuchungen liegen für die Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) und die Rotfeder (*Rutilus rutilus*) vor (Routledge *et al.* 1998). Goldfische, die den mit dem Phytoöstrogen β -Sitosterol kontaminierten Abwässern einer Papierbleicherei in Kanada ausgesetzt waren, zeigten ebenfalls Reproduktionsfehlfunktionen, die auf die endokrine Wirkung dieser Substanzen hinweisen (MacLatchy *et al.* 1997).

Weltweite Abnahmen der Amphibienpopulationen aufgrund von Xenoöstrogenen wurden bereits Anfang der 90er Jahre publiziert (Blaustein & Wake 1990, Wake 1991) und durch diverse Studien belegt. So zeigte beispielsweise der afrikanische Krallenfrosch *Xenopus laevis* sowohl nach Exposition gegenüber dem synthetischen Hormon DES, als auch nach Behandlung mit Toxaphen und Dieldrin erhöhte Vitellogenin-Konzentrationen im Serum. Intersexualität bei der Frosch-Spezies *Acris crepitans* auf mit PCB und polychlorierten Dibenzofuranen belasteten Untersuchungsflächen wurde von Reeder *et al.* (1998) publiziert. Clark *et al.* (1998) fanden Veränderungen der Wolff'schen und Müller'schen Gänge bei den Larven von Tigersalamandern (*Ambystoma tigrinum*) unter dem Einfluss von Dichlordiphenyldichlorethen (DDE) und dem Pestizid DDT. Letzteres führte ebenfalls zu einer Verweiblichung von Seemöwenembryos (Fry & Toone 1981) sowie der Ausbildung abnormaler Reproduktionsorgane der Vögel (Fent 1998). Sublethale Konzentrationen von Dioxin und dioxin-verwandten Substanzen in den Eiern von Reihern, Kormoranen und Adlern verursachten Fehlbildungen bei deren Embryonen (Henshel 1998), wodurch das Überleben der wildlebenden Populationen dieser Vogelarten in Kanada gefährdet ist. Unter dem Einfluss diverser hormonell wirksamer Substanzen wurden verschiedene Veränderungen der Reproduktionssysteme wildlebender Reptilien und Säuger gefunden, darunter verkleinerte Penisse bei Alligatoren in Florida (Guillette *et al.* 1994, Vonier *et al.* 1996) und Kryptorchismus (Fehlen eines oder beider Hoden im Scrotalfach) beim Florida Panther (Earl Gray *et al.* 1998). Ebenfalls dokumentiert wurden morphologische Abnormalitäten der Reproduktionsorgane bei Nerzen und Ottern in Nordamerika, die signifikant mit den PCB-Konzentrationen im Gewebe dieser Tiere korrelierten (Harding *et al.* 1999).

1.2 Nonylphenol

1.2.1 Vorkommen in der Umwelt

Zu den Umweltchemikalien, die dieselbe Wirkung zeigen, wie das weibliche Geschlechtshormon 17β -Estradiol, gehören Abbauprodukte von Alkylphenoethoxylaten (APEO), darunter auch die Chemikalie Nonylphenol (NP) (Soto *et al.* 1991). Als Nonylphenol wird eine Stoffgruppe bezeichnet, die durch die Summenformel $C_{15}H_{24}O$ beschrieben wird, jedoch unterschiedliche Strukturen annehmen kann (Abb. 2). Jährlich werden weltweit etwa 3 Mio. t APEOs produziert, davon etwa 80.000 t in der EU. Diese nichtionischen Detergenzien machen rund 5 % des gesamten Tensidmarktes aus und kommen in industriellen Wasch- und Reinigungsmitteln, Farben und Lacken, als Textilhilfsmittel, in der Lederindustrie, in Agrochemikalien und anderen industriellen Bereichen zum Einsatz. Die Produktion von Nonylphenol in der EU betrug im Jahr 1995 64.000 t (Fent 1998).

Die Substanz wird zur Ethoxylat-Herstellung und als chemisches Zwischenprodukt für Harze und Additive verwendet, ist aber auch als toxischer Metabolit des unvollständigen mikrobiellen APEO-Abbaus im Klärschlamm zu finden, von wo es wieder in die Umwelt gelangt (Giger *et al.* 1987). Untersuchungen von Klärschlamm in der Schweiz ergaben NP-Konzentrationen von 0,4 bis 2,5 g/kg vor 1985, in Kläranlagenausläufen wurden 36 bis 202 µg/L gemessen (Giger *et al.* 1984). Nach dem Verbot in Waschmitteln in der Schweiz gingen die Konzentrationen im Klärschlamm hier Ende der 90er Jahre auf 0,1 - 0,2 g/kg zurück. Seit Mitte der 90er Jahre rechnet man in Kläranlagenausläufen in Deutschland und der Schweiz mit NP-Konzentrationen von unter 1 – 15 µg/L (Fent 1995). Die Angaben über die NP-Konzentrationen im Wasser variieren stark und reichen von Nanogramm bis Milligramm pro Liter (Naylor *et al.* 1992). So ergaben beispielweise Messungen in 30 Fließgewässern in den USA NP-Konzentrationen von bis zu 0,64 µg/L, der Durchschnittswert betrug 0,21 µg/L. In 72 % der untersuchten Sedimente wurden zwischen < 2,9 und 2.960 µg/kg Nonylphenol gefunden (durchschnittliche Konzentration: 162 µg/kg) (Naylor 1995). Messungen im Unterlauf des Fraser Rivers (British Columbia, Kanada) ober- und unterhalb eines Kläranlageneinleiters ergaben im trüben Wasser NP-Gehalte zwischen 18.400 und 27.500 µg/L. Nach Sedimentation der Schwebstoffe wurden lediglich Konzentrationen von 0,066 – 1,3 µg/L gemessen (Sekela *et al.* 1999). In mit Abwässern aus der Textilindustrie belasteten Flüssen in Großbritannien traten Werte von 50 - 180 µg/L auf, in Oberflächengewässern wurden maximal 53 µg/L gefunden (Harries *et al.* 1997). Das Wasser im Hafenbecken von Boston (USA) wies Werte zwischen 5 und 45 µg/L auf (Baldwin 1997) und Messungen im Fluss Glatt (Schweiz) ergaben Werte von 1 bis 10 µg/L (Ahel *et al.* 1994a, b). Heute sind in Flüssen Deutschlands und der Schweiz im Mittel unter 0,1 – 1 µg/L Nonylphenol zu finden (Fent 1995).

1.2.2 Effekte von Nonylphenol

Die endokrine Wirkung von Nonylphenol wurde für Vertreter der Vertebraten, insbesondere für Fische, in zahlreichen Studien nachgewiesen. Jobling *et al.* (1996) und Harries *et al.* (1997) setzten männliche Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) östrogenen Verbindungen aus bzw. exponierten sie einem stark durch Alkylphenole belasteten Fluss und stellten signifikant höhere Vitellogenin-Konzentrationen im Blut der Fische fest. Außerdem wiesen exponierte Fische eine reduzierte Hodengröße auf. Wie von White *et al.* (1994) gezeigt wurde, wird die Vitellogenin-Synthese von östrogen wirksamen Substanzen beeinflusst. Die LOEC-Werte liegen etwa bei 10 – 20 µg/L und damit um den Faktor 10 – 100 über den gegenwärtigen in Fließgewässern in Deutschland und der Schweiz auftretenden NP-Konzentrationen (Fent 1998).

Bei NP-Konzentrationen von 100 µg/L kam es beim Japanischen Medaka (*Oryzias latipes*) im Laborexperiment zur gleichzeitigen Ausbildung männlicher und weiblicher Gonaden (Gray & Metcalfe 1997). Die östrogene Wirkung von Nonylphenol sowie das vereinzelt Auftreten von Intersex, Maskulinisierung und Feminisierung auf die Nachkommen von exponierten Regenbogenforellen wurde von Schwaiger & Negele (2000) nachgewiesen.

Die Effekte von Nonylphenol auf Invertebraten werden bisher in der Literatur kontrovers diskutiert. Für verschiedene Vertreter der Gattung *Daphnia* wurden unterschiedliche Toxizitätswerte publiziert (Abb. 1). Baldwin (1997) stellte fest, dass es bei Individuen von *Daphnia magna*, die in ihren frühen Entwicklungsstadien mit 4-Nonylphenol (100 µg/L) belastet wurden, zu einer Beeinträchtigung der Reproduktion kam. Allerdings führte nach vier Tagen ein eventueller Gewöhnungseffekt zu einer Angleichung der Reproduktion der belasteten Gruppen an die Kontrollen. Eine weitere Studie mit *Daphnia magna* führte bei NP-Konzentrationen > 150 µg/L zu 100 % Mortalität nach 48 h. Bei 10 bis 100 µg/L wurden nach 30 Tagen verminderte Reproduktionsraten, geringe Überlebensraten und Deformationen des Bewegungsapparates beobachtet (Shurin & Dodson 1997). Die Angaben für die Toxizität bei *Daphnia magna* schwanken stark. Comber (1993) gibt für die akute Toxizität EC 50-Werte von 300 µg/L (24 h) bzw. 190 µg/L (48 h) an. Für die chronische Toxizität wurde ein NOEC-Wert von 24 µg/L (21 d) ermittelt. Kopf (1997) führte mehrere Biotests mit Vertretern verschiedener trophischer Ebenen durch und fand EC 50-Werte zwischen 56 µg/L für die Grünalge *Scenedesmus subspicatus* (Wachstumshemmung) und 4.900 µg/L für Leuchtbakterien (Abnahme der Biolumineszenz). Der EC 50-Wert (24 h) für *Daphnia magna* (Immobilisation) betrug 200 µg/L. Zwei unabhängig voneinander durchgeführte Daphnien-21 d-Reproduktionstests ergaben signifikant niedrigere Reproduktionsraten im Vergleich zu den Kontrollen bei NP-Konzentrationen von 10 bzw. 100 µg/L. Der NOEC-Wert lag hier bei 1 µg/L, der EC 50-Wert bei 4,8 µg/L (Kopf 1997). Jaser (unveröffentlicht) fand für Copepoden-Nauplien einen EC 50 (24 h) von 382 µg/L (Schwimmhemmung). Für *Ceriodaphnia reticulata* ergab sich ein EC 50 (24 h) von 248,2 µg/L. Etwas empfindlicher war *Daphnia longispina* (EC 50 (24 h): 122,2 µg/L). In 3-Generationen-Tests konnte für *Ceriodaphnia reticulata* bei NP-Konzentrationen bis 213 µg/L keine Wirkung auf die Reproduktion, Dauer der Juvenilphase und Mortalität der Jungtiere gezeigt werden. Radix *et al.* (eingereicht) stellten für die Rotatorien-Spezies *Brachionus calyciflorus* bei einem EC 50 (72 h) von 600 µg/L Veränderungen hinsichtlich des Verhältnisses amiktischer und miktischer Weibchen fest, woraus eine Veränderung der Reproduktion resultierte. Ein Hefe-Test zur Erfassung der Östrogenität von Nonylphenol führte ab Testkonzentrationen von 2.960 µg/L zu positiven Ergebnissen (Rehmann *et al.* 1999).

Eine Zusammenfassung der aquatischen Toxizität auf *Daphnia spp.*, der östrogenen Wirkungen und der Bioakkumulation von Nonylphenol gibt Servos (1999) (Tab. 1). Diese Ergebnisse beruhen jedoch ausschließlich auf Laborexperimenten, deren Übertragbarkeit auf natürliche Ökosysteme fragwürdig ist.

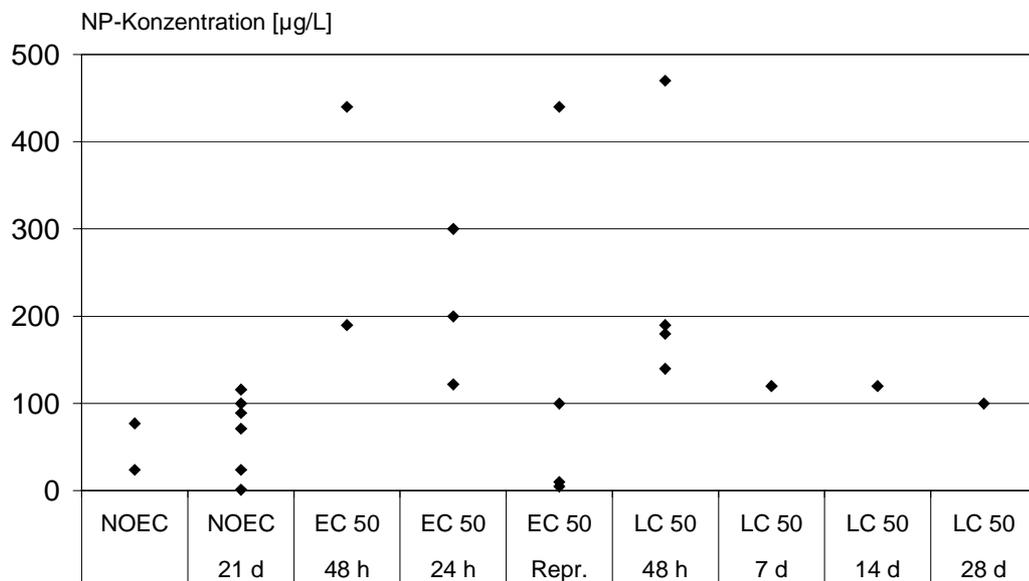


Abb. 1: Toxizitätswerte von Nonylphenol für *Daphnia sp.*

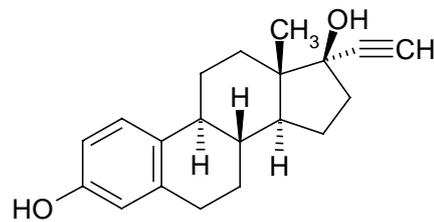
Für die Beurteilung des Gefahrenpotentials hinsichtlich der nachhaltigen Veränderung natürlicher Biozönosen liegt bislang nur eine Studie vor, die Effekte auf verschiedene Zooplanktonorganismen bei umweltrelevanten Konzentrationen nahelegt (O'Halloran *et al.* 1999). In einer umfangreichen Untersuchung mit Litoral-Enclosures wurde die Wirkung von Nonylphenol auf Zooplankton, Makroinvertebraten und Fischlarven untersucht. Durch wiederholte Applikationen wurden nominale NP-Konzentrationen von 3 bis 300 µg/L angestrebt, tatsächlich erreicht wurden 5 ± 4 , 23 ± 11 , 76 ± 21 und 243 ± 41 µg/L. Bei den beiden niedrigen Konzentrationen konnte kein Effekt auf das Zooplankton festgestellt werden. Bei den beiden höheren NP-Konzentrationen kam es zu signifikanten Abnahmen der Abundanzen bei den Cladoceren und Copepoden. Einige Arten (*Acroperus spp.*, *Ceriodaphnia spp.*, *Calanoida* und *Paracyclops spp.*) und erwiesen sich als empfindlicher und zeigten bereits bei 23 ± 11 und 76 ± 21 µg/L Effekte. Bei den Rotatorien reagierten die meisten Arten nicht auf die Belastung mit Nonylphenol, lediglich wenige Taxa (z.B. *Trichocerca spp.*) zeigten Abnahmen in der Abundanz. Die Artenvielfalt war in allen Konzentrationen über 21 µg/L geringer, im Vergleich zu den unbelasteten Enclosures. Zum Schutz aller Zooplanktonarten wurde eine maximal akzeptable NP-Konzentration von etwa 10 µg/L empfohlen (O'Halloran *et al.* 1999, Liber *et al.* 1999a, b, Schmude *et al.* 1999).

Tab. 1: Toxizitätswerte und östrogene Wirkung von Nonylphenol auf einige ausgewählte Zooplanktonorganismen (nach Servos 1999)

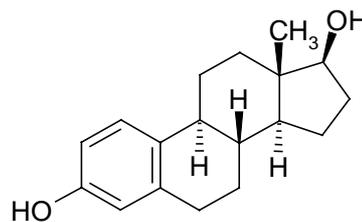
Testorganismus	Test	NP [$\mu\text{g/L}$]	Referenz
<i>Daphnia magna</i>	LC 50 (48 h)	190	Analytical BioChemistry 1984 Naylor 1995
	NOEC	77	
	EC 50 (Reproduktion)	440	
	NOEC	24	
<i>Daphnia magna</i>	EC 50 (24 h) (Schwimmhemmung)	300	Comber <i>et al.</i> 1993
	EC 50 (48 h) (Schwimmhemmung)	190	
	LC 50 (7 d, 14 d)	120	
	LC 50 (28 d)	100	
<i>Daphnia magna</i>	EC 50 (24 h) (Schwimmhemmung)	200	Kopf 1997
	EC 50 (Reproduktion)	4,8	
	NOEC (Reproduktion)	1	
<i>Daphnia pulex</i>	LC 50 (48 h)	140 -190	Ernst <i>et al.</i> 1980
<i>Daphnia longispina</i>	EC 50 (24 h)	122	Jaser (unveröffentlicht)
<i>Daphnia sp.</i>	NOEC (21 d) (Reproduktion)	71	Baldwin <i>et al.</i> 1997
	EC 50 (48 h)	104	Brooke 1993
	NOEC (21 d)	116	
	LC 50 (48 h)	140	Hüls 1992
	NOEC (21 d) (Reproduktion)	100	Bringmann & Kühn 1982
	LC 50 (48 h)	180	
	EC 50 (48 h)	440	
	LC 50 (48 h)	470	
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	LC 50 (96 h)	276	Weeks <i>et al.</i> 1996 England 1995
<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	EC 50 (24 h)	248	Jaser (unveröffentlicht)
<i>Ceriodaphnia sp.</i>	LC 50 (7 d)	258	Weeks <i>et al.</i> 1996 England 1995
	NOEC (Reproduktion)	89	
	NOEC (Mortalität)	202	

Der Vergleich der Anordnung der funktionellen Gruppen von Substanzen mit der dreidimensionalen Struktur natürlicher Hormone stellt eine Möglichkeit dar, hormonelle Wirkungen vorauszusagen bzw. zu modellieren. Optimale östrogene Eigenschaften der Alkylphenole bestehen bei der Anordnung einer Alkyl-Gruppe (mit 6 bis 8 C-Atomen) an der para-Position eines Phenol-Ringes (Routledge & Sumpter 1997). Die Moleküle einiger Nonylphenol-Isomere weisen Ähnlichkeiten mit der Struktur des synthetischen Hormons Ethinylestradiol und der des weiblichen Geschlechtshormons Estradiol auf, worauf die östrogene Wirkung zurückzuführen ist (Abb. 2).

17 α -Ethinylestradiol:

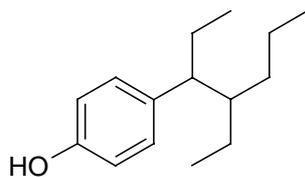


17 β -Estradiol:

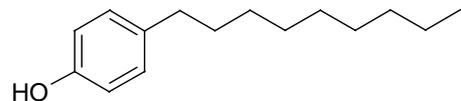


Nonylphenol:

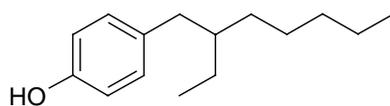
p-(1,2-Diethyl-pentyl)phenol:



p-Nonylphenol:



p-(2-Ethyl-heptyl)phenol:



o-Nonylphenol:

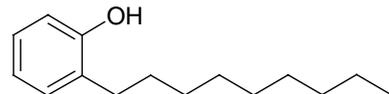


Abb. 2: Strukturformeln von 17 α -Ethinylestradiol, 17 β -Estradiol und einigen Isomeren von Nonylphenol

Allerdings ist die östrogene Aktivität von Nonylphenol um $0,9 \times 10^{-5}$ geringer als die von Estradiol, wie an *in-vitro*-Studien mit Fischhepatozyten gezeigt wurde (Pelissero *et al.* 1993, Jobling & Sumpter 1993). Im Gegensatz zu Vertretern der Alkylphenole sind viele synthetische Östrogene jedoch mindestens so aktiv wie das weibliche Geschlechtshormon.

1.3 Ethinylestradiol

1.3.1 Vorkommen in der Umwelt

Das synthetische Östrogen Ethinylestradiol (EE), ein Wirkstoff oraler Kontrazeptiva, wird durch die Einführung eines Ethinylrests am Estradiolmolekül modifiziert, weshalb es nach der Aufnahme über den Darm von der Leber nicht metabolisiert werden kann. Diese Veränderung des natürlichen Östrogens führt zu einer sehr stabilen Substanz, die nahezu vollständig in konjugierter Form vom Körper ausgeschieden wird. Die durchschnittliche Sekretionsrate pro Frau beträgt zwischen 25 und 100 µg/Tag (Forth *et al.* 1992). Geht man davon aus, dass in Deutschland etwa 4 Millionen Frauen die Antibabypille zur Empfängnisverhütung einnehmen, ergibt sich bei einer Dosis von 30 bis 50 µg pro Pille etwa eine jährlich freigesetzte Menge von 40 bis 70 kg Ethinylestradiol. Die ausgeschiedenen Konjugate werden in den Kläranlagen gespalten und die Ausgangssubstanz gelangt erneut in den Wasserkreislauf. Durch die Persistenz und den kontinuierlichen Eintrag über orale Kontrazeptiva kann also mit einer zunehmenden Belastung unserer Oberflächengewässer durch Ethinylestradiol gerechnet werden (Oehlmann *et al.* 1996). Rurainski *et al.* (1977) fanden in Trinkwasserquellen EE-Konzentrationen von bis zu 14,2 ng/L, es ist jedoch davon auszugehen, dass die Werte heute weit höher liegen. Die Angaben über EE-Konzentrationen in Kläranlagenabläufen variieren zwischen 0,3 bis 0,5 ng/L (Kalbfus 1995) und im Mittel 17 ng/L (Maximalwert: 62 ng/L) (Stumpf *et al.* 1996). Messungen in Fließgewässern ergaben Werte von weniger als 0,2 ng/L (Kalbfus 1995) bis 1 bis 4 ng/L (Stumpf *et al.* 1996).

1.3.2 Effekte von Ethinylestradiol

Larsson *et al.* (1999) stellten stark erhöhte Vitellogenin-Konzentrationen im Blut männlicher Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) fest, die in schwedischen Kläranlagen-abflüssen mit hohen Gehalten an östrogenen Substanzen exponiert wurden. Mit 4,5 ng/L lagen die dort gemessenen EE-Konzentrationen um ein 45-faches über der für Fische festgestellten LOEC (Larsson *et al.* 1999). Untersuchungen zur Toxizität von Ethinylestradiol führten zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen.

Im Leuchtbakterientest wurde ein EC 50-Wert von 212 mg/L ermittelt (Kopf 1997). Bei weit geringeren EE-Konzentrationen (2,20 µg/L) wurde im Hefe-Test ein Response festgestellt (Rehmann *et al.* 1999). Mit einem EC 50-Wert von 5.700 µg/L deutet der Daphnien-Kurzzeittest auf eine geringe toxische Wirksamkeit von Ethinylestradiol hin. Bei zwei unabhängig voneinander durchgeführten Daphnien-21 d-Reproduktionstests ergaben sich signifikant reduzierte Reproduktionsraten im Vergleich zu den Kontrollen bei EE-Konzentrationen von 100 bzw. 1.000 µg/L. Der *Scenedesmus*-Zellvermehrungstest führt zu einem wesentlich niedrigeren EC 50-Wert von 840 µg/L (Kopf 1997). Für *Ceriodaphnia sp.* wurde ein EC 50 (24 h) (Schwimmhemmung) von 1.814 µg/L gefunden, *Sida crystallina* erwies sich unempfindlicher und zeigte erst bei Konzentrationen über 2.300 µg/L Bewegungsunfähigkeit. Im 3-Generationentest mit *Sida crystallina* und *Ceriodaphnia reticulata* wurde für *Sida crystallina* ab 100 µg/L eine verkürzte Juvenilphase festgestellt. Bei EE-Konzentrationen > 200 µg/L war bei *Ceriodaphnia reticulata* die Mortalität der Jungtiere deutlich erhöht. Es konnten jedoch keine Effekte auf die Überlebensrate der Adulten, die Geburtenrate, die Gesamtanzahl der Jungen pro Weibchen sowie die Nettofortpflanzungsrate festgestellt werden (Jaser, unveröffentlicht). Die Reproduktion der Rotatorien-Spezies *Brachionus calyciflorus* erwies sich als unempfindlich gegenüber Ethinylestradiol. Bei EE-Konzentrationen bis 201 µg/L wurden keine konzentrationsabhängigen Störungen der Reproduktion festgestellt (Radix *et al.*, eingereicht).

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegen nur wenige Labor- und noch keine Freilandversuche vor, die eine Beurteilung der Wirkung von Ethinylestradiol auf aquatische Ökosysteme ermöglichen.

1.4 Ökotoxikologische Testsysteme

Ein ökosystemarer Ansatz zur Beurteilung des Gefahrenpotenzials von Umweltchemikalien setzt voraus, dass neben direkten auch indirekte Effekte nicht nur im Hinblick auf einzelne Organismen sondern auf ganze Biozönosen erfasst und berücksichtigt werden (Steinberg *et al.* 1993). Zur Risikoabschätzung des endokrinen Potenzials von Chemikalien bedient sich die ökotoxikologische Forschung des Einsatzes biologischer Testverfahren mit Vertretern verschiedener trophischer Ebenen. Dies erlaubt eine Einschätzung des Gefahrenpotenzials von Stoffen, die über chemisch-physikalische Analysen hinausgeht. In diesen Biotests werden einzelne Individuen (Single-Spezies-Tests), seltener ganze Populationen, unter standardisierten Bedingungen den Testsubstanzen ausgesetzt. Dadurch ist eine Abschätzung von Toxizitätspotenzialen für einzelne Arten möglich.

Eine Erfassung der Schädigung des Ökosystems kann jedoch nicht erfolgen, da komplexe Wechselwirkungen in einfachen Testsystemen nicht vorliegen und die unterschiedlichen Effekte der Chemikalie auf die verschiedenen Komponenten (direkt und indirekt) nicht untersucht werden.

Wird die ökotoxikologische Bewertung einer Substanz durch die Betrachtung ihrer Wirkung im Ökosystem und der Erfassung ökosystemarer Zusammenhänge, statt durch Extrapolation der Resultate aus Single-Spezies-Tests vorgenommen, so gelangt man zu wesentlich aussagekräftigeren Ergebnissen. In Freilandsystemen müssen direkte und indirekte Effekte immer im Hinblick auf chemische, physikalische und biotische Faktoren (z.B. Wasserqualität, Adsorptionsvorgänge an Partikel und Sedimente, Photolyse, Hydrolyse, fluktuierende Expositionsbedingungen, Ökologie des Testsystems) betrachtet werden, die zu Abweichungen von den im Laborversuch ermittelten Effekten führen (LaPoint & Fairchild 1994). Die einzelnen Komponenten eines Ökosystems verhalten sich unter isolierten Bedingungen anders als im Freiland. Der Einsatz von Modellökosystemen ermöglicht keine Extrapolation von einer Ebene biologischer Organisation zur nächsten (einzelne Art auf Ökosystem), sondern von einem komplexen künstlichen auf ein komplexes natürliches System (Cairns 1988a, Cairns & Smith 1989). Eine Prognose über die Wirkung der Chemikalie in der Umwelt ist jedoch nur in dem Maße möglich, in dem in Testsystemen reale Umweltbedingungen simuliert werden können.

Grundsätzlich reichen ökotoxikologische Untersuchungen von *in-vitro*-Tests über *in-vivo*-Tests mit einzelnen Arten (Single-Spezies-Test) bis hin zu sehr komplexen Testsystemen, in denen Vertreter mehrerer Trophiestufen gleichzeitig exponiert werden. Aquatische Modellökosysteme stellen möglichst naturgetreue Abbilder natürlicher Gewässer dar und ermöglichen Chemikalientests mit Populationen, Gemeinschaften und Ökosystemen (LaPoint & Fairchild 1994). Die Größe der im aquatischen Bereich eingesetzten Multi-Spezies-Systeme reicht von Gefäßen mit wenigen Millilitern Inhalt (z.B. Krebs 1983) über Enclosures mit 18.000 m³ Volumen (Smyly 1976) bis hin zu natürlichen Gewässern (Crossland *et al.* 1986). Die Bezeichnung Mesokosmos wird dabei für Modellökosysteme ab einer Größe von 15 m³ gewählt, kleinere Testsysteme werden als Mikrokosmen bezeichnet (Campbell *et al.* 1999). Dabei werden in beiden Systemgrößen hohe Level biologischer Organisation und Komplexität berücksichtigt, die im Vergleich zu Laborstudien wesentlich größere Naturnähe beinhalten (Cairns 1988b). Das Problem der Übertragung von Ergebnissen aus Laborversuchen auf die natürliche Umwelt war bereits Gegenstand zahlreicher Vergleichsstudien (z.B. Giddings 1983, Neugebauer 1988, Draxl 1990, Volm 1997).

Je größer und komplexer die Systeme, d.h. je mehr Organismen aus verschiedenen trophischen Ebenen sie enthalten, umso eher scheint ihre Vergleichbarkeit mit der natürlichen Umwelt gewährleistet zu sein. Einen zusammenfassenden Überblick über Modellökosysteme und die an sie zu stellenden Ansprüche gibt beispielsweise Zieris (1986).

Auch wenn die Einrichtung von Testsystemen sich mehr oder weniger am Vorbild natürlicher Gewässer orientiert, ist die Simulation der natürlichen Umwelt nicht ohne weiteres möglich, da einige der Eigenschaften, die für natürliche Ökosysteme charakteristisch sind, nicht oder nur sehr schwer zu simulieren bzw. zu reproduzieren sind. Dies betrifft beispielsweise die Dynamik eines wellenbewegten Wasserkörpers, Ab- und Zuwanderung von Organismen, Ausbildung von Mikrohabitaten etc. (Sandmann, in Vorbereitung).

1.5 Beurteilung endokriner Effekte in aquatischen Modellökosystemen

Um die Wirkung einer Chemikalie auf eine Biozönose als endokrin bezeichnen zu können, ist die Kenntnis der Endokrinologie und Biologie der beteiligten Organismen eine wichtige Voraussetzung (Tattersfield et al 1997). Bisher konnten keine Hormonrezeptoren bei Bakterien, Pilzen und Protozoen gefunden werden. Über die neuronalen Mechanismen der Synthese und Sekretion von Sexualsteroid-Hormonen bei Invertebraten ist noch wenig bekannt (Stahlschmidt-Allner et al. 1997). Zwar wurden bislang in jeder Invertebraten-Klasse androgene und östrogene Hormone gefunden, ihre Rolle ist jedoch noch unklar (LeBlanc 1998). Baldwin & LeBlanc (1994a, b) konnten zeigen, dass Invertebraten in der Lage sind, verschiedene Testosteron-Metaboliten zu generieren, die teilweise ähnliche Effekte wie bei Vertebraten zeigen. Beispielsweise beeinflussen Androgene bei einigen Arten die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale und bei Echinodermaten und Gastropoden stimulieren Östrogene das Wachstum der Oozyten (LeBlanc 1998). Untersuchungen zur Wirkung synthetischer Östrogene auf *Daphnia magna* zeigten keine Auswirkungen auf die Geschlechtsdifferenzierung, führten jedoch zu Störungen der Häutung (Zou & Fingerman 1997a). Dabei existieren Stoffe, die die Häutung hemmen (z.B. Diethylphthalat, Endosulfan, DES), aber auch Substanzen, durch die Häutungsprozesse gefördert werden (z.B. RH 5849) (Zou & Fingerman 1997b). Die Häutung bei Arthropoden wird durch steroidale Häutungshormone, sog. Ecdysteroide reguliert (Chang et al. 1993, Lachaise et al. 1993). Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten zwischen Steroidhormonen und endokrinen Disruptoren sind entsprechende Wechselwirkungen mit den Rezeptoren möglich. Invertebraten besitzen ein Hormonsystem, das durch hormonell wirksame Substanzen in der Umwelt beeinträchtigt werden kann.

Es weist jedoch einige Unterschiede zu dem der Wirbeltiere auf. So regeln die in Arthropoden, Nematoden und Mollusken gefundenen Ecdysone Differenzierung, Wachstum, Reproduktion und Häutung (Chang & O'Connor 1988, Charniaux-Cotton & Payen 1988).

Mit wenigen Ausnahmen, z.B. *Brachionus calyciflorus* (Snell & Carmona 1995) bzw. *Chironomus tentans* (Benoit *et al.* 1997), werden die meisten chronischen Toxizitätstests (Reproduktionstests) mit verschiedenen Daphnienarten durchgeführt, die sich parthenogenetisch fortpflanzen (OECD 1992). In diesen Tests ist die Möglichkeit erheblich eingeschränkt, chemikalienbedingte Effekte auf die geschlechtliche Fortpflanzung nachzuweisen. Zahlreiche Endpunkte eignen sich potenziell zur Detektion (anti-)östrogener/androgener Effekte in Invertebraten, beispielsweise die Ausbildung von Imposex und Veränderung des Steroidmetabolismus. Allerdings ist über die Spezifität dieser Endpunkte noch wenig bekannt, denn es konnte bislang nicht ausgeschlossen werden, dass andere Umweltfaktoren, wie etwa Temperatur, Ernährung etc., beispielsweise die Ausbildung von Imposex hervorrufen. Es besteht jedoch eine sehr gute Korrelation zwischen den Chemikalien, die im chronischen Daphnien-Test einen Effekt auf die Reproduktion zeigten und denen, für die ein Einfluss auf den Steroidmetabolismus bei Daphnien nachgewiesen werden konnte (LeBlanc 1998). Bislang wurde geklärt, dass Invertebraten auf hormonell wirksame Substanzen in der Umwelt empfindlich reagieren. Aufgrund der Unsicherheiten bezüglich der Bedeutung des endokrinen Systems der Wirbellosen, besteht jedoch noch erheblicher Forschungsbedarf (Ankley *et al.* 1998, Tattersfield *et al.* 1997).

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit widmet sich der Untersuchung der Effekte endokrin wirksamer Substanzen auf das Zooplankton aquatischer Modellökosysteme. Als Modellchemikalien wurde Nonylphenol (Industriechemikalie) und Ethinylestradiol (synthetisches Hormon) eingesetzt. Als Modellökosysteme dienten aquatische Mikrokosmen (230 L Volumen) mit Sediment, Wasser und Planktonorganismen aus einem oligo-mesotrophen Litoralbereich des Ammersees (Oberbayern). Es handelt sich um relativ komplexe Systeme, die in ihrer Charakteristik zumindest ein hohes Potenzial an Naturnähe aufweisen.

Folgende Fragestellungen wurden untersucht:

- Effekte von Nonylphenol (Alkylphenol) auf die Populationsdynamik des Zooplanktons
- Indirekte Effekte von Nonylphenol auf das Phytoplankton
- Effekte von Ethinylestradiol (synthetisches Hormon) auf das Zooplankton
- Eignung der Mikrokosmen als ökologische Testsysteme

2 Material und Methoden

2.1 Testsubstanzen

2.1.1 Nonylphenol

4-Nonylphenol (tech.), Sigma-Aldrich

Mischung aus Ring- und Kettenisomeren

$C_{15}H_{24}O$

Molekulargewicht: 220,36 g/mol

2.1.2 Ethinylestradiol

17 α -Ethinylestradiol, Sigma-Aldrich

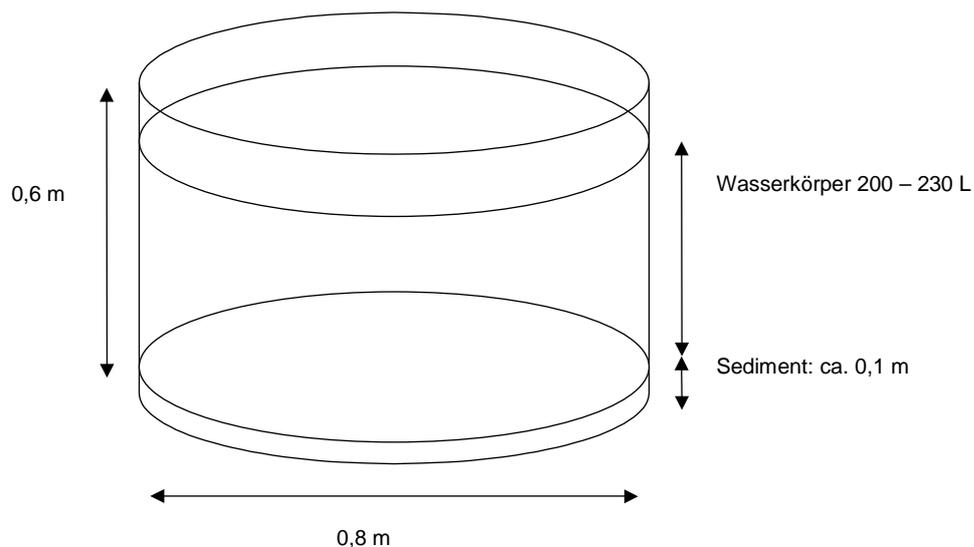
Freiname für 17 α -Ethinylestra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol

$C_{20}H_{24}O_2$

Molekulargewicht: 296,41 g/mol

2.2 Testsysteme - Mikrokosmen

Ein Schema der eingesetzten Mikrokosmen zeigt Abb. 3, ihre Anordnung in der Teichanlage des Instituts für Bodenökologie (GSF-Forschungszentrum, Neuherberg) ist in Abb. 4 dargestellt. Eine Übersicht hinsichtlich der Bezeichnung der Mikrokosmen bei den einzelnen Versuchen gibt Tab. 2.



Material: VA Blech, Wand: 2,5 mm, Boden: 3 mm. Alle Nähte verschweißt.

Abb. 3: Schema eines Mikrokosmos

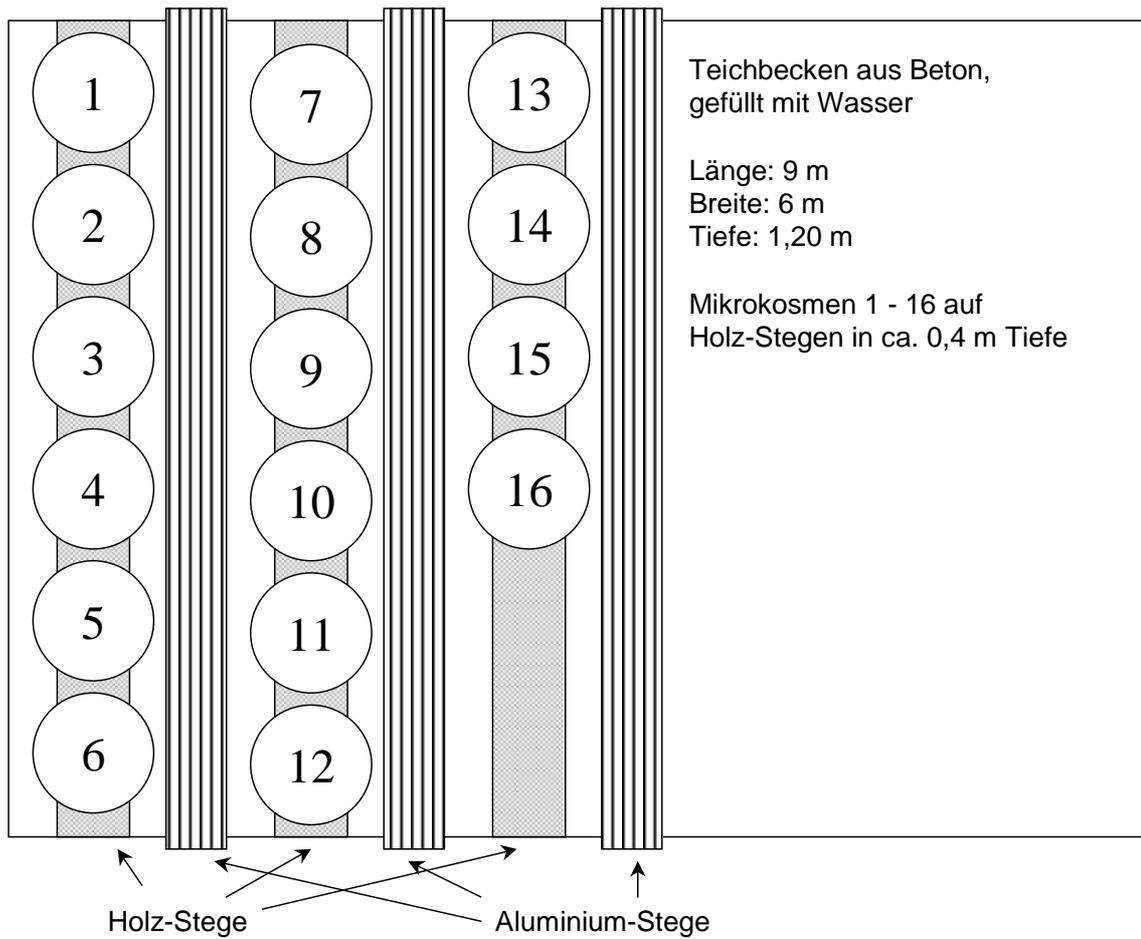


Abb. 4: Anordnung der Mikrokosmen in der Teichanlage des Instituts für Bodenökologie (GSF-Forschungszentrum in Neuherberg)

Tab. 2: Bezeichnung der Mikrokosmen während der Freilandversuche 1998 (NP) und 1999 (EE):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
NP	K1	NP1	NP2	K5	NP3	K6	NP4	K2	NP5	K7	K8	K3	K9	NP6	K4	NP7
EE	EE8	EE7	EE6	K1	EE2	K2	EE4	K3	EE1	K4	EE3	EE5	K5	-	-	-

Sediment und Wasser für die Mikrokosmen entstammten dem Uferbereich südlich der Gemeinde Schondorf im Nordwesten des Ammersees. Die in den 80er Jahren durchgeführte Makrophytenkartierung wies diesen Abschnitt des Sees als oligo-mesotroph aus (Melzer *et al.* 1988). Das Sediment in der flach einlaufenden Bucht besteht aus heller, lehmartiger Seekreide. Seit 1976 ist der Ammersee Bestandteil eines 1971 nach der iranischen Stadt Ramsar benannten internationalen Abkommens, das die Rahmenbedingungen für die internationale Zusammenarbeit zum Schutz und der Erhaltung von Feuchtgebieten und derer Lebensräume festlegt, derzeit unterzeichnet von 119 Staaten (<http://www.ramsar.org>).

Die Wasser- und Sedimententnahme erfolgte mit Genehmigung der Gemeinde Schondorf sowie des Wasserwirtschaftsamts Weilheim, in dessen Zuständigkeitsbereich der Ammersee fällt. Da während der Versuche in den Mikrokosmen die jahreszeitliche Sukzession der Planktonbiozönose eines natürlichen Gewässers beobachtet werden sollte, musste die Einrichtung der Mikrokosmen noch vor Beginn der Vegetationsperiode erfolgen.

2.2.1 *Sediment*

2.2.1.1 ***Sedimententnahme***

Geräte

Plastikwannen (Vol. 100 L)

PE Kanister mit weiter Öffnung und Schraubdeckel (Vol. 25 L)

Sieb mit Maschenweite 63 µm

Plastikeimer (Vol. 10 L) mit Ausguss

Durchführung

Mit Hilfe von Schaufeln wurden die obersten Schichten Seesediment entnommen und in die Wannen gefüllt. Es wurden nur aerobe Bereiche (keine Schwarzfärbung, kein auffallender Fäulnisgeruch) abgetragen. Die insgesamt benötigte Sedimentmenge für 16 Mikrokosmen betrug etwa 800 L. Zusätzlich wurden zwei 25-L-Kanister mit Seewasser (63 µm) gefüllt.

2.2.1.2 ***Befüllung der Mikrokosmen mit Sediment***

Geräte

Siebe mit Maschenweite 0,5 cm

Plastikwannen (Vol. 100 L)

Messbecher aus PP mit Henkel und Ausguss (Vol. 2 L)

Betonmischer

Plastikeimer (Vol. 10 L) mit Ausguss

16 kreisförmige PE-Folienstücke (Durchmesser ca. 90 cm).

Durchführung

Das Sediment wurde mit den Händen durch die Siebe in die Plastikwannen gedrückt. Das gesiebte Sediment wurde in den Betonmischer gefüllt und unter Zugabe einer geringen Menge Seewasser im Betonmischer mindestens zwei Minuten gemischt. Der breiartige Inhalt einer Füllung wurde mit den Messbechern gleichmäßig auf alle 16 Mikrokosmen verteilt und der Vorgang solange wiederholt, bis die Füllhöhe in den Mikrokosmen etwa 10 cm betrug. Das Sediment wurde anschließend mit den Folienkreisen abgedeckt, um ein Austrocknen zu verhindern und das Aufwirbeln bei der Befüllung mit Wasser zu minimieren.

2.2.2 Wasser

2.2.2.1 Wasserentnahme

Geräte

PE Rundtank mit Flachboden und Ablasshahn (Vol. 1.000 L)
PE Kanister mit weiter Öffnung und Schraubdeckel (Vol. 25 L)
Plastikeimer (Vol. 10 L) mit Ausguss
Sieb und Gaze mit Maschenweite 63 µm
Förderpumpe, Schlauch, Generator

Durchführung

Das Seewasser (insgesamt ca. 3.600 L) wurde aus dem Uferbereich abgepumpt und durch die Gaze in den Wasserbehälter und die Kanister gefüllt.

2.2.2.2 Befüllung mit Wasser

Geräte

Plastikeimer mit Ausguss und Graduierung (Vol. 10 L)
Gaze mit Maschenweite 63 µm

Durchführung

Das gesamte Wasser wurde aus dem 1.000 L Wasserbehälter über 63 µm-Gaze in Eimer filtriert und 10-literweise auf die Mikrokosmen verteilt.

2.2.3 Zooplankton

2.2.3.1 Entnahme des Zooplanktons

Geräte

Planktonnetz mit Maschenweite 63 μm

Analysensieb mit Maschenweite 2 mm

flache weiße Fotoschale

Federstahl-Pinzette

PE Kanister mit weiter Öffnung und Schraubdeckel (Vol. 25 L)

Sieb mit Maschenweite 63 μm

Plastikeimer (Vol. 10 L) mit Ausguss

Durchführung

Die PE Kanister wurden mit filtriertem Seewasser (63 μm) gefüllt. Im Litoral des Sees wurden mehrere Planktonzüge genommen und der Inhalt des Auffanggefäßes über ein 2-mm-Sieb in eine Fotoschale geschüttet. Nach dem Aussortieren evtl. vorhandener Makroinvertebraten wurden die Zooplanktonproben in die PE-Kanister mit dem Seewasser gefüllt, bis eine ausreichende Dichte an Zooplanktonorganismen in allen Kanistern erreicht war. Die Kanister wurden kühl und über Nacht gelagert.

2.2.3.2 Zugabe des Zooplanktons

Geräte

PE Ballon mit Ablasshahn (Vol. 20 L)

Messbecher aus PP mit Henkel und Ausguss, hochtransparent (Vol. 1 L)

Durchführung

Ein Teil des mit Zooplankton angereicherten Wassers wurde aus den 25-L-Kanistern in den Ballon geschüttet. Der Deckel wurde verschlossen und die Probe gründlich durchmischt. Durch den Ablasshahn wurde das Wasser aus dem Ballon in einen Messbecher gefüllt und literweise auf die Mikrokosmen verteilt. Dieser Vorgang wurde solange wiederholt, bis das gesamte Zooplankton gleichmäßig auf alle Mikrokosmen verteilt war.

Zum Schutz vor den im Teich lebenden Wasserfröschen und dem Eintrag größerer Partikel durch Wind wurden die Mikrokosmen mit 50 cm breiten Manschetten aus Maschendraht umgeben (Maschenweite ca. 1 bis 1,5 cm). Um eine Kontamination der gering belasteten Mikrokosmen und der Kontrollen durch Wassertropfen oder infolge von Verschleppung durch Wasserinsekten zu verhindern, wurde jeder einzelne Mikrokosmos beim Versuch mit Ethinylestradiol mit einem weißen Kunstfasernetz (Maschenweite 1 mm, fixiert durch ein Gummiband) abgedeckt.

2.2.4 *Durchmischungen der Wassersäulen beim Versuch mit Ethinylestradiol*

Um zu verhindern, dass die Biozöosen der Mikrokosmen sich bereits während der 7-wöchigen Vorlaufphase sehr unterschiedlich entwickelten, und da witterungsbedingt die Verdunstung in den Mikrokosmen sehr stark war, wurde zwischen der 1. und 2. sowie der 5. und 6. Beprobung aus allen Mikrokosmen jeweils 50 Liter Wasser entnommen. Dieses wurde in einen 1.000-Liter-Behälter gefüllt, mit etwa 350 L destilliertem Wasser vermischt und anschließend wieder gleichmäßig auf alle Mikrokosmen verteilt.

2.3 *Applikation der Testsubstanzen*

2.3.1 *Controlled-Release-Dosierung*

In bisher veröffentlichten Studien wurde Nonylphenol direkt zugegeben, ungeachtet des raschen Verschwindens aus dem Medium, das vermutlich auf photochemischen und mikrobiellen Abbauprozessen beruht. Ahel *et al.* (1994c) dokumentierten durch photochemischen Abbau bedingte Halbwertszeiten von 10 bis 15 h bei Sonnenlichtintensitäten von etwa 1.000 kW/m², und von 15 bis 20 h bei Lichtintensitäten von 0,7 kW/m². In einer aktuellen Studie über den Verbleib von Nonylphenol in Litoral-Enclosures (Heinis *et al.* 1999), wurden über einen Zeitraum von 20 Tagen wiederholte Dosierungen durchgeführt. Die beobachteten Konzentrationsabnahmen von Nonylphenol betragen im Durchschnitt 61 % innerhalb von 39 h. Dies führte zu Konzentrationsschwankungen, die nicht die tatsächliche Belastungssituation in der Umwelt widerspiegeln.

Im Rahmen der durchgeführten Versuche wurde eine Dosierungsmethode für Nonylphenol in Wasser entwickelt, bei der die Konzentrationen langsam anstiegen und über einen gewissen Zeitraum konstant gehalten werden konnten (Plateauphase). Auf diese Weise konnte eine Belastung naturgetreuer simuliert werden (Pfister *et al.*, in Vorbereitung). Die Dosierung erfolgte durch die Freisetzung der Testsubstanz aus semipermeablen Schläuchen in das umgebende Wasser infolge von Diffusion aufgrund des Konzentrationsgefälles an der Schlauchmembran.

Nach demselben Prinzip wurde im zweiten Versuchsjahr Ethinylestradiol dosiert. Die Schläuche befanden sich in perforierten Edelstahlbehältern, um mechanische Beschädigung zu verhindern.

2.3.1.1 Befüllung der Schläuche

Geräte

Semipermeable LDPE-Schläuche (Breite 2,5 cm, durchschnittliche Membrandicke 54 µm mit einer Rückhaltung von Molekülen mit $M > 500$ g/mol, Firma ORIGO Hb, Tavelesjö, Schweden)
Thermoschweißgerät

Durchführung

Es wurden Schlauchstücke der gewünschten Länge hergestellt und an einem Ende verschweißt. Die Schlauchlänge richtete sich nach der angestrebten Konzentration und der Größe des zu belastenden Wasserkörpers. Die Befüllung mit der Testsubstanz erfolgte mittels Pasteurpipetten. Nonylphenol wurde direkt eingefüllt, das kristalline Ethinylestradiol wurde vorher in Triolein (~ 99 %, Sigma, Produktnr. T7140) dispergiert. Nach Entfernen von Luftblasen wurde auch das andere Ende des Schlauches mit Hilfe des Thermoschweißgerätes verschlossen.

2.3.1.2 Installation der Dosiereinrichtungen

Geräte

Behälter aus perforiertem Edelstahl
Stange zum Aufhängen der Dosiereinrichtungen
alternativ: pro Mikrokosmos zwei S-Haken
LDPE-Schläuche mit Testchemikalie befüllt und verschweißt

Durchführung

Im Versuch mit Nonylphenol wurden die Edelstahlbehälter so in die Mikrokosmen gehängt, dass sie sich in der Mitte des Wasserkörpers befanden. Nachdem sich diese Anordnung als störend bei der Beprobung erwies, wurden die Kästen im Versuch mit Ethinylestradiol mit Ketten und S-Haken am Rand der Mikrokosmen befestigt.

2.3.2 *Dosierung durch direkte Zugabe der Testsubstanz*

In den Mikrokosmen EE6, EE7 und EE8 wurden EE-Konzentrationen angestrebt, die aufgrund der limitierten Länge der LDPE-Schläuche nicht per Controlled Release dosiert werden konnten. Diesen Mikrokosmen wurde mit einer Tauchpumpe 50 (für EE8), 40 (für EE7) und 20 L (für EE6) Wasser entnommen und durch 63 µM-Gaze filtriert. Im Labor wurde das Wasser auf 5-L-Bechergläser verteilt, mit kristallinem Ethinylestradiol (5 mg/L) versetzt und mindestens 24 h unter dem Abzug gerührt. Das Wasser wurde anschließend über einen Cellulose-Faltenfilter filtriert, um noch nicht gelöste Ethinylestradiol-Kristalle zu entfernen und den Mikrokosmen wieder zugeführt. Um eine für alle Mikrokosmen einheitliche Störung der Biozöosen zu erreichen, wurde in jedem Mikrokosmen das Wasser mit Hilfe einer Tauchpumpe für jeweils fünf Minuten umgewälzt. Zusätzlich wurde destilliertes Wasser eingefüllt, um die Volumina aller Mikrokosmen einander anzugleichen.

(Arbeitspläne der Versuche mit Nonylphenol und Ethinylestradiol siehe Anhang).

2.3.3 *Testkonzentrationen*

Aufgrund der zur Verfügung stehenden Ressourcen (Anzahl der Mikrokosmen, Arbeitskräfte, Zeit) wurde ein regressiver Ansatz gewählt. Das bedeutet, dass von jeder Testkonzentration nur ein Replikat dosiert wurde.

2.3.3.1 *Nonylphenol*

Die Auswahl der Testkonzentrationen in den Mikrokosmen basierte auf den Ergebnissen von Laborversuchen mit ausgewählten Zooplanktonspezies sowie auf den maximalen in der Umwelt gefundenen Konzentrationen (Harries *et al.* 1997). Während der Plateauphase sollten zwischen 10 und 190 µg/L erreicht werden.

Tab. 3: Geplante mittlere Nonylphenol-Konzentrationen in den Mikrokosmen

	NP1	NP2	NP3	NP4	NP5	NP6	NP7
geplante Konzentration	10 µg/L	40 µg/L	70 µg/L	100 µg/L	130 µg/L	160 µg/L	190 µg/L

2.3.3.2 *Ethinylestradiol*

Die geplanten Testkonzentrationen von Ethinylestradiol richteten sich zum einen nach den in der Umwelt gefundenen Konzentrationen, zum anderen sollten die aus der Literatur bekannten Wirkkonzentrationen für Zooplanktonorganismen erreicht werden. In einem regressiven Ansatz sollte der Konzentrationsbereich zwischen 10 ng/L und 1 mg/L abgedeckt werden.

Tab. 4: Geplante mittlere Ethinylestradiol-Konzentrationen in den Mikrokosmen

	EE1	EE2	EE3	EE4	EE5	EE6	EE7	EE8
geplante Konz.	500 ng/L	60 ng/L	30 ng/L	100 ng/L	10 ng/L	50 µg/L	500 µg/L	1 mg/L

2.4 *Bestimmung von Nonylphenol im Wasser*

Alle Glasgeräte wurden vor Verwendung mit Aceton gereinigt, mit Milliporewasser gespült und getrocknet.

2.4.1 *Probenahme*

Geräte

Vollpipetten aus Glas (Vol. 10 mL)

Erlenmeyerkolben (Vol. 200 mL)

Durchführung

Es wurden zunächst die unbelasteten Mikrokosmen (Blindproben) und dann die dosierten Mikrokosmen in aufsteigender Konzentration beprobt. Nach dem Umrühren des Wassers mit Hilfe der Pipette wurden an vier verschiedenen Stellen des Mikrokosmos jeweils 10 mL Wasser entnommen und in die Erlenmeyerkolben gefüllt (gesamtes Probenvolumen aus einem Mikrokosmos: 40 mL).

2.4.2 Analytik

Die Analytik folgte der Standardarbeitsanweisung „Bestimmung von Nonylphenol in Wasser“ (Stand März 1999) des Instituts für Ökologische Chemie (GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit).

Prinzip der Methode

1. Extraktion

Probenvolumen: 20 – 40 mL

Zugabe von n-Nonylphenol (nNP, interner Standard)

Schütteln mit 5 – 10 mL n-Hexan

Lösungsmittelwechsel auf Acetonitril

2. Analyse

Bestimmung des Gesamtgehaltes an Nonylphenol mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion
Quantifizierung über das n-Nonylphenol (nNP)

2.4.2.1 **Materialien**

Lösungen und Chemikalien

Destilliertes Wasser

n-Hexan z.Ra. Riedel de Haen (34484)

Acetonitril HPLC-Grade Riedel de Haen (34851)

NaCl p.a. Merck (1.06404.1000)

Interner Standard: lineares n-Nonylphenol Fa Ehrenstorfer (10 ng/μL)

Glasgeräte

50- μ L-Glasspritze (Hamilton)

Mikroseparator (Abb. 5)

10-mL-Spitzkolben

Autosamplergewindevials

(Vol. 1,5 mL, Braunglas) mit Silikonsepten
und Schraubkappen

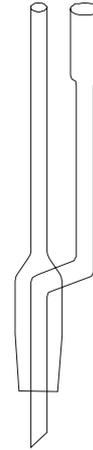


Abb. 5: Mikroseparator

2.4.2.2 Extraktion

Dem Probenwasser wurde 50 μ L interner Standard (10 ng/ μ L nNP) und 5 mL n-Hexan zugesetzt. Die Kolben wurden mit Glasstopfen verschlossen, 2 min kräftig geschüttelt und bis zur Phasentrennung im Dunkeln stehen gelassen. Bei hohen Tensidgehalten wurde kristallines NaCl zugeben, um die Phasentrennung zu erleichtern, ggf. wurde zentrifugiert.

2.4.2.3 Vorbereitung zur Messung

Auf den Erlenmeyerkolben wurde ein Mikroseparator aufgesetzt und mit Wasser aufgefüllt. Das aufsteigende n-Hexan wurde mit einer Pasteur-Pipette entfernt und in einen 10 bzw. 25 mL Spitzkolben gegeben. War die Phasentrennung nicht vollständig, wurde nur die klare Hexanphase verwendet. Der Extrakt wurde bei 270 mbar und 50 °C am Rotationsverdampfer eingengt und die letzten Tropfen im Stickstoffstrom abgeblasen. Der Rückstand wurde mit 2 \times 1 mL Acetonitril aufgenommen und in ein Autosamplervial gegeben.

2.4.2.4 Bestimmung der gesamten tNP-Konzentration mittels HPLC

Die Analyse der Probenextrakte erfolgte mittels HPLC-System (Fa. Varian, Autosampler 9100, Pumpe 9010, Fluoreszenzdetektor 9070, ADC-Board 16, Software Varian-Star 4.0, RP18-Säule, 250 \times 3 mm, Fa. Bischoff Sherisorb ODS-II, 5 μ m, Vorsäule 4 \times 4 mm, Säulenthermostate BFO 04 syn1, Fa. W.O. electronics, Temperatur: 20 °). Das Injektionsvolumen betrug 50 μ L.

Als mobile Phase wurde ein Acetonitril/Wasser-Gemisch mit einem Gradienten von 70 % bis 100 % Acetonitril in 9 min. bei einem Fluss von 0,7 mL/min. verwendet. Die Fluoreszenzdetektion erfolgte bei $\lambda = 230$ nm Anregungs- und $\lambda = 310$ nm Emissionswellenlänge.

2.4.2.5 Quantitative Auswertung

Die Identifizierung der Nonylphenol-Peaks erfolgte durch den Vergleich der Retentionszeiten mit denen des Messstandards. Die quantitative Bestimmung erfolgte anhand der Peakflächen von tNP und des internen Standards nNP mittels einer 9-Punkt-Kalibrierkurve (Software Varian-Star 4.0).

2.5 Bestimmung von Ethinylestradiol in Wasser

2.5.1 Probenahme

Geräte

Schott-Flaschen (Vol. 1 L)

Wasserschöpfer (Vol. 0,5 L)

Eimer aus Edelstahl mit Ausguss (Vol. 10 L)

Durchführung

Vor Gebrauch wurden die Geräte mit Methanol und Leitungswasser gespült und getrocknet. Als Blindwerte wurden zwei unbelastete Kontrollen beprobt, dann erfolgte die Probenahme nacheinander in den Mikrokosmen mit aufsteigender Konzentration. Mit Hilfe des Wasserschöpfers wurde das Wasser vorsichtig umgerührt, an drei verschiedenen Stellen Wassersäulen entnommen in einem Edelstahleimer gemischt und über einen Glastrichter in die Schott-Flaschen gefüllt. Die Aufbewahrung erfolgt dunkel bei 4 °C.

2.5.2 Analytik

Die angewandte Methode wurde im Institut für Ökologische Chemie (GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit) entwickelt (SOP „Bestimmung von Ethinylestradiol in Wasser“).

Prinzip der Methode

In Oberflächengewässern findet man Ethinylestradiol sowohl in freier als auch in gebundener Form. Durch Ansäuern des Wassers auf pH 2 bis 3 wird das gebundene Ethinylestradiol freigesetzt. Die angesäuerte Wasserprobe wird mit 17β -Estradiol als Internstandard versetzt und über eine Bond Elut (Varian) Festphasenkartusche geleitet. Dieser Kartuschentyp ist besonders für die Anreicherung von Phenolen aus wässrigen Lösungen geeignet. Nach der Anreicherung wird mit Ethylacetat eluiert und das Eluat vorsichtig bis fast zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und auf eine LiChrolut Adsorbex NH_2 (Merck) Kartusche aufgetragen. Zunächst werden un- bis mittelpolare Verunreinigungen mit Dichlormethan eluiert und verworfen. Die interessierenden Phenole werden in einem zweiten Schritt mit Methanol eluiert. Die Methanol-Fraktion wird fast bis zur Trockne eingedampft, in Acetonitril/Wasser (1:1) aufgenommen und mittels HPLC/UV-Detektion bei $\lambda = 220 \text{ nm}$ analysiert.

Materialien

n-Hexan, Dichlormethan, Ethylacetat, Methanol, Acetonitril.

1,0 N H_2SO_4 (Millipore-Wasser mit Schwefelsäure angesäuert bis pH 2,5)

Anreicherungskartuschen: Bond Elut, Bonded Phase PPL, Size 3CC/200 mg, Part Number 1210-5005, Fa. Varian

Clean-Up-Kartuschen: LiChrolut Adsorbex NH_2 (500 mg), Part Number 1.19697, Fa. Merck
Glasgeräte

Konische, graduierte, 15-mL-Glasröhrchen

graduierte 1- und 5-mL-Pipetten

25-mL-, 50-mL- und 100-mL-Messkolben

2 mL dunkle Vials mit Deckel und Teflondichtung

10- und 100- μL -Mikroliterspritzen

Standardlösungen

Interne Standard Lösung I: 17β -Estradiol 100 ng/ μL in Acetonitril/Wasser (50/50, v/v)

Interne Standard Lösung II: 17β -Estradiol 10 ng/ μL in Acetonitril/Wasser (50/50, v/v)

Standard I: 17α -Ethinylestradiol 100 ng/ μL in Acetonitril/Wasser (50/50, v/v)

Standard II: 17α -Ethinylestradiol 10 ng/ μL in Acetonitril/Wasser (50/50, v/v)

Mix I: 17α -Ethinylestradiol 1 ng/ μL + 17β -Estradiol 1 ng/ μL in Acetonitril/Wasser (50/50,

v/v) Alle Standardlösungen wurden im Kühlschrank aufbewahrt. Die Gefäße waren zusätzlich mit Parafilm verschlossen.

Sonstiges

Saugstutzen für Kartuschen, Scheidetrichter, Saugkolben, Wasserstrahlpumpe, Stickstoffabblasapparatur, Einmal-Glaspipetten für die Abblasapparatur.

Alle verwendeten Lösungsmittel (Acetonitril, Dichlormethan, Ethylacetat, Methanol und n-Hexan) wiesen die Qualität 'zur Rückstandsanalyse' bzw. HPLC-Grade auf. Zur Herstellung der 1 N H₂SO₄ wurde Millipore-Wasser mit konzentrierter Schwefelsäure bis pH 2,5 angesäuert. Der 0,1 M Acetatpuffer pH 4,2 wurde aus einer 0,1 M Natriumacetat-Lösung hergestellt, die mit Essigsäure bis pH 4,2 titriert wurde.

Die Probenanreicherung erfolgte an Bond Elut Fertigungskartuschen (Bonded Phase PPL, Size 3CC/200 mg, Part Nr. 1210-5005, Fa. Varian). Für die Aufreinigung des Probenextraktes wurden LiChrolut Adsorbex NH₂ Kartuschen (500 mg, Part Nr. 1.19697, Fa. Merck) verwendet.

Für die Quantifizierung wurde der Internstandard 17 β -Estradiol (Sigma, p.a.) verwendet. Um die stark unterschiedlich konzentrierten Proben mit entsprechenden Mengen von Internstandard dotieren zu können, wurden zwei Internstandard-Lösungen mit 10 und 100 ng/ μ L in Acetonitril/Wasser (50/50, v/v) hergestellt. Für die Bestimmung des Responsefaktors, der Wiederfindung und zur Kontrolle der Retentionszeiten wurden Mischungen aus 17 α -Ethinylestradiol und 17 β -Estradiol mit jeweils 0,25, 0,5, 1 und 2 ng/ μ L verwendet. Diese Kalibrierlösungen wurden vor und während jeder Probensequenz mehrfach vermessen und entsprechende Kalibriergeraden erstellt. Alle Standardlösungen wurden im Kühlschrank aufbewahrt. Die Gefäße wurden zusätzlich mit Parafilm verschlossen.

Für die Extraktion wurden 1-L-Scheidetrichter verwendet, deren Auslassrohre dichtpassend in die Öffnungen der Anreicherungskartuschen gesteckt wurden. Die Auslassöffnungen der Kartuschen wurden mit Saugflaschen und diese über Feinreguliertventile mit einer Vakuummembranpumpe verbunden. Das Trocknen, Konditionieren und Eluieren der Festphasenkartuschen erfolgte in einem 12-Port-Vakuumsaugstand.

Zur Aufgabe der organischen Lösungsmittel wurden graduierte 1- und 5-mL-Pipetten verwendet. Die Eluate wurden in konischen, graduierten 15-mL-Glasröhrchen aufgefangen. Die Dotierung des internen Standards erfolgte mit Hilfe von 10- und 100- μ L-Mikroliterspritzen.

Das Abdampfen von Lösungsmitteln erfolgte mit einer Stickstoffabblasapparatur. Um Sekundärkontaminationen der Proben zu vermeiden, wurden dabei Einmal-Glaspipetten für das Einleiten des Stickstoffs verwendet. Die aufgereinigten Probenextrakte wurden bis zur HPLC-Analyse in 1,2-mL-Braunglasvials mit Microinsert und Teflondeckel aufbewahrt.

Die HPLC-Bestimmung erfolgte an einer Anlage bestehend aus folgenden Komponenten: Autosampler ISS-200 und Pumpe Serie 200 (Perkin Elmer), einem Säulentermostat Mistral SPH99 (Spark Holland) und einem Photodiodenarray-Detektor 235 C (Perkin Elmer). Als Trennsäule wurde eine LichroSphere 100, RP-18, 5 µm, 4 × 250 mm (Merck) verwendet.

2.5.2.1 Anreicherung

Aktivierung der Anreicherungskartuschen

Die Bond Elut Kartuschen wurden mit 1 mL Ethylacetat (ohne zu saugen) und danach mit 1 mL schwefelsaurem Milliporewasser (pH 2,5; langsames Saugen) aktiviert.

Vorbereitung der Wasserprobe

Für zu erwartende 17α-Ethinylestradiol-Konzentrationen unter 1.000 ng/L wurde jeweils 1L Wasser aus der Probe eingesetzt, für stärker konzentrierte Probenlösungen wurde die Wassermenge entsprechend reduziert. Wasserproben mit 17α-Ethinylestradiol-Konzentrationen über 20.000 ng/L wurden nur mit internem Standard versetzt und direkt vermessen.

Die Wasserprobe wurde durch Zusatz von 1 N H₂SO₄-Lösung auf einen pH-Wert zwischen 2,5 und 3,0 gebracht, anschließend wurde interner Standard zugegeben. Die zuzugebende Menge betrug abhängig von der zu erwartenden EE-Konzentration 200 bis 2.000 ng Estradiol. Die zugegebene Menge des internen Standards sollte ungefähr der zu erwartenden Konzentration von 17α-Ethinylestradiol in der Wasserprobe entsprechen. Das Volumen der zugegebenen internen Standard-Lösung II sollte 20 µL pro L nicht überschreiten, da größere Volumina den Anreicherungsprozess wegen des Vorhandenseins von Acetonitril in der internen Standard-Lösung beeinträchtigen.

Anreicherung

Die vorbereitete Wasserprobe wurde mit einer Fließgeschwindigkeit von nicht mehr als 20 mL/Minute durch die Kartusche gesaugt. Am Ende wurde durch die Kartusche so lange Luft gesaugt, bis die Farbe der Kartuschen-Füllung von dunkelbraun auf hellbraun umschlug.

Extraktion der angereicherten Stoffe

Die angereicherten Stoffe wurden aus der Kartusche mit 1 mL Ethylacetat eluiert. Das Eluat wurde in konischen 15-mL-Glasröhrchen aufgefangen. Das Ethylacetat wurde im Stickstoffstrom bei 60 °C bis zur Trockene abgedampft.

2.5.2.2 Clean-up

Aktivierung der Kartuschen

Die Adsorbex NH₂ Kartuschen wurden mit 2 mL einer Dichlormethan/n-Hexan-Mischung (20/80 v/v) aktiviert.

Aufbringen des Anreicherungs-Produktes

Der Rückstand in den konischen Glasröhrchen wurde mit 1 mL Dichlormethan aufgenommen (im Ultraschallbad 2 min. auflösen) und auf die Kartusche aufgebracht. Nach dem Durchlaufen der Lösung (ggf. leicht saugen), wurden die konischen Probengefäße zwei Mal mit erst 1 mL, dann 2 mL Dichlormethan gespült, und diese Lösungen erneut auf die Kartusche aufgetragen. Alle Dichlormethan-Fractionen wurden verworfen.

2.5.2.3 Extraktion der Analyten

Die Extraktion erfolgte mit 2 mL Methanol. Der Extrakt wurde in sauberen konischen Glasröhrchen aufgefangen, das Lösungsmittel dann im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in 150 µL Acetonitril/Wasser (50/50) aufgenommen und zur HPLC-Bestimmung in ein Braunglasvials mit Microinsert überführt.

2.5.2.4 HPLC-Bestimmung

Geräte

Autosampler ISS-200, Perkin Elmer

Pumpe Serie 200, Perkin Elmer

Säulenthermostat Mistral SPH99, Spark Holland

Photodiodenarray-Detektor 235 C, Perkin Elmer

Analysenparameter

Injektionsvolumen: 100 µL

Säule: LichroSphere 100, RP-18, 5 µm, Merck

Säulentemperatur: 60°C

Laufmittel A: Acetonitril/Wasser 1 L (70/30 (v/v)) + 10 mL Pufferlösung Acetat, (0,1 M essigsäure Natriumacetat-Lösung, pH 4,2)

Laufmittel B: Acetonitril/Wasser: 1 L (30/70 (v/v)) + 10 mL Pufferlösung Acetat (wie oben)

Fluss: 1 mL/min

UV-Detektion: $\lambda = 220$ nm

Die UV-Detektion des Analyten und des Internstandards erfolgte bei einer Wellenlänge von $\lambda = 220$ nm. Die Berechnung der 17 α -Ethinylestradiol-Konzentration erfolgte durch den Vergleich des elektronisch registrierten Flächenintegrals mit der Signalfäche des internen Standards 17 β -Estradiol. Der Ausbeuteverlust durch das Aufarbeitungsverfahren sowie eventuelle Abdampfverluste wurden durch den vor der Aufarbeitung zugesetzten internen Standard korrigiert. Die Bestimmung des Responsefaktors erfolgte mit Hilfe der Kalibrierlösungen vor und während jeder Probenserie.

$$c_{EE} = \frac{a_{EE} \cdot c_{IS} \cdot V_{IS}}{a_{IS} \cdot V_P} \cdot R_f$$

$$R_f = \frac{a_{IS} \cdot c_{EE}}{a_{EE} \cdot c_{IS}}$$

c_{EE}	Konzentration 17 α -Ethinylestradiol (ng/L)
c_{IS}	Konzentration interner Standard 17 β -Estradiol (ng/µL)
a_{EE}	Fläche 17 α -Ethinylestradiol
a_{IS}	Fläche interner Standard 17 β -Estradiol
V_{IS}	Volumen interner Standard 17 β -Estradiol (µL)
V_P	Volumen der Wasserprobe (L)
R_f	Responsefaktor 17 α -Ethinylestradiol

2.5.2.5 Qualitätssicherung

Die Nachweisgrenze für 17 α -Ethinylestradiol lag bei der hier beschriebenen Methode unter Zugrundelegung eines Signal/Rauschverhältnisses von < 3:1 durchschnittlich bei 5 ng/L. Die absolute Nachweisgrenze für 17 α -Ethinylestradiol lag beim verwendeten Detektionsverfahren bei etwa 3,5 ng.

Vor und während jeder Probenserie wurden Kalibrierlösungen mit bekannten Konzentrationen an 17 β -Estradiol und 17 α -Ethinylestradiol injiziert und eine Kalibriergerade für 17 β -Estradiol erstellt. Mit Hilfe dieser Daten konnte für jede Probe die Wiederfindungsrate bezogen auf den dotierten internen Standard berechnet werden. Sie lag bei durchschnittlich $55 \pm 18\%$ (n = 31).

Parallel zu jeder Probenserie wurden mindestens 2 Blindwerte (unbehandeltes Teichwasser) mit aufgearbeitet. Die Blindwerte für 17 α -Ethinylestradiol lagen bei durchschnittlich $13,3 \pm 9,3$ ng/L (n = 31).

2.6 Untersuchung der Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen

Parallel zu den HPLC-Messungen wurden beim Versuch mit Ethinylestradiol Wasserproben aus den Mikrokosmen mittels ELRA (enzyme linked receptor assay) (Seifert *et al.* 1999) auf ihre Gesamtöstrogenität untersucht, um eventuell auftretende Metaboliten erfassen zu können, deren Nachweis mittels der HPLC-Analytik nicht möglich ist. Hierdurch kann einerseits die Bildung von Abbauprodukten mit östrogenen Wirkung erfasst werden, zum anderen lassen sich auf diese Weise die Werte der HPLC-Analytik bestätigen. Die untersuchten Wasserproben (Vol. 200 mL) wurden zeitgleich mit denen für die Bestimmung von Ethinylestradiol entnommen und in 200 mL-Braunglasflaschen gefüllt. Die Aufbewahrung bis zur Messung erfolgte im Kühlschrank.

2.7 Chemisch-physikalische Messungen

Temperatur [°C]:	Quecksilberthermometer aus Glas
Sauerstoffsättigung [%]:	Taschen-Sauerstoffmessgerät OXI 91 (WTW)
Leitfähigkeit [$\mu\text{S}/\text{cm}$]:	Taschen-Konduktometer LF 90 (WTW)
pH:	Taschen-pH-Meter PH 90 (WTW)
Nitrat:	Nanocolor Rundküvettest Nitrat 50 Macherey-Nagel (0,3 – 22 mg/L NO_3^-) nach: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DIN 38 405-D9-2)
Ammonium:	Nanocolor Rundküvettest Ammonium 3 Macherey-Nagel (0,05 – 3,00 mg/L $\text{NH}_4^+\text{-N}$) nach: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DIN 38 406-E5-1)
ortho-Phosphat (45 μm filtriert):	Nanocolor Rundküvettest Phosphat 1 mit 50 mm Mikroküvette (0,010 – 0,800 mg/L P) nach: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DIN 38 405-D11-1)

2.7.1 Physikalische Parameter

Vor der Messung wurden die Sonden für die Sauerstoff- und pH-Messung kalibriert. Die Temperaturmessung sowie die Bestimmung von Sauerstoffsättigung, pH und Leitfähigkeit erfolgten in der Mitte der Mikrokosmen in etwa 10 cm Wassertiefe bis zur Konstanz der Werte nach wenigen Sekunden.

2.7.2 Chemische Parameter

Die Messung mit Hilfe der Rundküvettestests erfolgte etwa 3 h nach der Probenahme im Labor mit dem Spektralphotometer Nanocolor 300 D (Macherey-Nagel) entsprechend den Angaben im beigefügten Handbuch „Analysen von Trink-, Oberflächen-, Grund-, Brauch- und Abwasser mit dem Spektralphotometer Nanocolor 300 D“ der Firma Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren. Die Probenahme wird nachfolgend beschrieben.

2.8 Entnahme von Wasser und Planktonproben

Geräte

Wasserschöpfer (Vol. 0,5 L)

Einwegspritzen (5 mL)

Einweg-Filterhalter mit Cellulose-Acetat-Filter (Porenweite: 45 μm)

Eimer aus Edelstahl mit Ausguss (Vol. 10 L)

Gazefiltriereinrichtung Maschenweite 63 μm

Glastrichter

Spritzflasche mit Leitungswasser

Schraubdeckelbehälter aus PE für die Wasserproben (Vol. ca. 20 mL)

Schraubbehälter aus Glas oder PE für Zooplankton (Vol. 50 mL)

Schraubbehälter aus Glas oder PE für Phytoplankton (Vol. 100 mL)

4%ige wässrige Procainhydrochlorid-Lösung

Zuckerformol-Lösung (20 g Zucker auf 500 mL Formaldehyd 37 %)

Durchführung

Das Wasser des Mikrokosmos wurde mit Hilfe des Wasserschöpfers vorsichtig umgerührt, um eine gleichmäßige Verteilung der Zooplanktonorganismen zu gewährleisten. An verschiedenen Stellen des Mikrokosmos wurden drei Wassersäulen (1,5 L) entnommen und im Eimer vermischt. Für die Bestimmung von Nitrat, Ammonium und Phosphat wurden jeweils ca. 10 mL des Wassers mit Einwegspritzen aufgenommen und 45 μm filtriert. Die Proben wurden bis zur Bestimmung am gleichen Tag gekühlt aufbewahrt. Der restlichen Wasserprobe wurden Teilproben (Vol. 100 mL) für die Bestimmung des Phytoplanktons entnommen, in 100-mL-Probengefäße gefüllt, mit Lugol'scher Lösung versetzt, bis die Probe cognacfarben war (ca. 12 Tropfen) und geschüttelt. Die verbleibende Menge wurde durch den Gazefilter (63 μm) zurück in den Mikrokosmos geschüttet. Die Filtriereinrichtung wurde umgekehrt auf den Glastrichter gesetzt und das Zooplankton durch einen scharfen Wasserstrahl (max. 30 mL) in ein 50-mL-Probengefäß überführt. Zur Betäubung der Organismen wurde 1 mL Procainhydrochlorid-Lösung zugegeben. Die Endfixierung im Labor erfolgte mit 2 mL Zuckerformol-Lösung.

(Probenahmepläne für die Versuche mit Nonylphenol und Ethinylestradiol siehe Anhang).

2.9 Bestimmung der Zooplanktonproben

Geräte

Glastrichter

Petrischale aus Glas (Ø 10 cm) mit Millimeter-Raster am Boden

Spritzflasche mit Leitungswasser

Filtriereinrichtung mit Gaze (Maschenweite 63 µm)

Spülmittel (verdünnt)

Formaldehyd (37 %) zur Fixierung

Präpariernadeln spitz

Durchlicht-Stereomikroskop mit max. 40-facher Vergrößerung

Handzähler

Durchführung

Die Zooplanktonprobe wurde über 63 µm-Gaze filtriert. Das zurückbleibende Zooplankton wurde mit etwa 100 mL Leitungswasser gespült und anschließend mit einem scharfen Wasserstrahl restlos in die Petrischale überführt. Mit einem Tropfen Spülmittel-Lösung wurde die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt und an der Oberfläche schwimmende Organismen sanken ab.

Die Bestimmung und quantitative Erfassung sämtlicher Individuen erfolgte unter dem Mikroskop bei maximal 40-facher Vergrößerung. Als Hilfsmittel dienten Präpariernadel und Handzähler. Im Anschluss wurde der Inhalt der Petrischale durch den Trichter in das Probengefäß überführt und mit 1 mL Formol-Lösung endfixiert.

2.10 Bestimmung der Phytoplanktonproben

Geräte

Kombinierte Plattenkammern mit Sedimentationsröhren (Fa. Hydro-Bios, Nr. 435 025)
Inversmikroskop Fa. Leica (Typ Leica DM IRBE HC mit Bildanalysesoftware Q500/W-E und Hardware)

Durchführung

Nach kräftigem Schütteln der Phytoplanktonprobe wurden jeweils 50 mL in die Sedimentationskammern gefüllt und mindestens 48 h abgedeckt stehen gelassen. Nach dem Absedimentieren wurde die Zählkammer mit einer Glasplatte verschlossen. Das Auszählen und die Bestimmung erfolgten bei 200- bzw. 400-facher Vergrößerung mittels eines Umkehrmikroskops.

Die quantitative Auswertung erfolgte bei 200- bzw. 400-facher Vergrößerung, um sowohl kleinere als auch größere Spezies hinreichend zu erfassen. Um ein erforderliches Mindestmaß an statistischer Sicherheit zu erzielen, sollten von den häufigsten Arten mindestens 100 Individuen erfasst werden (ATT 1998). Dies wurde erreicht, in dem bei jeder Vergrößerung zwei senkrecht zueinander stehende Diagonalen von 2,55 cm Länge vollständig ausgezählt wurden. Die Breite der ausgezählten Bahnen betrug bei 200-facher Vergrößerung 337,5 μm , bei 400-facher Vergrößerung 675 μm . Hieraus resultiert eine ausgezählte Fläche von 8,606250 bzw. 17,212500 mm^2 . Die größere ausgezählte Fläche bei der 200-fachen Vergrößerung ermöglichte es, die Häufigkeit der großen Algenarten, deren relativer Biomasseanteil trotz ihres meist selteneren Auftretens teilweise vorherrschend war, mit besserer statistischer Sicherheit zu erfassen. Extrem häufige Arten wurden abweichend von diesem Auswertungsverfahren in Fenstern auf den Diagonalen ausgezählt, die den gleichen Abstand zueinander hatten, statt in kompletten Bahnen. Bei Proben mit extrem geringen Zellzahlen wurde ein Vielfaches der genannten Diagonalenzahl ausgewertet. Aus den so erhaltenen Zellzahlen wurden die Gesamtzahl der Individuen in der Zählkammer und daraus die Häufigkeit in den eingesetzten 50 mL berechnet (Zelldichte). Die Ermittlung der relativen Biomasse für die einzelnen Algenklasse und die Gesamtbioasse erfolgten nach ATT (1998).

2.11 Numerische Verfahren

2.11.1 Statistische Kenngrößen

Die Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung erfolgte nach Kreyszig (1979).

Mittelwert

$$MW = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n x_j$$

MW	Mittelwert
n	Anzahl der Werte
x_j	Abundanz bzw. Messwert

Standardabweichung

$$STABW = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (x_j - MW)^2}$$

STABW	Standardabweichung
n	Anzahl der Werte
x_j	Abundanz bzw. Messwert

2.11.2 Relative Abundanz

Die relative Abundanz einer Art gibt an, mit welchem prozentualen Anteil eine Art an der Gesamtindividuenzahl einer Probe beteiligt ist (Müller 1984).

$$D = \frac{n_i}{N} \times 100$$

D	relative Abundanz [%]
n_i	Individuenzahl der Art i
N	Gesamtindividuenzahl

2.11.3 Populationsdynamik

Die Abundanz der Vertreter der verschiedenen Gruppen, Entwicklungsstadien, Gattungen und Arten des Zooplanktons (im folgenden vereinfacht als „Arten“ bezeichnet) gibt Auskunft über die Anzahl der verschiedenen Organismen sowie ihre Dichte in den Mikrokosmen. Es erfolgte eine Umrechnung der pro Probe ausgezählten Individuen auf das Volumen von 1 L.

2.11.4 Prozentuale Abweichung der Abundanzen vom Mittelwert der Kontrollen

Die prozentuale Abweichung (%ABW_x) der Abundanzen in den belasteten Mikrokosmen von den Kontrollen gibt an, inwieweit sich die Populationsdynamik von NP1 bis NP7 bzw. EE1 bis EE8 von der Abundanz in den Kontrollen unterscheidet (Lonzano *et al.* 1992).

$$\% ABW_x = \left(\frac{R_x}{K} - 1 \right) \times 100$$

R _x	Abundanz in den belasteten Mikrokosmen
K	mittlere Abundanz in Kontrollen
X	NP bzw. EE

Entsprechend wurde zur Beschreibung der prozentualen Abweichung der Abundanzen in den einzelnen Kontrollen (K1 bis K9 bzw. K1 bis K5) (%ABW_K) von ihrem Mittelwert verfahren.

$$\% ABW_K = \left(\frac{R_K}{K} - 1 \right) \times 100$$

R _K	Abundanz in den Kontrollen
K	mittlere Abundanz in Kontrollen

Für die Betrachtung der prozentualen Abweichungen der Abundanzen als Folge der Durchmischungen der Wassersäulen in den Mikrokosmen in den Wochen 1 bis 6 beim Versuch mit Ethinylestradiol wurden die Mittelwerte aller Mikrokosmen herangezogen (K1 bis K5 und EE1 bis EE8).

$$\% ABW_{K+EE} = \left(\frac{R_{K+EE}}{K} - 1 \right) \times 100$$

R_{K+EE} Abundanz in den Mikrokosmen K1 bis K5 und EE1 bis EE8

K Mittelwert der Abundanzen in den Mikrokosmen K1 bis K5 und EE1 bis EE8

2.11.5 Artenzahl, Diversität und Evenness

Die Artenzahl gibt darüber Auskunft, wie viele verschiedene Spezies, Gattungen, Entwicklungsstadien und Gruppen des Zooplanktons in den Mikrokosmen vorhanden waren. Ein häufiges Maß zur Charakterisierung einer Organismengesellschaft unter Berücksichtigung sowohl der Abundanzen, als auch der Artenzahl, ist der Shannon oder Shannon-Weaver Diversitätsindex H' . Er betrachtet sowohl die Gesamtzahl aller vorhandenen Arten wie auch den relativen Anteil der Individuen einer Art an der Gesamtzahl aller Individuen (Townsend 1996).

$$H' = - \sum_{i=1}^s \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

i i^{te} Art

H' Diversitätsindex

n_i Individuenzahl der Art i

N Gesamtindividuenzahl

s Artenzahl

Der Wert des Diversitätsindex hängt sowohl von der Anzahl der Arten, als auch von der Gleichmäßigkeit (Evenness) ab, mit der die Individuen unter den Arten verteilt sind. Die Evenness ist definiert als das Verhältnis der Diversität (H') zum Logarithmus der Artenzahl (s). Bei konstanter Artenzahl nimmt die Diversität H' mit wachsender Evenness zu. In Gesellschaften mit konstanter Evenness nimmt die Diversität H' mit zunehmender Artenzahl zu (Townsend 2000).

$$E = \frac{H'}{\ln s}$$

E	Evenness
H'	Diversitätsindex
s	Artenzahl

2.11.6 Stetigkeit

Die Stetigkeit einer Art ist definiert als die prozentuale Häufigkeit, mit der sie in den verschiedenen Mikrokosmen während des gesamten Untersuchungszeitraumes vorhanden war (Müller 1984).

$$\text{Stetigkeit von Taxon } X = \frac{\text{Anzahl der Mikrokosmen, in denen Taxon } X \text{ repräsentiert war}}{\text{Anzahl der Mikrokosmen im Versuch}}$$

2.12 Statistische Methoden

Um die Effekte einer in verschiedenen Konzentrationen applizierten Substanz auf die zeitliche Entwicklung einer Biozönose untersuchen zu können, müssen die zur Auswertung herangezogenen statistischen Methoden folgende Ansprüche erfüllen:

- Zum einen muss die Abweichung der belasteten Mikrokosmen von den unbelasteten Kontrollen berücksichtigt werden, zum anderen der zeitliche Verlauf innerhalb der einzelnen Systeme.
- Außerdem ist als Endpunkt die Veränderung der Artenzusammensetzung der gesamten Biozönose zu berücksichtigen.

Für die Beschreibung der Effekte einer Chemikalie auf die Entwicklung von Populationen und Organismengesellschaften in Mikrokosmen-Experimenten mit zeitlicher Komponente sind spezielle multivariate statistische Verfahren entwickelt worden. Die Methoden der Principal-Response-Curves (PRC) betrachtet globale Populations-änderungen über die Zeit und erlaubt damit die Interpretation zeitabhängiger Behandlungseffekte. Ein Permutationstest (Monte Carlo) wurde zur Überprüfung der statistischen Signifikanz der Effekte eingesetzt. Die Anwendung univariater Methoden dient der weiteren Differenzierung und Beschreibung der Ergebnisse. Falls mittels multivariate Methoden ein signifikanter Effekt nachgewiesen werden konnte, können univariate Analysen auf sensitive Taxa und die interessanten Zeitpunkte beschränkt werden. Geeignete statistische Methoden sind vor allem die Varianzanalyse und regressionsanalytische Verfahren. Auch eine univariate Analyse zusammengefasster Merkmale ist sinnvoll.

2.12.1 Multivariate Verfahren

Zur Charakterisierung der Entwicklung einer Biozönose ist im allgemeinen die Berücksichtigung aller vorhandenen Taxa (Deskriptoren) nötig. Ausgangspunkt der statistischen Analyse ist daher eine Objekt \times Deskriptor Matrix. Objekte sind dabei beispielweise charakterisiert durch Zeit (NP: Woche 1 bis 16 bzw. EE: Woche 1 bis 15) und Belastung in den Mikrokosmen (NP oder K, EE oder K), Deskriptoren durch Abundanz der unterschiedlichen gefundenen Taxa. Die Abundanzen werden üblicherweise logarithmentransformiert. Zur Beschreibung der Daten können verschiedene deskriptive Verfahren angewendet werden. Eine einfache Darstellung ist jedoch nur in zwei oder eingeschränkt in drei Dimensionen möglich.

In der Ökologie ist es daher üblich, hochdimensionale Punktwolken auf eine Ebene zu projizieren, wobei die beiden ersten Achsen von besonderem Interesse sind. Auf diese Weise wird eine Dimensionsreduktion erreicht. Klassische Verfahren zur Dimensionsreduktion wie die Hauptkomponentenanalyse (PCA), orientieren sich an der Varianz als wichtigster Größe zur Beschreibung der Datenstruktur. Als erste Achse wird diejenige Linearkombination der ursprünglichen Variablen bestimmt, die die meiste Varianz erklärt. Sukzessive können weitere Komponenten extrahiert werden. Die Darstellung der Objekte und der ursprünglichen Variablen bezüglich der ersten beiden Komponenten kann dann in Form eines Biplots geschehen. Während die PCA von einer Datenmatrix ausgeht, werden durch die Redundanzanalyse (RDA) gleichzeitig zwei Datenmatrizes ausgewertet. Die zweite Datenmatrix hat dabei die Form Objekt \times Umweltvariable. Umweltvariablen können dabei z.B. chemische Parameter oder die Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Belastungsgruppen beschreiben (z.B. NP1 bis NP7, EE1 bis EE8, K). Die RDA beschreibt die durch die Umweltvariable erklärte Varianz. Zur Erklärung dieser reduzierten Varianz wird dann eine PCA durchgeführt. Die RDA liefert Biplots, deren Interpretation gerade bei zeitabhängigen Daten nicht einfach ist. Den Ansprüchen der vorliegenden Daten wird die Principal-Response-Curve (PRC) Methode nach Van den Brink & Ter Braak (1999) am besten gerecht. Eine Realisierung liegt im Programm CANOCO Version 4.0 vor. Diese Methode basiert auf einer RDA, stellt aber bei der Darstellung den zeitlichen Verlauf der Unterschiede zwischen Kontrollen und belasteten Mikrokosmen in den Vordergrund. Außerdem können Kovariablen berücksichtigt werden, d.h. nicht interessierende globale Unterschiede, wie etwa die Populationsdynamik der einzelnen Arten, werden herausgerechnet. Die wesentlichen Ergebnisse der PRC-Methode sind zum einen die Principal-Response-Curves (PRCs) für eine oder mehrere Komponenten, zum anderen die Species-Scores der einzelnen Komponenten bezüglich der einzelnen Taxa. Die PRCs zeigen den zeitlichen Verlauf der Unterschiede in den Biozönosen der Mikrokosmen unterschiedlicher Chemikalienbelastungen (NP1 bis NP7, EE1 bis EE8) im Vergleich zu den unbelasteten Kontrollen (K) bezüglich der einzelnen Komponenten. Die Species-Scores reflektieren den Anteil der einzelnen Taxa an den Komponenten. Werden die cdt-Werte (Canonische Koeffizienten, entsprechen den Funktionswerten der PRCs) mit dem Species-Score einer Art multipliziert, so kann die resultierende Kurve als Schätzung der multiplikativen Veränderung der Abundanz dieser Art in den Belastungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe interpretiert werden. Mittels eines Monte-Carlo-Permutationstests wurde die Signifikanz dieser Unterschiede getestet, wobei eine geeignete Auswahl von Zeitfenstern erfolgen musste, z.B. die Dosierungsphase. Abhängigkeiten zwischen den einzelnen Zeitpunkten werden dabei berücksichtigt.

Wegen fehlender Replikationen der einzelnen Konzentrationen konnten beim vorliegenden Versuchsdesign einzelne Konzentrationen nicht mit der Kontrollgruppe verglichen werden. Nur ein Vergleich aller dosierter Mikrokosmen mit den unbelasteten Kontrollen war möglich.

2.12.2 *Univariate Verfahren*

2.12.2.1 **Vergleich der belasteten Mikrokosmen mit den Kontrollen**

Varianzanalytische Ansätze können wegen fehlender Replikate beim vorliegenden Design nur für einen Vergleich der Kontrollen mit den belasteten Mikrokosmen – ohne Berücksichtigung der Chemikalienkonzentration – durchgeführt werden. Zum Vergleich der jeweils zwei Gruppen (K vs. NP bzw. K vs. EE) wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt. Als nichtparametrischer Test ist er auch für nicht-normalverteilte Grundgesamtheiten geeignet.

2.12.2.2 **NOEC_{Community}**

Falls der Permutationstest signifikant war, wurde die NOEC_{Community} ermittelt. Die Berechnung erfolgte in Anlehnung an Liber *et al.* (1992). Nach der Korrelation der beobachteten Effekte (hier dargestellt als cdt-Werte aus den Principal-Response-Curves) mit dem Logarithmus der Chemikalienkonzentration wurden für den Effektbereich oberhalb 1 (entspricht einer NP-Konzentration von 10 µg/L) lineare Regressionen für die einzelnen Wochen gerechnet. Auf der Basis der cdt-Werte in der Vordosierungsphase konnten Mittelwerte und Standardabweichung ermittelt und ein 95%-Konfidenzintervall konstruiert werden. Aus den Schnittpunkten der Regressionsgeraden mit der oberen Grenze des 95%-Konfidenzintervalls konnten NP-Konzentrationen errechnet werden, die als NOEC_{Community} bezeichnet werden.

2.12.2.3 **Recovery**

Als Recovery eines Systems wird die Erholung seiner Organismengesellschaften von dem Stress durch die Applikation einer Chemikalie bezeichnet. Von erfolgreicher Recovery kann dann ausgegangen werden, wenn die Abweichungen der belasteten Mikrokosmen von den Kontrollen nach der Dosierung wieder im Bereich des 95%-Konfidenzintervalls des cdt-Wertes der Vorapplikationsphase liegen.

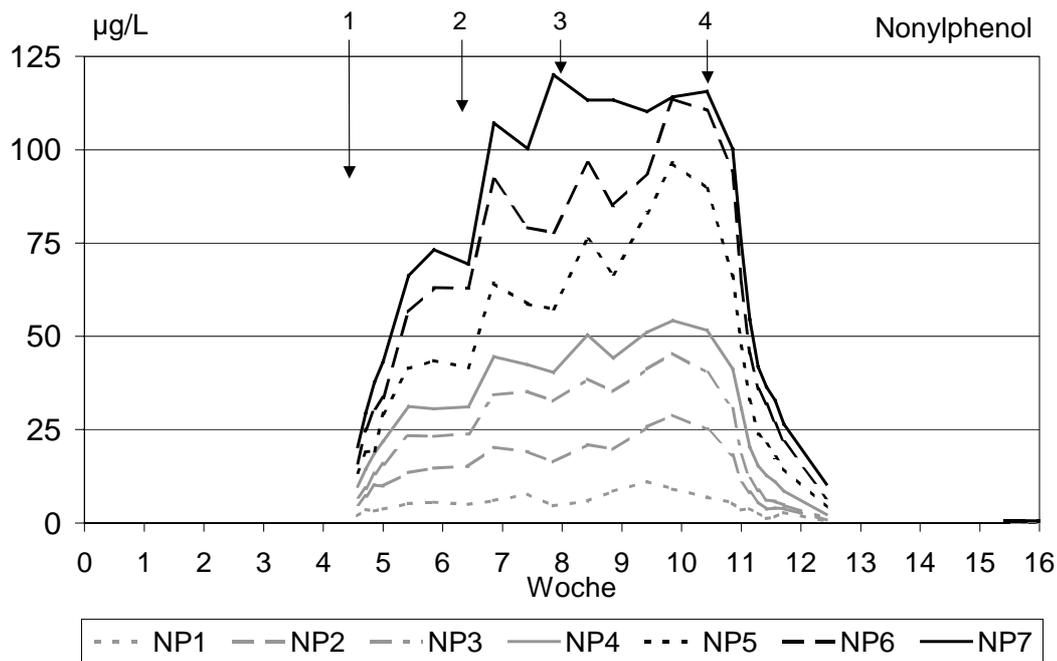
3 Ergebnisse

3.1 Konzentrationsverlauf der Modellchemikalien in den Mikrokosmen

Bei der Darstellung der Konzentrationsverläufe der Modellchemikalien in den Mikrokosmen wurde zwischen den einzelnen Messpunkten eine lineare Verbindungslinie gezogen. Dies dient der Veranschaulichung der Konzentrationsverläufe und stellt eine Annahme der in den Mikrokosmen zwischen zwei Messungen herrschenden Konzentrationen dar.

3.1.1 Nonylphenol

Der Verlauf der NP-Konzentrationen im Wasser (Abb. 6) zeigt, dass die ursprünglich geplanten Konzentrationen nicht erreicht wurden. Stattdessen stellte sich tendenziell ein Gleichgewicht ein, zwischen Freisetzung von Nonylphenol aus den Reservoirs und Abbau-/Adsorptionsprozessen in den Mikrokosmen. Während der ersten 8 bis 10 Tage nach Beginn der Applikation nahm die NP-Konzentration im Wasser der Mikrokosmen zu. Aufgrund der unterschiedlichen Schlauchgrößen konnten abgestufte Konzentrationen in den verschiedenen Mikrokosmen realisiert werden. Um eine weitere Konzentrationszunahme zu erreichen, wurden jeweils weitere Schläuche identischer Größe hinzugefügt (2), woraufhin ein erneuter Konzentrationsanstieg erfolgte. Bei allen Mikrokosmen nahmen die NP-Konzentrationen drei Tage später ab, woraufhin 25 Tage nach Applikationsbeginn das erste Schlauchset entfernt und durch ein drittes ersetzt wurde (3), um einen erneuten Konzentrationsanstieg zu bewirken. In den folgenden zwei Wochen zeigten mit Ausnahme des am höchsten dosierten Mikrokosmos alle Mikrokosmen einen mäßigen Konzentrationsanstieg. Die angestrebten maximalen Konzentrationen wurden jedoch nicht erreicht. 38 bis 45 Tage nach Beginn der Exposition nahmen die NP-Konzentrationen in allen Mikrokosmen ab. Nach der Entnahme der Dosierungsvorrichtungen in Woche 11 sanken die NP-Konzentrationen im Wasser innerhalb von wenigen Tage unter die Nachweisgrenze (Pfister *et al.*, in Vorbereitung).



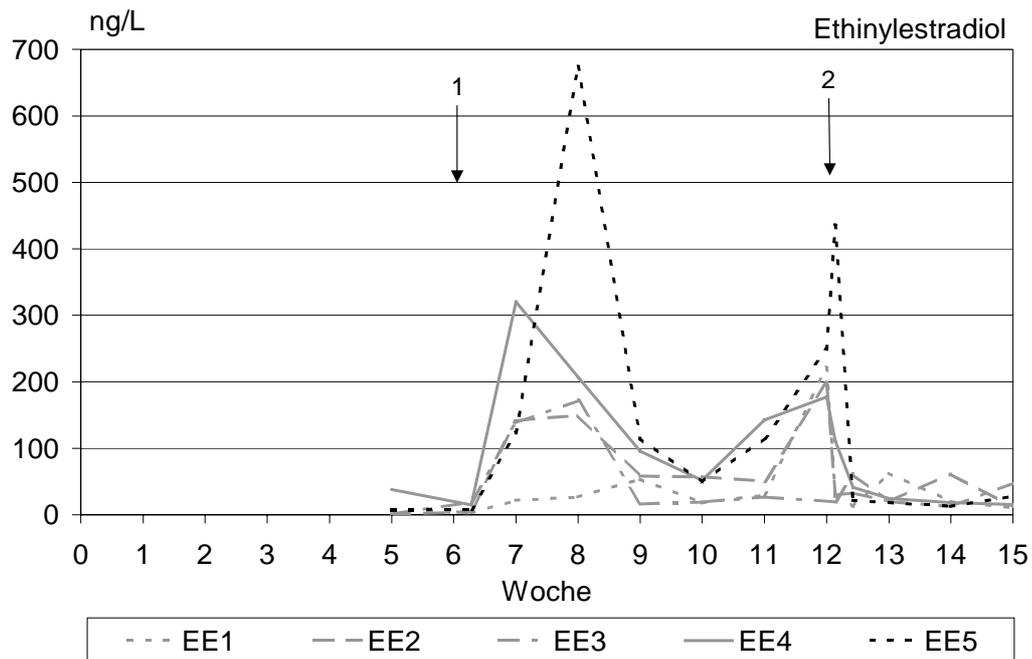
- 1 Beginn der Dosierung (Einbringen der Dosierungseinrichtungen mit dem ersten Schlauchset)
- 2 Zweites Schlauchset hinzugefügt
- 3 Erstes Schlauchset entfernt, drittes Schlauchset hinzugefügt
- 4 Entfernung der Dosierungseinrichtungen

Abb. 6: Nonylphenol-Konzentrationen in den Mikrokosmen

3.1.2 Ethinylestradiol

3.1.2.1 Controlled-Release-Dosierung (EE1 bis EE5)

Die EE-Konzentrationen der mit Hilfe der LDPE-Schläuche dosierten Mikrokosmen EE1 bis EE5 (Abb. 7) nahmen nach dem Einbringen der Dosierungseinrichtungen zunächst zu. Nach zwei Wochen sanken die Werte in allen Mikrokosmen unter 100 ng/L und stiegen während der darauffolgenden zwei Wochen nur langsam wieder an. Die Konzentrationen in den Mikrokosmen EE1 bis EE3 erreichten nicht die angestrebte Höhe und es kam auch zu keiner Abstufung in Abhängigkeit von den Schlauchlängen. Anders als beim Experiment mit Nonylphenol fand keine gleichmäßige Freisetzung der Chemikalien aus den Reservoirs statt. Nach der 10. Versuchswoche wurde eine starke Konzentrationszunahme in den Mikrokosmen mit Ausnahme von EE3 beobachtet. Nach dem Entfernen der Dosierungseinrichtungen nach Woche 11 nahm die EE-Konzentration im Wasser in den Modellökosystemen innerhalb weniger Tage ab und lag bereits eine Woche später im Bereich der für die Kontrollen gemessenen Werte.



- 1 Beginn der Dosierung (Einbringen der Schläuche)
- 2 Entnahme der Schläuche

Abb. 7: Ethinylestradiol-Konzentrationen in den Mikrokosmen (Controlled Release)

Die mittels ELRA bestimmte Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen (Abb. 8) bestätigt die hohen EE-Konzentrationen für EE4 und EE5 in Woche 7. Nach der Entnahme der Schläuche wurden in allen Mikrokosmen erhöhte Werte gemessen.

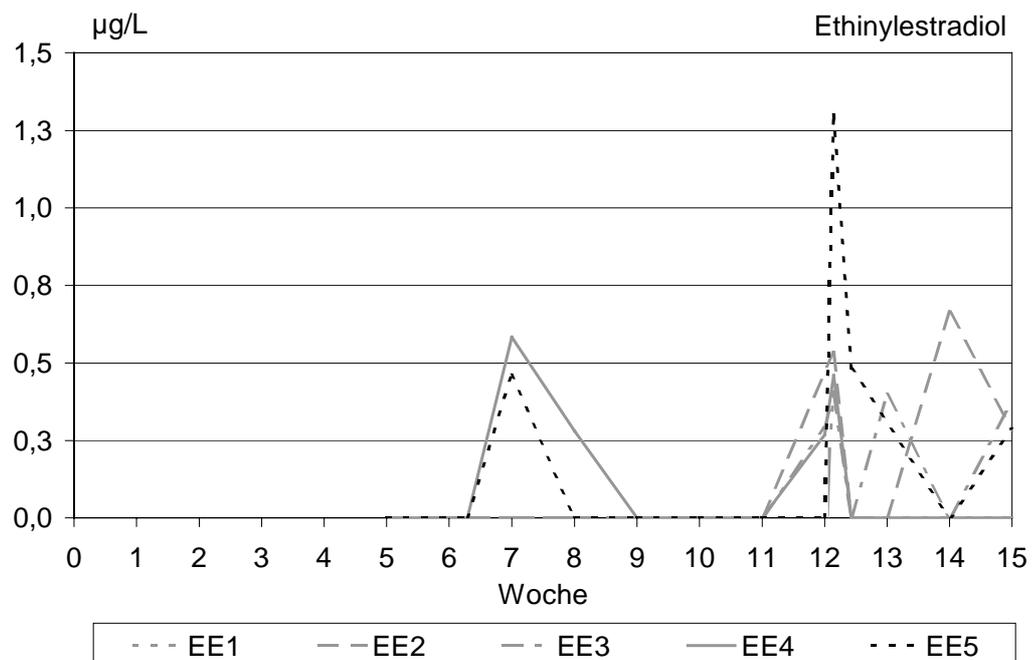
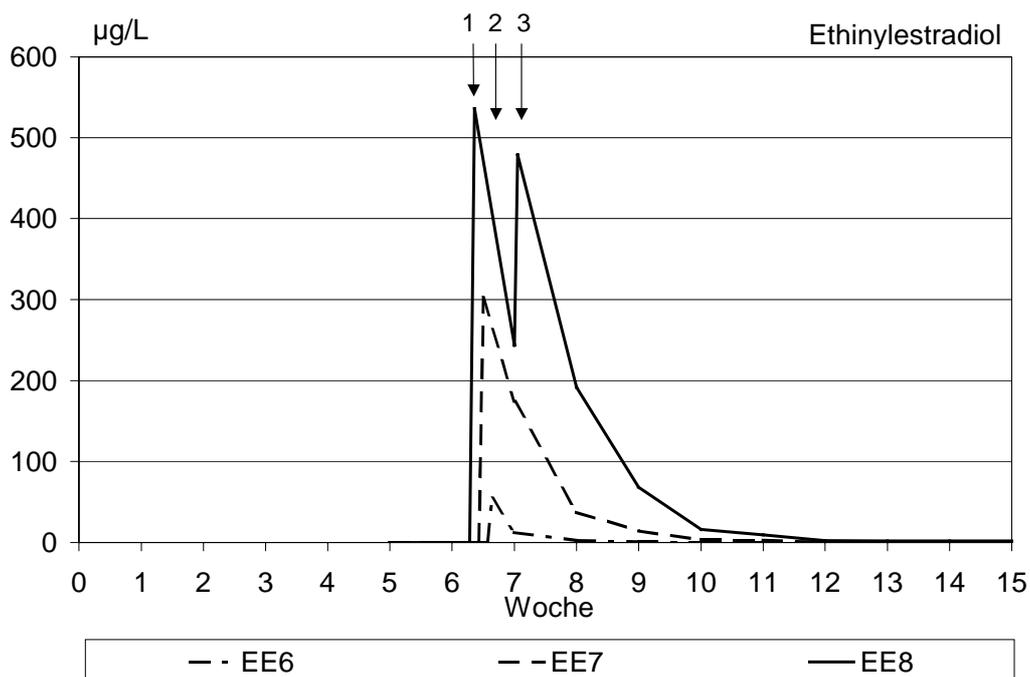


Abb. 8: Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen EE1 bis EE5 (ELRA)

3.1.2.2 Dosierung durch Zugabe von EE-Stammlösung (EE6 bis EE8)

Nach der Zugabe der Stammlösungen zu den Mikrokosmen EE6 bis EE8 (Abb. 9) stiegen die EE-Konzentrationen im Wasser auf 54, 302 und 536 µg/L. Fünf Tage nach der Dosierung waren nur noch 50 % der maximalen Konzentrationen nachzuweisen. Der Mikrokosmos EE8 wurde daraufhin nachdosiert (3), woraufhin eine maximale Konzentration von 479 µg/L am 6. Tag erreicht wurde. Die Abnahme der gemessenen EE-Konzentrationen auf mit den Kontrollen vergleichbare Werte erfolgte etwa in Woche 11.

Die Werte für die Gesamtöstrogenität in EE6, EE7, EE8 waren zum Zeitpunkt der Dosierung ebenfalls stark erhöht und nahmen analog zu den EE-Konzentrationen in den Mikrokosmen ab (Abb. 10). Der zweite Anstieg der Konzentrationen nach der zweiten Dosierung von EE8 wurde bei der ELRA-Bestimmung nicht erfasst, da der Messwert für die im Anschluss an die Nachdosierung entnommene Probe nicht vorliegt.



- 1 Dosierung von EE6 und EE8
- 2 Dosierung von EE7
- 3 Nachdosierung von EE8

Abb. 9: Ethinylestradiol-Konzentrationen in den Mikrokosmen (direkte Zugabe)

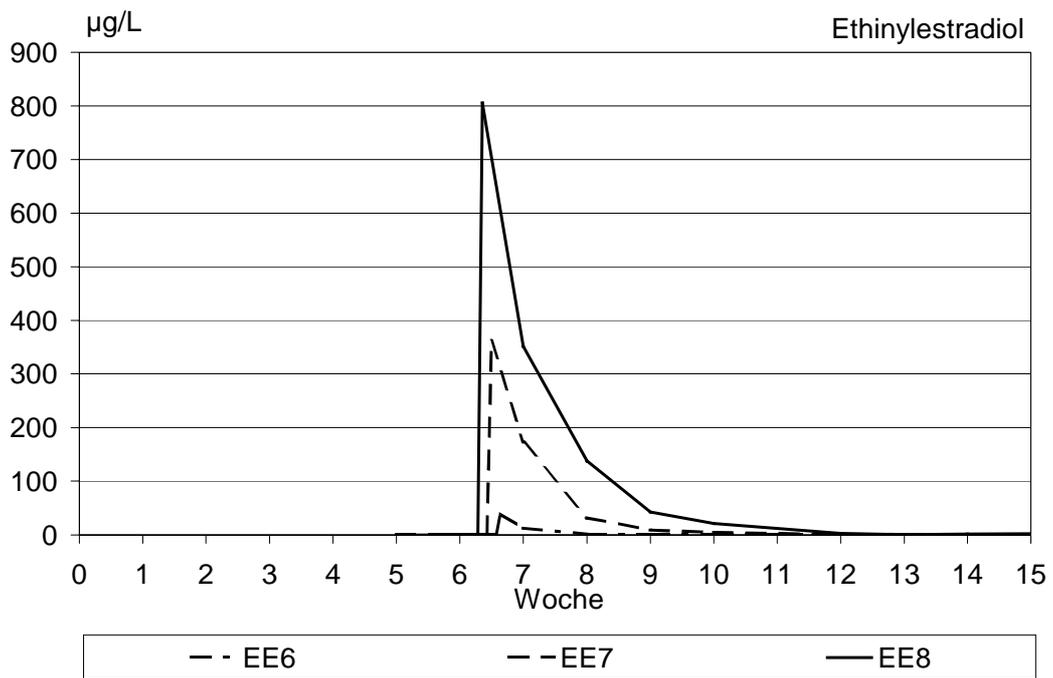


Abb. 10: Gesamtöstrogenität in den Mikrokosmen EE1 bis EE5 (ELRA)

3.2 Physikalisch-chemische Messungen

3.2.1 Sauerstoffsättigung und Temperatur

Der Sauerstoffgehalt eines Gewässers resultiert aus der Photosyntheseaktivität der Algen und Makrophyten und dem Eintrag von atmosphärischem Sauerstoff sowie aus sauerstoffverbrauchenden Vorgängen (Respirations- und Oxidationsprozesse) und Sauerstoffverlusten an die Atmosphäre (Schwoerbel 1993). Die Sauerstoffsättigung dient als Summenparameter für die photosynthetische Aktivität aller in den Mikrokosmen vorhandenen Primärproduzenten. Die Photosynthese von Phytoplankton und Makrophyten ist auf Bereiche beschränkt, die ausreichend gute Lichtverhältnisse haben und damit auf die höheren Wasserschichten und den Flachwasserbereich. Ab einer Tiefe, die weniger als 1 % der Oberflächenstrahlung erhält, überwiegen sauerstoffzehrende Prozesse durch mikrobiellen Abbau absinkender organischer Materie und chemische Oxidation. In den untersuchten Mikrokosmen ist aufgrund der geringen Wassertiefe keine räumliche Trennung der sauerstoffzehrenden und sauerstoffbildenden Prozesse zu erwarten.

Die Wassertemperatur in den Mikrokosmen beeinflusst die physiologischen Vorgänge in den Organismen (Van't Hoff'sches Gesetz) und somit das Wachstum und die Entwicklung der Organismen. Ab Temperaturen von 20 °C wurden beispielweise bei *Daphnia pulex* erhöhte Metabolismusraten festgestellt (DeMott 1989) und bei einigen Planktonalgen kommt es zu verkürzten Reproduktionszyklen (Reynolds 1989). Die Copepoden-Spezies *Eucyclops serrulatus* benötigt für ihre Embryonalentwicklung bei 10 °C eine knappe Woche, bei 20 °C hingegen nur drei Tage (Robertson 2000).

3.2.1.1 Nonylphenol

Während der 5-wöchigen Vorapplikationsphase sanken die Werte für die Sauerstoffsättigung in den Modellökosystemen von etwa 140 % zu Beginn des Versuchs auf etwa 90 % ab, um anschließend auf Werte zwischen 130 und 150 % in den Wochen 7 bis 10 anzusteigen (Abb. 11). Dieser Anstieg ist bedingt durch die Photosyntheseaktivität der sich entwickelnden Algen und Makrophyten. Ab der 11. Versuchswoche kam es zu einem leichten Absinken der Sauerstoffsättigungen. Mit wenigen Ausnahmen lagen die Sauerstoffgehalte bis zum Ende des Versuchs Mitte September über 100 % relativer Sättigung. Die Sauerstoffgehalte der belasteten Mikrokosmen wichen nicht signifikant ($p > 0,02$) von denen der unbelasteten Mikrokosmen ab.

Der Mittelwert der Wassertemperatur aller Mikrokosmen schwankte zwischen 16 und 28 °C. Aufgrund der hohen Wärmekapazität des Wassers sind die Schwankungen weniger ausgeprägt, als die der Lufttemperaturen mit Werten zwischen 16 und 33 °C. Hohe Lufttemperaturen und durch Sonnenschein bedingte hohe Lichtintensitäten führten zu erhöhten Sauerstoffsättigungen infolge der Photosyntheseaktivität der Primärproduzenten in den Wochen 8 bis 10 (Ende Juli, Anfang August), 12 (Mitte August) und 15 (Anfang September) (Abb. 11). Im Litoral des Ammersees wurden im selben Zeitraum Sauerstoffsättigungen von 110 % (Ende Mai), 125 % (Mitte Juli bis Anfang August) und 110 % (Ende August) gemessen (Severin *et al.* 1999). (Angaben zu Entwicklung des Periphytons und Makrophytenbewuchs in den Mikrokosmen siehe Anhang).

3.2.1.2 Ethinylestradiol

Die Werte für die Sauerstoffsättigung (Abb. 13) lagen in den ersten drei Versuchswochen zwischen 90 und 110 % und stiegen infolge der Entwicklung des Phytoplanktons bis Woche 4 auf Werte bis 130 % an. Durch die ab der 6. Woche deutlich zunehmende Makrophytenvegetation wurden während der Dosierungsphase 120 und 150 % relative Sättigung erreicht. Erst in der 13. Versuchswoche wurden Sauerstoffsättigungen unter 140 % gemessen. Der Rückgang der Sauerstoffsättigung ab Woche 13 war vermutlich auf die Zunahme anaerober Abbauprozesse zurückzuführen, die speziell bei EE6 zu einer auffallenden Wassertrübung führten. Die Werte lagen meist im Bereich der Kontrollen. Die Mischung der Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase sowie die Dosierung mit Ethinylestradiol hatten keinen Einfluss auf die Sauerstoffsättigung. Lediglich in den ersten drei Versuchswochen waren die Sauerstoffsättigungen der belasteten Mikrokosmen signifikant niedriger als die Kontrollen ($p > 0,02$). Die Wassertemperatur in den Mikrokosmen schwankte zwischen 16 und 23 °C, die Lufttemperatur lag zwischen 13 und 29 °C. Während der höchsten Temperaturen in Woche 5 (Ende Juli) wurden die höchsten Sauerstoffsättigungen infolge hoher Photosyntheseaktivität der Algen und Makrophyten erreicht. Nach dem Absinken von Luft- und Wassertemperaturen ab Woche 9 (Ende August) wurden auch geringere Sauerstoffsättigungen gemessen. Die im Litoral des Ammersees zur selben Zeit gemessenen Sauerstoffsättigungen schwankte zwischen 95 % und 138 % und lag somit zwischen Ende Juli und Ende August (entsprach Woche 6 bis 10) etwa 27 % niedriger als in den Mikrokosmen (Sigl, unveröffentlicht). (Angaben zum Makrophytenbewuchs in den Mikrokosmen siehe Anhang).

3.2.2 *pH-Wert*

Der pH-Wert ist definiert als der negative dekadische Logarithmus der H^+ -Konzentration und hat als solches darauf Einfluss, in welchem Verhältnis freies Kohlendioxid, Hydrogencarbonat und Carbonat vorliegen. Bei $pH < 4$ herrscht der Anteil an freiem Kohlendioxid vor, im alkalischen Bereich (ab $pH 11$) ist das Gleichgewicht auf der Seite des Carbonats. Zwischen $pH 7$ und 10 liegt vor allem Hydrogencarbonat vor. Bei Gewässern mit kalkhaltigen Sedimenten ist der pH des Wassers wegen der Puffereigenschaften des Hydrogencarbonats keinen großen Schwankungen unterworfen. Die unter dem Einfluss von Sonnenlicht stattfindende Photosynthese der Primärproduzenten (Aufnahme von CO_2 , dadurch Abnahme von H_2CO_3) führt zu einer Zunahme des pH. Bei der in der Nacht überwiegenden Respiration (Abbau organischen Materials) wird CO_2 abgegeben und H_2CO_3 nimmt zu, wodurch es zu einer Erniedrigung des pH kommt (Sigg & Stumm 1994).

3.2.2.1 *Nonylphenol*

Die pH-Werte in den Mikrokosmen (Abb. 12) betragen während der Vorlaufphase zwischen 8,8 und 9,4. Ab der 7. Versuchswoche stiegen die Werte stetig an und erreichten zum Ende der Dosierungsphase in Woche 10 Höchstwerte von bis zu 10,5. Der Abfall des pH-Wertes nach Woche 10 sowohl in den Kontrollen als auch in den dosierten Mikrokosmen ist eventuell auf einen witterungsbedingten Abfall der Photosyntheseaktivität zurückzuführen. Zeitgleich sank die Wassertemperatur von 25 auf 20 °C. Meistens lagen die gemessenen Werte bei den belasteten Mikrokosmen im Bereich der Kontrollen ($p > 0,02$). Für die Mikrokosmen NP1 bis NP6 konnte kein Zusammenhang zwischen der Dosierung der Chemikalie und dem Verlauf der pH-Werte festgestellt werden. Die pH-Werte in der höchsten NP-Konzentration (NP7) lagen in der Hälfte der Dosierungsperiode (Woche 8 bis 10) und zu Beginn der Nachdosierungsphase (Woche 11) mit durchschnittlich 0,4 unter den Werten der anderen Mikrokosmen. Im Litoral des Ammersees lagen die pH-Werte im selben Zeitraum zwischen 8,3 und 8,4 (Severin *et al.* 1999).

3.2.2.2 Ethinylestradiol

Die Entwicklung der pH-Werte in den Mikrokosmen (Abb. 14) zeigte bezüglich des Kurvenverlaufs Parallelen zum Versuch mit Nonylphenol. Die gemessenen Werte lagen im selben Bereich wie im Vorjahr. Nach dem pH-Anstieg von 8,5 auf 9,5 nach etwa 5 Wochen, lagen die Werte zwischen Woche 7 bis 10 etwa bei pH 9,4 bis 10,3. Anschließend nahmen die pH-Werte leicht ab und lagen zwischen 8,8 und 9,7. Die pH-Werte der belasteten Mikrokosmen wichen nicht signifikant von denen der Kontrollen ab ($p > 0,02$). Die Entwicklung der pH-Werte wurde offenbar weder durch die Durchmischungen der Wassersäulen, noch durch die Dosierung mit der Chemikalie beeinflusst. Die pH-Werte im Litoral des Ammersees lagen im Durchschnitt um 0,8 unter den pH-Werten in den Mikrokosmen. Die Werte schwankten zwischen 8,4 und 8,7 (Sigl, unveröffentlicht).

3.2.3 Leitfähigkeit

Die Leitfähigkeit ist ein Maß für die im Wasser gelösten Ionen. In Gewässern mit Kalksedimenten herrschen Kalziumionen vor, weswegen über die Leitfähigkeitswerte indirekt eine Aussage über den Kalziumgehalt und die Wasserhärte des Gewässers getroffen werden kann (Melzer 1976).

3.2.3.1 Nonylphenol

Die Leitfähigkeit in den Mikrokosmen (Abb. 12) betrug zu Beginn des Versuches 270 bis 330 $\mu\text{S}/\text{cm}$, ab der 5. Woche bis zum Ende der Dosierungsphase sanken diese unter 200 $\mu\text{S}/\text{cm}$, um bis zum Versuchsende relativ konstant zwischen $170 \pm 5 \mu\text{S}/\text{cm}$ zu bleiben. Die Leitfähigkeit der belasteten Mikrokosmen lagen mit Ausnahme von Woche 10 (signifikant erhöht, $p > 0,02$) im durch die Kontrollen abgedeckten Bereich. Im Litoral des Ammersees blieben die Leitfähigkeiten im selben Zeitraum relativ konstant zwischen 380 $\mu\text{S}/\text{cm}$ im Mai (entspricht Woche 1) und 360 $\mu\text{S}/\text{cm}$ Anfang September (entspricht Woche 16) (Severin *et al.* 1999).

3.2.3.2 Ethinylestradiol

In den ersten drei Versuchswochen kam es zu einem Anstieg der Leitfähigkeitsmesswerte von 230 auf 250 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Abb. 14). Ab Woche 3 bis zum Beginn der Dosierung in Woche 7 sanken die Werte auf 160 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ab und blieben bis Woche 15 in diesem Bereich. Von Woche 8 bis 13 waren die Leitfähigkeitswerte der belasteten Mikrokosmen signifikant niedriger als in den Kontrollen ($p > 0,02$). Die Leitfähigkeitswerte im Ammersee hingegen blieben relativ konstant, mit Schwankungen zwischen 357 und 398 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Im Durchschnitt lagen die in den Mikrokosmen gemessenen Werte um etwa 161 $\mu\text{S}/\text{cm}$ unter denen im Ammersee (Sigl, unveröffentlicht).

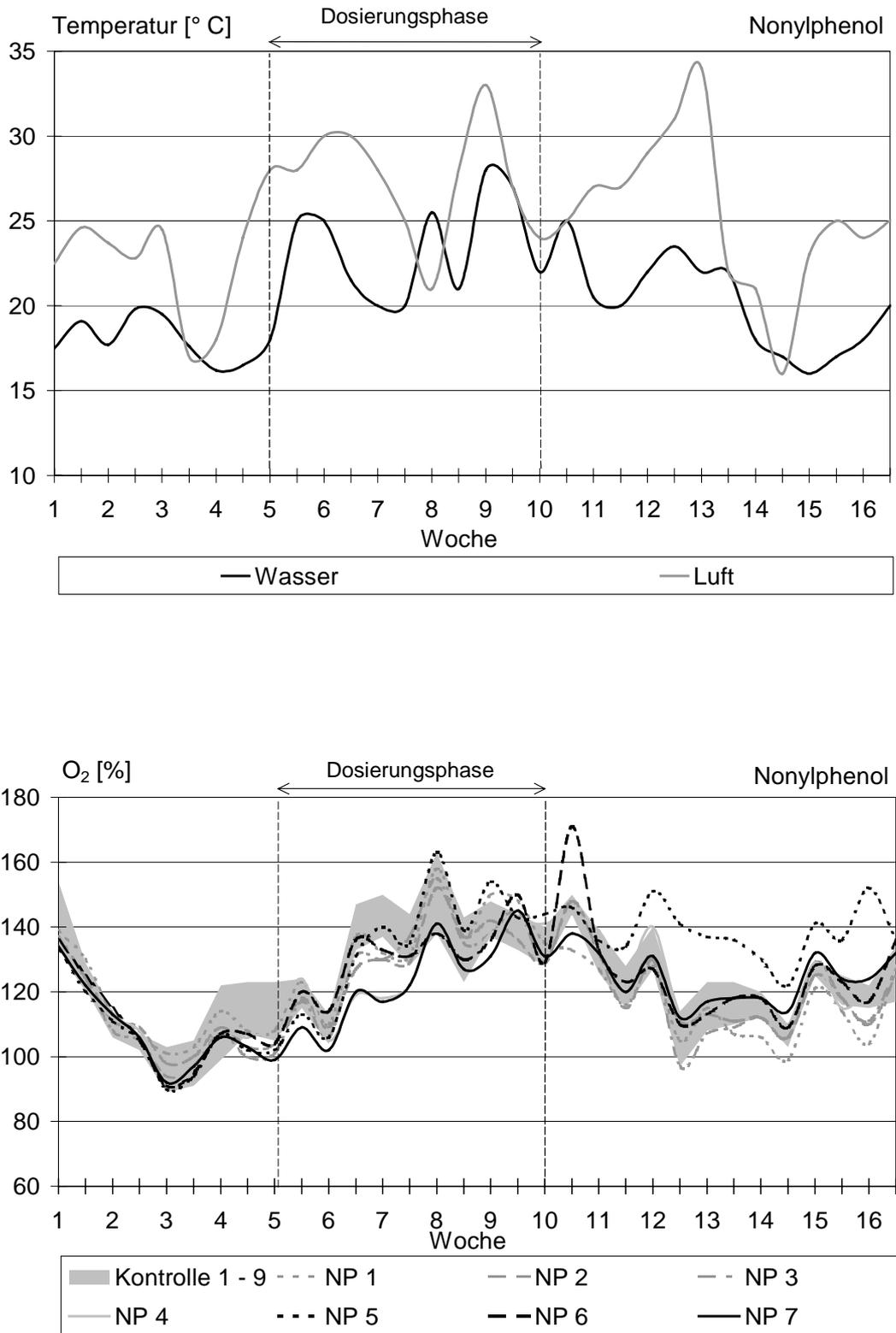


Abb. 11: Temperatur und Sauerstoffsättigung in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

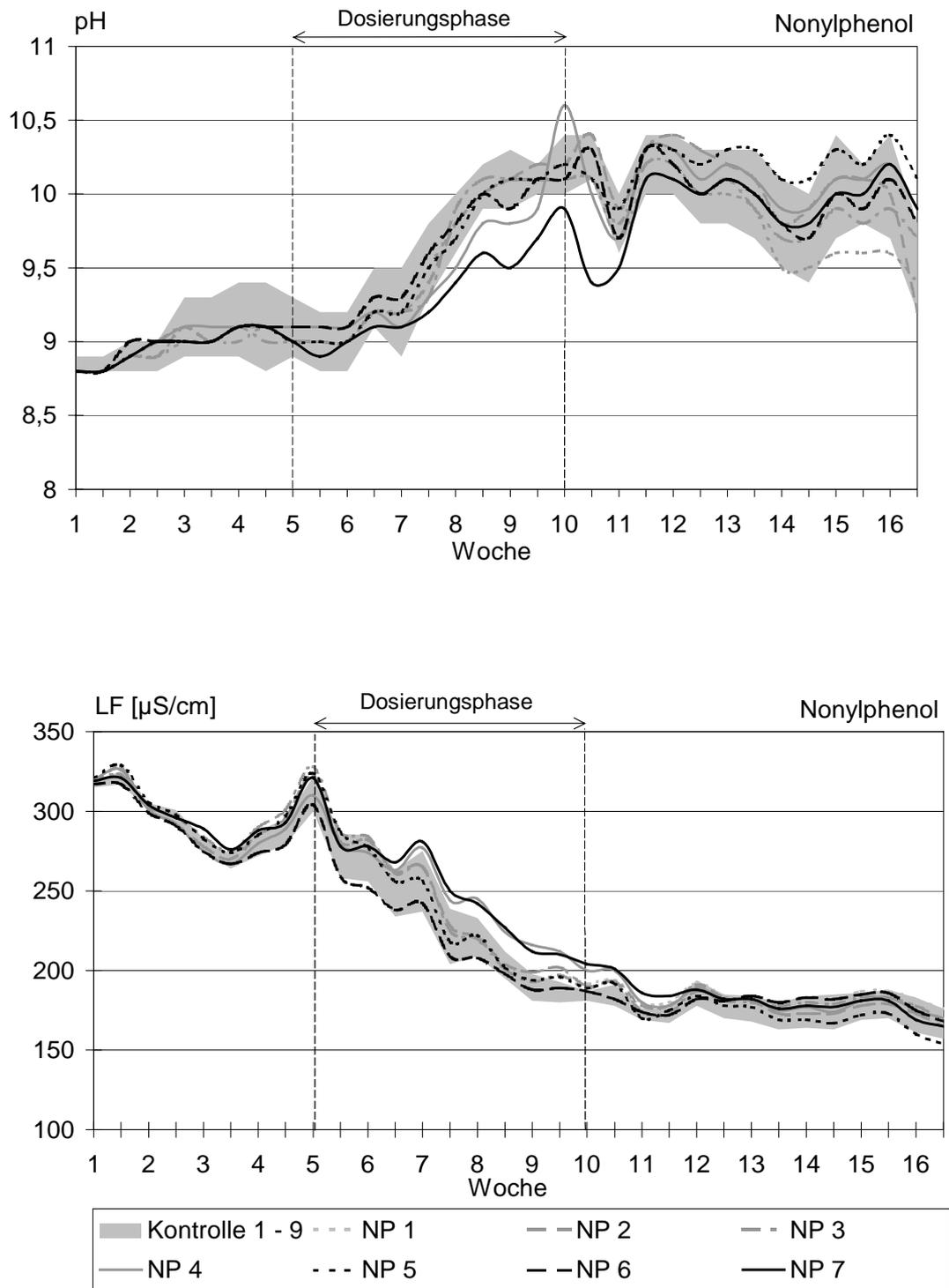
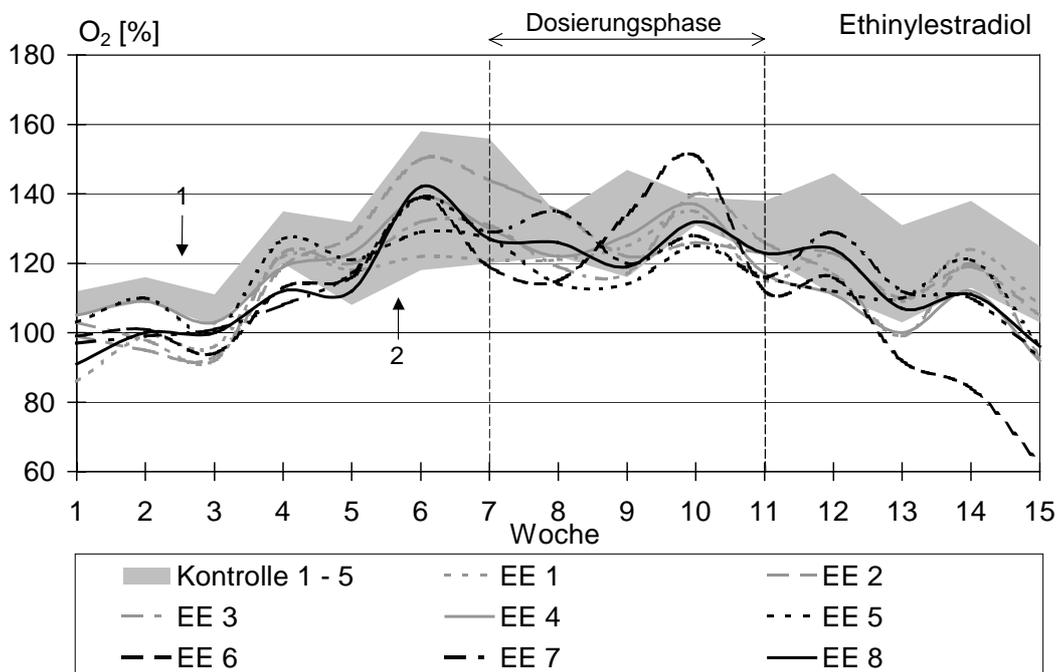
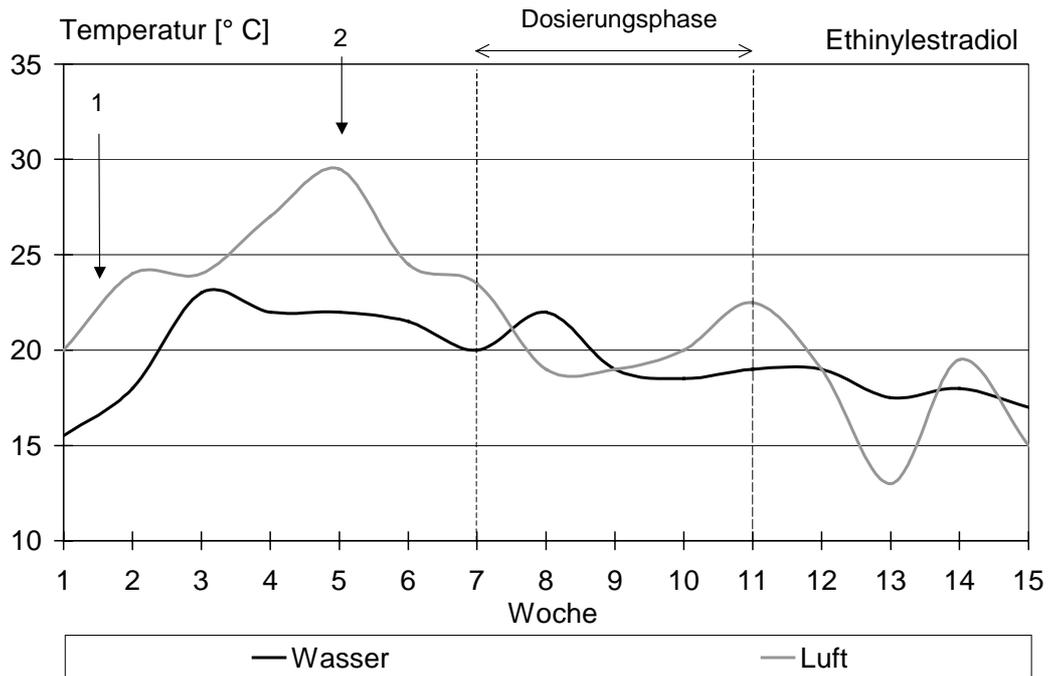


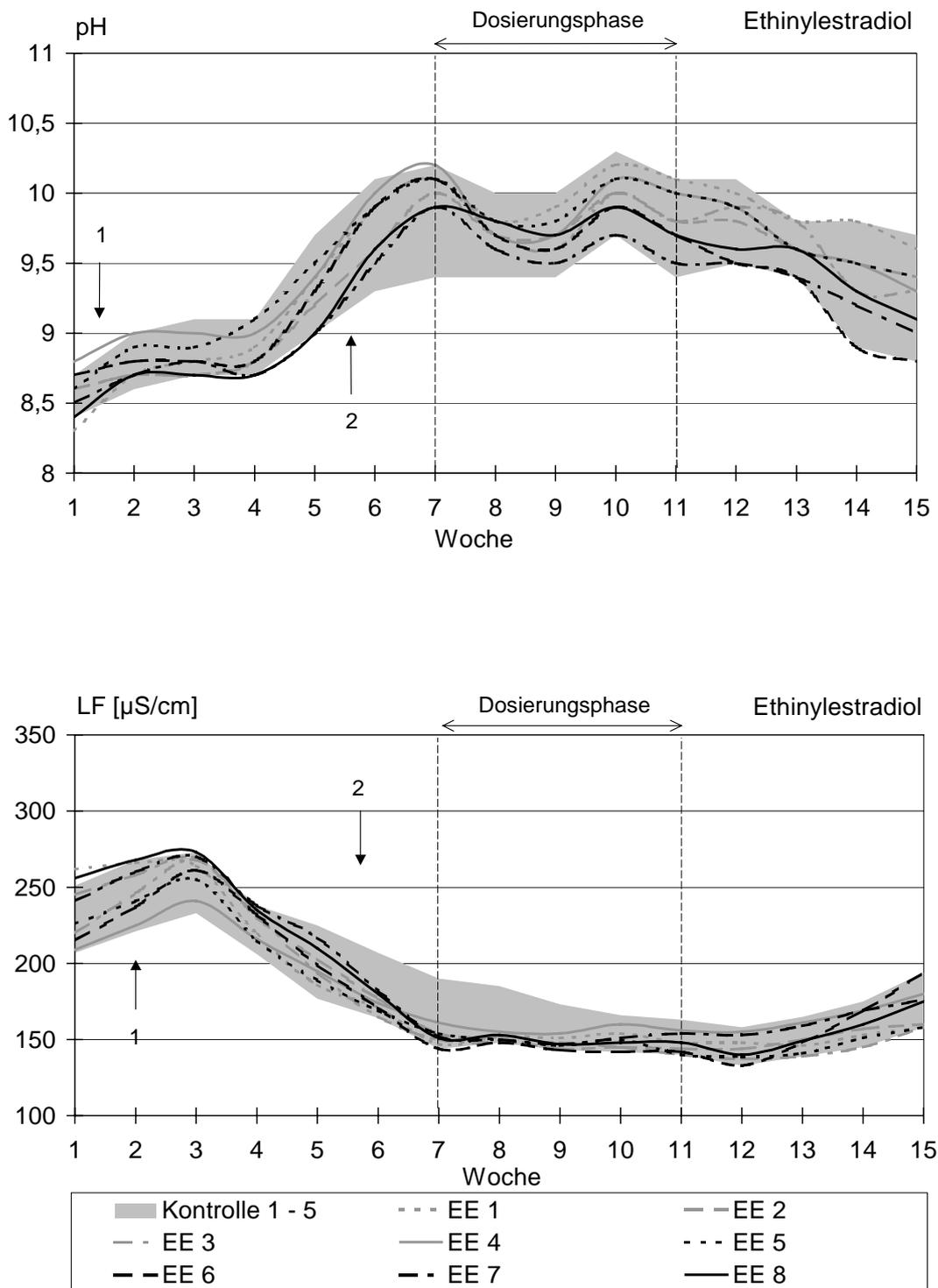
Abb. 12: pH und Leitfähigkeit in den Mikrokosmen (Nonylphenol)



1 Durchmischung der Wassersäulen am 25. Juni 1999

2 Durchmischung der Wassersäulen am 23. Juli 1999

Abb. 13: Temperatur und Sauerstoffsättigung in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)



- 1 Durchmischung der Wassersäulen am 25. Juni 1999
- 2 Durchmischung der Wassersäulen am 23. Juli 1999

Abb. 14: pH und Leitfähigkeit in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)

3.2.4 Phosphat

Phosphor ist ein als essentieller Nährstoff für die Primärproduzenten eines Gewässers. In natürlichen Gewässern liegt er häufig nur in geringen Konzentrationen vor und ist daher für die Produktion meist der limitierender Faktor. Der natürliche Eintrag ins Gewässer erfolgt durch Einschwemmung aus dem Einzugsgebiet, Verwitterung phosphathaltiger Gesteine (Apatit), Niederschläge und die Zersetzung abgestorbener Tiere und Pflanzen. Die Eutrophierung natürlicher Gewässer beruht in der Regel auf einer Zunahme von Phosphat durch Einträge von häuslichen, industriellen und landwirtschaftlichen Abwässern, woraus eine Zunahme der Primärproduktion resultiert (Schwoerbel 1993).

3.2.4.1 Nonylphenol

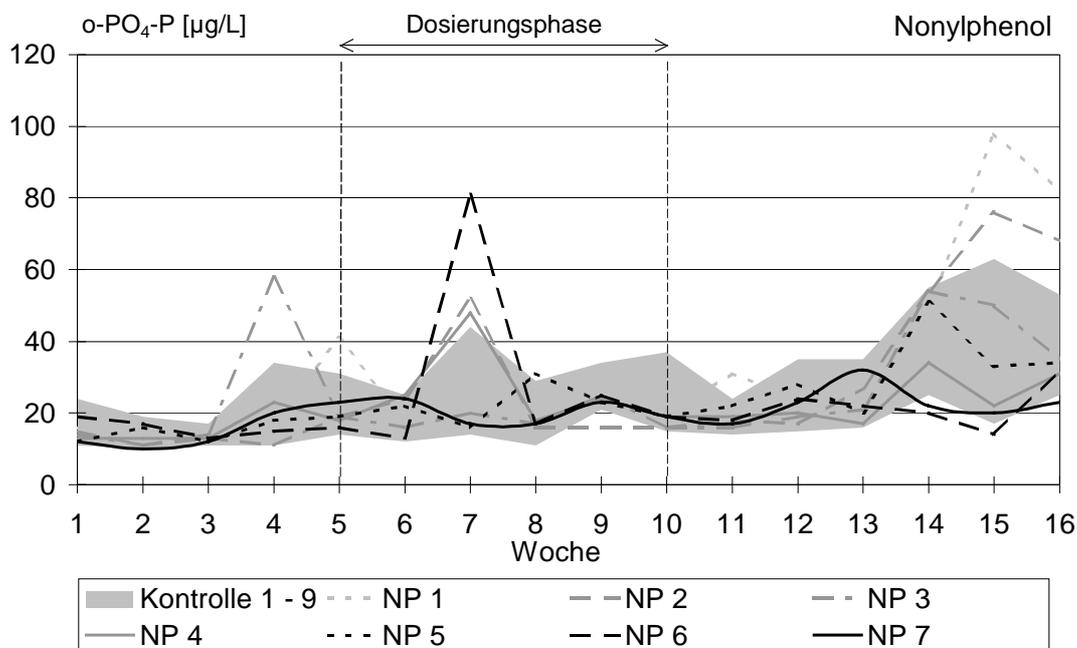
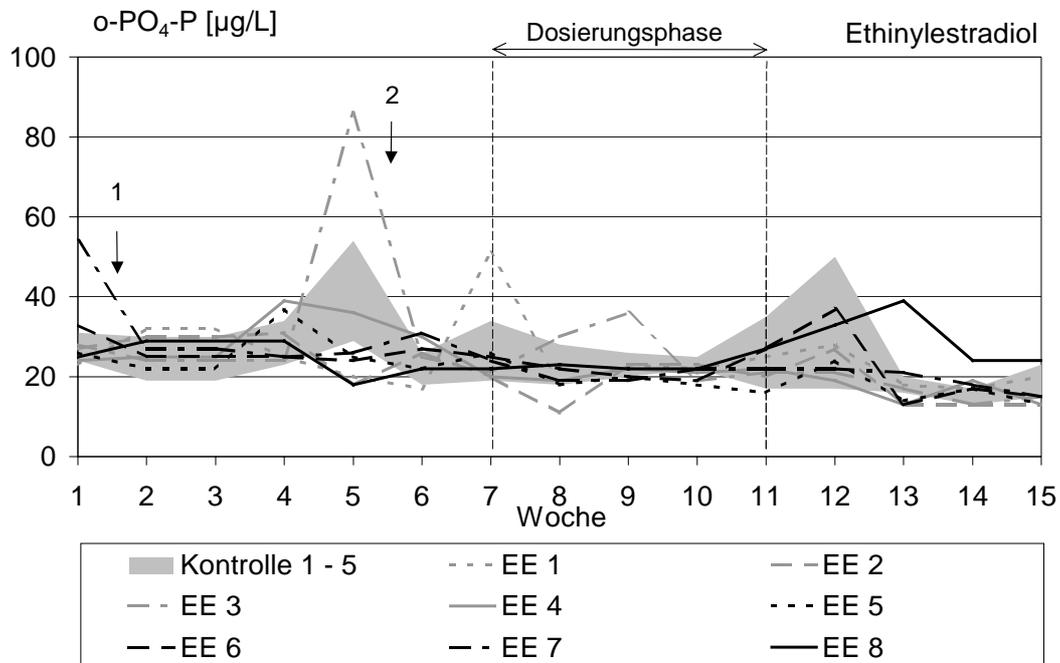


Abb. 15: o-PO₄-Phosphat in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

Die in den Mikrokosmen gemessenen Werte betragen im Mittel 24 µg/L (Abb. 15). Die auftretenden Schwankungen traten unabhängig von der Dosierung auf und bewegten sich im Bereich der für meso-eutrophe Seen ermittelten Werte (Vollenweider & Kerekes 1980). Die belasteten Mikrokosmen zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede von den Kontrollen ($p > 0,02$). Die Phosphatkonzentration der beiden am niedrigsten dosierten Mikrokosmen (NP1 und NP2) lag jedoch am Ende des Versuchs (Woche 14 und 15) über denen der Kontrollen sowie der höher dosierten Mikrokosmen. Im oligotrophen Litoralbereich des Ammersees wurden zwischen 2,5 und 5,0 µg/L gemessen (Severin *et al.* 1999).

3.2.4.2 Ethinylestradiol



- 1 Durchmischung der Wassersäulen am 25. Juni 1999
- 2 Durchmischung der Wassersäulen am 23. Juli 1999

Abb. 16: o-PO₄-Phosphat in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)

Der Phosphatgehalt in den Mikrokosmen (Abb. 16) betrug im Mittel 26 µg/L und lag damit im Bereich der für meso-eutrophe Gewässer ermittelten Werte (Vollenweider & Kerekes 1980). Die auftretenden Schwankungen traten unabhängig von den Durchmischungen der Wassersäulen zwischen Woche 1 und 2 bzw. Woche 5 und 6 auf. Auch ein Zusammenhang mit der Dosierung konnte nicht festgestellt werden. Im Litoral des Ammersees wurden deutlich geringere Phosphatgehalte (1 und 4 µg/L) gemessen (Sigl, unveröffentlicht).

3.2.5 Stickstoff

Neben Kohlenstoff, Wasserstoff und Phosphor zählt Stickstoff zu den wichtigsten Bestandteilen aller Organismen und spielt für deren Stoffwechsel eine bedeutende Rolle. Die unterschiedlichen Formen, in denen das Element vorliegt, sind durch Mikroorganismen ineinander überführbar. In einem Gewässer liegt Stickstoff in gelöster, molekularer Form, in gelösten und partikulären Verbindungen und in den anorganischen Verbindungen Nitrit, Nitrat und Ammonium vor.

Letztere sind aufgrund ihrer Verfügbarkeit als Stickstofflieferanten für die photoautotrophe Pflanze die wichtigsten anorganischen Stickstoffverbindungen (Lampert & Sommer 1993). In einem Gewässers erfolgt eine Anreicherung von Ammonium durch bakterielle Ammonifikationsprozesse sowie durch die Exkremente der Konsumenten. Im sauerstoffreichen Freiwasser sind jedoch nur äußerst geringe Ammoniumkonzentrationen feststellbar, was zum einen auf die Aufnahme durch grüne Pflanzen und zum anderen darauf zurückzuführen ist, dass Ammonium bei der bakteriellen Nitrifikation in Nitrat umgewandelt wird. In organisch unbelasteten Gewässern ist Ammonium in der Regel nicht nachweisbar. Der Nitratgehalt stellt ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Wasserqualität eines Gewässers dar und weist in erster Linie auf anthropogen bedingte Nährstoffquellen hin. Nitrat gelangt im wesentlichen über Niederschläge, Abwässer, Zuflüsse, Grundwasser oder durch Ausschwemmungen landwirtschaftlicher Flächen in die Gewässer. In eutrophen Seen kann Nitrat im Epilimnion zum limitierenden Faktor für die Primärproduktion werden (Schwoerbel 1993).

3.2.5.1 *Nonylphenol*

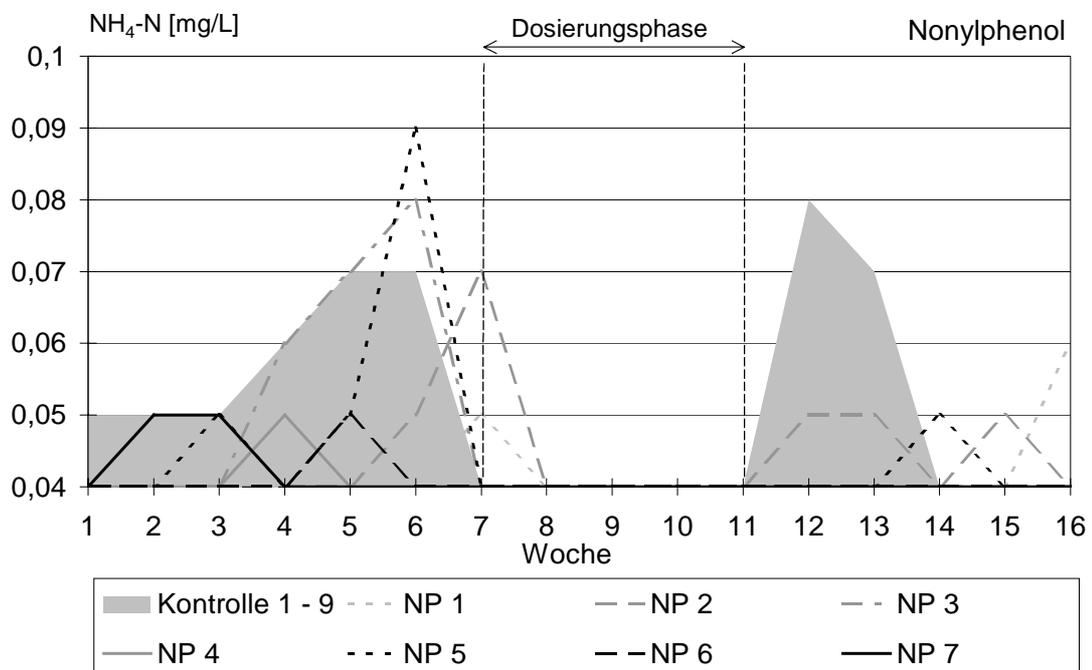


Abb. 17: NH₄-N in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

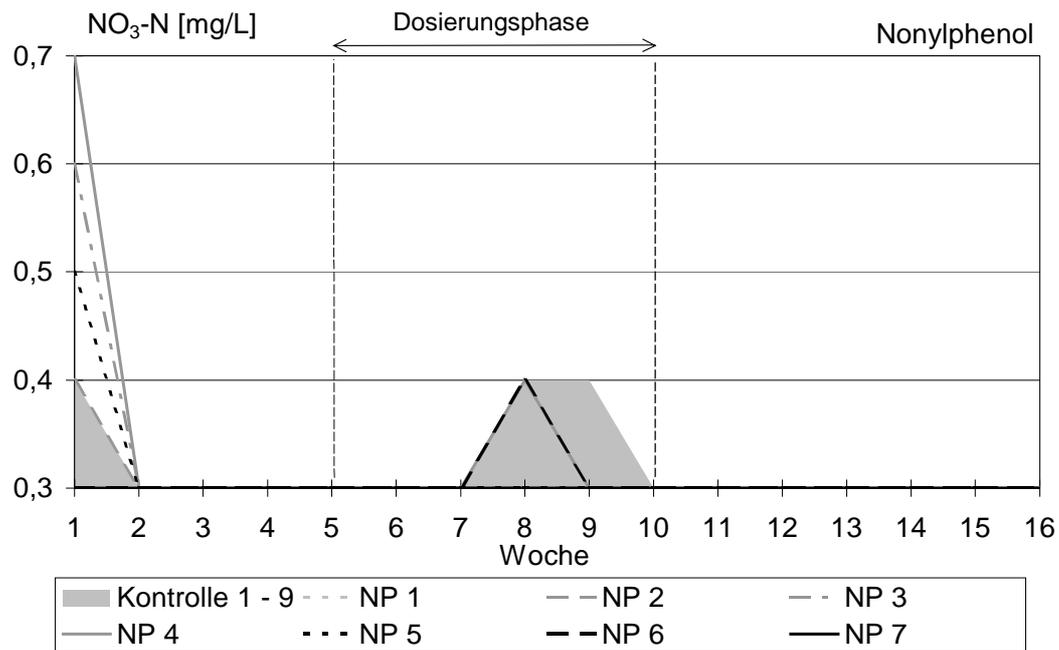
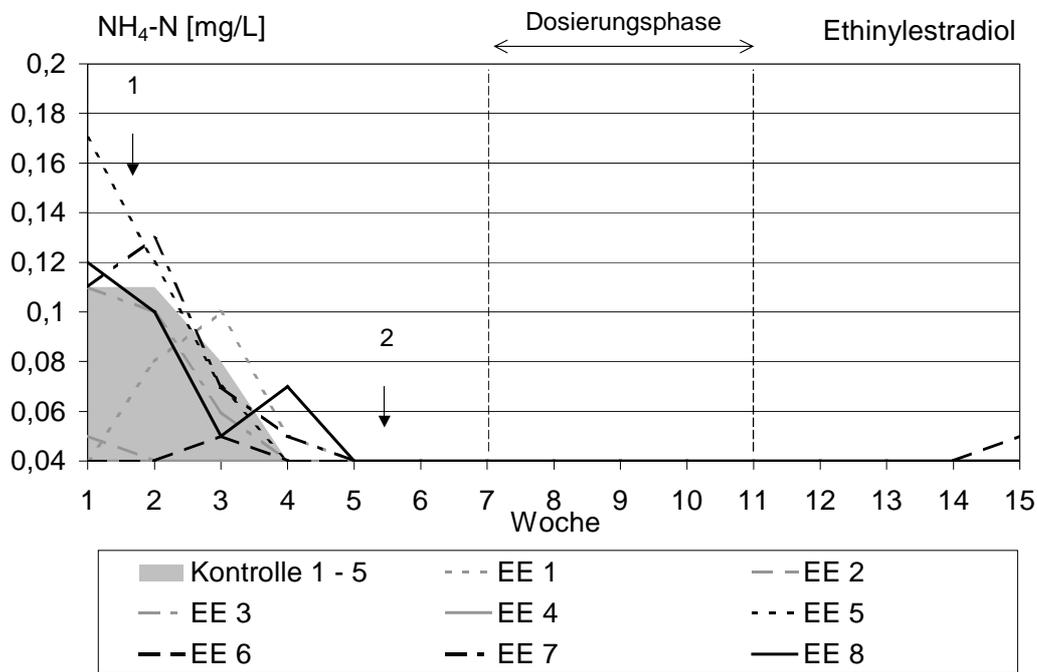


Abb. 18: NO₃-N in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

Die Ammoniumkonzentrationen in den Mikrokosmen (Abb. 17) lagen zwischen der Nachweisgrenze von 0,04 mg/L und maximal 0,09 mg/L. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den mit NP belasteten Mikrokosmen und den Kontrollen festgestellt werden ($p > 0,02$). Im Ammerseelitoral wurden im selben Zeitraum Konzentrationen im Bereich von 0,025 mg/L gemessen (Severin *et al.* 1999).

Die Nitratgehalte in den Mikrokosmen lagen in der ersten Versuchswoche und während der Dosierungsphase kurzzeitig oberhalb der Nachweisgrenze von 0,3 mg/L (Abb. 18). Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den belasteten Mikrokosmen und den Kontrollen festgestellt ($p > 0,02$). Im Litoral des Ammersees lagen die Nitratgehalte zwischen 0,8 und 0,9 mg/L (Severin *et al.* 1999).

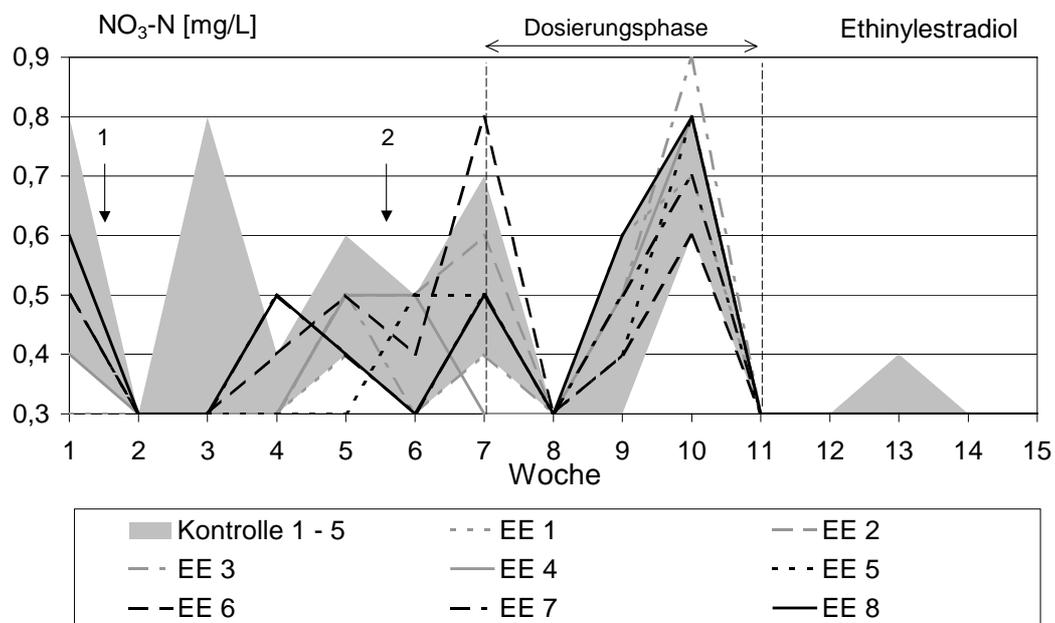
3.2.5.2 Ethinylestradiol



1 Durchmischung der Wassersäulen am 25. Juni 1999

2 Durchmischung der Wassersäulen am 23. Juli 1999

Abb. 19: NH₄-N in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)



1 Durchmischung der Wassersäulen am 25. Juni 1999

2 Durchmischung der Wassersäulen am 23. Juli 1999

Abb. 20: NO₃-N in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)

Die Ammoniumkonzentrationen in den Mikrokosmen (Abb. 19) lagen nur in den ersten vier Wochen der Versuchsphase über der Nachweisgrenze von 0,004 mg/L. Es konnten keine signifikanten Unterschiede der belasteten Mikrokosmen von den Kontrollen festgestellt werden ($p > 0,02$). Im Uferbereich des Ammersees überstiegen die Ammoniumkonzentrationen die Nachweisgrenze nur selten (Sigl, unveröffentlicht).

Die Nitratkonzentrationen der Mikrokosmen (Abb. 20) schwankten zwischen 0,3 und 0,9 mg/L, die belasteten Mikrokosmen unterschieden sich nicht signifikant von den Kontrollen ($p > 0,02$).

Im Litoral des Ammersees betrug die durchschnittliche Nitratkonzentration bis Anfang September (entspricht Woche 12) 1,0 mg/L und erreichte erst ab Mitte September (ab Woche 13) das Niveau der Mikrokosmen (Sigl, unveröffentlicht).

3.3 Zooplanktonpopulation beim Versuch mit Nonylphenol

3.3.1 Zooplanktonpopulation in den Kontrollen K1 bis K9 (NP-Versuch)

3.3.1.1 Artenzahl, Diversität und Evenness (Zooplankton, K1 bis K9, NP-Versuch)

Während des 16-wöchigen Versuchszeitraumes wurden 51 verschiedene Zooplanktongruppen, Entwicklungsstadien, Gattungen und Arten unterschieden. Die Artenzahl schwankte zwischen 8 und 14 zu Beginn des Versuches und nahm innerhalb von drei Wochen auf 17 bis 23 zu. Lediglich K2 (Woche 3), K6 (Woche 15), K7 (Woche 5) und K8 (Woche 5) zeigten im Verlauf des Versuchs geringere Artenzahlen. Bei der letzten Beprobung in Woche 16 wurden zwischen 14 und 18 Arten in allen Mikrokosmen gefunden (Abb. 21). Die zunehmende Artenzahl im Verlauf der Zeit war vermutlich eine Folge der Etablierung zahlreicher ökologischer Nischen infolge der Entwicklung von Makrophyten und Periphyton, die als Lebensraum für eine größere Anzahl von Arten dienen konnten. Analog zu den steigenden Artenzahlen nahmen auch die Diversität und die Evenness in den Mikrokosmen von Woche 1 bis 4 zu (Abb. 21). Ab Woche 7 kam es bei den meisten Mikrokosmen (außer K3) zu einer Abnahme der Diversität aufgrund der geringen Evenness.

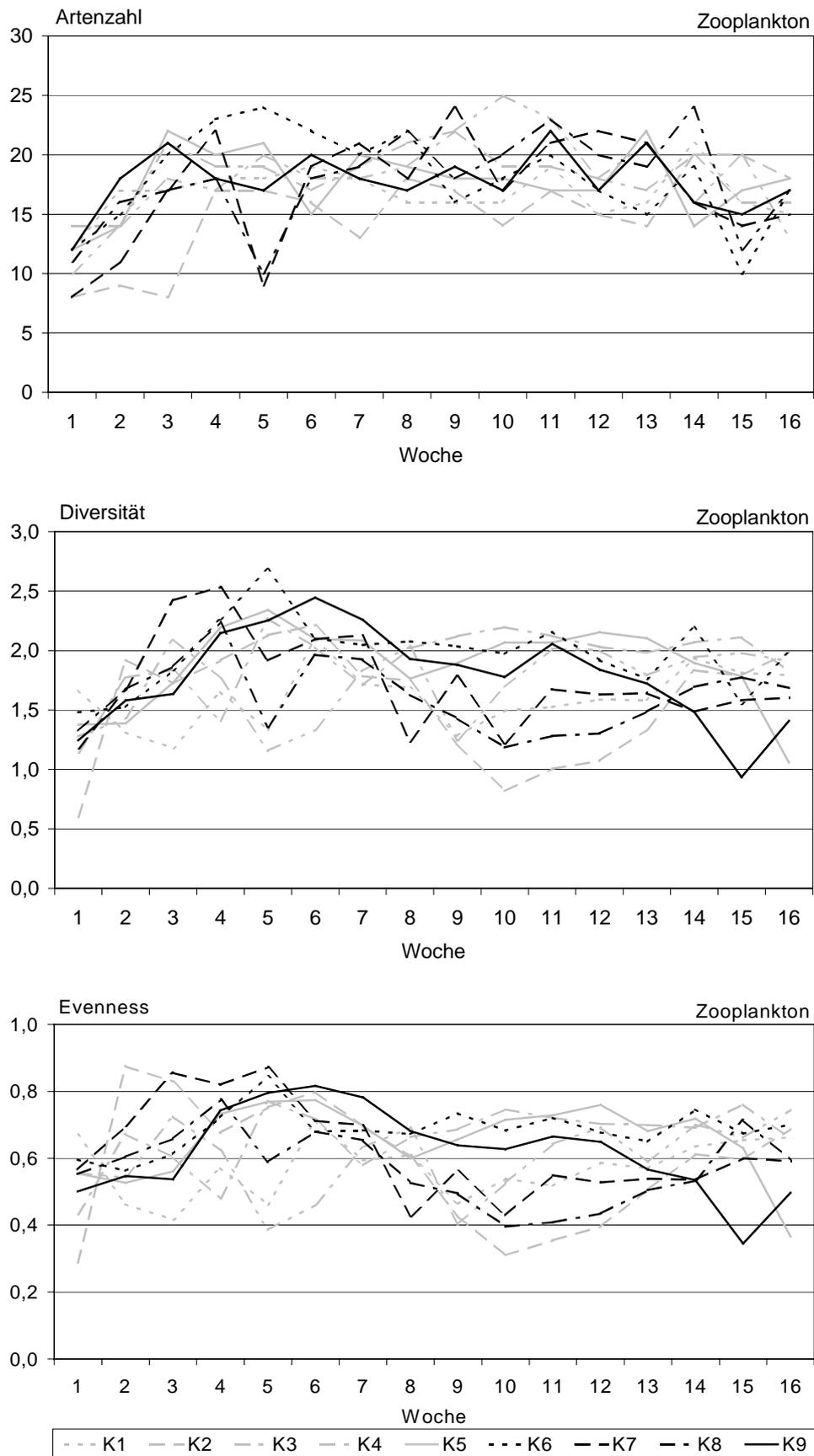


Abb. 21: Artenzahl, Diversität und Evenness in den Kontrollen (Nonylphenol)

3.3.1.2 **Relative Abundanz (Zooplankton, K1 bis K9, NP-Versuch)**

Der Anteil der Rotatorien an der Zooplanktonpopulation der Kontrollmikrokosmen (Abb. 22 bis Abb. 26) betrug zu Beginn des Versuchs Ende Mai über 90 % und nahm bis zum Versuchsende auf 10 bis 20 % ab. Die Spezies *Asplanchna spp.* hatte nur in den Wochen 1 bis 3 einen größeren Anteil an der Zooplanktonpopulation, der zwischen 30 % (K1, K4, K5) und 80 % (K2) lag. *Polyarthra spp.* und *Keratella spp.* waren ebenfalls in den meisten Mikrokosmen von Woche 1 bis 4 gehäuft vorhanden, traten jedoch ebenso wie *Synchaeta spp.* und *Lecane spp.* auch während des restlichen Beprobungszeitraumes in unterschiedlichen Häufigkeiten auf.

Während des gesamten Beprobungszeitraumes waren in den Kontrollmikrokosmen Cladoceren mit Anteilen bis zu 60 % vorhanden (Abb. 22 bis Abb. 26). Der Anteil von *Chydorus sphaericus* nahm ab Woche 5 zu, woraufhin der Anteil von *Daphnia longispina* um etwa die Hälfte abnahm. Unter der Sammelgruppe „Cladocera (sonstige)“ wurden v.a. Juvenile, aber auch Arten, deren Anteil sehr gering war, zusammengefasst.

Der Anteil der Nauplien- und Copepodit-Stadien an der Zooplanktonpopulation in den Mikrokosmen betrug in den ersten Versuchswochen zwischen 2 und 10 %, stieg jedoch zwischen Woche 2 und 5, teilweise auch etwas später bis auf über 80 % an. Adulte Tiere wurden zu einem geringen Prozentsatz und in einigen Mikrokosmen (K2, K4) erst gegen Ende des Versuchs ab Ende August gefunden (Abb. 22 bis Abb. 26).

Unter „Sonstige“ wurden Zooplanktonorganismen zusammengefasst, die in den Mikrokosmen vorhanden waren, jedoch nicht zu den Planktonorganismen zählen. Hierzu gehören beispielsweise Vertreter der Muschelkrebse (*Ostracoda*), Makroinvertebraten (*Ephemeroptera*, *Hydra*, *Diptera*) und Nematoden.

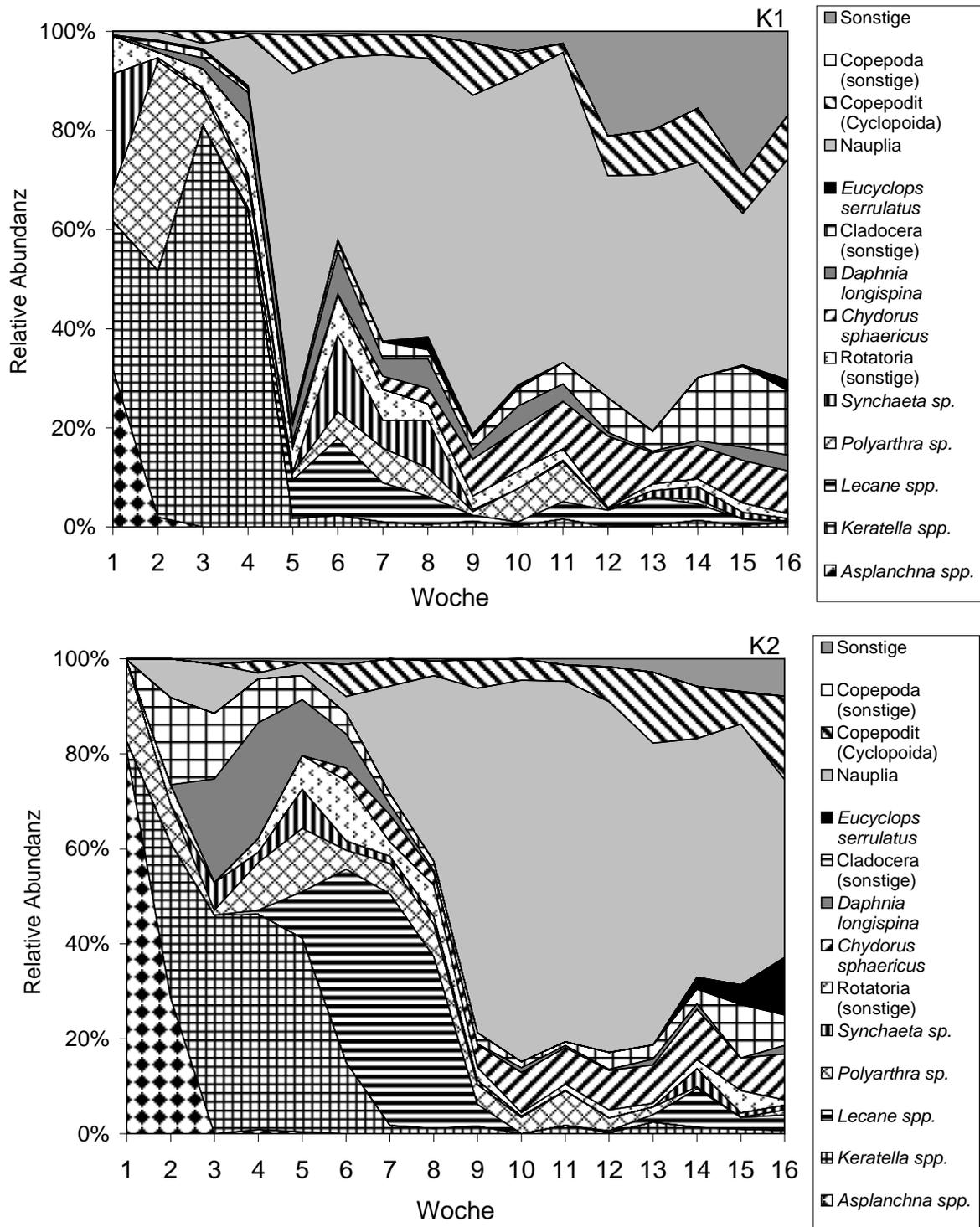


Abb. 22: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K1 und K2 (Nonylphenol)

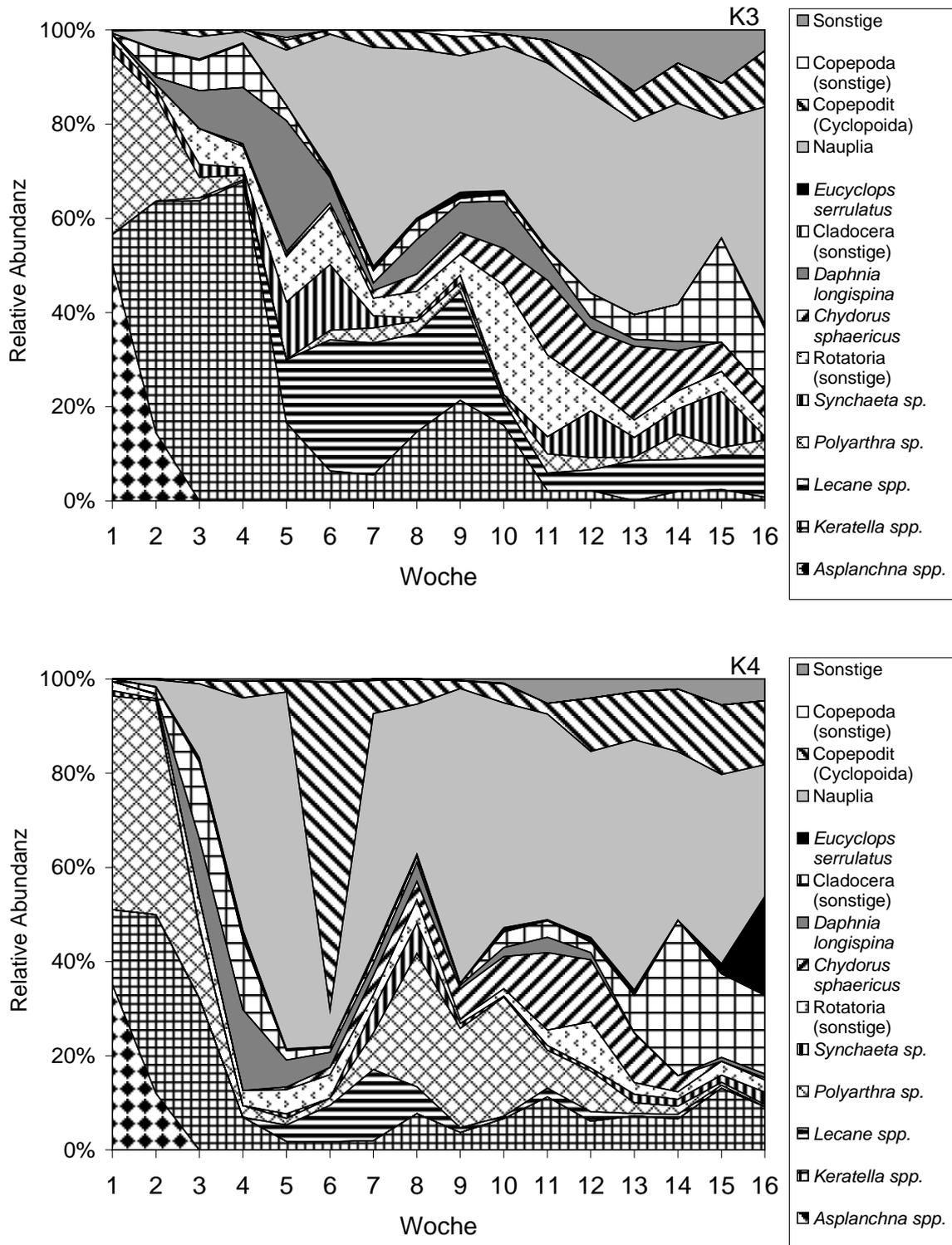


Abb. 23: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K3 und K4 (Nonylphenol)

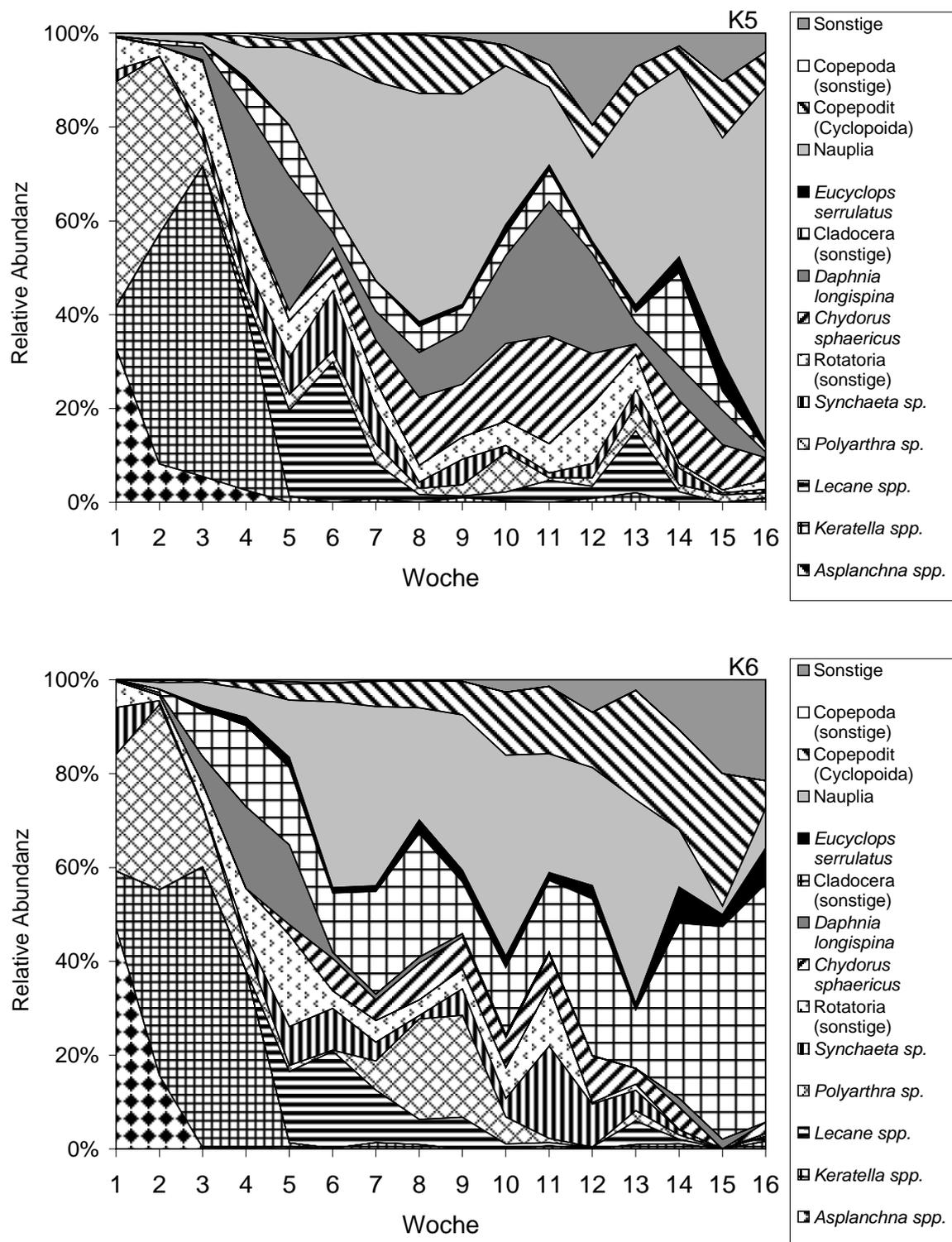


Abb. 24: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K5 und K6 (Nonylphenol)

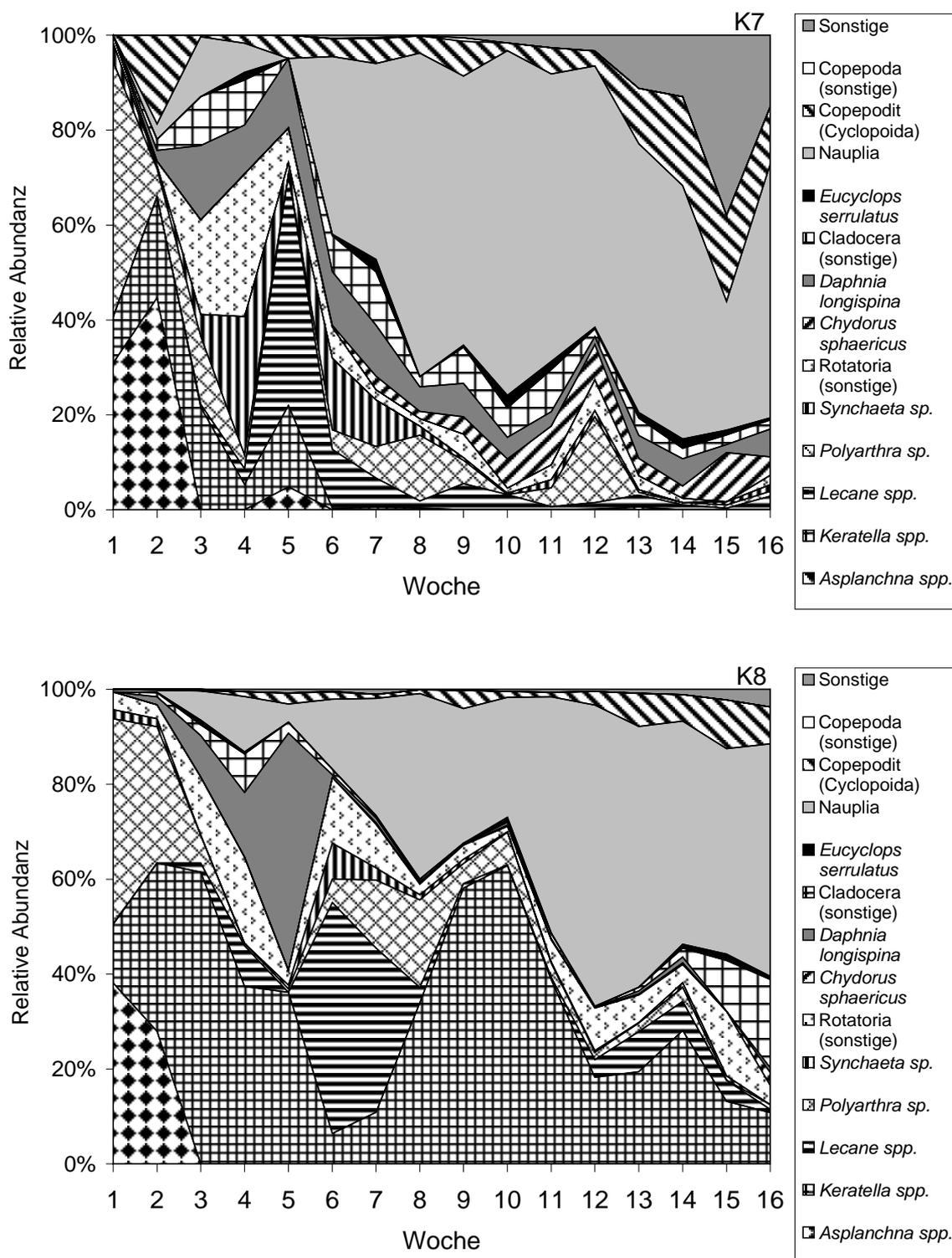


Abb. 25: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K7 und K8 (Nonylphenol)

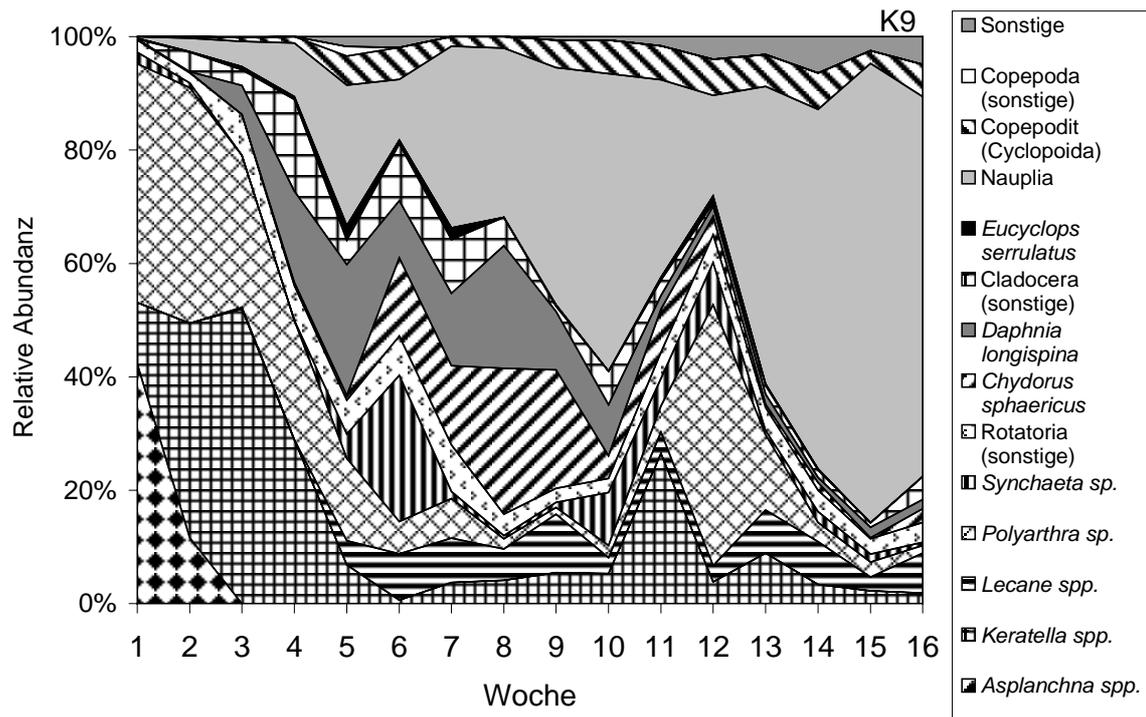


Abb. 26: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K9 (Nonylphenol)

3.3.1.3 Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (K1 bis K9, NP-Versuch)

Die Gruppe der Rotatorien (Abb. 27) in den Kontrollmikrokosmen erreichte in den ersten Versuchswochen maximale Individuendichten zwischen 500 und 1.300 Individuen/L. Bis Woche 5 gingen die Populationen stark zurück und blieben im weiteren Verlauf in den meisten Mikrokosmen unterhalb von 200 Individuen/L. In K8 kam es zwischen Woche 6 und Woche 10 zu einem auffälligen Anstieg der Individuendichte.

Die Cladocera (Abb. 27) erreichten bei den meisten Kontrollmikrokosmen Individuenzahlen von weniger als 100 Individuen/L, wobei es in K6 zu auffälligen Schwankungen kam. In K8 wurden zu keinem Zeitpunkt mehr als 50 Individuen/L gefunden.

Die Individuendichten der Copepoden betragen in den meisten Mikrokosmen zwischen Woche 1 und 5 maximal 50 Individuen/L und stiegen im weiteren Verlauf auf 100 bis ca. 300 Individuen/L an. Ab Woche 14 nahm die Individuenzahl auf 60 bis 180 Individuen/L ab. Auffallend waren die hohen Individuendichten in K8 in Woche 12 und 13 sowie bei K4 (Woche 9) (Abb. 27).

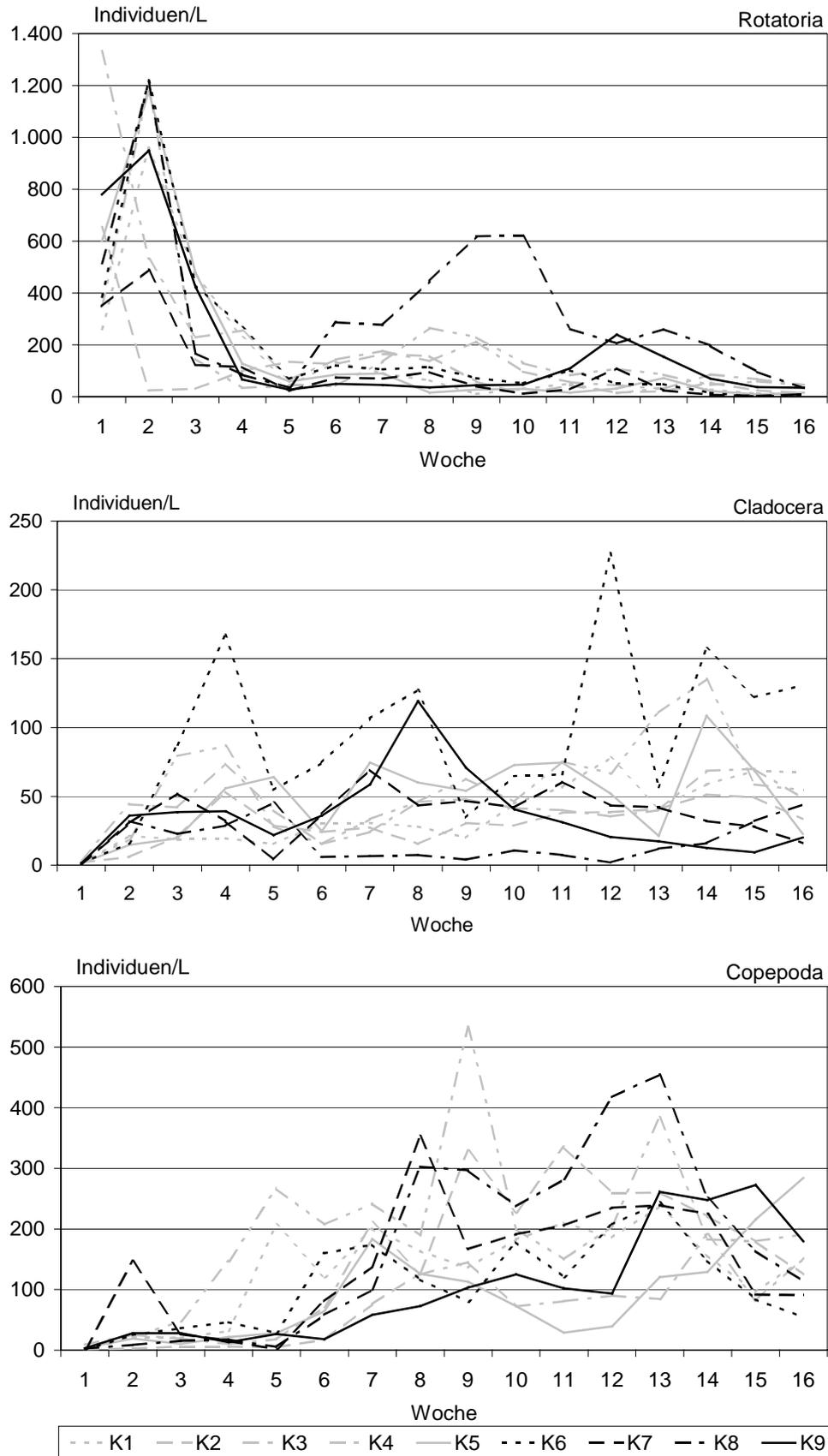


Abb. 27: Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Kontrollen (Nonylphenol)

3.3.1.4 *Prozentuale Abweichung der Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda vom Mittelwert der Kontrollen (%ABW_K) (K1 bis K9, NP-Versuch)*

Mit wenigen Ausnahmen schwankten die Individuendichten der Rotatorien (Abb. 28) um ca. 100 % nach oben und unten um den Mittelwert der Kontrollen. Die bereits bei den Individuendichten auffallende Zunahme bei K8 (Woche 9 und 10) führte zu Abweichungen von bis zu +450 % vom Mittelwert. Bei den Cladoceren (Abb. 28) wichen die Individuenzahlen der meisten Mikrokosmen ebenfalls um ca. 100 % nach oben und unten vom Mittelwert der Kontrollen ab. Die hohen Individuendichten in K6 spiegeln sich in Abweichungen zwischen +150 und +250 % wider. In K8 war die Abweichung in den negativen Bereich zwischen Woche 5 und Woche 13 deutlich größer als bei den übrigen Mikrokosmen, was auf die niedrigen Individuendichten in diesem Mikrokosmos während dieses Zeitraums zurückzuführen ist. Die Abweichungen bei den Copepoden (Abb. 28) betrugen ab Woche 6 bis zum Versuchsende etwa ± 100 % vom Mittelwert der Kontrollen. In K7 wurden in Woche 2 ca. 3,5 mal mehr Individuen gefunden, in K4 in Woche 4 und 5 etwa 3 mal soviel im Vergleich zum Mittelwert der Kontrollen.

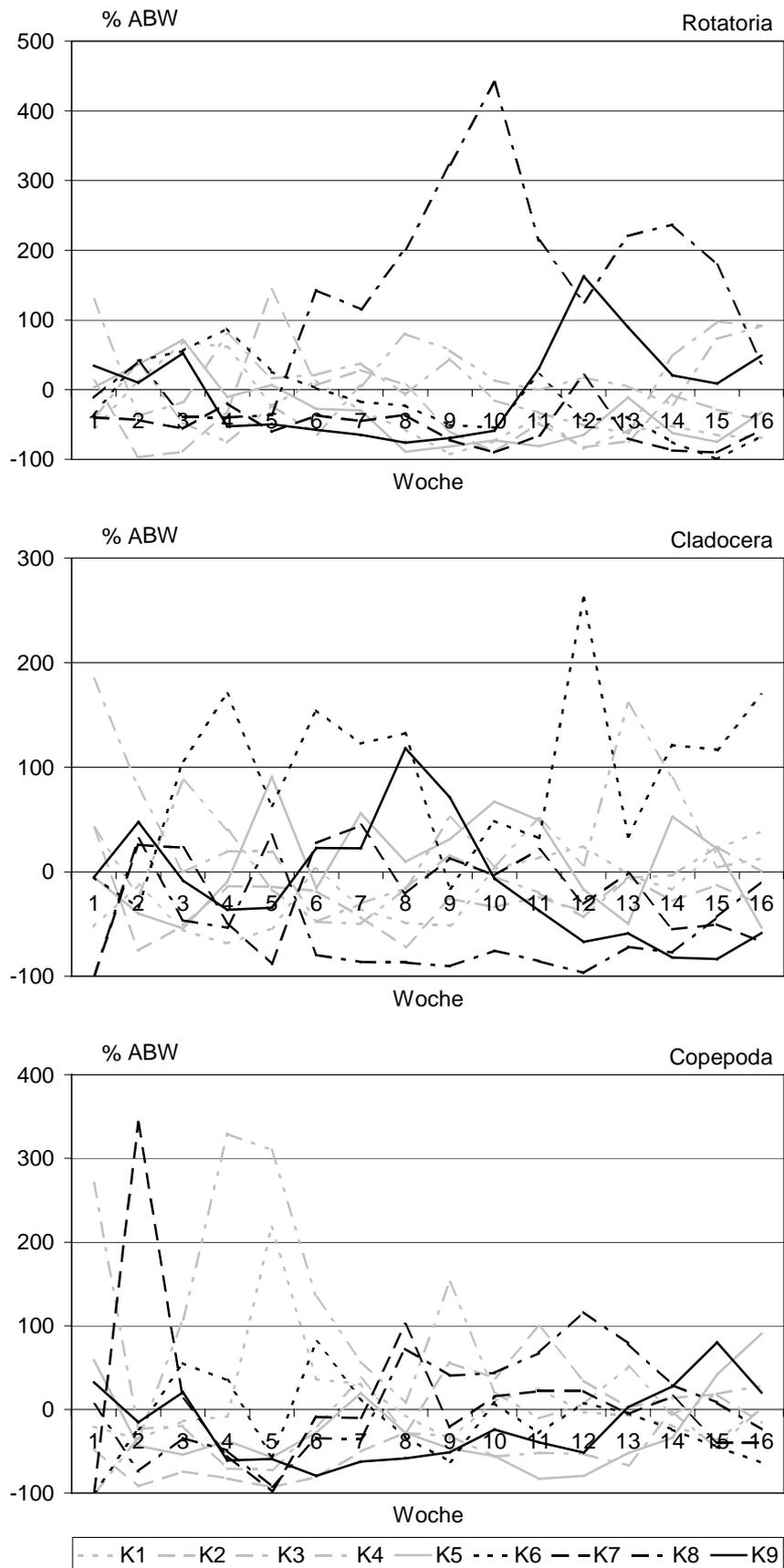


Abb. 28: %ABW_K der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Nonylphenol)

3.3.1.5 **Populationsdynamik ausgewählter Zooplanktonarten (K1 bis K9, NP-Versuch)**

Keratella spp. (zusammengefasst wurden hier die Abundanzen von *K. cochlearis* und *K. quadrata*) hatte ihr Maximum in Woche 2 (300 bis 600 Individuen/L) und erreichte ab Woche 5 nur noch ca. 50 Individuen/L. Auffallend geringe Individuenzahlen wurden in K2 und K7 in Woche 2 gefunden. In K8 trat *Keratella* spp. in Woche 8 bis 11 in Individuendichten zwischen 200 und 550 Individuen/L auf (Abb. 29).

Vertreter der Gattung *Lecane* wurden erst ab Woche 5 mit Individuendichten > 20 Individuen/L gefunden (Abb. 29). Maximale Individuenzahlen von bis zu 170 Individuen/L (K8) wurden zwischen Woche 6 und 9 festgestellt. In Woche 10 und 11 waren die Abundanzen von *Lecane* spp. in allen Mikrokosmen gering (< 10 Individuen/L), während die Abundanzen in Woche 12 bis 13 (August) wieder anstiegen.

Die Rotatorien-Gattung *Polyarthra* hatte in einigen Kontrollmikrokosmen (K4, K6 bis K9) ihr Maximum in Woche 1 bzw. 2 (Abb. 30) Es wurden zwischen 100 und 550 Individuen/L gefunden. Im Versuchsverlauf wurde in einigen Mikrokosmen ein weiteres Maximum mit 50 bis 150 Individuen/L erreicht.

Vertreter der Gattung *Synchaeta* traten in allem Mikrokosmen mit schwankenden Individuendichten auf (Abb. 30). Insgesamt lagen die Abundanzen etwa zwischen 0 und 35 Individuen/L, wobei es in einigen Mikrokosmen (K1, K6, K7) auch zu höheren Individuendichten kam. In den meisten Mikrokosmen wurden Maxima in den Wochen 5 bis 8 (Juli) und in geringem Ausmaß ab Woche 12 erreicht.

Die Cladoceren-Spezies *Daphnia longispina* hatte ihr erstes Maximum in den meisten Mikrokosmen in Woche 4 (Abb. 31) mit Individuendichten zwischen 20 und über 80 Individuen/L. Ein zweites Maximum wurde in einigen Mikrokosmen (K7, K9) in Woche 8 bzw. 11 (K5), teilweise auch etwas früher gefunden.

Chydorus sphaericus wurde erst ab Woche 6 in Abundanzen > 10 Individuen/L in den Mikrokosmen gefunden. Mit Ausnahme von K8 stiegen die Individuenzahlen deutlich über 10 Individuen/L. Die maximalen Dichten betragen zwischen 30 und 60 Individuen/L und traten zwischen Woche 8 und 14 auf (Abb. 31).

Die größten Individuenzahlen der verschiedenen Entwicklungsstadien der Copepoda wurden in allen Mikrokosmen von den Nauplien erreicht. In den meisten Mikrokosmen wurden ab Woche 7 über 100 Individuen/L gefunden. Im weiteren Verlauf lagen die Individuendichten bis zum Versuchsende zwischen 100 und 400 Individuen/L. Die Copepodit-Stadien waren bei der Mehrheit der Mikrokosmen mit über 20 Individuen/L ab Woche 12 vorhanden und stiegen im weiteren Verlauf auf über 30 bis 60 Individuen/L an.

In K7 (Woche 2) und K4 (Woche 6) wurden auffallend hohe Copepoditzahlen festgestellt. Adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* wurden in allen Mikrokosmen nur in geringen Individuendichten gefunden. Erst ab Woche 14 wurden in einigen Kontrollmikrokosmen (K2, K4 bis K6) mehr als 20 Individuen/L gezählt (Abb. 32).

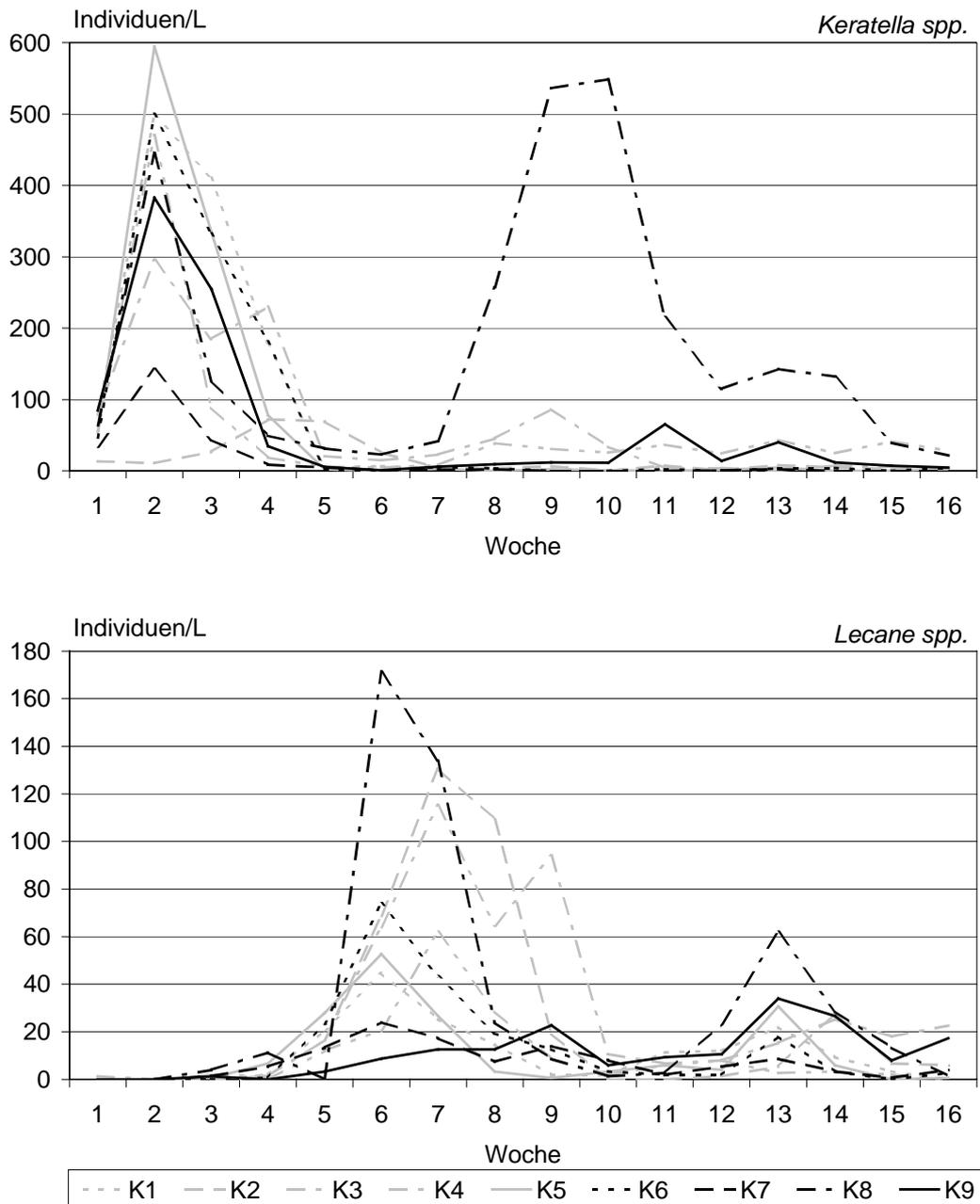


Abb. 29: Populationsdynamik von *Keratella spp.* und *Lecane spp.* (Kontrollen NP)

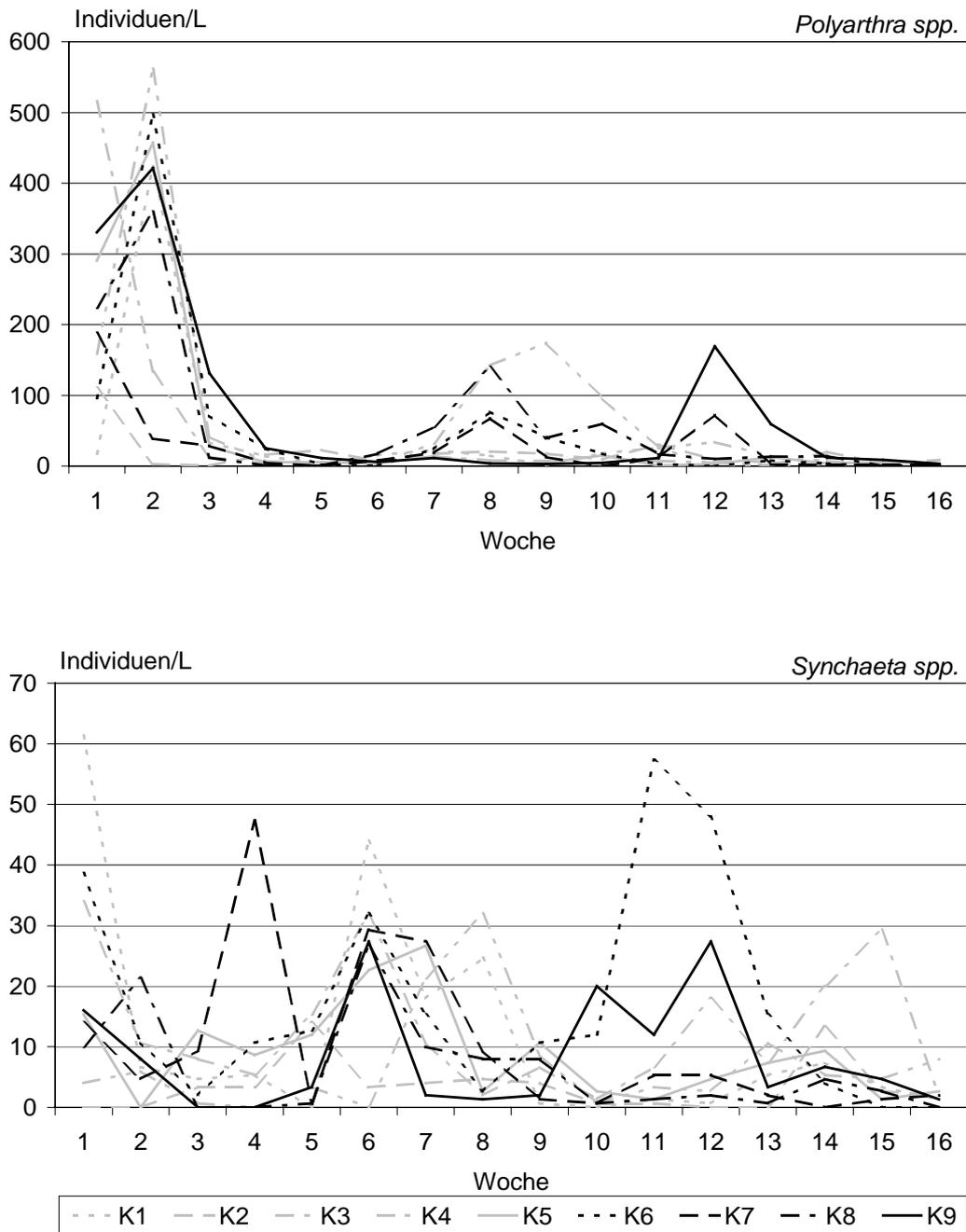


Abb. 30: Populationsdynamik von *Polyarthra spp.* und *Synchaeta spp.* (Kontrollen NP)

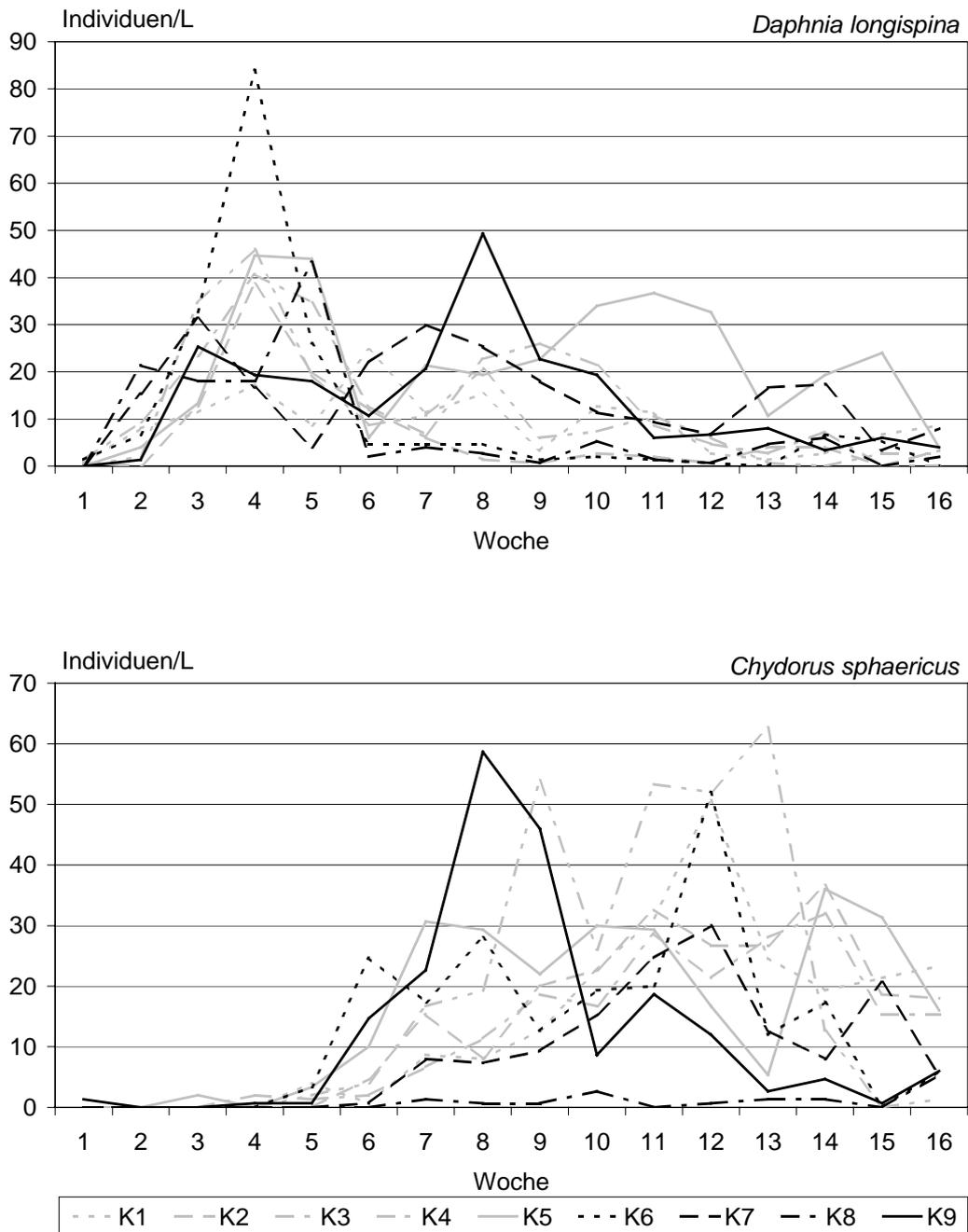


Abb. 31: Populationsdynamik von *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus* (Kontrollen NP)

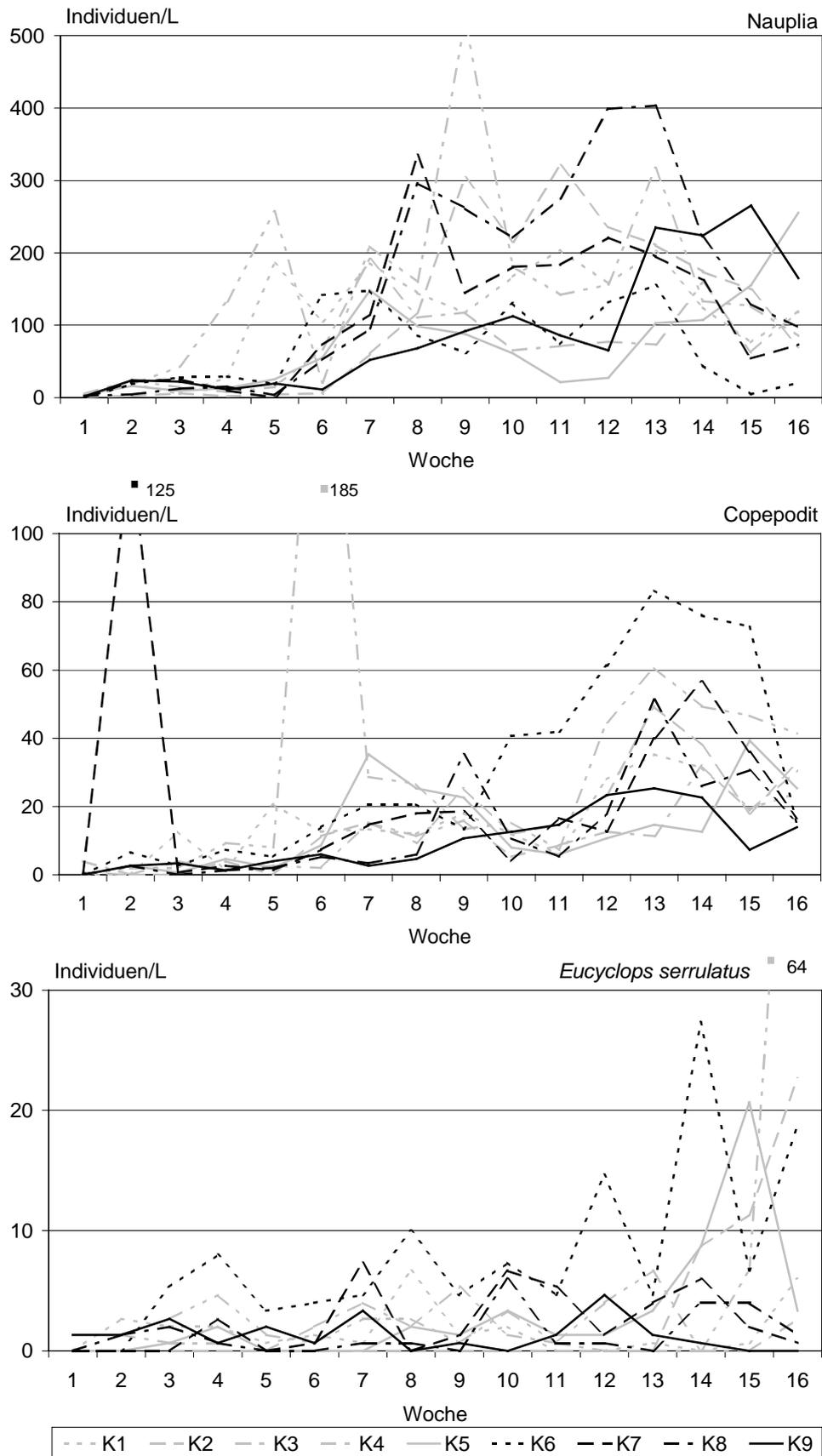


Abb. 32: Populationsdynamik der Entwicklungsstadien von *Eucyclops serrulatus* (Kontrollen NP)

(Punkte außerhalb der Skalierung sind als Symbole mit Angabe des Wertes eingezeichnet.)

3.3.2 *Zooplanktonpopulation in Nonylphenol-Mikrokosmen NP1 bis NP7*

3.3.2.1 **Artenzahl, Diversität und Evenness (Zooplankton, NP1 bis NP7)**

Die Existenz einer Art innerhalb eines Ökosystems ist abhängig von ihren genetisch bestimmten Eigenschaften (Potenzen) sowie von den Eigenschaften ihrer Umgebung (Valenzen). Aus den Wechselwirkungen zwischen Potenzen und Valenzen ergeben sich multidimensionale ökologische Nischen deren Gesamtheit die Struktur eines Ökosystems definiert (Müller 1984). Wichtige deskriptive Parameter zur Charakterisierung von Ökosystemen sind die Artenzahl, die Diversität H' sowie die Evenness (nach Shannon und Weaver). Je mehr ökologische Nischen in einem Ökosystem vorhanden sind, desto höher ist seine Diversität.

Während der gesamten Versuchszeit von 16 Wochen wurden 51 verschiedene Entwicklungsstadien, Gattungen und Arten gefunden. Die Artenzahl in den unbelasteten Mikrokosmen stieg innerhalb der ersten drei Versuchswochen von 10 auf fast 20 und betrug ab Woche 4 bis zum Versuchsende zwischen 15 und 20. Der Anstieg ist auf die zunehmende Komplexität der Systeme durch die Ausbildung von Mikrohabitaten (z. B. Makrophyten) sowie auf die Etablierung von Lebensgemeinschaften wie des Periphytons und des Meiobenthos zurückzuführen (Abb. 33). In den belasteten Mikrokosmen waren die Artenzahlen in der ersten Woche sowie während der Dosierung von Woche 7 bis 9 und in Woche 11 nach Dosierungsende signifikant niedriger als in den unbelasteten Kontrollen ($p < 0,05$). Die Artenzahlen waren insbesondere in den hohen Konzentrationen (NP4 bis NP7) erniedrigt.

Der Diversitätsindex H' in den Kontrollen schwankte während des gesamten Versuches zwischen 1,25 und 2,25. In den belasteten Mikrokosmen war die Diversität gegenüber den Kontrollen zu einem Zeitpunkt während der Postapplikationsphase (Woche 15) signifikant erhöht ($p < 0,05$). Dies war jedoch nur für NP1 und NP5 bis NP7 der Fall, NP2 bis NP4 verhielten sich wie die Kontrollen. Die Evenness in den Kontrollen betrug zwischen 0,5 und 0,75. In den dosierten Mikrokosmen waren die Werte in Woche 7 signifikant niedriger als in den Kontrollen ($p < 0,05$) (Abb. 33). Dies betraf die Mikrokosmen NP1 bis NP5, jedoch nicht die hohen Konzentrationen NP6 und NP7.

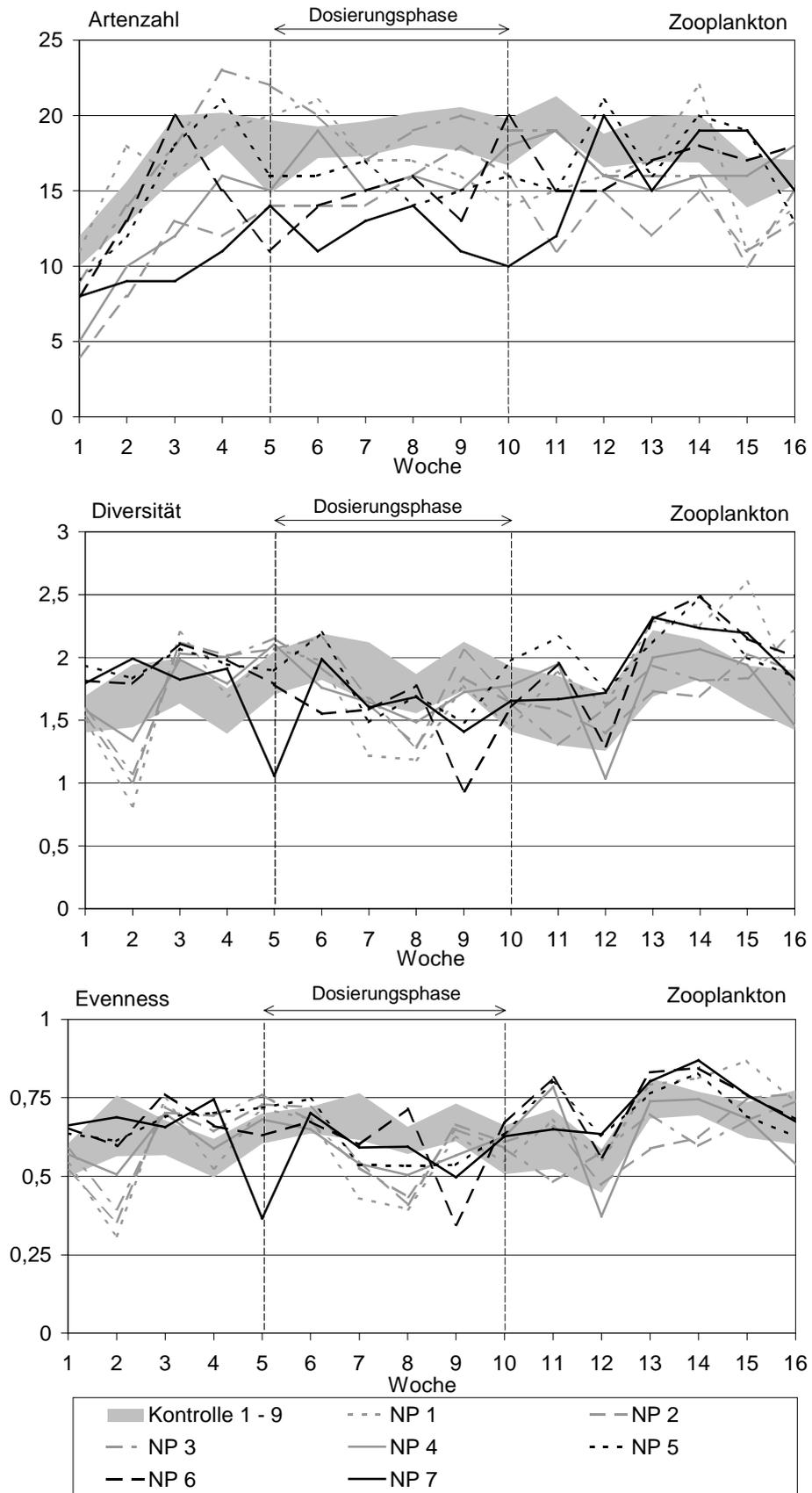


Abb. 33: Artenzahl, Diversität und Evenness in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

3.3.2.2 *Relative Abundanzen (Zooplankton, NP1 bis NP7)*

Von den insgesamt 51 gefundenen Gruppen, Entwicklungsstadien, Gattungen und Arten des Zooplanktons kamen 24 mit einer Stetigkeit von 100 % vor, d.h. sie wurden in allen Mikrokosmen gefunden.

Der Anteil der Rotatorien an der Zooplanktongesellschaft in den mit NP dosierten Mikrokosmen betrug in der Vorapplikationsphase etwa 90 % und nahm bis zum Beginn der NP-Applikation auf 20 % ab. Der Anteil der Rotatorien von Woche 5 bis Woche 16 betrug bei NP1 bis NP3 zwischen 4 und ca. 50 %, bei NP4 bis NP7 lag er mit 25 bis 90 % weit darüber. *Asplanchna spp.* war in Woche 1 bis 2 mit 30 bis über 90 % (NP2) an der Rotatorienpopulation beteiligt, zusätzlich wurden *Polyarthra spp.* und *Keratella spp.* mit bis zu 50 % gefunden. Letztere dominierten ab Woche 3 gemeinsam mit *Synchaeta spp.* (ab Woche 5) und *Lecane spp.* (ab Woche 4) die Rotatoriengesellschaft bis zum Versuchsende (Abb. 34 bis 37).

Die Cladoceren nahmen während der Vorapplikationsphase von ca. 5 % in der 1. Woche auf bis zu etwa 50 % in Woche 5 zu (34 bis 37), wobei der Anteil von *Daphnia longispina* 50 % betrug. Nach Beginn der Dosierung nahm der Anteil der Cladoceren stark ab (bis auf ca. 10 %), in der höchsten Konzentration NP7 verschwand die Cladocerenpopulation sogar völlig. Dieser starke Rückgang wurde bei NP1 bis NP5 nicht beobachtet, der Anteil der Cladocera an der gesamten Zooplanktongesellschaft blieb hier bis zum Versuchsende relativ konstant bei ca. 10 % bzw. stieg ab Woche 12 in NP1 und NP2 auf ca. 20 %. Eine Zunahme der Cladoceren an der gesamten Zooplanktongesellschaft war ab Woche 13 (Postapplikationsphase) auch bei NP6 zu beobachten. *Chydorus sphaericus* nahm in allen Mikrokosmen ab Woche 7 in dem Maße zu, in dem der Anteil von *Daphnia longispina* geringer wurde und war im weiteren Verlauf mit 5 bis 20 % relativer Abundanz vorhanden.

Die Beteiligung der Copepoden (Abb. 34 bis 37) an der Zooplanktongesellschaft betrug in der Vorapplikationsphase bis zu 60 %. Es überwogen die Nauplien- und Copepodit-Stadien; adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* wurden zu geringen Anteilen, teilweise erst ab Woche 13, häufiger gefunden (NP2, NP4). Während der Dosierungsphase stieg der Anteil der Nauplien und Copepodite in NP1 bis NP3 bis auf 90 % an. In NP4 bis NP7 nahm der Anteil dieser Stadien auf 30 % (NP4, NP5) bzw. 20 % (NP6, NP7) ab. In der Postapplikationsphase nahmen die Copepoden bei NP4 bis NP7 wieder auf 20 bis 50 % zu, ab Woche 13 kam es zu erneuten leichten Abnahmen um ca. 5 bis 10 %. In NP1 bis NP3 blieben die Anteile der Copepoden ab Woche 9 etwa konstant bei ca. 50 bis 60 %, wobei die Copepoditstadien auf Kosten der Nauplien leicht zunahmen. Lediglich bei NP1 und NP2 kam es ab Woche 14 zu Abnahmen auf 0 bis 20 % (Nauplien) bzw. zum Verschwinden (Copepoditstadien).

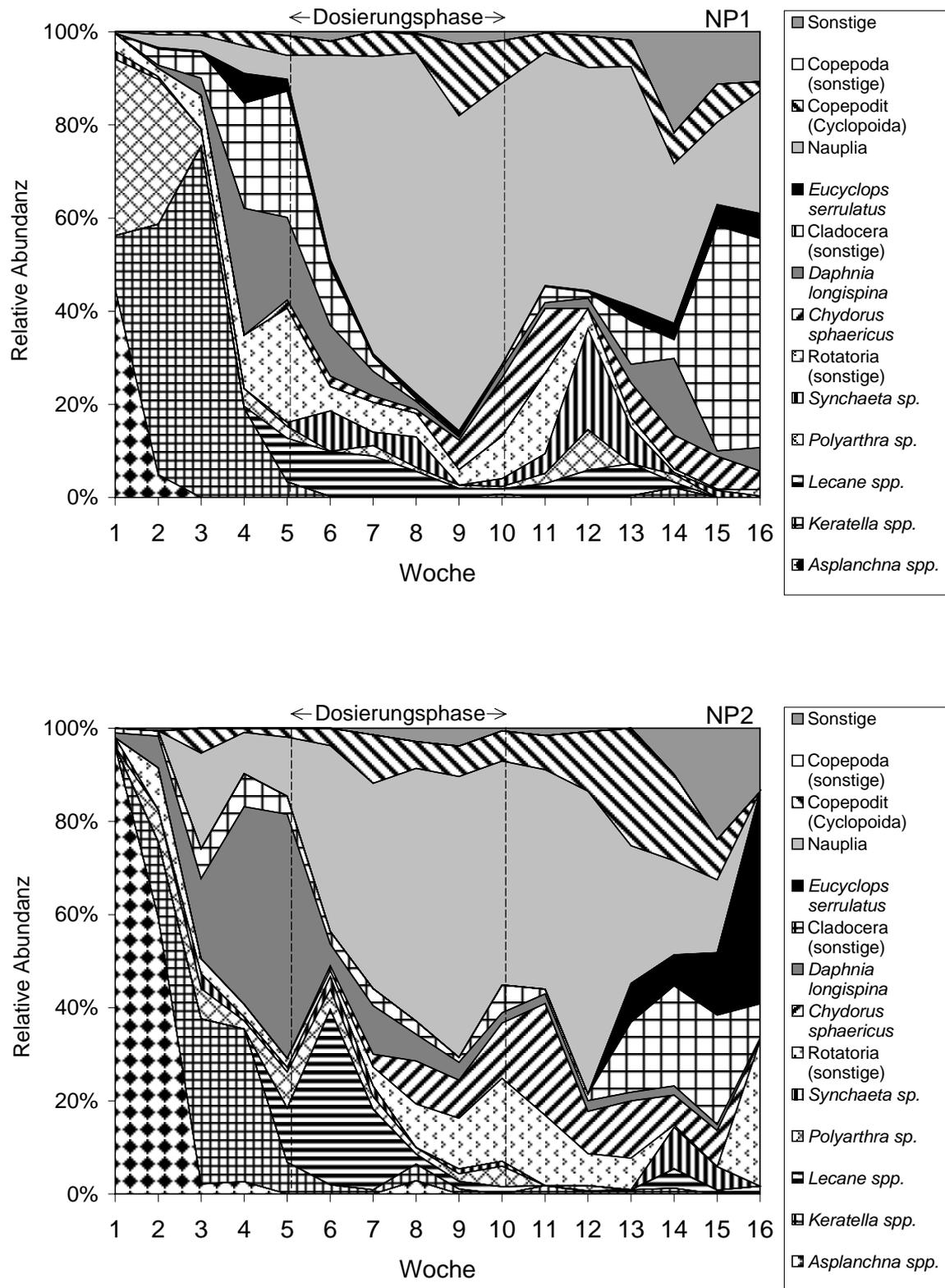


Abb. 34: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP1 und NP2

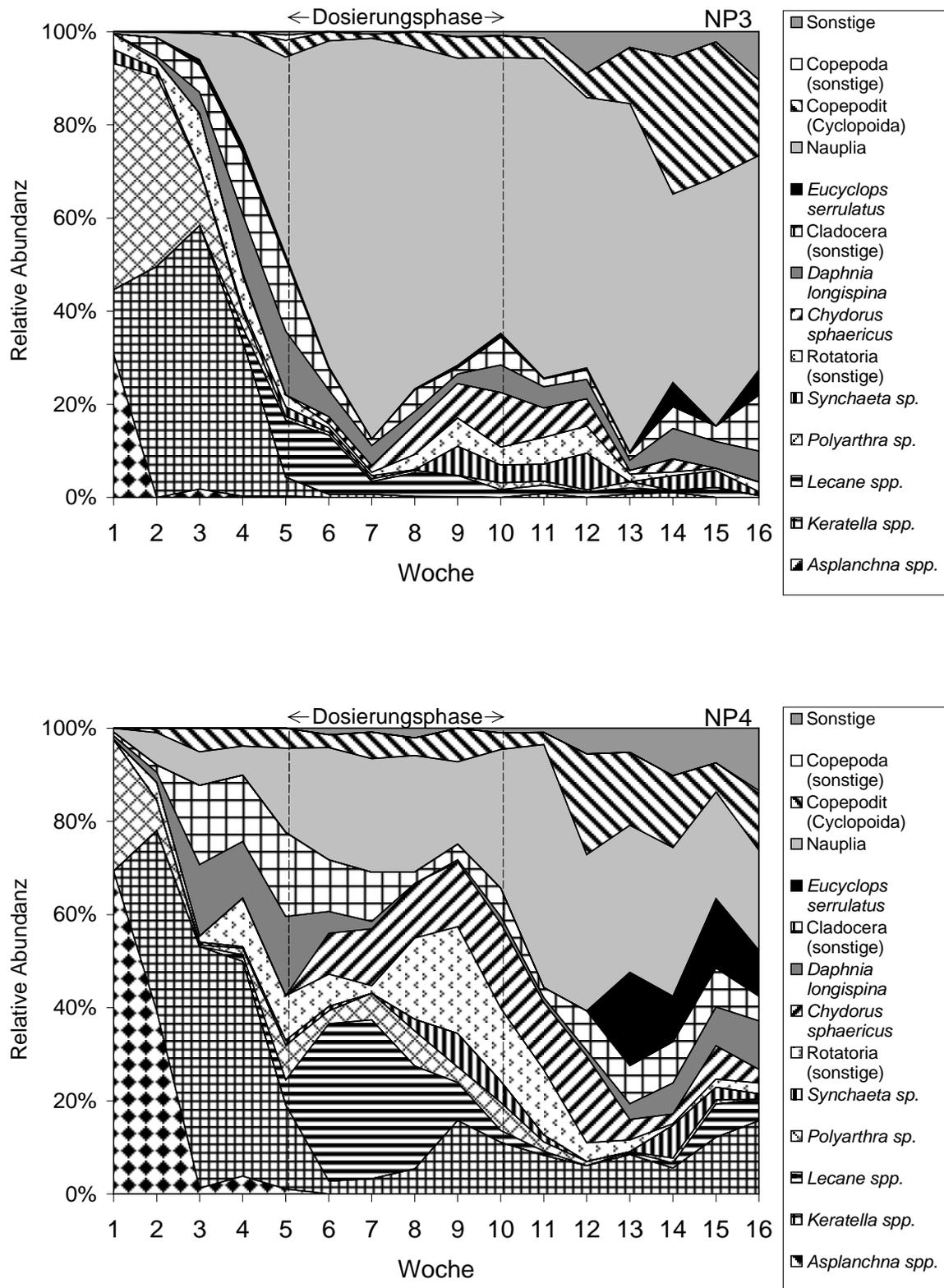


Abb. 35: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP3 und NP4

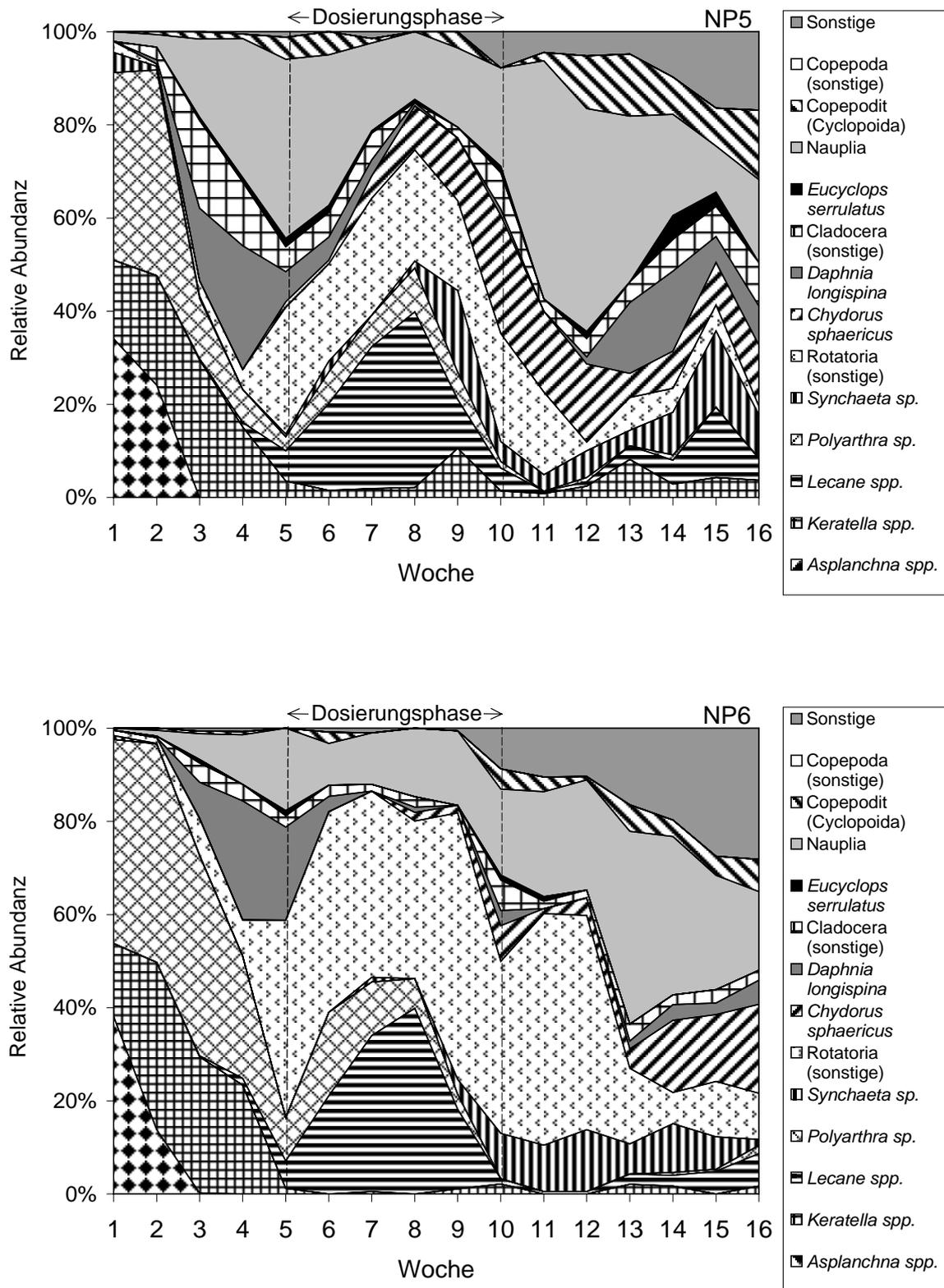


Abb. 36: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP5 und NP6

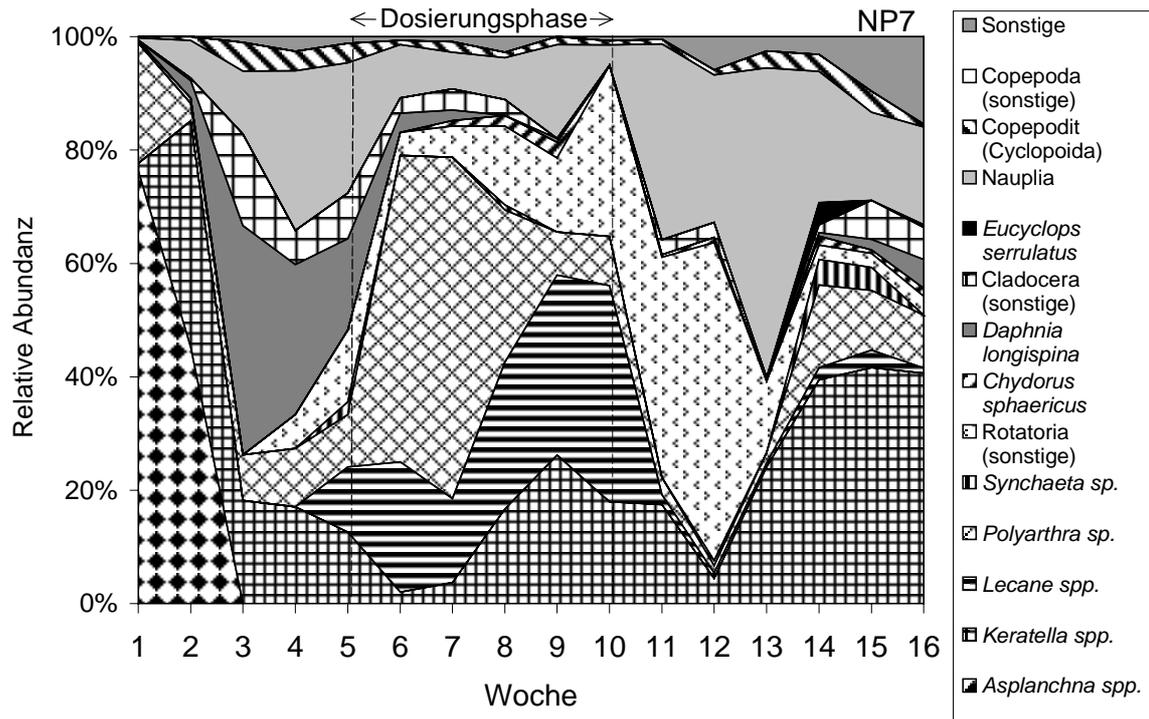


Abb. 37: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in NP7

3.3.2.3 *Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (NP1 bis NP7)*

Die Rotatorien waren mit Ausnahme von NP2 und NP4 in den ersten beiden Versuchswochen sehr häufig, mit maximalen Individuendichten von 150 bis 1.300 Individuen/L (Abb. 38). Ab Woche 4 bis zum Versuchsende in Woche 16 lagen die absoluten Abundanzen bei nur noch maximal 100 Individuen/L. Während der zweiten Hälfte der Dosierungsphase und in der ersten Postapplikationswoche (Woche 7 bis 11) wurden in den belasteten Mikrokosmen weniger Individuen gefunden, als in den unbelasteten Kontrollen (Mittelwert \pm STABW).

Die Populationsdichte der Cladoceren (Abb. 38) schwankte zwischen maximal 125 und 0 Individuen/L. Auf ein Maximum während der Vorapplikationsphase (Woche 2 bis 4) mit Individuendichten zwischen 60 und 90 Individuen/L folgte ein Rückgang auf Abundanzen zwischen 10 und 50 Individuen/L. Während der Dosierung erfolgten in allen Mikrokosmen (außer NP1 und NP3) Abundanzabnahmen unterhalb des durch den Mittelwert der Kontrollen \pm STABW abgedeckten Bereichs. Von Woche 7 bis 9 war die Individuendichte in allen Mikrokosmen mit Ausnahme von NP3 geringer, als in den unbelasteten Kontrollen (Mittelwert \pm STABW). Mit Ausnahme der beiden am höchsten belasteten Mikrokosmen (NP6, NP7) stiegen die Abundanzen bereits in der letzten Dosierungswoche wieder an und erreichten in der ersten Postapplikationswoche Dichten, die mit denen der Kontrollen vergleichbar waren. Bei NP5 wurden entsprechende Individuenzahlen in Woche 12, bei NP6 in Woche 13 erreicht. In NP7 lagen die Individuendichten auch während der Postapplikationsphase unterhalb der für die unbelasteten Mikrokosmen ermittelten Werte (5 bis 20 Individuen/L in NP7, mindestens 35 Individuen/L in den Kontrollen).

Die Individuendichten der Copepoden (Abb. 38) lagen während der Vorapplikationsphase im Bereich des Mittelwertes der Kontrollen (\pm STABW). Ab der Dosierung kam es bei NP1 und NP3 in Woche 7 zu starken Anstiegen auf Individuenzahlen von ca. 250 und 320 Individuen/L. In NP6 und NP7 lagen die Abundanzen ab Beginn der Dosierung (Woche 5) deutlich unterhalb der Kontrollen, bei NP4 und NP5 war dies ab Woche 6 der Fall. Die Individuendichten betragen weniger als 50 Individuen/L. Die Individuendichte in NP2 (ca. 80 Individuen/L) lag ebenfalls ab Woche 6 unterhalb des Bereiches der Kontrollen. Nach Beendigung der Dosierungsphase erreichten die Abundanzen der Copepoden in NP2 und NP4 nach einer Woche (in Woche 11) den Bereich der Kontrollen. In NP5 wurden vergleichbare Dichten in Woche 12, in NP6 in Woche 13 beobachtet. Die Individuenzahlen in NP7 waren bis zum Ende der Versuchsphase geringer als in den unbelasteten Mikrokosmen. Ab Woche 14 waren die Copepoden-Dichten in allen ehemals dosierten Mikrokosmen mit Ausnahme von NP3 geringer als in den Kontrollmikrokosmen.

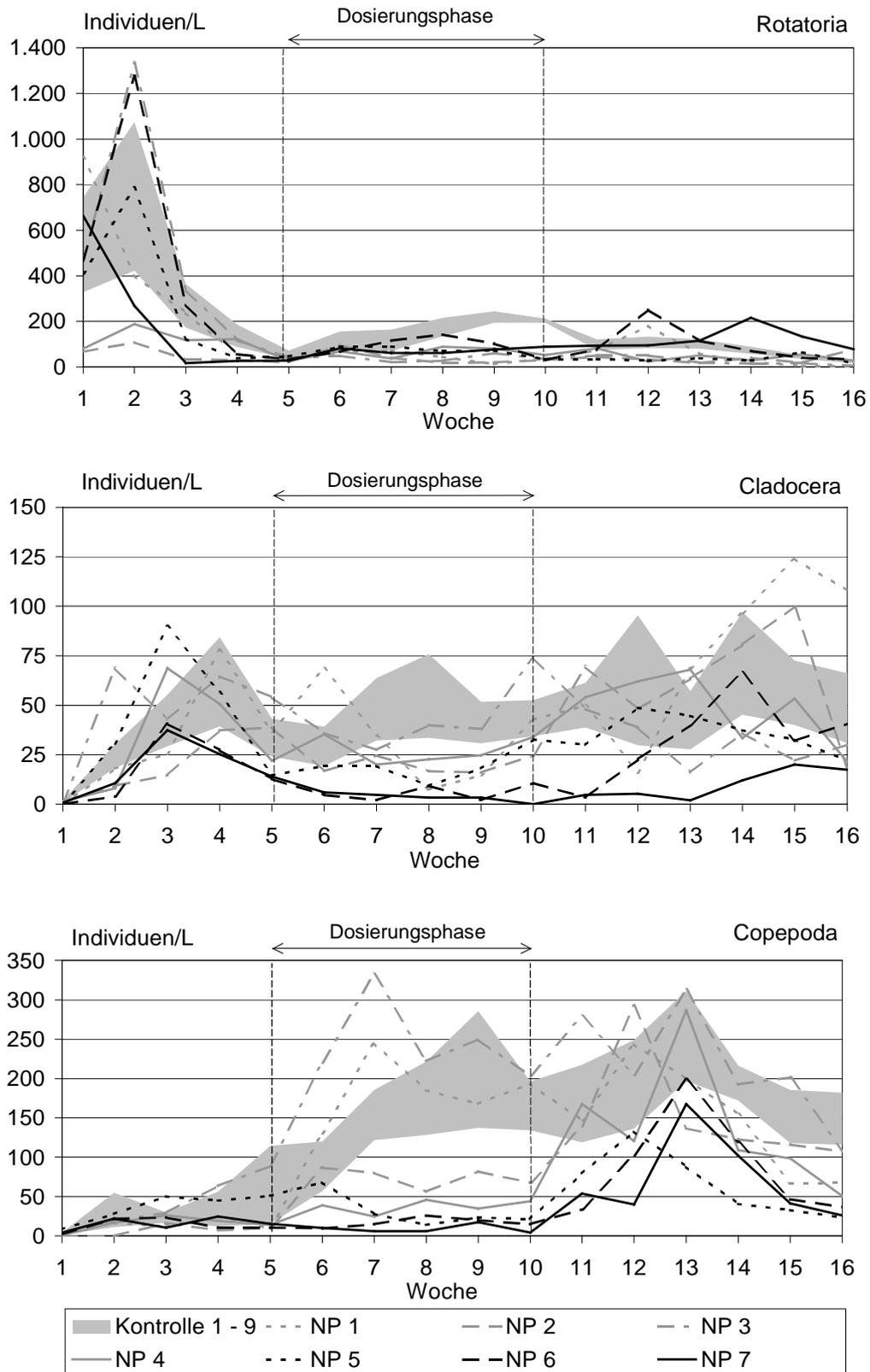


Abb. 38: Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

3.3.2.4 *Prozentuale Abweichung der Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda vom Mittelwert der Kontrollen (%ABW_{NP}) (NP1 bis NP7)*

Auffälligkeiten in den Populationsdynamik werden verdeutlicht durch die Betrachtung der prozentualen Abweichung der belasteten Mikrokosmen vom Mittelwert der Kontrollen. Die Abweichungen bei den Rotatorien vor und während der Applikation von Nonylphenol lagen zwischen +50 und -100 % (Abb. 39). In der Postapplikationsphase wurden bei NP2 (Woche 15), NP6 (Woche 12) und NP7 (Woche 14; 15) große Abweichungen von > 150 bis 270 % beobachtet.

Bei den Cladoceren (Abb. 39) kam es in der Vorapplikationsphase bei NP3 und NP5 zu Abweichungen von über 100 % vom Mittelwert der Kontrollen. Während der Dosierungsphase betrugen die Abweichungen bei NP6 und NP7 über 50 bis 100 % aufgrund deutlich geringerer Abundanzen. Die Abweichungen in den Mikrokosmen NP1 bis NP4 waren in den Wochen 7 und 8 ebenfalls ca. - 50 %, in NP5 sogar bis - 80 %, aufgrund geringer Cladoceren-Dichten. Nach der Dosierung betrugen die Abweichungen der geringer dosierten Mikrokosmen NP1 bis NP4 - 25 % bis +120 %, bei NP5 und NP6 - 90 % bis + 5 % und NP7 - 100 % bis - 65 %.

Die Abweichungen der Individuenzahlen der Copepoden (Abb. 39) vom Mittelwert der Kontrollen betrug in der Vorapplikationsphase zwischen -100 % und +100 % mit Ausnahme von NP5 zu Beginn des Versuchs. Während der Dosierung betrugen die Abweichungen der Copepoden bei NP4 bis NP7 - 20 % bis - 100 %, ab Woche 7 bei NP2 ca. - 70 %, bei NP1 und NP3 lagen sie zwischen + 50 bis + 100 %. Während der Postapplikationsphase (Woche 13) näherten sich die Individuendichten der belasteten Mikrokosmen den Mittelwerten der Kontrollen mit Abweichungen zwischen + 30 % und - 80 %, wobei die negativen Abweichungen der drei ehemals am höchsten belasteten Mikrokosmen (NP5 bis NP7) bis zum Versuchsende fortbestanden (- 100 % bis - 25 %).

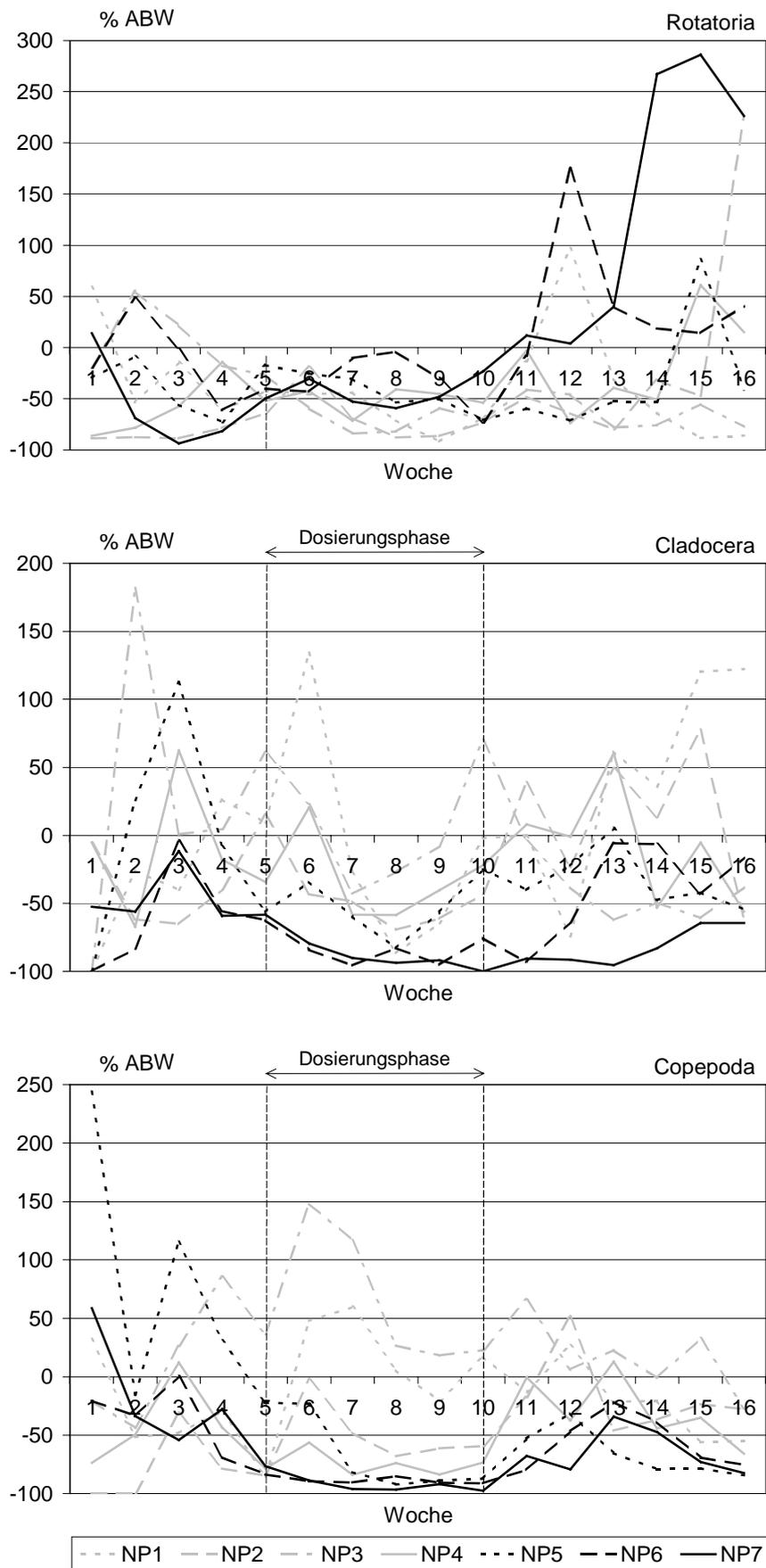


Abb. 39: %ABW_{NP} bei Rotatoria, Cladocera und Copepoda

3.3.2.5 **Populationsdynamik ausgewählter Zooplanktonarten (NP1 bis NP7)**

Die Abundanzen der Vertreter der Rotatorien-Gattung *Lecane spp.* in den Mikrokosmen NP1 bis NP7 lagen von Ausnahmen abgesehen entweder im unteren Bereich und unterhalb der Abundanzen in den Kontrollmikrokosmen. Die maximalen Individuenzahlen traten bei NP1 bis NP5 in Woche 6 in der Dosierungsphase auf. Dabei wurden Individuendichten zwischen 30 und 70 Individuen/L erreicht. Die Individuendichten in NP6 und NP7 waren zwar vergleichbar mit den Dichten in den anderen dosierten Mikrokosmen bzw. in den Kontrollen, traten jedoch erst gegen Ende der Dosierungsperiode in Woche 8 bzw. 10 auf. Ein zweites kleineres Maximum wurde in einigen Kontrollmikrokosmen sowie in NP1, NP4 und NP5 während der Postapplikationsphase erreicht (Abb. 40).

Maximale Individuenzahlen von *Keratella spp.* traten in Woche 2 bzw. 3 der Vorapplikationsphase in allen Mikrokosmen mit Ausnahme von NP2 auf (100 bis 700 Individuen/L). Ab Woche 8 während der Dosierungsphase und während der Postapplikationsphase waren die Abundanzen in den Kontrollen im Mittel höher als in den dosierten Mikrokosmen. Ab Woche 12 der Postapplikationsphase stiegen die Abundanzen in NP7 bis auf maximal 140 Individuen/L in Woche 14 (Abb. 40).

Vertreter der Rotatorien-Gattung *Polyarthra* waren mit Ausnahme von NP2 und NP4 (100 bis 600 Individuen/L) am häufigsten während der Vorapplikationsphase, und lagen damit im Bereich der Kontrollen (\pm STABW). Ab Woche 4 lagen die Abundanzen in den meisten Mikrokosmen unterhalb von 50 Individuen/L. Ab Woche 7 während der Dosierungsphase lagen die Abundanzen der dosierten Mikrokosmen im unteren Bereich der Kontrollen (Abb. 41).

Im Vergleich zum Mittelwert der Kontrollen (\pm STABW) waren die Individuenzahlen bei *Synchaeta spp.* in NP2, NP4, NP6, NP7 während der Vorapplikationsphase (Woche 1 bis 4) deutlich geringer. Von Woche 5 bis 7 während der Dosierungsphase lagen die Abundanzen in allen dosierten Mikrokosmen mit Ausnahme von NP1 mit 5 bis 25 Individuen/L deutlich unter denen in den Kontrollen (Mittelwert 5 bis 25 Individuen/L). Ab Woche 8 stiegen die Abundanzen in NP3 bis NP6 und lagen nachfolgend nachfolgend im Bereich der Kontrollen. Ab Woche 8 In Woche 11 und 12 kam es in NP1 und NP6 zu Anstiegen auf 50 bzw. 100 Individuen/L. In dem ehemals am höchsten belasteten Mikrokosmos (NP7) stiegen die Abundanzen erst ab Woche 13 während der Postapplikationsphase und lagen nachfolgend im Bereich der Kotrollen. (Abb. 41).

Die Populationen von *Daphnia longispina* erreichten ihr erstes Maximum (25 bis 40 Individuen/L) in allen Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase (Woche 2 und 3) (Abb. 42). Während der Dosierungsphase lagen die Abundanzen von *Daphnia longispina* NP4 bis NP7 unterhalb der Abundanzen der Kontrollen (Mittelwert \pm STABW). In Woche 8 war dies auch für NP1 bis NP3 der Fall. Die Individuendichten betragen weniger als 10 Individuen/L. Während der Nachapplikationsphase stiegen die Individuenzahlen in allen Mikrokosmen auf das Niveau der Kontrollen an. In NP1, NP3 bis NP5 wurde ein zweites Maximum oberhalb des Bereichs der Kontrollen erreicht, in NP6 lag das zweite Maximum im Bereich der Kontrollen. In NP7 stiegen die Abundanzen erst später als in den übrigen Mikrokosmen ab Woche 13 wieder leicht an.

Die Populationsdynamik von *Chydorus sphaericus* (Abb. 42) zeigte in allen Mikrokosmen mit Ausnahme von NP6 und NP7 einen ähnlichen Verlauf wie in den Kontrollen (Mittelwert \pm STABW). *Chydorus sphaericus* trat erst ab Woche 8 mit Abundanzen > 10 Individuen/L auf und erreichte ihr Maximum in allen Mikrokosmen mit Ausnahme von NP6 und NP7 nach der Dosierung in Woche 11 bzw. 12. In den am höchsten dosierten Mikrokosmen NP6 und NP7 waren die Abundanzen während der Dosierung sehr gering (< 5 Individuen/L). In NP6 war das Maximum während der Postapplikationsphase um 2 bis 3 Wochen verzögert, erst in Woche 14 wurden Individuendichten von 50 Individuen/L erreicht. In NP7 wurden während des gesamten Beprobungszeitraumes keine Abundanzen > 10 Individuen/L gefunden.

Die Populationsdichte der Nauplien war im Vergleich zu den Kontrollen (Mittelwert \pm STABW) in den Mikrokosmen NP2, NP4, NP5 ab Woche 6, in NP6 und NP7 ab Woche 5 deutlich geringer während der ersten Hälfte der Dosierung. Bei NP1 und NP3 lagen die Individuendichten mit 220 bzw. 330 Individuen/L deutlich über den Kontrollen. Nach Dosierungsende nahmen die Individuenzahlen in NP2, NP4 bis NP7 wieder zu und erreichten in Woche 11 (NP4) bzw. Woche 12 (NP2, NP5) bzw. Woche 13 (NP6, NP7) Maxima von > 100 bis 250 Individuen/L. Die Maxima in NP6 und NP7 lagen am unteren Ende der in den Kontrollen während der Postapplikationsphase erreichten Individuendichten. Die Abundanzen der Copepodit-Stadien lagen bis einschließlich Woche 6 in allen Mikrokosmen im Bereich der Mittelwert der Kontrollen (\pm STABW). Populationsmaxima wie in einigen Kontrollmikrokosmen in Woche 2 der Dosierungsphase wurden in den Mikrokosmen NP1 bis NP7 nicht gefunden. Während der Dosierungsphase und der ersten Woche der Postapplikationsphase ab Woche 7 bis 11 wurden in NP4 bis NP7 weniger als 15 Individuen/L gefunden. Das Populationsmaximum (30 Individuen/L) trat erst gegen Ende der Dosierungsphase in Woche 9 auf. Die Populationsmaxima in NP2 bis NP4 betragen 55, 75 und 65 Individuen/L während der Postapplikationsphase in Woche 12 bis 14 und lagen damit über den Dichten in den Kontrollen.

Die Populationsmaxima von NP5 und NP6 während der Postapplikationsphase betragen 25 Individuen/L, in NP7 10 Individuen/L, und lagen damit deutlich unter den maximalen Dichten der Kontrollen. Maximale Individuendichten während der Postapplikationsphase in NP1 erreichten 32 Individuen/L und damit nur wenig mehr als in NP5, möglicherweise infolge eines vorangegangenen Maximums in Woche 8 (siehe oben). Adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* traten ab Woche 12 mit maximalen Abundanz von 85 Individuen/L (NP4) und > 100 Individuen/L (NP2) auf, in den übrigen Mikrokosmen wurden maximale Dichten von < 25 Individuen/L gefunden.

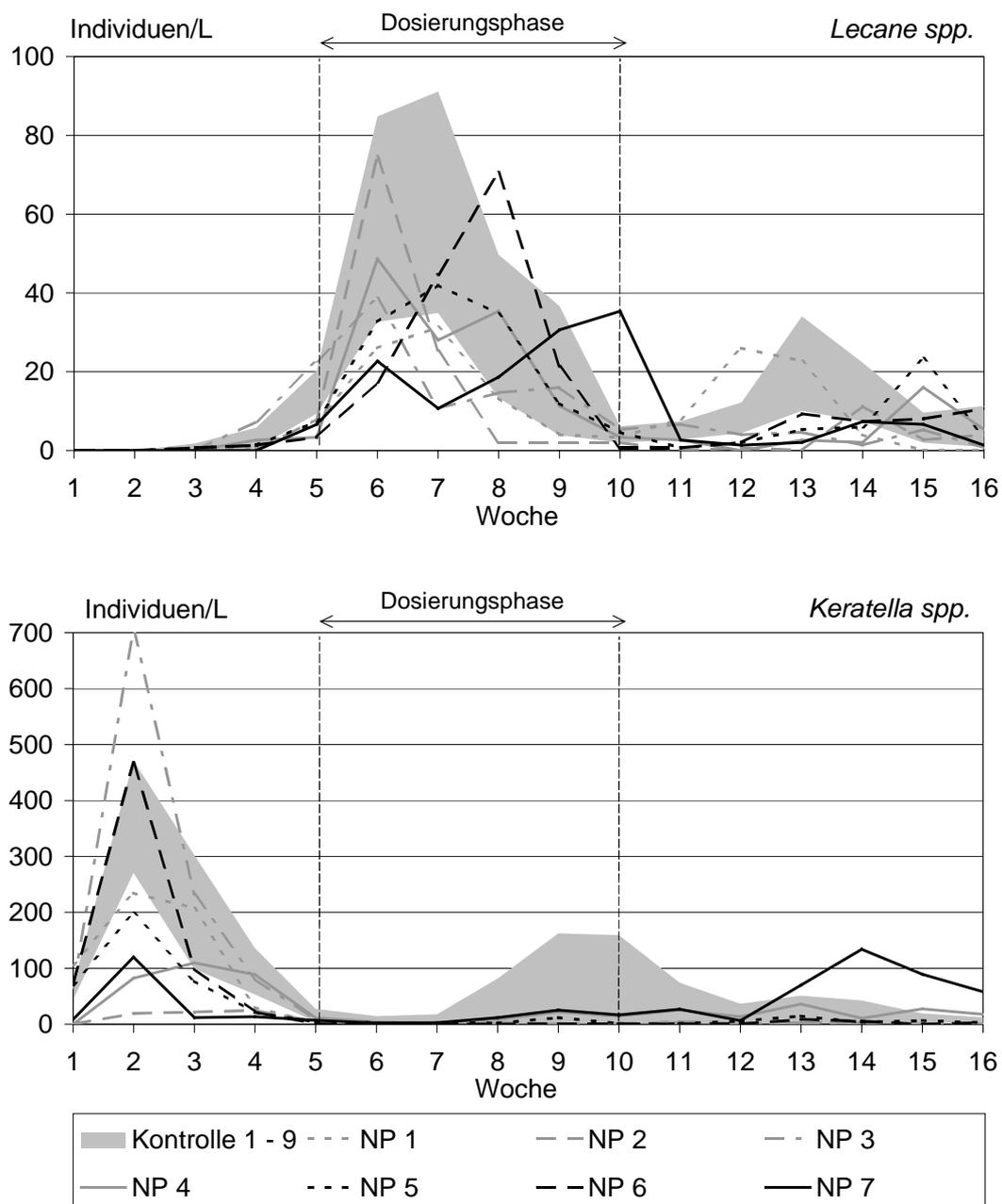


Abb. 40: Populationsdynamik von *Lecane spp.* und *Keratella spp.* (Nonylphenol)

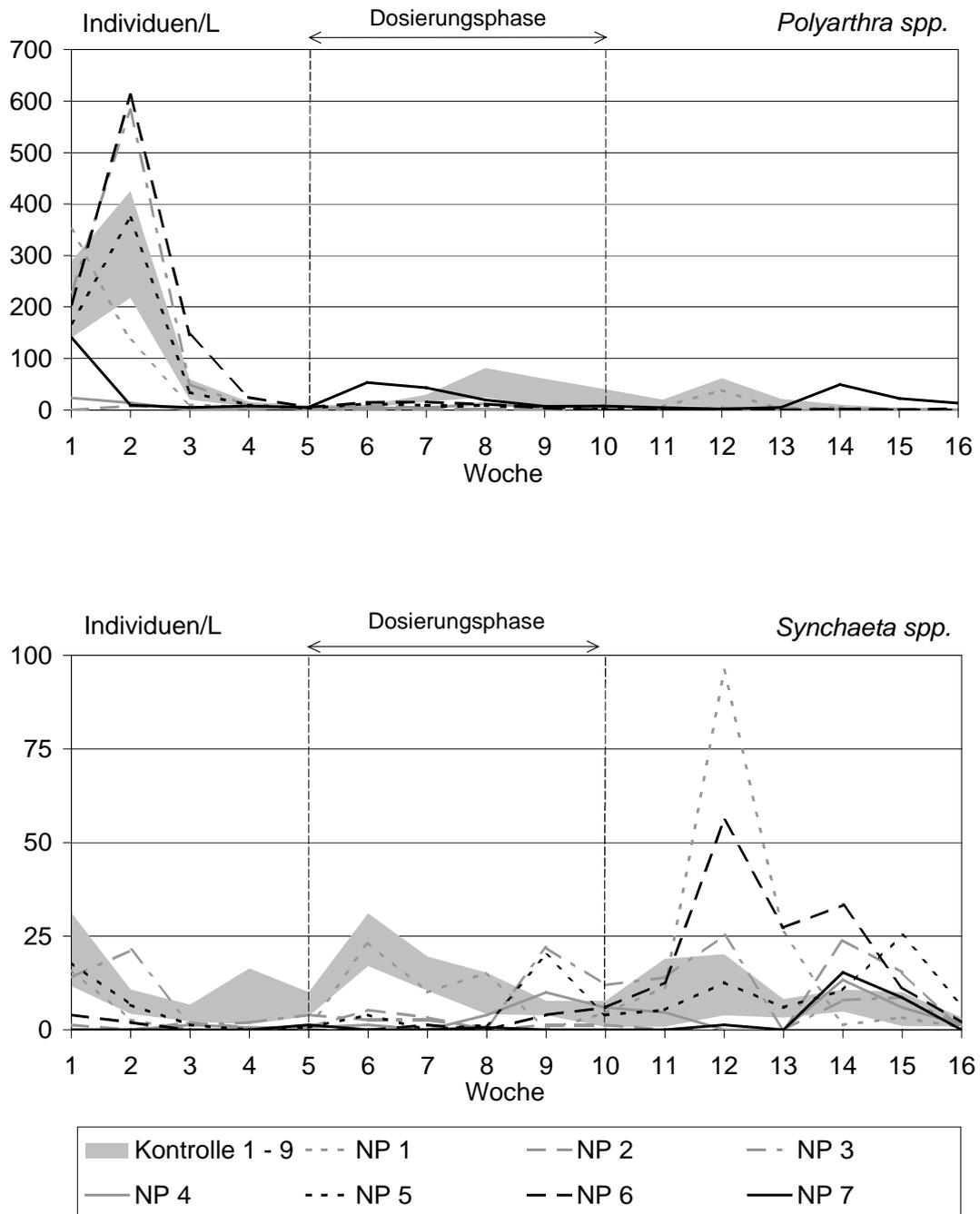


Abb. 41: Populationsdynamik von *Polyarthra spp.* und *Synchaeta spp.* (Nonylphenol)

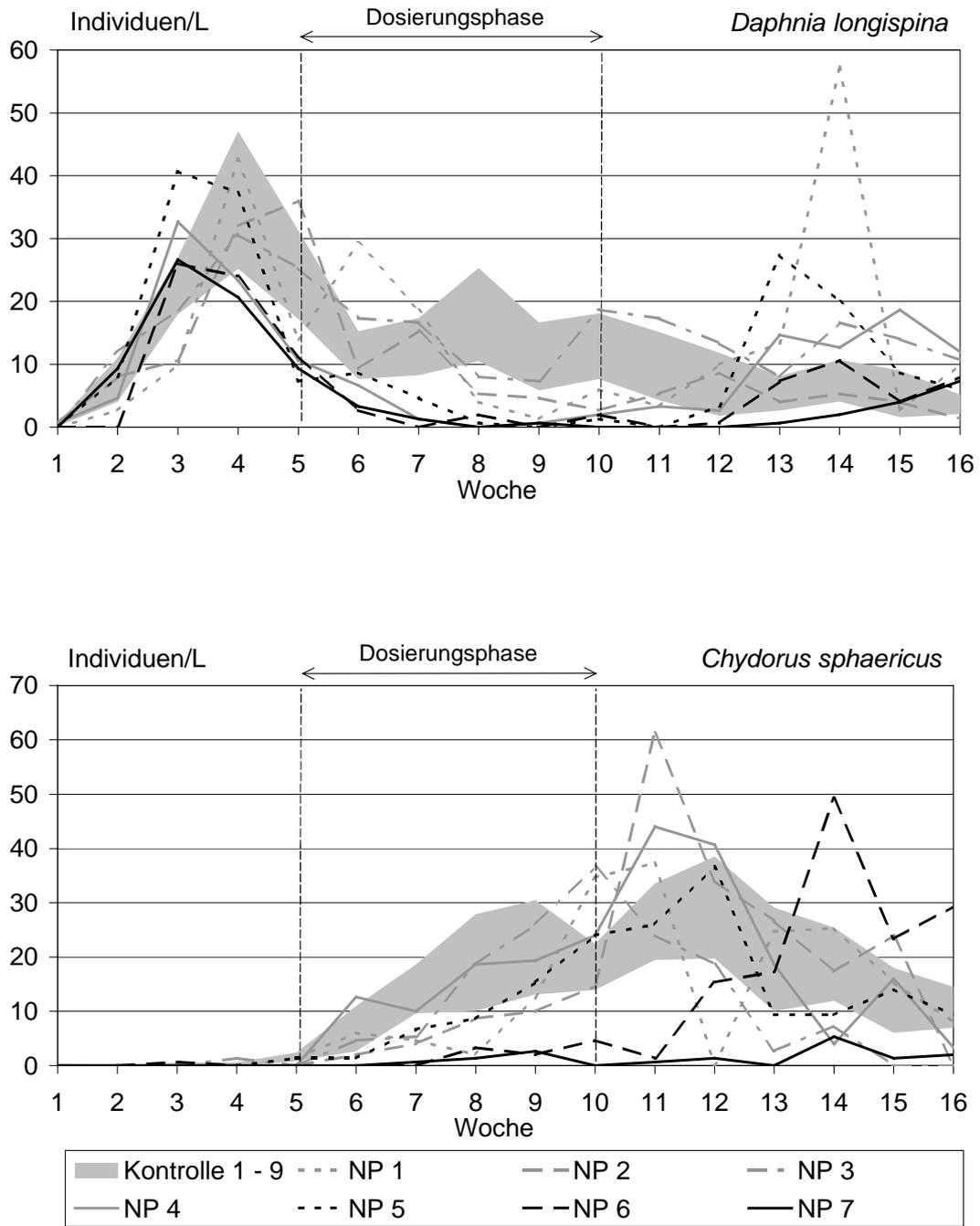


Abb. 42: Populationsdynamik von *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus* (Nonylphenol)

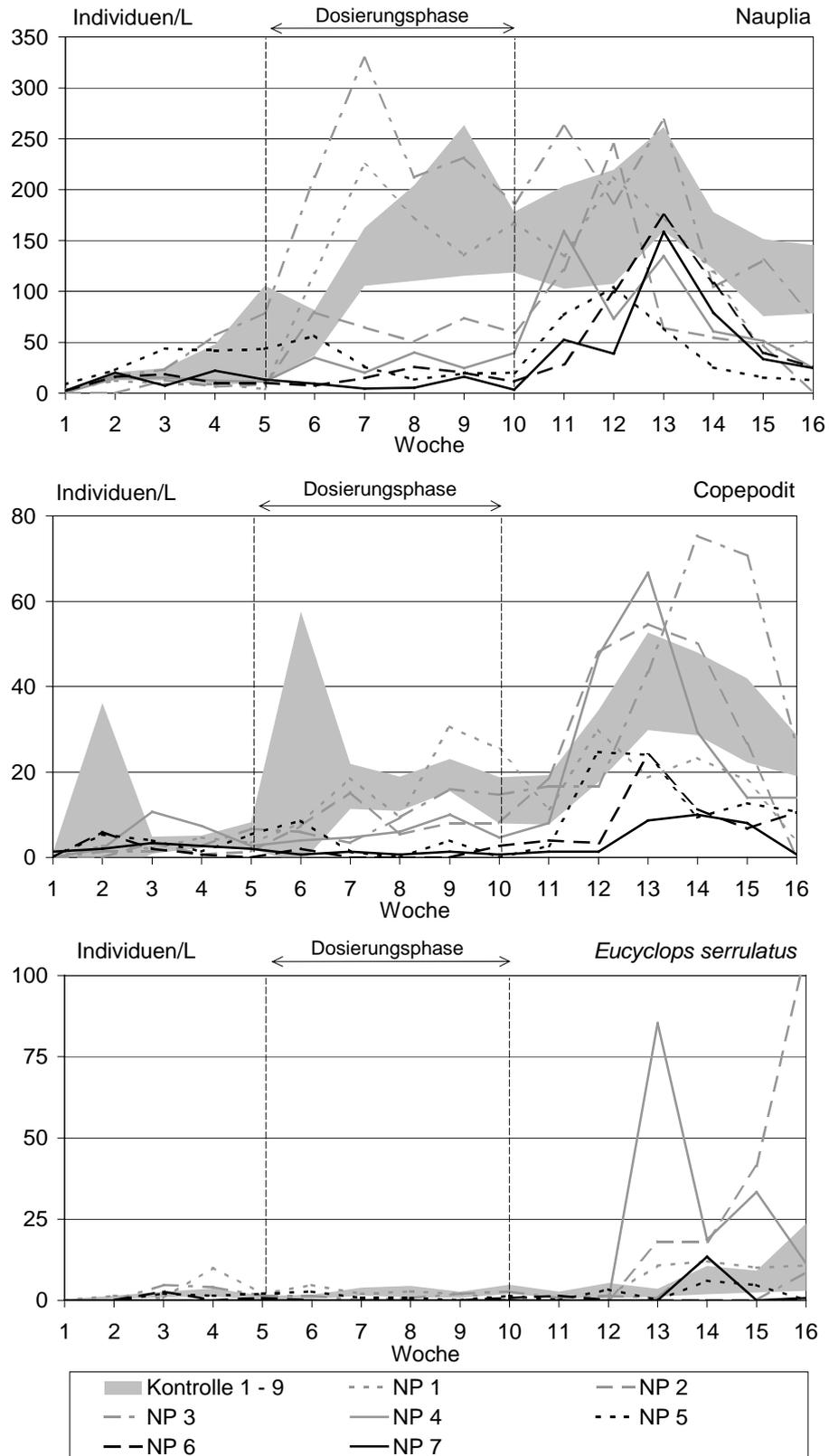


Abb. 43: Populationsdynamik der Entwicklungsstadien von *Eucyclops serrulatus* (Nonylphenol)

3.3.3 *Principal-Response-Curves (Zooplankton, NP-Versuch)*

Effekte von Nonylphenol auf die Zooplanktongemeinschaft wurden mittels der Ordinationsmethode der Principal-Response-Curves (Van den Brink & Ter Braak 1999) untersucht. Hierbei wurde die Populationsdynamik des Zooplanktons in den belasteten Mikrokosmen mit der Populationsdynamik in den Kontrollen verglichen. Dabei wurden zwei Ansätze verfolgt: zum einen wurde eine Principal-Response-Curve über die Summen der drei Zooplanktongruppen Rotatoria, Cladocera und Copepoda erstellt. Der zweite Ansatz berücksichtigt die Abundanzen der jeweiligen Taxa, um Effekte auf einzelne Arten aufzeigen zu können.

3.3.3.1 *Principal-Response-Curves (alle Zooplanktonarten, NP-Versuch)*

Die erste Komponente der Principal-Response-Curves mit allen in den Mikrokosmen gefundenen Taxa (Abb. 44) erklärt 18,1 % der Varianz. Auf der x-Achse (Mittelwerte der Kontrollen als Gerade, $cdt = 0$) sind die Zeitpunkte dargestellt, die Kurven NP1 bis NP7 zeigen, inwieweit die belasteten Mikrokosmen von den Kontrollen abweichen. Die Mikrokosmen NP6 und NP7 und in geringem Ausmaß NP5 unterschieden sich während und auch noch nach der Dosierungsphase am stärksten von den unbelasteten Kontrollen. Aus den Species-Scores und dem cdt -Wert lassen sich die Abundanzunterschiede einzelner Arten in den belasteten Mikrokosmen von den Kontrollen abschätzen. Je weiter der Species-Score einer Art von 0 verschieden ist, desto besser eignet sich dieser zur Erklärung der Varianz. Die Unterschiede in der Abundanz werden durch die Nauplien- und Copepodit-Stadien die Copepoden am deutlichsten erklärt, ebenso von den Cladoceren-Spezies *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus*. Bei den Rotatorien liegen die Species-Scores für einige Arten im negativen Bereich (*Proales spp.* und *Trichocerca spp.*), andere Vertreter haben hohe Species-Scores im positiven Bereich (*Synchaeta spp.*, *Polyarthra spp.*, *Keratella cochlearis*). Ein Permutationstest mit der ersten Komponente der PRC für alle Arten während der Dosierungsphase zeigte einen signifikanten Einfluss der Gruppeneinteilung.

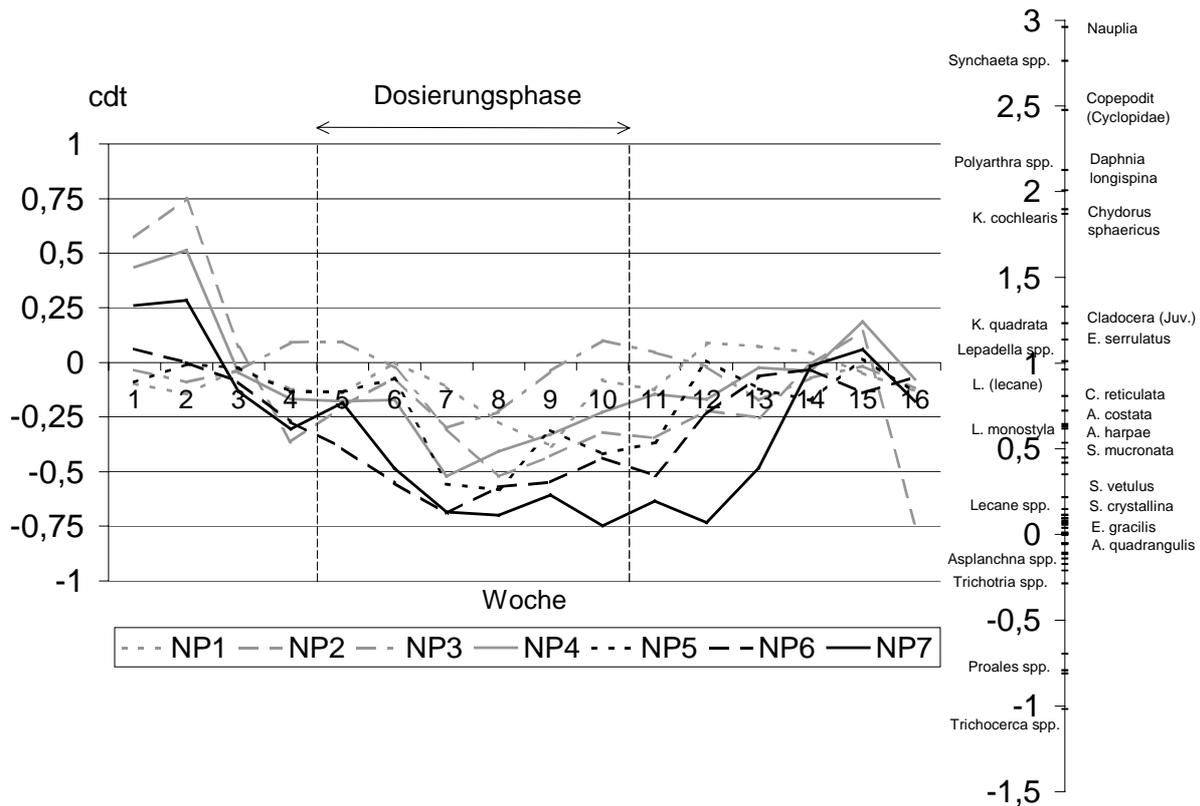


Abb. 44: Principal-Response-Curves und Species-Scores für alle Arten des Zooplanktons (Nonylphenol)

3.3.3.2 *Principal-Response-Curves (Rotatoria-Cladocera-Copepoda, NP-Versuch)*

Die erste Komponente der Principal-Response-Curve für die drei Zooplanktongruppen Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Abb. 45) erklärt 57,7 % der Varianz. Die Kurven für NP6, NP7 und in geringerem Ausmaß auch NP5 weichen ab Beginn der Dosierungsphase am deutlichsten von den Kontrollen ab. Die Gruppe der Copepoden hat den höchsten Species-Score-Wert von 1,3373. Ihre Abundanzen wichen demzufolge am stärksten vom Mittelwert der Kontrollen ab. Diese Tendenz wurde bereits bei der Betrachtung der Einzelarten für die verschiedenen Entwicklungsstadien der Copepoden festgestellt. Die Gruppe der Cladoceren zeigt einen Species-Score-Wert von 1,0994. Bei der PRC für die einzelnen Arten lagen alle Werte für die Species-Scores der zur Gruppe der Cladoceren gehörenden Taxa ebenfalls im positiven Bereich. Die zusammengefassten Abundanzen sind zur Erklärung der Varianz der NP-Mikrokosmen von den Kontrollen ebenfalls gut geeignet.

Die Rotatorien tragen einen Species-Score von nahezu 0. Das bedeutet, dass die Abundanzen in dieser Zooplanktongruppe nicht für die Abweichungen der Mikrokosmen NP5 bis NP7 von den unbelasteten Kontrollen verantwortlich sind. Bei der Betrachtung der einzelnen Arten reichten die Species-Scores der verschiedenen Vertreter der Rotatorien über ein breites Spektrum vom positiven bis in den negativen Bereich. Durch die Zusammenfassung der Abundanzen verliert die Gruppe der Rotatoria an Bedeutung für die Erklärung der Abweichungen und eventuelle chemikalienbedingte Effekte auf einzelne Arten können nicht erkannt werden. Um abschätzen zu können, wann welche Arten in den belasteten Mikrokosmen bezüglich ihrer Abundanzen von den Kontrollen abweichen, muss die Populationsdynamik der einzelnen Arten betrachtet werden.

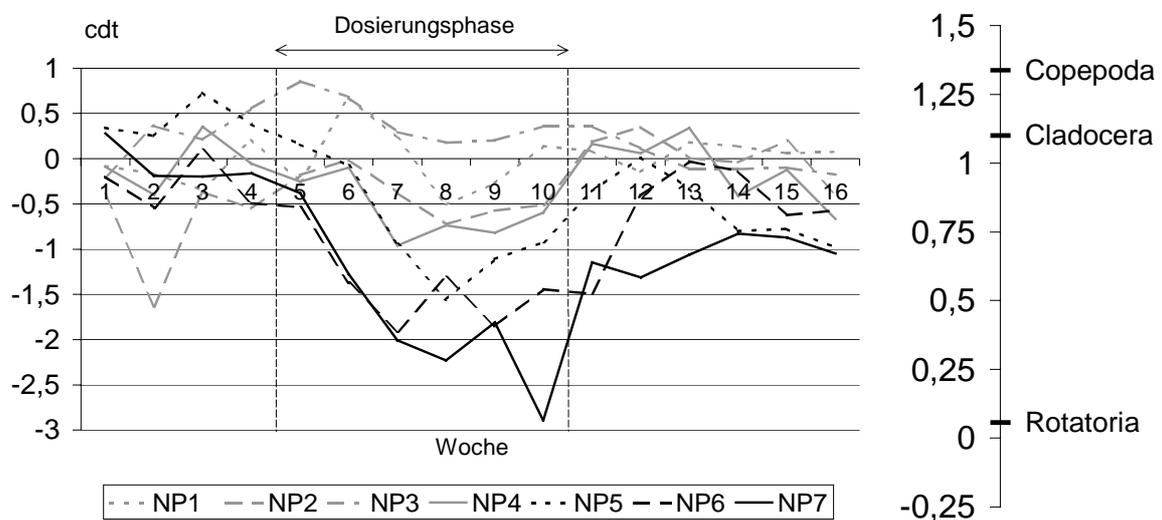


Abb. 45: Principal-Response-Curves und Species-Scores für Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Nonylphenol)

Unter Berücksichtigung der durchgeführten Datentransformation (Logarithmierung) führt das Produkt des cdt-Wertes und des Species-Scores zu einer Annäherung des Quotienten der Abweichung der Abundanzen in den NP-Mikrokosmen gegenüber den Kontrollen. Demzufolge gilt:

$$e^{SS \times cdt} \approx \frac{R_{NP}}{K}$$

SS	Species-Scores
cdt	Wert der PRC (canonischer Koeffizient)
R_{NP}	Abundanz in der NP-Mikrokosmen
K	mittlere Abundanz in den Kontrollen

Ein Permutationstest mit der ersten Komponente der PRC für die drei Zooplanktongruppen (Rotatoria, Cladocera, Copepoda) während der Belastungsphase ist signifikant ($p = 0,0294$). Allerdings werden hier keinerlei Unterschiede in der NP-Konzentration berücksichtigt. Die cdt-Werte (Werte der PRCs) können mit dem Logarithmus der NP-Konzentration in Beziehung gesetzt werden (Abb. 46).

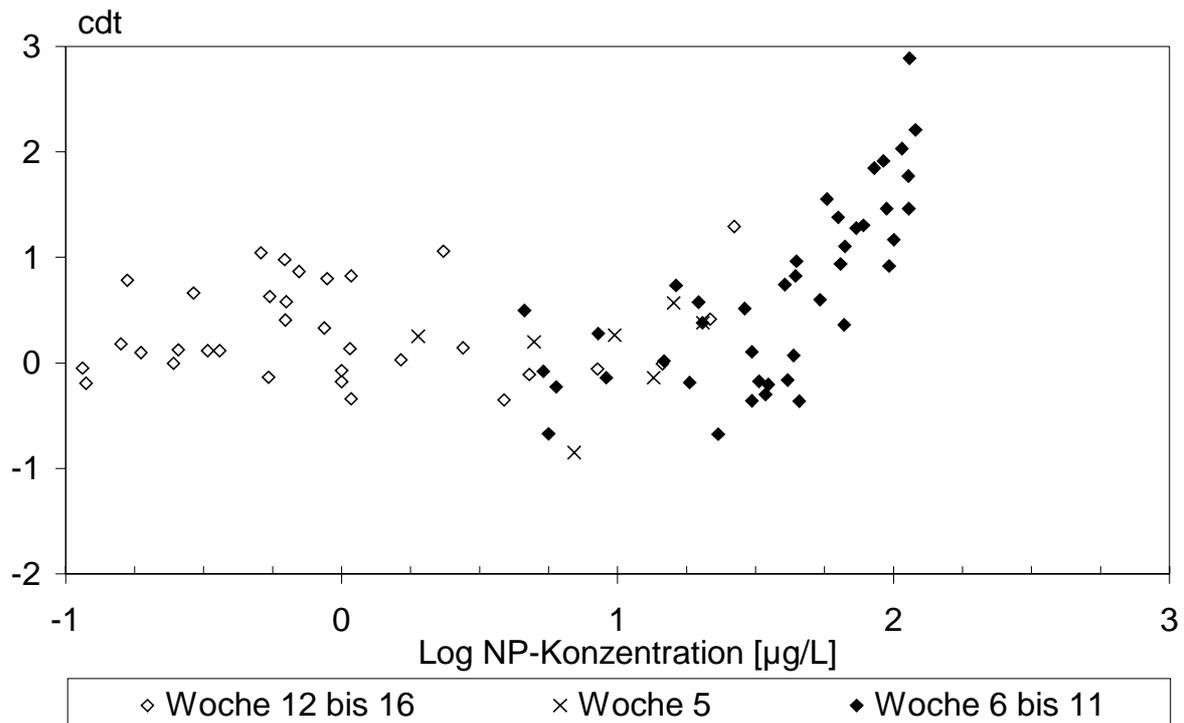


Abb. 46: Korrelation des cdt-Wertes der 1. Komponente mit dem Logarithmus der NP-Konzentration

Für Werte von Log NP-Konzentration < 1 ist kein Zusammenhang der cdt-Werte und dem Logarithmus der NP-Konzentration festzustellen. Diese Werte sind im wesentlichen der Postapplikationsphase (Woche 12 bis 18) zugeordnet. Die NP-Konzentration für Woche 5 (erster Zeitpunkt nach Dosierungsbeginn) liegen sowohl im Bereich unterhalb von $10 \mu\text{g/L}$, als auch leicht darüber. Die NP-Konzentrationen für die Wochen 6 bis 11 liegen oberhalb von $10 \mu\text{g/L}$ (Log NP-Konzentration > 1). Für NP1 wurden an einigen Zeitpunkten Werte kleiner als $10 \mu\text{g/L}$ beobachtet, weswegen die für die Wochen 6 bis 11 getrennt durchgeführten Regressionen ohne Berücksichtigung von NP1 erfolgten. Die Regressionsgeraden für die Wochen 6 bis 11 verlaufen ähnlich und zeigen einen linearen Zusammenhang (Abb. 47). Die Regressionsgleichungen und R^2 -Werte sind Tab. 5 zu entnehmen.

Aus den cdt-Werten für die Vordosierungsphase wurde der Mittelwert sowie die Standardabweichung bestimmt (MW: 0,087, STABW: 0,455). Auf der Basis dieser Daten wurde ein 95%-Konfidenzintervall (Mittelwert des cdt: $0,087 \pm 0,177$) konstruiert. Aus den Schnittpunkten der Regressionsgeraden mit den Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls und dem Mittelwert des cdt-Wertes der Vordosierungsphase lassen sich NP-Konzentrationen mit unterschiedlichen Graden an Konservativität errechnen und Konzentrations-Wirkungsbeziehungen formulieren. Dabei markiert der Schnittpunkt einer Regressionsgerade mit dem oberen Rand des 95%-Konfidenzintervalls die konservativste NP-Konzentration, oberhalb derer signifikante Unterschiede in den Abundanzen der Zooplanktonpopulationen im Vergleich zu den Kontrollen zu erwarten sind (Abb. 47). Die Konzentrationen liegen hier zwischen 19,1 $\mu\text{g/L}$ (Woche 8) und 44,0 $\mu\text{g/L}$ (Woche 11). Der Mittelwert von Woche 6 bis 11 beträgt 30,1 $\mu\text{g/L}$. Die Festlegung eines $\text{NOEC}_{\text{Community}}$ -Wertes kann sehr konservativ erfolgen, in diesem Fall ist die kleinste NP-Konzentration auszuwählen. Eine liberalere Methode stellt die Auswahl des Mittelwertes über die gesamten betrachteten Zeitpunkte dar (Liber *et al.* 1992). Für Nonylphenol wäre der konservative $\text{NOEC}_{\text{Community}}$ bei 19,1 $\mu\text{g/L}$ anzusetzen. Für das Mittel aller betrachteten Zeitpunkte beträgt der $\text{NOEC}_{\text{Community}}$ 30,1 $\mu\text{g/L}$.

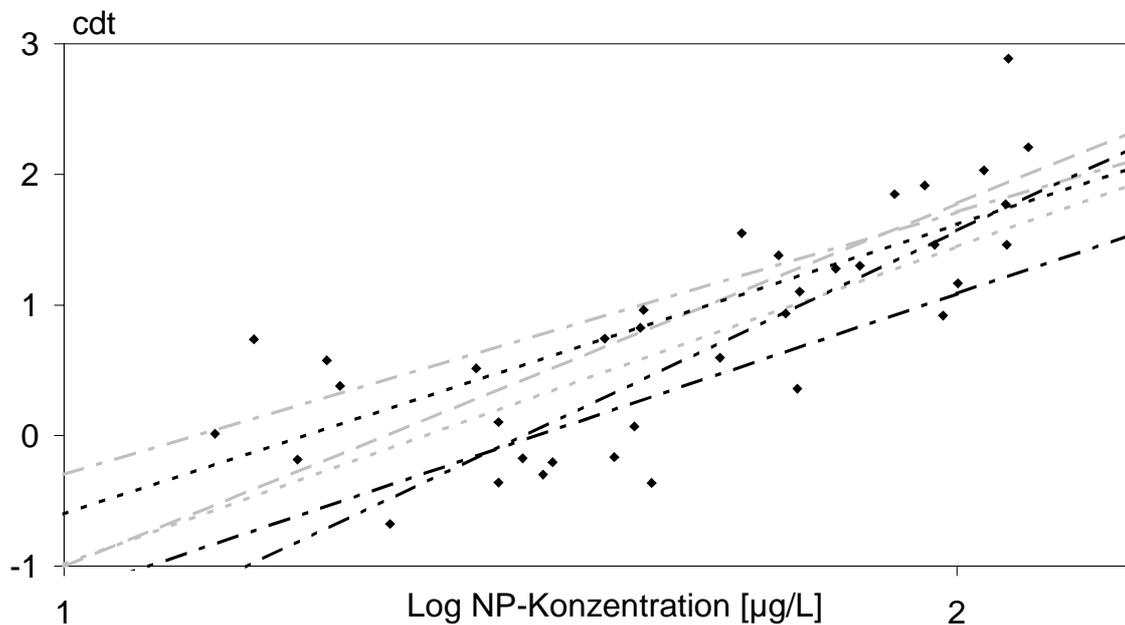


Abb. 47: Regressionsgeraden der Wochen 6 bis 11 für NP2 bis NP7

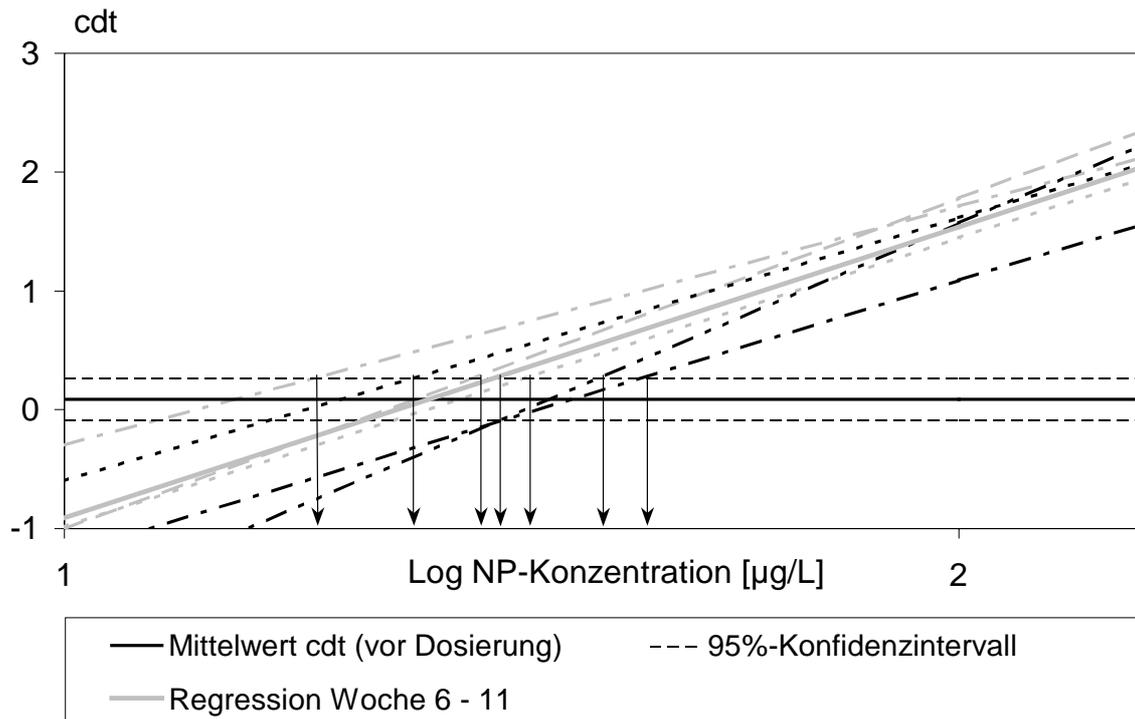


Abb. 48: Schnittpunkte der Regressionsgeraden mit der oberen Grenze des 95%-Konfidenzintervalls

Tab. 5: Regressionsgleichungen, R^2 und NP-Konzentrationen beim Schnittpunkt der linearen Regressionen für Woche 6 bis 11 (NP2 bis NP7) mit der oberen Grenze des 95%-Konfidenzintervalls

	Regression	R^2	NP-Konz. [µg/L]
Woche 6	$y = 2,4331 \times \log[NP] - 3,4193$	0,6458	32,6
Woche 7	$y = 2,7849 \times \log[NP] - 3,7913$	0,723	28,6
Woche 8	$y = 2,0114 \times \log[NP] - 2,3122$	0,5583	19,1
Woche 9	$y = 2,2163 \times \log[NP] - 2,8166$	0,6299	24,5
Woche 10	$y = 3,2313 \times \log[NP] - 4,8954$	0,5207	39,5
Woche 11	$y = 2,3097 \times \log[NP] - 3,5318$	0,7685	44,0
Woche 6 - 11	$y = 2,448 \times \log[NP] - 3,357$	0,585	30,1

Auf der Basis eines mittleren linearen Zusammenhangs zwischen cdt-Wert und Log NP-Konzentration (Regression mit den Werten von Woche 6 bis 11) lassen sich die Abundanzabnahmen für Cladoceren und Copepoden abschätzen:

$$A_{Cladocera} = 1 - e^{-(2,448 \times \log[NP] - 3,357) \times SS_{Cladocera}}$$

$A_{Cladocera}$ Abundanzabnahme der Cladocera [%]

[NP] NP-Konzentration [$\mu\text{g/L}$]

$SS_{Cladocera}$ Species-Score Cladocera (1,0994)

$$A_{Copepoda} = 1 - e^{-(2,448 \times \log[NP] - 3,357) \times SS_{Copepoda}}$$

$A_{Copepoda}$ Abundanzabnahme der Copepoda [%]

[NP] NP-Konzentration [$\mu\text{g/L}$]

$SS_{Copepoda}$ Species-Score Copepoda (1,3373)

Beispielhaft formulierte Dosiswirkungsbeziehungen sind Tab. 6 zu entnehmen.

Tab. 6: Geschätzte prozentuale Abundanzabnahmen der Copepoden und Cladoceren bei der Applikation von Nonylphenol

NP-Konzentration [$\mu\text{g/L}$]	geschätzte Abundanzabnahmen [%]	
	Copepoda	Cladocera
50	66	59
75	81	74
100	87	82
150	93	89
200	95	92

Zur Beurteilung von Recovery-Effekten im Anschluss an die Dosierungsphase wurden die Korrelationen von cdt-Wert und logarithmierten NP-Konzentrationen für die Mikrokosmen NP1 bis NP7 während der Postapplikationsphase betrachtet. Im Mikrokosmos mit der höchsten Belastung (NP7) wurde von Woche 12 bis 16 keine Annäherung der Werte in den Bereich der Kontrollen ($\pm 95\%$ -Konfidenzintervall) beobachtet. Während der sechswöchigen Postapplikationsphase konnte keine Recovery der Zooplanktongesellschaft in diesem Mikrokosmos festgestellt werden. Die Mikrokosmen NP1 und NP3 wichen im Gegensatz dazu nach der Dosierung kaum von den Kontrollen ab. In diesen Mikrokosmen fand eine vollständige Erholung des Zooplanktons von dem durch die Chemikalien verursachten Stress statt (Abb. 49).

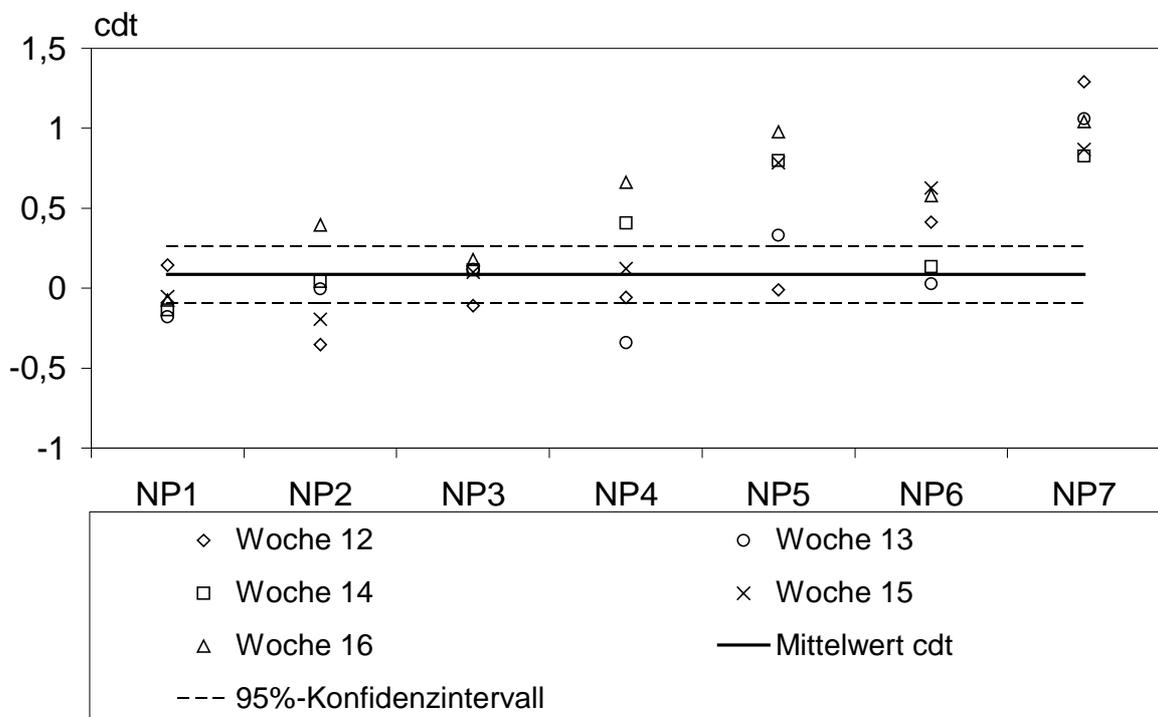


Abb. 49: cdt-Werte und NP-Konzentrationen (logarithmiert) in der Postapplikationsphase (Woche 12 bis 16)

3.4 Phytoplanktonpopulation beim Versuch mit Nonylphenol

3.4.1.1 Artenzahl, Diversität und Evenness (Phytoplankton, NP-Versuch)

Die Anzahl der Phytoplanktonarten in den Mikrokosmen betrug während der Vorapplikationsphase 22 bis 38. Während der Dosierungsphase wurden in den Mikrokosmen NP2, NP4, NP5 und NP7 31 bis 48 Arten gefunden, im Vergleich zu 22 bis 40 Arten in K2 und K3. Während der Nachapplikationsphase lagen die Artenzahlen bei 25 bis 41 (NP2, NP4, NP5, NP7) bzw. 29 bis 40 (K2 und K3). Die Diversität H' (Abb. 50) in den Mikrokosmen schwankte während der Vorapplikationsphase zwischen 0,1 und 2,7. Während der Dosierungsphase lag die Diversität H' zwischen 1,2 und 2,8 in den mit NP dosierten Mikrokosmen und zwischen 1,2 und 2,4 in den Kontrollen. Während der Postapplikationsphase wurden in den Kontrollen Diversitäten zwischen 1,7 und 2,7 bzw. 1,3 bis 2,9 in den belasteten Mikrokosmen erreicht. Die Evenness entwickelte sich während der gesamten Versuchsdauer analog (Abb. 50).

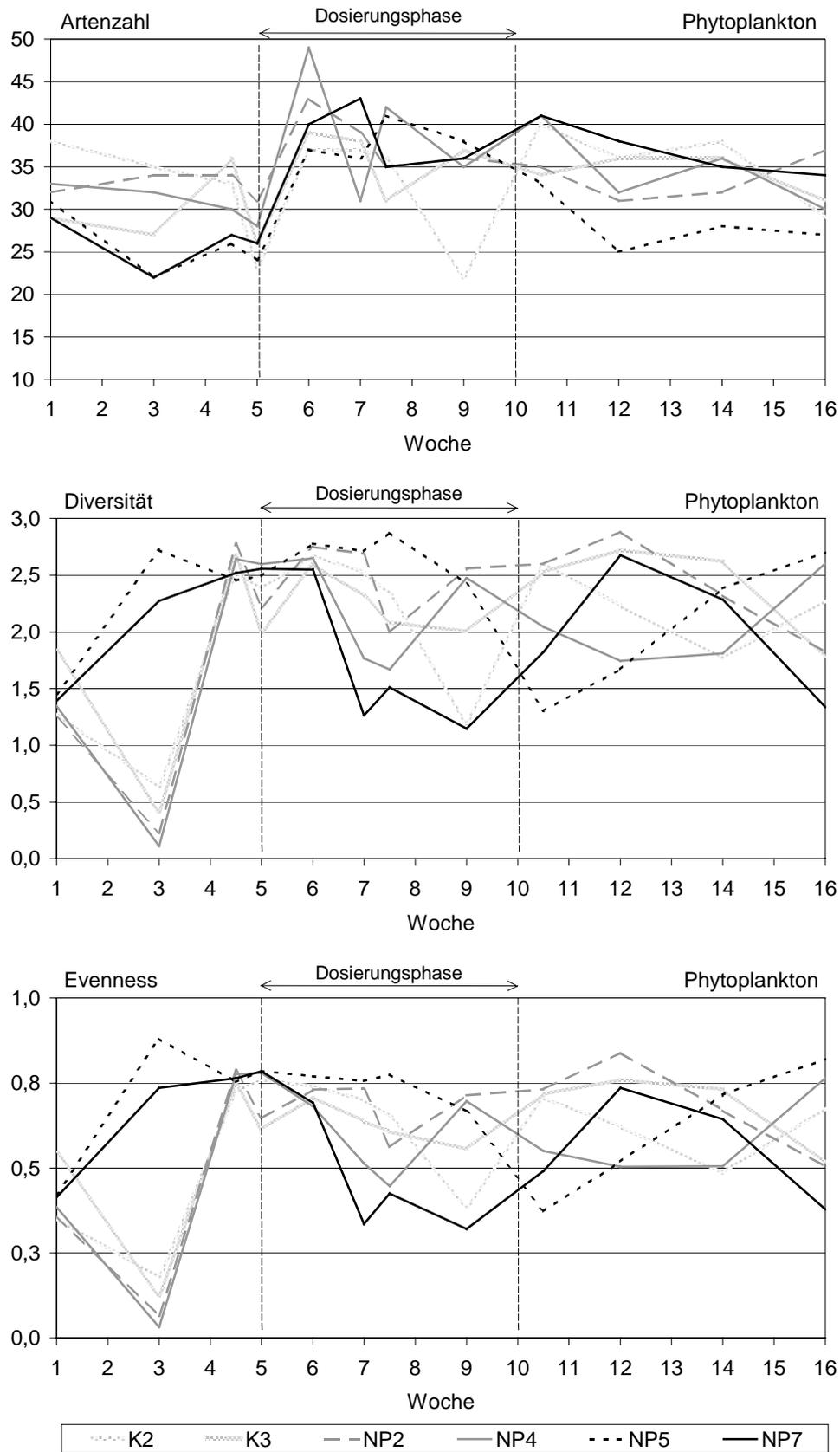


Abb. 50: Artenzahl, Diversität und Evenness des Phytoplanktons (Nonylphenol)

3.4.1.2 Biovolumenanteile nach Klassen (Phytoplankton, NP-Versuch)

Kontrollen (K2, K3)

Die *Chlorophyceae* waren in Woche 1 bis 2 mit 5 bis 15 % am Gesamtbiovolumen des Phytoplanktons beteiligt und erreichten in Woche 3 ihr Maximum mit > 90 %. Im weiteren Versuchsverlauf war diese Algenklasse mit Anteile zwischen 5 und 30 % vorhanden. Die *Chrysophyceae* hatten den größten Anteil am Biovolumen in Woche 1 (40 bis 60 %) und wurden ab Woche 4 nicht mehr in K2 und K3 gefunden. Die *Bacillariophyceae* waren während des gesamten Beprobungszeitraumes mit Anteilen zwischen 5 und 25 % in den Mikrokosmen vorhanden. Die Algenklasse der *Conjugatophyceae* (in erster Linie einzellige Vertreter der Zieralgen) traten ab Woche 7 (K2) bzw. Woche 4 (K3) mit Anteilen > 20 % auf. Ab Woche 9 (K3) bzw. Woche 10 (K2) betrug der Anteil dieser Algenklasse am Phytoplanktonbiovolumen zwischen 30 und 80 %. Der Anteil der *Dinophyceae* nahm von Woche 1 bis zum Versuchsende von ca. 15 % auf < 5 % ab (Abb. 51).

Nonylphenol-Mikrokosmen (NP2, NP4, NP5, NP7)

Die Verteilung der Biovolumina auf die einzelnen Algenklassen ähnelt bei NP2 den Verhältnissen im unbelasteten Mikrokosmos K3. Ab Woche 5 dominierten bis zum Versuchsende die Jochalgen (*Conjugatophyceae*, hauptsächlich einzellige Zieralgen) mit Anteilen zwischen 40 und 80 %. Die *Dinophyceae* waren bis Woche 11 mit Anteilen bis zu 20 % vertreten. Die *Chlorophyceae* hatten ihr Maximum von bis zu 98 % wie in den Kontrollen in der Vorapplikationsphase in Woche 3. Die *Cryptophyceae* hatten ihre höchsten Anteile (bis 40 %) während der Dosierungsphase.

In NP4 nahm der Anteil der *Dinophyceae* (hauptsächlich vertreten durch Dinoflagellaten) ab Dosierungsbeginn bis Woche 9 von ca. 10 % auf ca. 60 % zu. Die *Conjugatophyceae* hingegen hatten im selben Zeitraum nur Anteile von etwa 10 %. Die Klasse der *Cryptophyceae* war in NP4 verstärkt vertreten (von Woche 5 bis 16 zwischen 10 und 30 %). Während in K2 und K3 und NP2 in der Postapplikationsphase die *Conjugatophyceae* dominierten, war das Phytoplankton in NP4 durch wechselnde Anteile von Dinophyceen, Cryptophyceen, Conjugatophyceen, Chlorophyceen und Bacillariophyceen charakterisiert.

Das Phytoplanktonbiovolumen in NP5 zeigte bereits in der Vorapplikationsphase eine leicht veränderte Zusammensetzung im Vergleich mit den Kontrollen, NP2 und NP4. Der Anteil der *Cryptophyceae* war deutlich geringer während der Vorapplikationsphase, die *Bacillariophyceae* hingegen nahmen mit 15 bis 40 % einen weitaus größeren Anteil während der Dosierungsphase ein. Die *Cryptophyceae* waren mit bis zu 20 % am Phytoplanktonbiovolumen beteiligt und zu einem geringen Anteil (bis 4 %) waren *Cyanophyceae* vorhanden. Während der Dosierungsphase waren die Zusammensetzungen der Algenbiovolumina vergleichbar mit NP4, mit dem Unterschied, dass die *Conjugatophyceae* vermehrt vorhanden waren (60 % im Vergleich zu 50 % bei NP4), während die *Cryptophyceae* weniger häufig auftraten (5 bis 20 im Vergleich zu 15 bis 40 % in NP4). Die Phytoplanktonzusammensetzung in NP5 ähnelte während der Postapplikationsphase der Zusammensetzung in NP4, wobei die Dinophyceen in NP5 etwas häufiger, die *Cryptophyceae* weniger häufig als in NP4 auftraten. Die Zusammensetzung der Phytoplanktonbiovolumina in NP7 ähnelte während der Vorapplikationsphase derjenigen von NP5. Der Anteil der *Conjugatophyceae* und der *Chlorophyceae* war allerdings etwa doppelt so groß (max. 15 % bzw. 10 bis 20 %). Während der Dosierungsphase nahmen die *Chlorophyceae* von 20 auf 70 % zu. Nach Dosierungsende nahm der Anteil der *Chlorophyceae* auf ca. 3 % ab, während die *Dinophyceae* von 10 auf maximal 80 % zunahmen. Die *Xanthophyceae* waren in K2 zwischen Woche 4 und 8 mit Anteilen bis über 20 % an der Phytoplanktonbiomasse beteiligt, in K3 dagegen nur mit bis zu max. 5 %. In den Nonylphenol-Mikrokosmen trat diese Algenklassen während der gesamten Versuchsdauer nur mit verschwindend geringen relativen Abundanzen auf (Abb. 52 und Abb. 53).

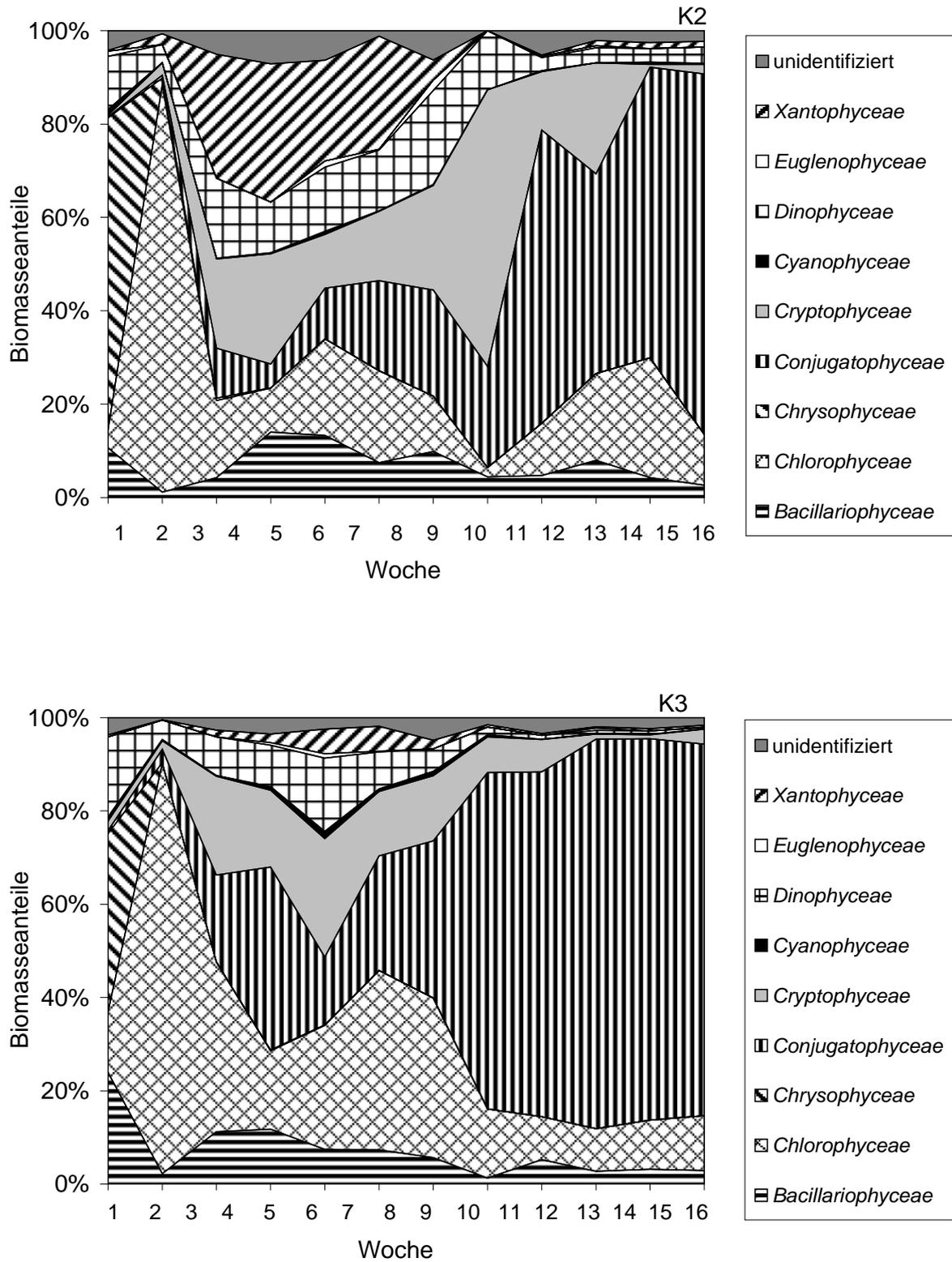


Abb. 51: Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft in K2 und K3 (Nonylphenol)

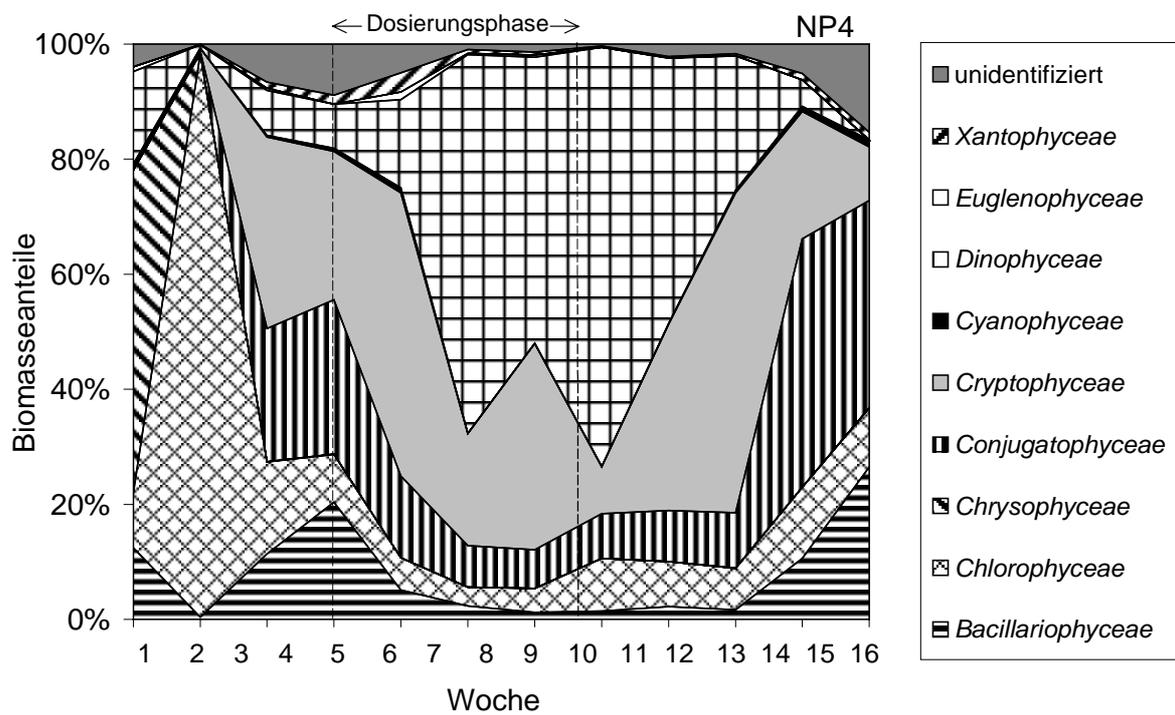
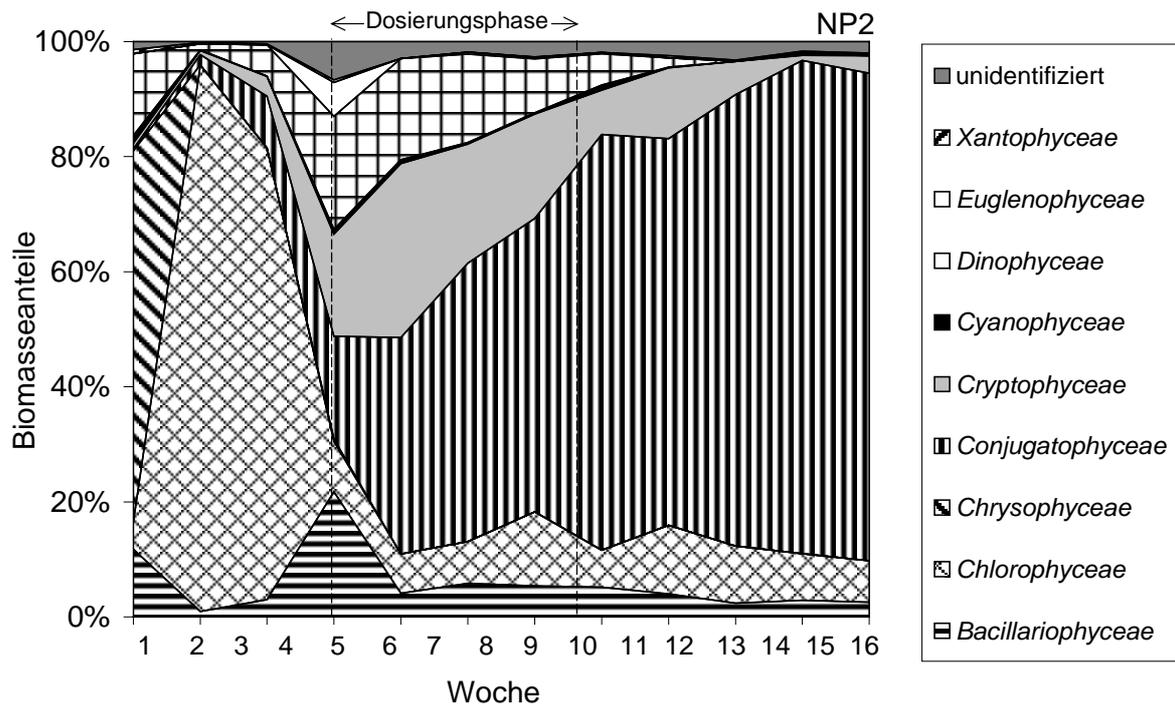


Abb. 52: Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft in NP2 und NP4 (Nonylphenol)

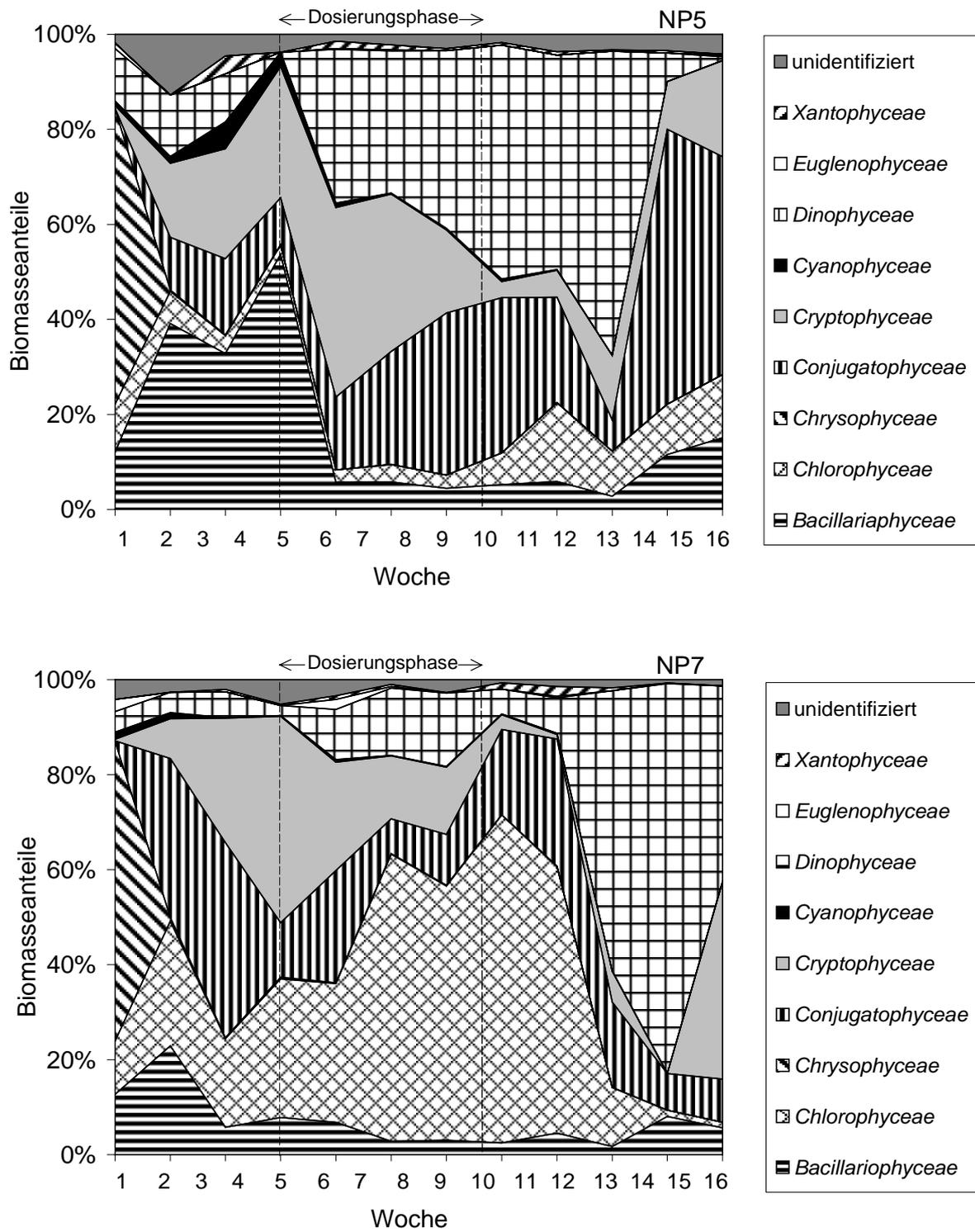


Abb. 53: Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft in NP5 und NP7 (Nonylphenol)

3.4.1.3 Zelldichte und Biomasse (Phytoplankton, NP-Versuch)

Die Zelldichten in den Kontrollen K2 und K3 erreichten in Woche 3 ihren Maximalwert (ca. 34.000 bzw. 12.000 Zellen/mL). In den Mikrokosmen NP2 und NP4 wurden zur selben Zeit 28.000 (NP2) bzw. 61.000 (NP4) Zellen/mL erreicht, während die höchsten Zelldichten in NP5 und NP7 mit 28.000 bzw. 25.000 Zellen/mL zu Versuchsbeginn auftraten. Vor Beginn der Dosierung sanken die Zelldichten in allen Mikrokosmen unter 4.000 Zellen/mL. Während der Dosierung stiegen die Zelldichten in allen Mikrokosmen von 2.000 auf 7.000 bis 12.000 Zellen/mL. In den Kontrollen wurde ein zweites Maximum während der Postapplikationsphase in Woche 12 erreicht (ca. 10.000 bis 13.000 Zellen/mL), die Zelldichten von NP4, NP5 und NP7 betragen bereits zwischen Woche 10 und 11 zwischen 9.000 und 17.000 Zellen/mL. In NP2 wurden erst in Woche 16 Zelldichten über 10.000 Zellen/mL festgestellt. Analog zum Verlauf der Zelldichten war die Entwicklung der Phytoplanktonbiomasse in den Mikrokosmen. Die Maximalwerte betragen in Woche 3 zwischen 10.000.000 und 50.000.000 µg/mL, in NP5 und NP7 wurden dagegen nur ca. 7.000.000 µg/mL zu Versuchsbeginn erreicht. Nach einem Rückgang der Biomassen kurz vor Dosierungsbeginn stiegen die Biomassen aller Mikrokosmen während der Dosierung (Ausnahme NP2) und erreichten während der Postapplikationsphase Werte zwischen 2.000.000 und 10.000.000 µg/mL (Abb. 54).

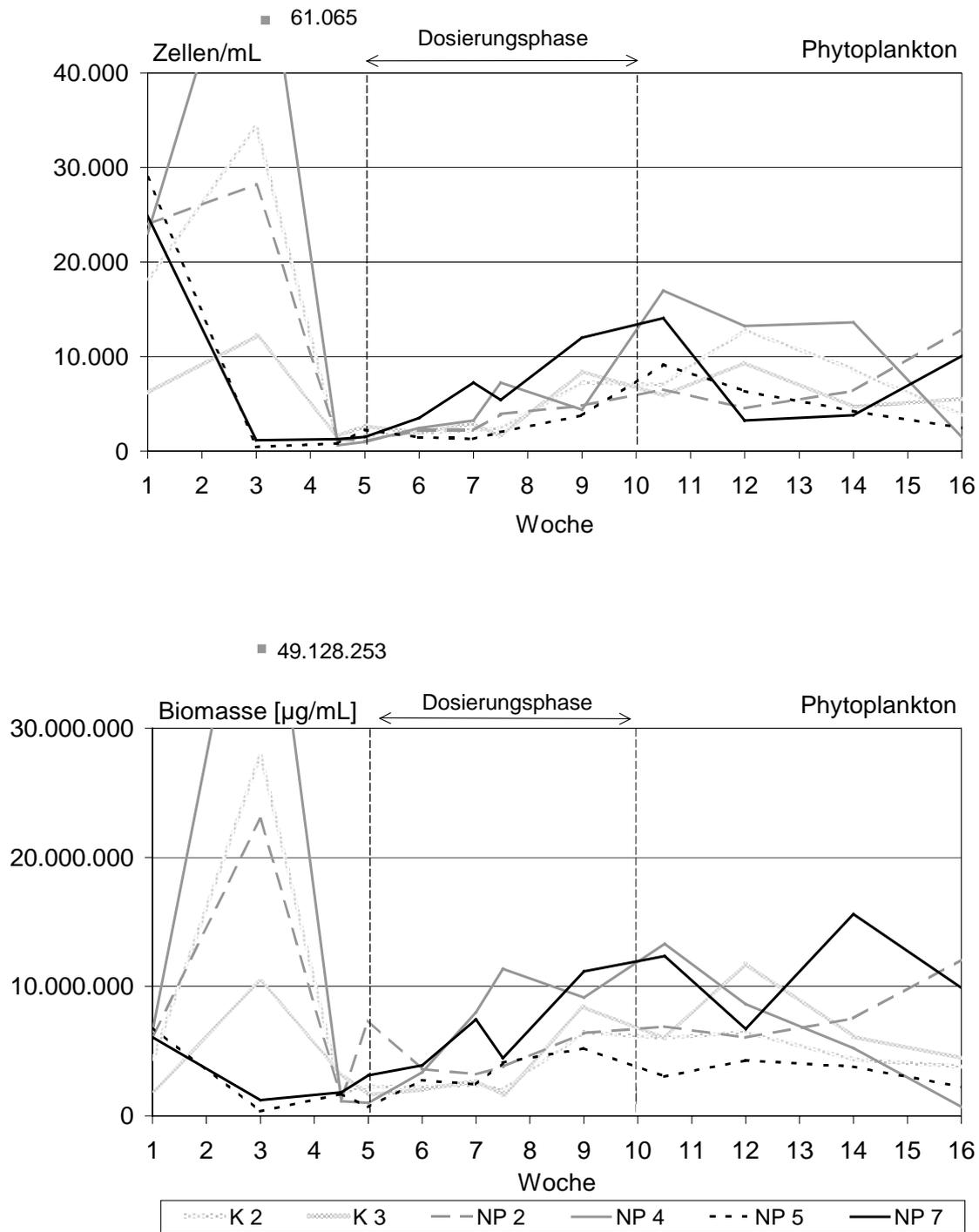


Abb. 54: Zelldichte und Phytoplanktonbiomasse in den Mikrokosmen (Nonylphenol)

(Punkte außerhalb der Skalierung sind als Symbole mit Angabe des Wertes eingezeichnet.)

3.4.1.4 Principal-Response-Curves (Phytoplankton, NP-Versuch)

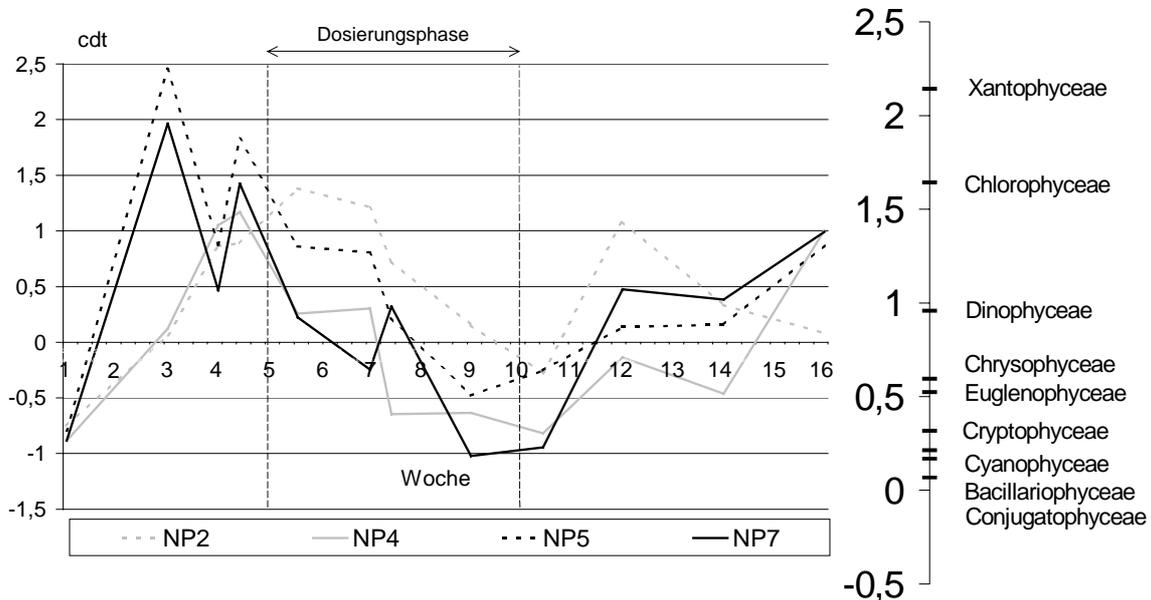


Abb. 55: Principal-Response-Curves und Species-Scores der Phytoplanktonklassen (Nonylphenol)

Die erste Komponente der Principal-Response-Curves mit den in den Mikrokosmen gefundenen Algenklassen erklärt 29,7 % der Varianz (Abb. 55). Während der Vorapplikationsphase wichen die mit Nonylphenol belasteten Mikrokosmen bereits sehr stark von den Kontrollen ab. Mit Beginn der Dosierung in Woche 5 nahmen die Unterschiede allerdings ab. Die geringsten Abweichungen bezüglich der Phytoplanktonklassen zeigten die Mikrokosmen zwischen Woche 7 und 8. Während die Abweichungen der cdt-Werte für die dosierten Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase sowie in den ersten beiden Woche der Dosierungsphase positiv waren, waren die cdt-Werte ab Woche 7 bzw. 8 während der Dosierungsphase für NP4, NP5 und NP7 negativ, um nach Ende der Dosierung wieder anzusteigen. Die Abweichungen der cdt-Werte für NP2 waren mit Ausnahme gegen Ende der Dosierung sowie während der ersten Postapplikationswoche positiv. Nach Ende der Dosierung traten in Woche 10 (NP2, NP5), 11 (NP7) und 12 (NP4) sowie in Woche 14 und 15 die geringsten Abweichungen von den Kontrollen auf. Die höchsten Species-Scores zeigten die *Xanthophyceae*, *Chlorophyceae* und *Dinophyceae*. Die *Xanthophyceae* waren in K2 zwischen Woche 4 und 8 mit Anteilen bis über 20 % an der Phytoplanktonbiomasse beteiligt.

In den Nonylphenol-Mikrokosmen trat diese Algenklassen mit verschwindend geringen relativen Abundanzen auf. Die Chlorophyceen und Dinophyceen waren wichtige Bestandteile des Phytoplanktons und mit unterschiedlichen Anteilen sowohl vor, während als auch nach der Dosierung in den verschiedenen Mikrokosmen vertreten.

3.5 Zooplanktonpopulation beim Versuch mit Ethinylestradiol

3.5.1 Zooplanktonpopulation in den Kontrollen K1 bis K5 (EE-Versuch nach zweimaliger Durchmischung der Wassersäulen)

3.5.1.1 Artenzahl, Diversität und Evenness (Zooplankton, K1 bis K5, EE-Versuch)

Die Artenzahlen in den Mikrokosmen K2 bis K5 lagen in Woche 6 zwischen 13 und 15, lediglich in K1 wurden nur 8 Arten gefunden. Nachfolgend schwankten die Artenzahlen aller Kontrollmikrokosmen zwischen 4 und 13, mit leicht abnehmender Tendenz. Am Ende des Versuchs in Woche 15 wurden zwischen 7 und 11 Arten gefunden. Mit Ausnahme von K1 nahmen Diversität und Evenness zwischen Woche 6 und 10 von 2,0 bis 2,5 (Diversität) bzw. 0,7 bis 0,9 (Evenness) auf 1,1 bis 1,8 (Diversität) bzw. 0,5 bis 0,8 (Evenness) ab und blieben bei K2 bis K4 bis zum Versuchsende in diesem Bereich (Abb. 56). In K5 nahmen die Werte ab Woche 10 wieder von 0,7 auf 1,4 (Diversität) bzw. 0,3 auf 0,9 (Evenness) zu. In K1 schwankte die Diversität zwischen 0,6 und 1,7 ohne eindeutige Tendenz, die Evenness lag zwischen 0,4 und 1,0 mit höchsten Werten in Woche 8 und 11.

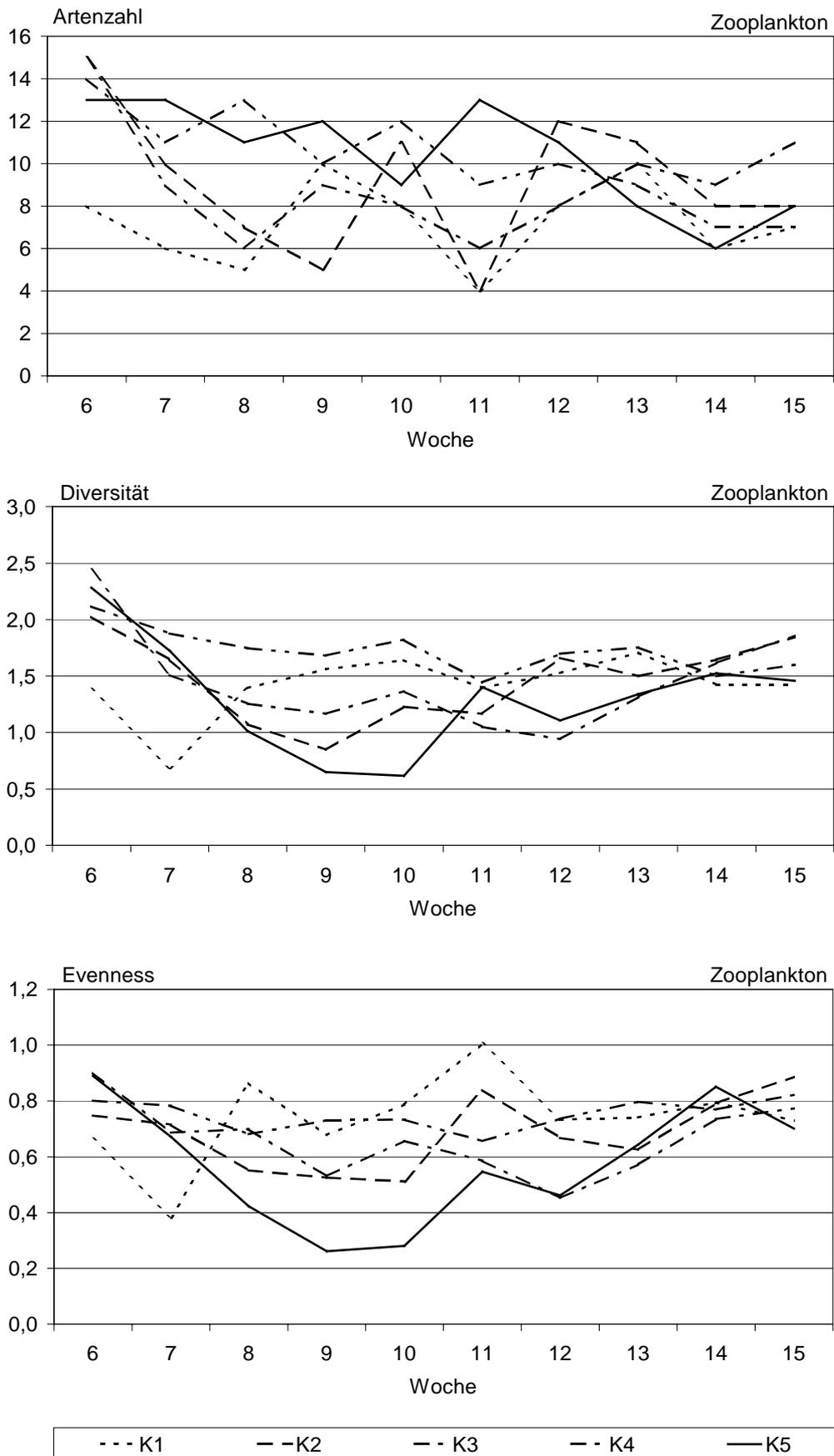


Abb. 56: Artenzahl, Diversität und Evenness in den Kontrollen (Ethinylestradiol)

3.5.1.2 **Relative Abundanz (Zooplankton, K1 bis K5, EE-Versuch)**

Der Anteil der Rotatorien an der Zooplanktongesellschaft in den Mikrokosmen K1 bis K5 betrug zu Beginn des Untersuchungszeitraumes durchschnittlich 25 %. Davon abweichend wurden in K1 nur Anteile von 5 % und in K5 jedoch bis zu von 60 % erreicht (Abb. 57 bis Abb. 59).

Der Anteil der Cladoceren schwankte zwischen 5 % (K5, Woche 10) und 90 % (K1, Woche 1 und 2). Die wichtigsten Arten waren *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus*, die zusammen jeweils den größten Anteil an der Cladocerenpopulation ausmachten. Auffallend war der hohe Anteil von *Sida crystallina* in K4 bis Woche 10 (bis 30 %). *Ceriodaphnia reticulata* trat ab Woche 13 in K1 und K4 mit relativen Abundanzen von ca. 30 % auf. In K2, K3 und K5 spielte diese Art anteilmäßig eine untergeordnete Rolle (Abb. 57 bis Abb. 59).

Die Copepoden hatten relative Abundanzen von 0 % bis maximal 90 %, wobei die Nauplien- und Copepodit-Stadien den weitaus größten Anteil an der Copepodenpopulation hatten. Die Nauplien dominierten in K2, K3 und K5 ab Woche 8 (Abb. 57 bis Abb. 59).

Unter „Sonstige“ wurden *Ostracoda* sowie die vereinzelt vorkommenden Exemplare von *Argulus spp.* und *Chaoborus spp.* zusammengefasst. Der erhebliche Anteil dieser Gruppe in K2 (Woche 10) ist auf die hohen Abundanzen der *Ostracoda* zurückzuführen, die möglicherweise durch aufgewirbeltes Sediment in die Probe gelangten.

Die Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaften der fünf unbelasteten Mikrokosmen war auffallend unterschiedlich. Es ließen sich von Cladoceren dominierte Mikrokosmen (K1 und K4) von K2, K3 und K5 unterscheiden, die hauptsächlich von Copepoden besiedelt wurden (Abb. 57 bis Abb. 59).

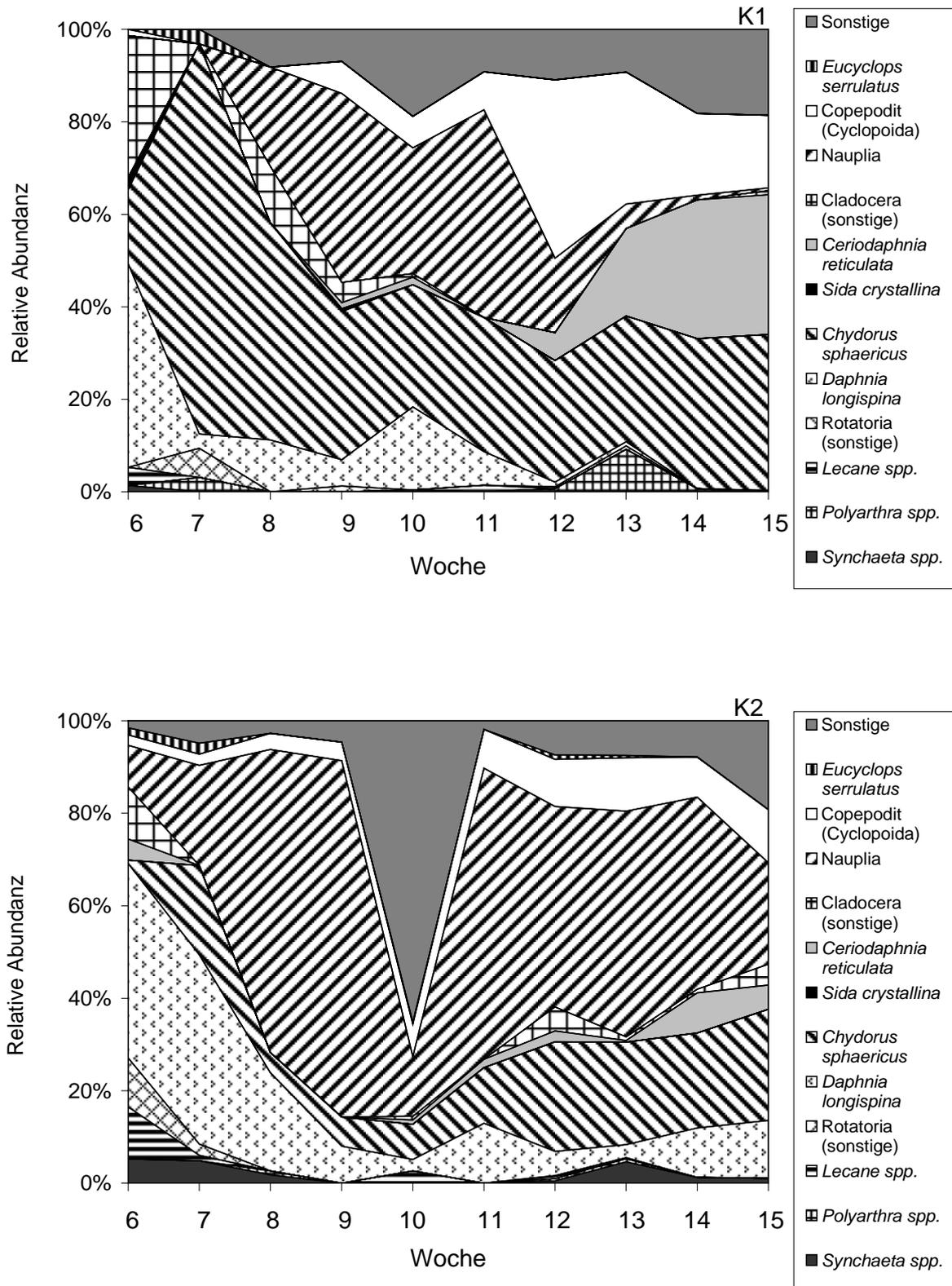


Abb. 57: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K1 und K2 (Ethinylestradiol)

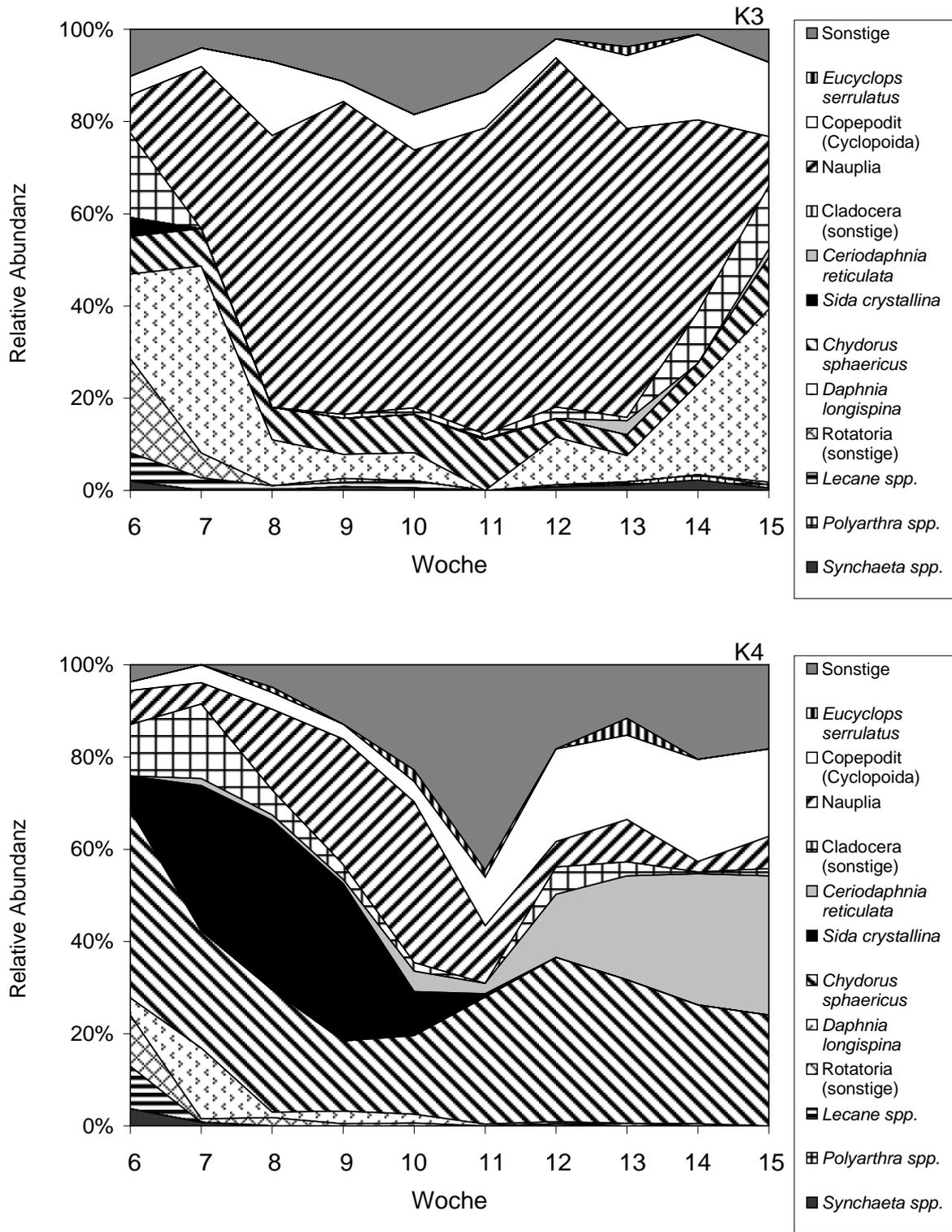


Abb. 58: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K3 und K4 (Ethinylestradiol)

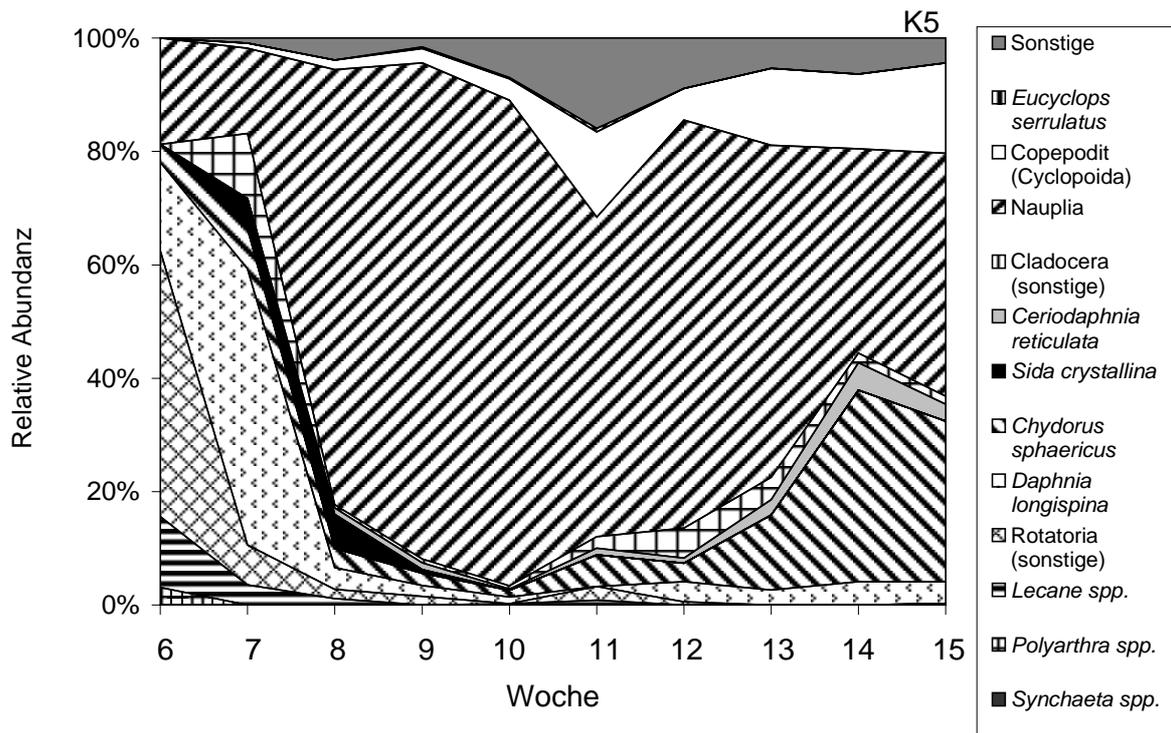


Abb. 59: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K5 (Ethinylestradiol)

3.5.1.3 Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (K1 bis K5, EE-Versuch)

Die Rotatorienpopulationen erreichten maximale Individuenzahlen in Woche 6 (bis 24 Individuen/L) sowie bei K1 und K2 in Woche 13 (21 bis 29 Individuen/L). Während der übrigen Wochen lagen die Individuendichten zwischen 0 und 10 Individuen/L (Abb. 60).

Die Cladoceren traten von Woche 6 bis 15 mit Abundanzen zwischen 10 und 100 Individuen/L auf (Abb. 60). Ab Woche 12 stiegen die Abundanzen bei K1 und K5 auf über 150 Individuen/L.

Die Anzahl der Copepoden (Abb. 60) stieg ab Woche 7. Die höchste Individuendichte wurde in K5 (bis 300 Individuen/L) erreicht, die niedrigste in K4 mit nicht mehr als 50 Individuen/L.

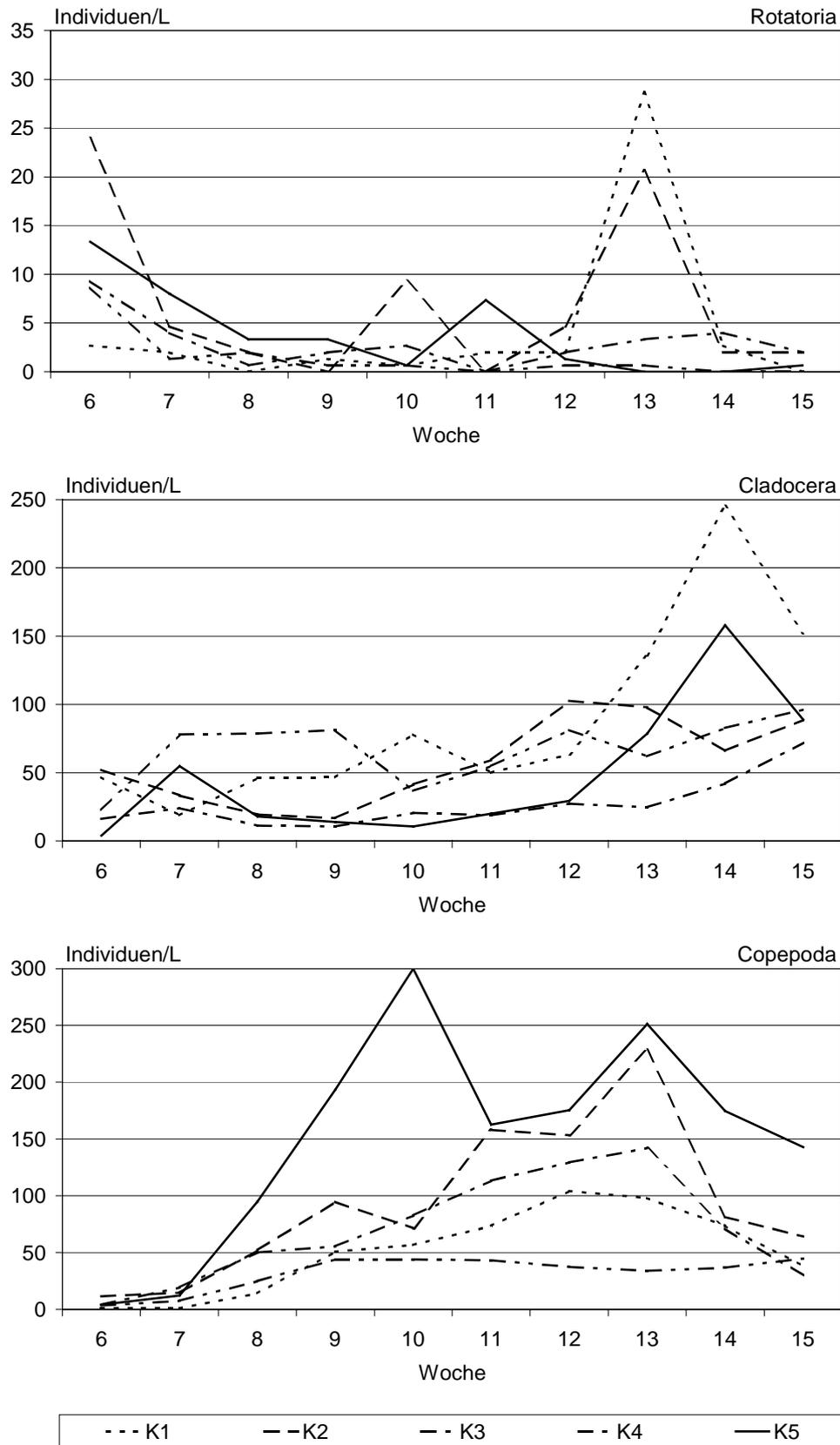


Abb. 60: Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Kontrollen (Ethinylestradiol)

3.5.1.4 *Prozentuale Abweichung der Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda vom Mittelwert der Kontrollen (%ABW_K) (K1 bis K5, EE-Versuch)*

Die prozentualen Abweichungen der Abundanzen der Rotatoria in den Mikrokosmen K1 bis K5 von ihrem Mittelwert betragen meist zwischen - 100 und + 150 % (Abb. 61). Größere Abweichungen wurden in Woche 10 und 11 bei K2 und K5 beobachtet.

Die %ABW_K-Werte der Cladoceren (Abb. 61) in K1 bis K5 vom Mittelwert der Kontrollen betragen zwischen - 80 und maximal +130 %. Die geringsten Abweichungen wurden bei K3 beobachtet, K4 zeigte zwischen Woche 7 und 9 die größten Varianzen.

Die Abundanzen der Copepoden in K1 bis K5 (Abb. 61) zeigten prozentuale Abweichungen im Bereich von ± 100 % mit Ausnahmen von K5 mit bis zu 170 % in Woche 10. Die geringsten Abweichungen vom Mittelwert zeigten K3 und K4.

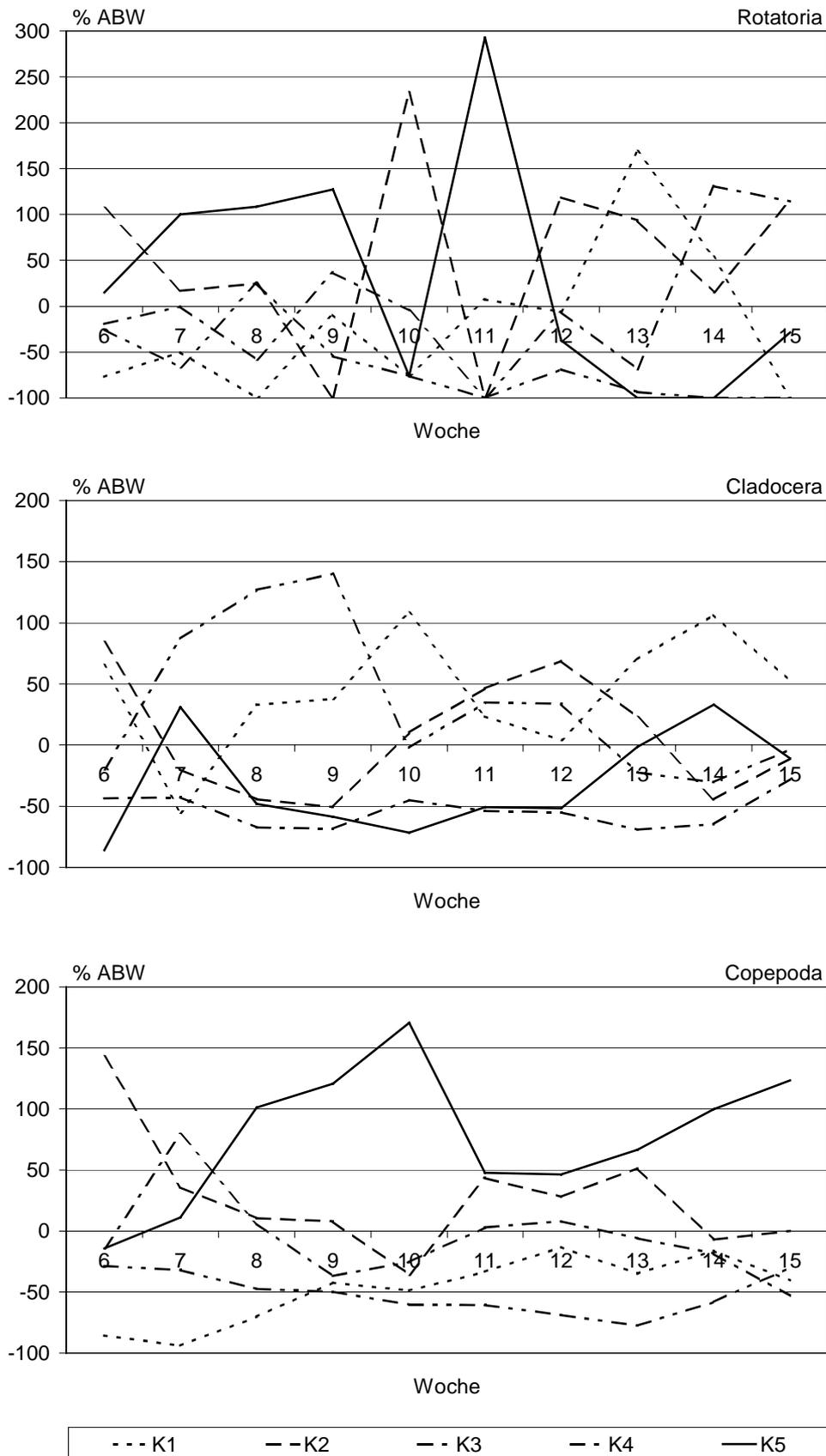


Abb. 61: %ABW_k der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Ethinylestradiol)

3.5.1.5 **Populationsdynamik ausgewählter Zooplanktonarten (K1 bis K5, EE-Versuch)**

Chydorus sphaericus trat in den Mikrokosmen K1 bis K5 zwischen Woche 6 und 12 mit Individuenzahlen zwischen 0 und 50 Individuen/L auf. In Woche 13 bzw. 14 wurden maximale Abundanzen von 75 bis 125 Individuen/L in K1, K2 und K5 beobachtet. Die geringsten Individuendichten dieser Art wurden in K3 gefunden, wo zu keinem Zeitpunkt mehr als 25 Individuen/L gezählt wurden (Abb. 62).

Die Abundanzen von *Daphnia longispina* betrug zwischen 0 und 40 Individuen/L. In Woche 6 wurden in K1 und K2 Individuendichten von 22 und 38 Individuen/L, in Woche 7 in K3 bis K5 Dichten von 20, 22 und 38 Individuen/L gefunden. Individuendichten über 25 Individuen/L traten außerdem in Woche 10 (K1) bzw. 11 (K2) sowie in Woche 15 (K2, K3) auf (Abb. 62). Etwas geringere Individuendichten wurden in K5 in Woche 15 beobachtet.

Die Cladoceren-Art *Ceriodaphnia reticulata* trat erst ab Woche 12 mit Individuenzahlen über 10 Individuen/L in den Mikrokosmen auf. In K1 und K4 kam es ab Woche 13 zu maximalen Abundanzen zwischen 40 und 120 Individuen/L. In den übrigen Mikrokosmen war *Ceriodaphnia reticulata* mit maximal 19 Individuen/L vertreten (Abb. 62).

Die Nauplien-Stadien der Copepoden (Abb. 63) waren bis Woche 7 mit Individuenzahlen von < 50 Individuen/L vertreten. Im folgenden stiegen die Abundanzen auf maximale Dichten von 280 Individuen/L in Woche 10 (K5), 180 Individuen/L in Woche 13 (K2) und 120 Individuen/L in Woche 12 (K3). In K1 bzw. K4 wurden geringere maximale Dichten von 60 Individuen/L (Woche 11) bzw. 40 Individuen/L (Woche 9) erreicht. Die Anzahl der Copepodite stieg langsam zwischen Woche 6 und 10, ab Woche 11 wurden Individuendichten von > 20 bis 45 Individuen/L in K2 bis K5 erreicht. Hohe Individuendichten über 70 Individuen/L traten in K1 in Woche 12 bis 14 auf. Adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* traten mit sehr geringen Abundanzen (maximal 4 Individuen/L) im Plankton der Kontrollmikrokosmen auf.

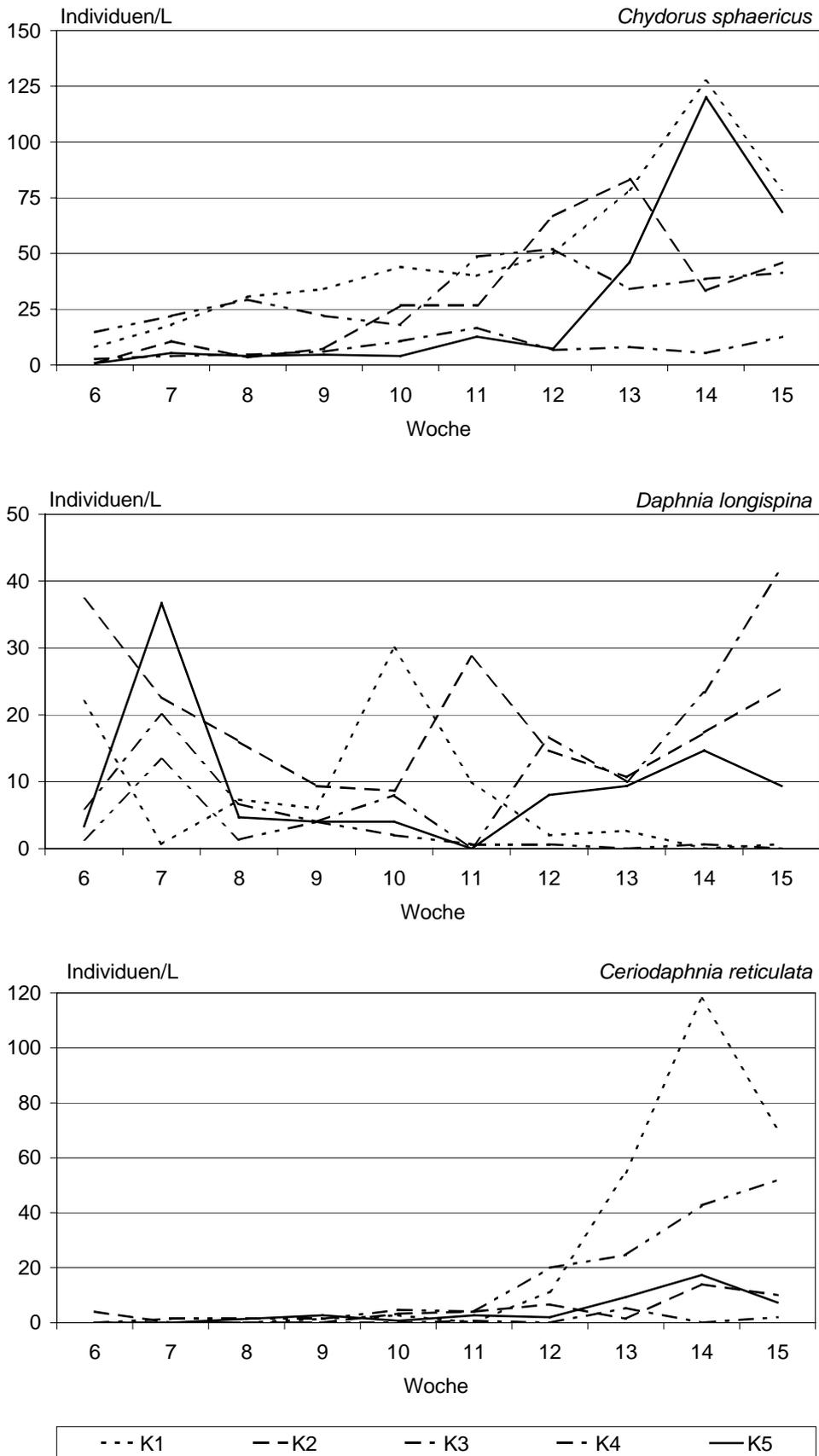


Abb. 62: Populationsdynamik von *Chydorus sphaericus*, *Daphnia longispina* und *Ceriodaphnia reticulata* (Kontrollen EE)

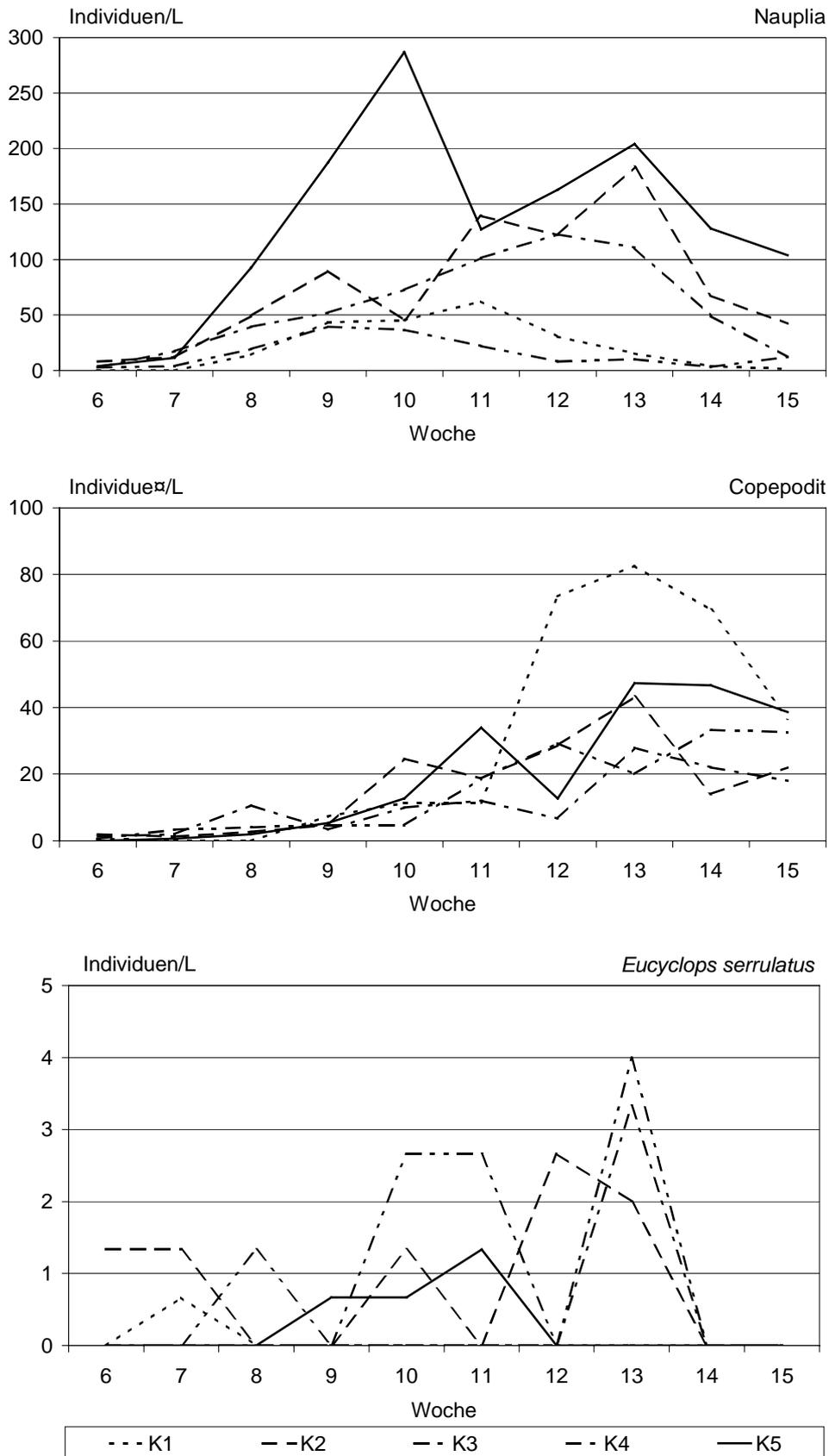


Abb. 63: Populationsdynamik der verschiedenen Entwicklungsstadien von *Eucyclops serrulatus* (Kontrollen EE)

3.5.2 *Zooplanktonpopulation in Ethinylestradiol-Mikrokosmen EE1 bis EE8*

3.5.2.1 **Artenzahl, Diversität und Evenness (Zooplankton, EE1 bis EE8)**

Im Freilandversuch mit Ethinylestradiol konnten während des 15-wöchigen Untersuchungszeitraumes 34 verschiedene Gruppen, Gattungen, Arten und Entwicklungsstadien der Zooplanktonorganismen unterschieden werden. Während der Vorapplikationsphase traten die höchsten Artenzahlen auf. Während der Dosierungs- und Postapplikationsphase war die Zahl der Arten geringer (6 bis 16 im Vergleich zu 7 bis 18 während der Vorapplikationsphase). EE1 bis EE8 wiesen im Mittel in Woche 2 und 5 der Vorapplikationsphase und in Woche 14 der Postapplikationsphase signifikant höhere Artenzahlen als das Mittel der Kontrollen auf ($p < 0,05$). Die sind alle Wochen, in denen noch keine bzw. keine Belastung mehr vorlag. Während der Vorapplikationsphase war die Diversität in allen Mikrokosmen am höchsten (1,2 bis 2,5) und nahm bei den meisten Mikrokosmen einschließlich der Kontrollen gegen Ende der Vorapplikationsphase bzw. zu Beginn der Dosierung ab (Mittel von 1,6). Die abnehmende Diversität ist Folge der abnehmenden Artenzahlen im Verlauf des Versuchs (Abb. 64). Das Mittel der Diversität der belasteten Mikrokosmen unterschied sich zu keinem Zeitpunkt signifikant vom Mittel der Kontrollen. Die Evenness nahm über den gesamten Versuchszeitraum nur geringfügig ab und lag während der Dosierung mit wenigen Ausnahmen in EE1, EE2 und EE7 über dem Bereich der Kontrollen.

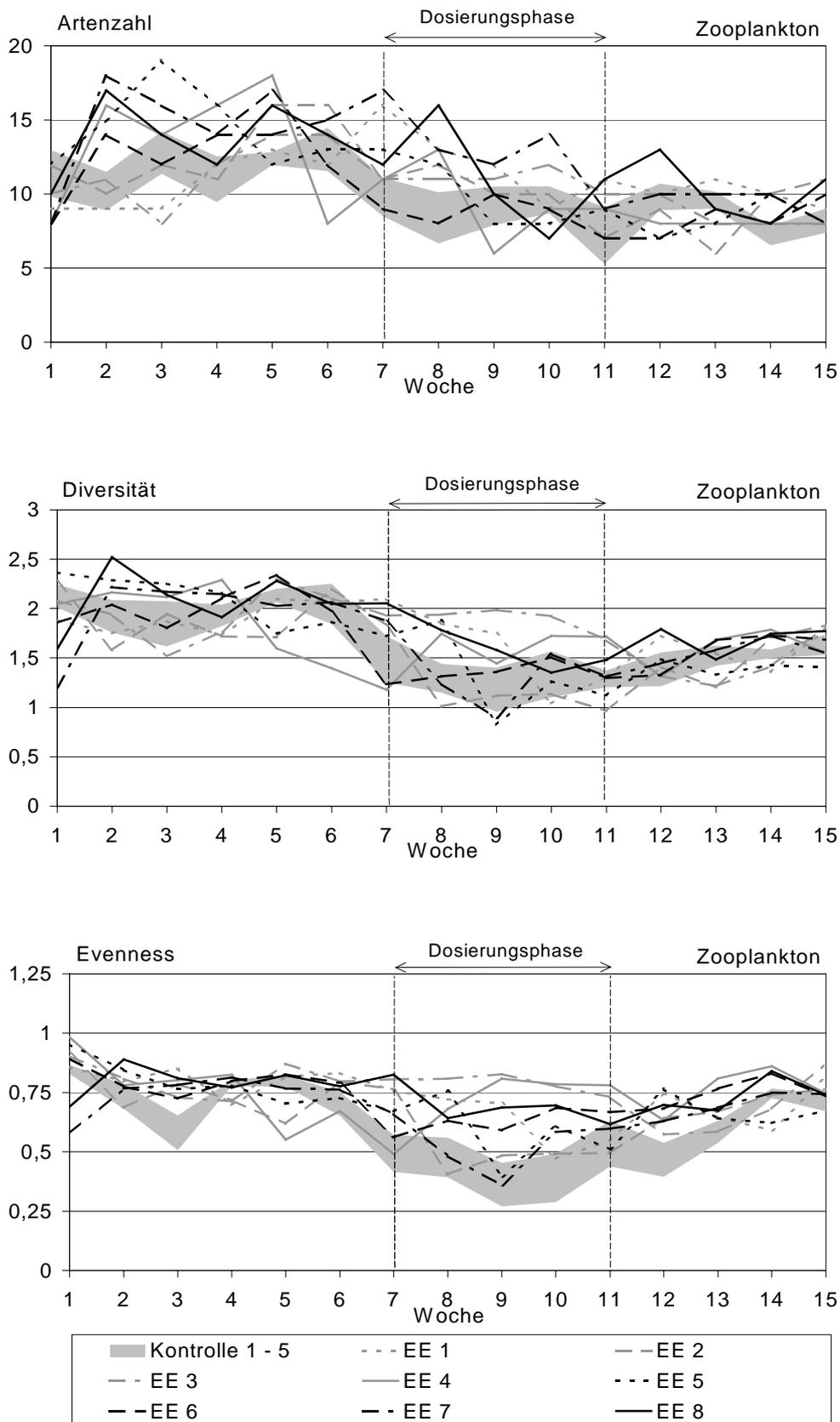


Abb. 64: Artenzahl, Diversität und Evenness in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)

3.5.2.2 **Relative Abundanz (Zooplankton, EE1 bis EE8)**

Der Anteil der Rotatorien an der Zooplanktongesellschaft (Abb. 65 bis Abb. 68) betrug in der Woche vor der Dosierungsbeginn (Woche 6) zwischen 10 und 40 %. Nachfolgend kam es in allen Mikrokosmen zu Abnahmen in Woche 7 (Beginn der Dosierungsphase). Ab Woche 9 waren die Rotatorien in den meisten Mikrokosmen nur noch mit sehr geringen relativen Abundanzen vorhanden. *Lecane spp.* dominierte die Rotatoriengemeinschaft in EE1, EE2, EE4, EE5 und EE8 und war jedoch auch in EE3, EE6 und EE7 vertreten. *Synchaeta spp.* trat in den meisten Mikrokosmen (außer EE3 und EE4) mit Anteilen bis maximal 15 % auf.

Die Cladoceren (Abb. 65 bis Abb. 68) zeigten in Woche 6 vor der Dosierung relative Abundanzen zwischen 5 (EE2, EE4) und über 70 % (EE3). Nachfolgend schwankten die Anteile der Cladoceren zwischen 20 und 30 % (EE1, EE2, EE6, EE7) bzw. zwischen 30 und 50 % (EE4, EE5, EE8). In EE3 betrug die relativen Abundanzen zwischen 55 und 80 %. *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus* waren in EE1, EE2 und EE4 bis EE7 zu etwa gleichen Anteilen vorhanden und machten ca. 80 % aller Cladoceren aus. In EE3 traten von Woche 6 bis 10 hohe relative Abundanzen von *Sida crystallina* auf; ab Woche 10 gehörten über 50 % aller Zooplanktonorganismen in EE3 der Spezies *Ceriodaphnia reticulata* an. In EE8 war *Ceriodaphnia reticulata* von Woche 6 bis 15 mit ca. 20 % an der Zooplanktongesellschaft beteiligt.

Die Gruppe der Copepoden war in Woche 6 vor der Dosierung mit relativen Abundanzen zwischen 10 und 30 % (EE1, EE3, EE6 bis EE8) bzw. mit 50 bis 60 % (EE2, EE4, EE5) an der Zooplanktongesellschaft beteiligt. Nachfolgend stellten sie zwischen $\frac{1}{3}$ und $\frac{2}{3}$ der Organismen des Zooplanktons. Dabei überwogen die Nauplien- und Copepodit-Stadien (Verhältnis ca. 4:1 bis 8:1). Der relative Anteil der Nauplien nahm in den Mikrokosmen von im Mittel 55 % bis zum Ende der Dosierung in Woche 10 auf 20 % während der Postapplikationsphase ab. Adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* wurden zwischen Woche 6 und 15 mit geringen relativen Abundanzen von maximal 2 % gefunden (Abb. 65 bis Abb. 68).

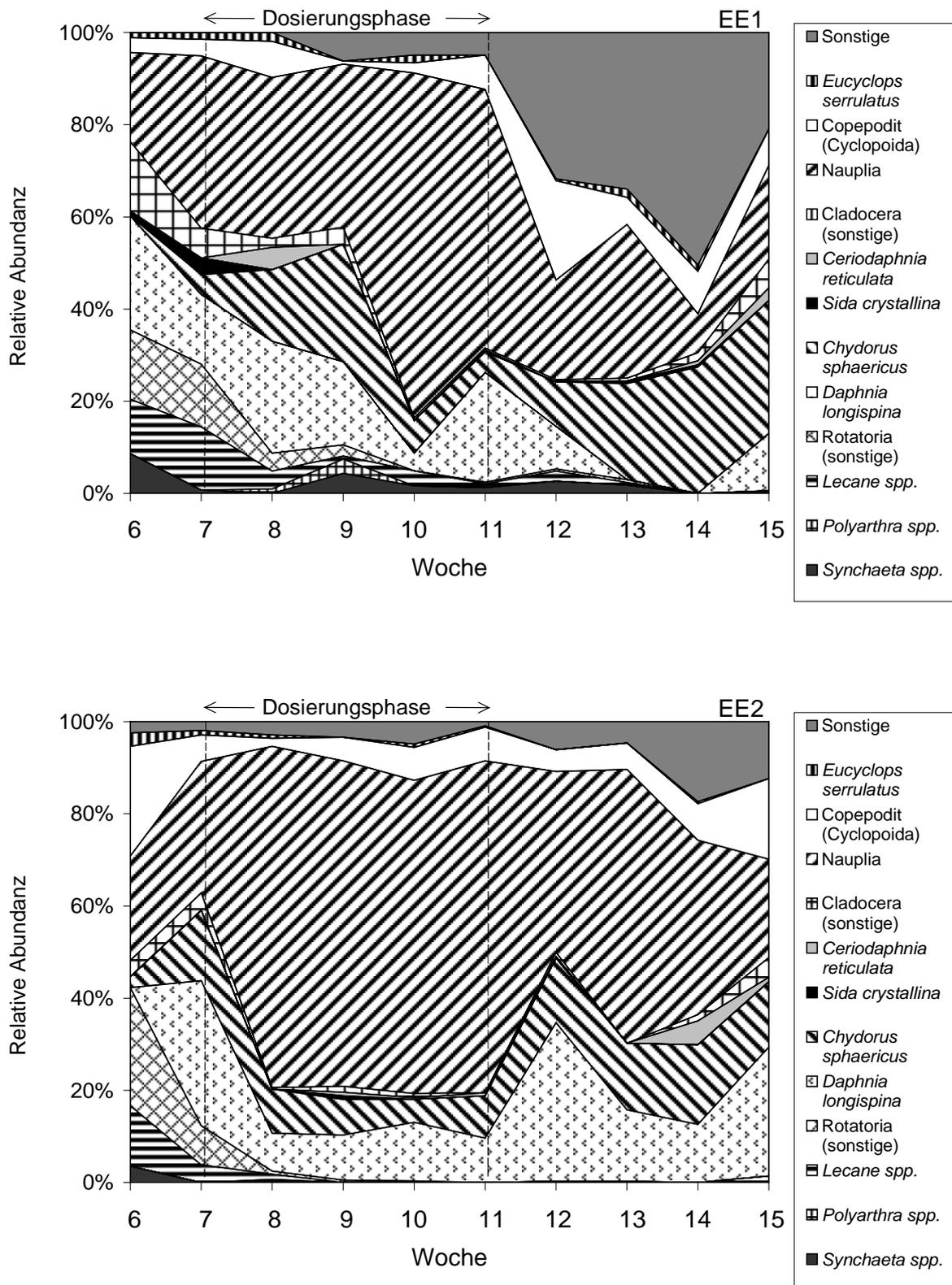


Abb. 65: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE1 und EE2

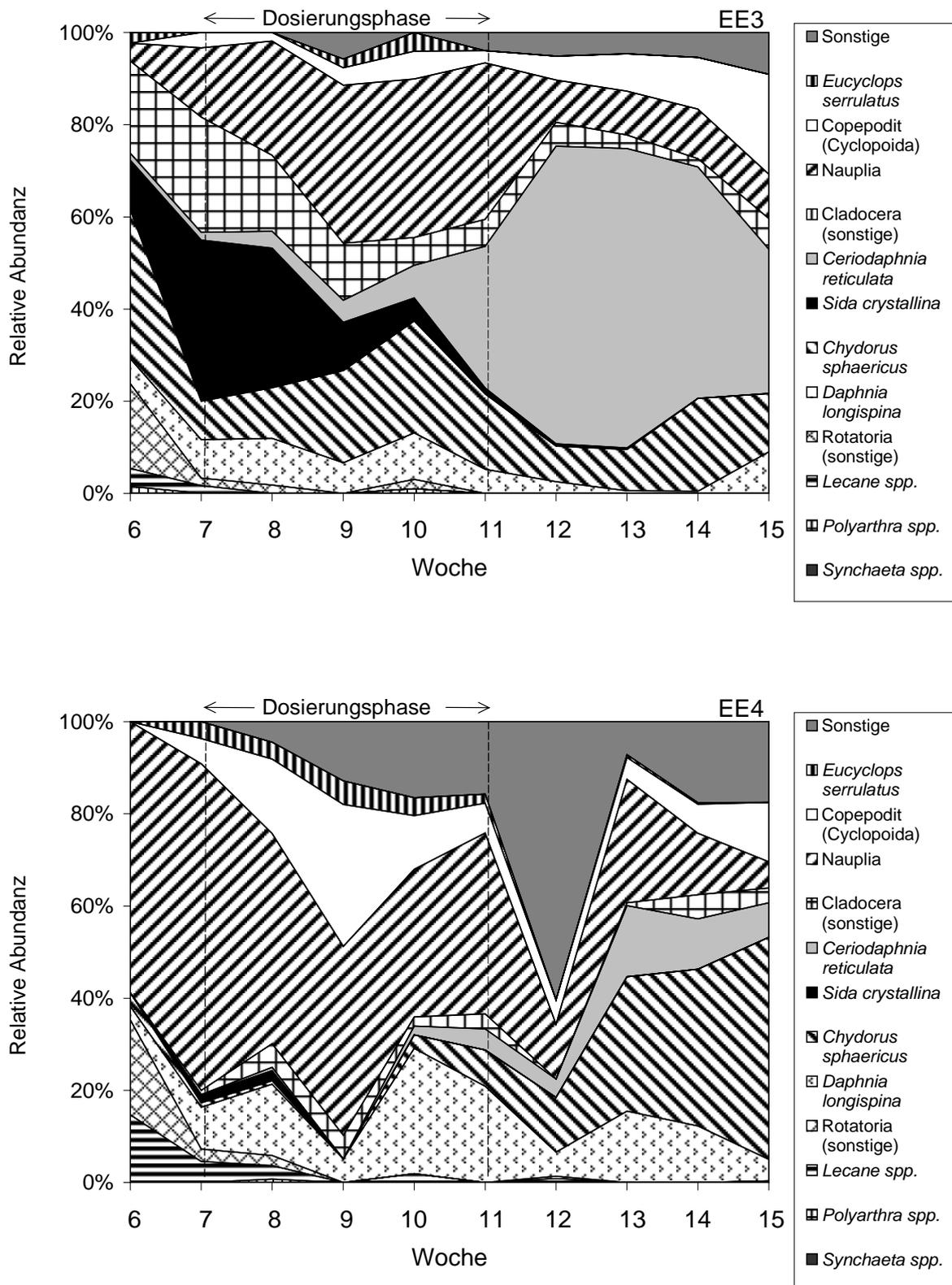


Abb. 66: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE3 und EE4

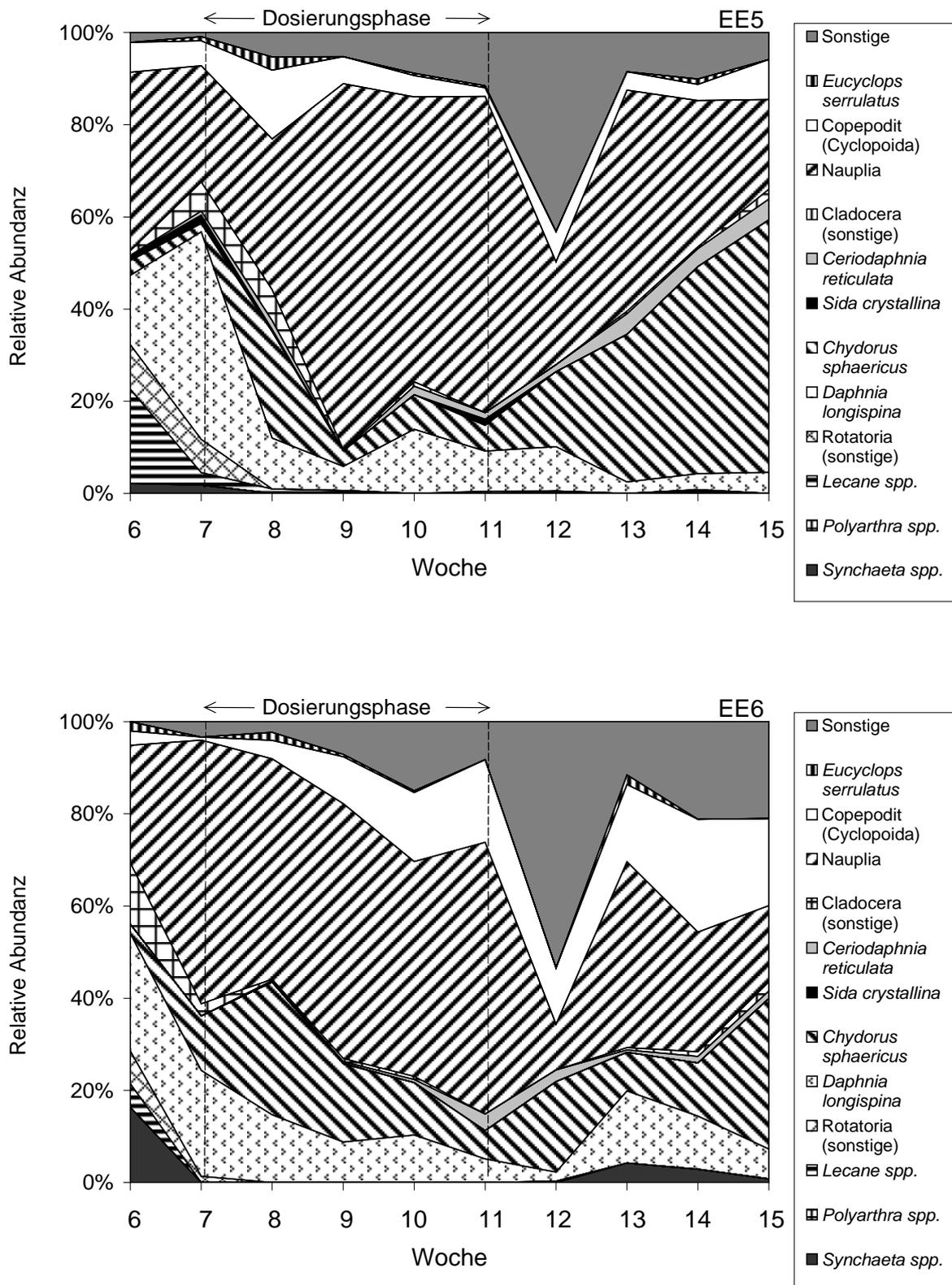


Abb. 67: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE5 und EE6

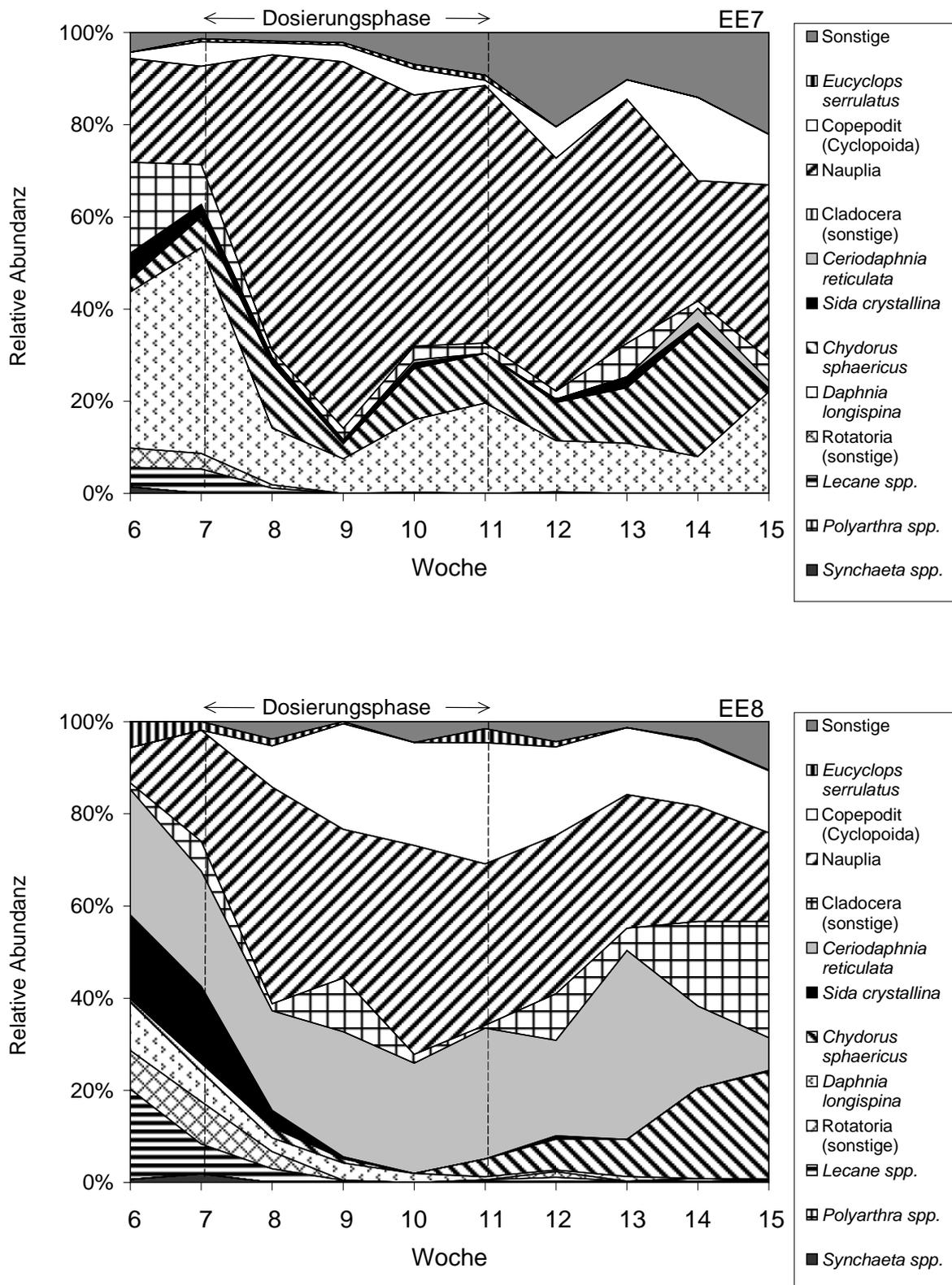


Abb. 68: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE7 und EE8

3.5.2.3 *Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (EE1 bis EE8)*

Vertreter der Rotatorien (Abb. 69) traten vor Dosierungsbeginn in Woche 6 mit Abundanz zwischen 5 und 45 Individuen/L in den Mikrokosmen auf. Die Individuendichten in allen Mikrokosmen mit Ausnahme von EE1 nahmen in den folgenden zwei Wochen auf < 5 Individuen/L ab. Zwischen Woche 8 und 11 lagen die Abundanz der Rotatorien in den dosierten Mikrokosmen mit Ausnahme von EE1 unterhalb des durch den Mittelwert der Kontrollen (\pm STABW) abgedeckten Bereichs. Von Woche 9 bis 15 lagen die Individuenzahlen unterhalb von 10 Individuen/L. Ein Maximum von 13 bis 17 Individuen/L in Woche 13 wurde nur in den Kontrollen erreicht.

Die Individuendichten der Cladoceren (Abb. 69) betragen zwischen Woche 6 und Woche 12 maximal 70 Individuen/L und lagen im Bereich der Kontrollen, lediglich bei EE2 wurden mehr als 100 Individuen/L gefunden. Nach Ende der Dosierung stiegen die Abundanz in den Kontrollen, EE2 bis EE5 und EE8 und schwankten zwischen 40 und 200 Individuen/L. In EE1, EE6 und EE7 blieben die Abundanz etwas geringer bei 20 bis 60 Individuen/L.

Die Abundanz der Copepoden (Abb. 69) in EE2 und EE5 bis EE7 stiegen von Woche 6 bis 9 von 0 bis 50 Individuen/L auf 180 bis 260 Individuen/L an. In den Mikrokosmen EE3 und EE4 blieben die Individuendichten zwischen Woche 8 und 15 unterhalb von 50 Individuen/L. Die Populationsdichte der Copepoden in EE8 lag während der Dosierung im Bereich des Mittelwertes der Kontrollen (\pm STABW). Die Dichten in EE2 und EE5 bis EE7 lagen während der Dosierung zwischen Woche 7 und 9 über den Dichten der Kontrollen und von Woche 12 bis 14 in der Postapplikationsphase darunter. In EE3 und EE4 wurden ab Woche 7 sowohl während als auch nach der Dosierung geringere Individuendichten erreicht, als in den Kontrollen.

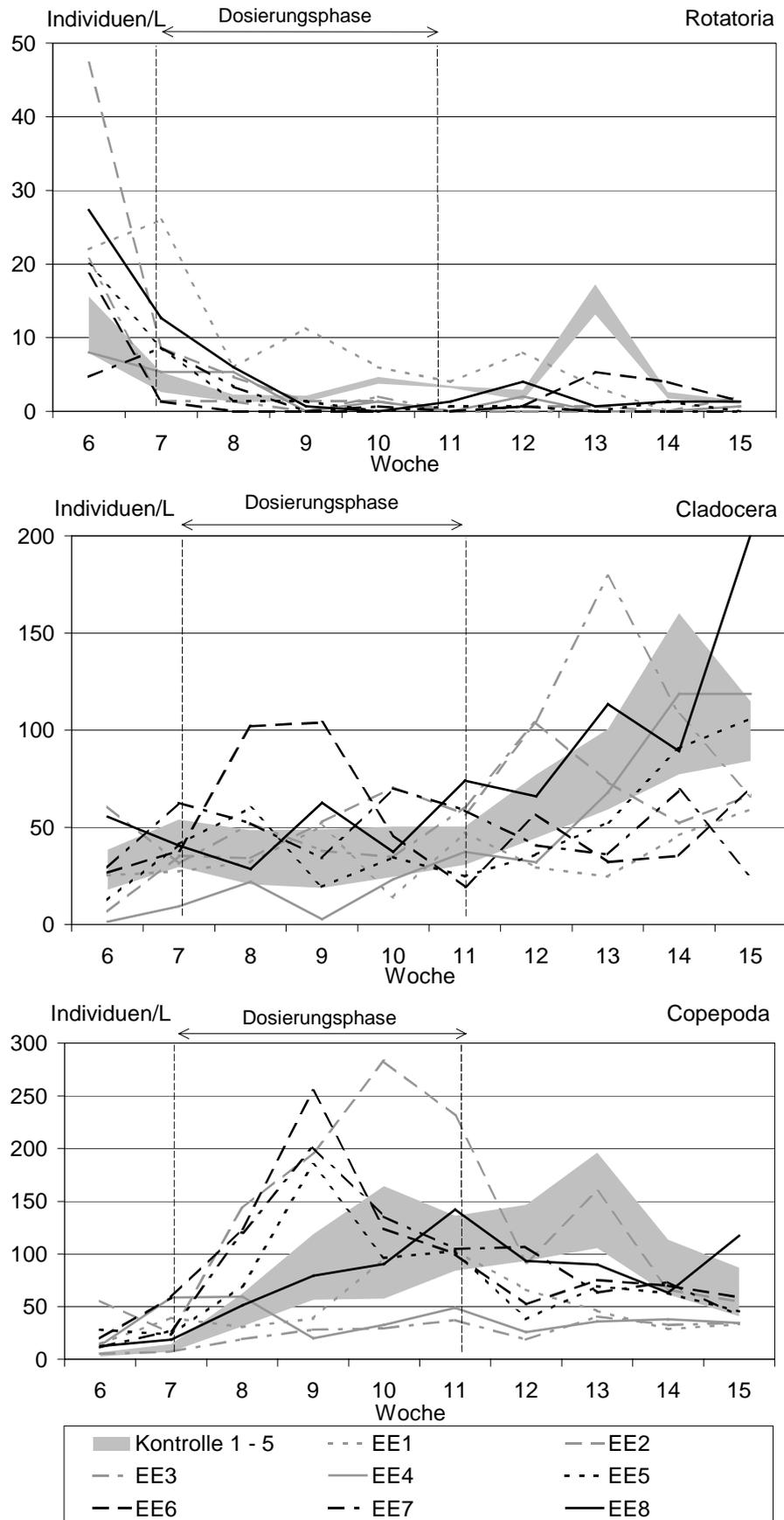


Abb. 69: Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda in den Mikrokosmen (Ethinylestradiol)

3.5.2.4 *Prozentuale Abweichung der Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda vom Mittelwert der Kontrollen (%ABW_{EE}) (EE1 bis EE8)*

Die Abundanzen der Rotatoria in EE2 bis EE8 zeigten zwischen Woche 6 und 8 die größten prozentualen Abweichungen vom Mittelwert der Kontrollen (-100 bis +300 %). Ab Woche 9 lagen die Werte für %ABW_{EE} bei 0 bis -100 % mit Ausnahmen von +95 % in EE8 (Woche 12), +120 % in EE6 (Woche 14) und +105 % in EE2 (Woche 15). Bei EE1 wurden Abweichungen von über +100 % bis +550 % und +650 % (Woche 9) erreicht (Abb. 70).

Bei den Cladoceren (Abb. 70) kam es zu Abweichungen der Populationsdynamik vom Mittelwert der Kontrollen zwischen -100 und +100 % mit Ausnahme von EE6 in Woche 7 und 8 mit etwa +200 %. Die Größe der Abweichungen während Vorapplikations-, Dosierungs- und Postapplikationsphase waren vergleichbar, mit Ausnahme von EE6.

Die Copepoden zeigten während der Woche 6 vor der Dosierung Abweichungen vom Mittelwert der Kontrollen bis zu über +500 %, in EE6 sogar von über +1000 %. Während der Dosierungsphase von Woche 7 bis 9 schwankten die Abweichungen zwischen -70 % und +440 % und nahmen mit Ausnahme von EE2 in Woche 10 und 11 und EE8 in Woche 15 bis 10 und im weiteren Verlauf der Postapplikationsphase auf +20 % bis -90 % zu (Abb. 70).

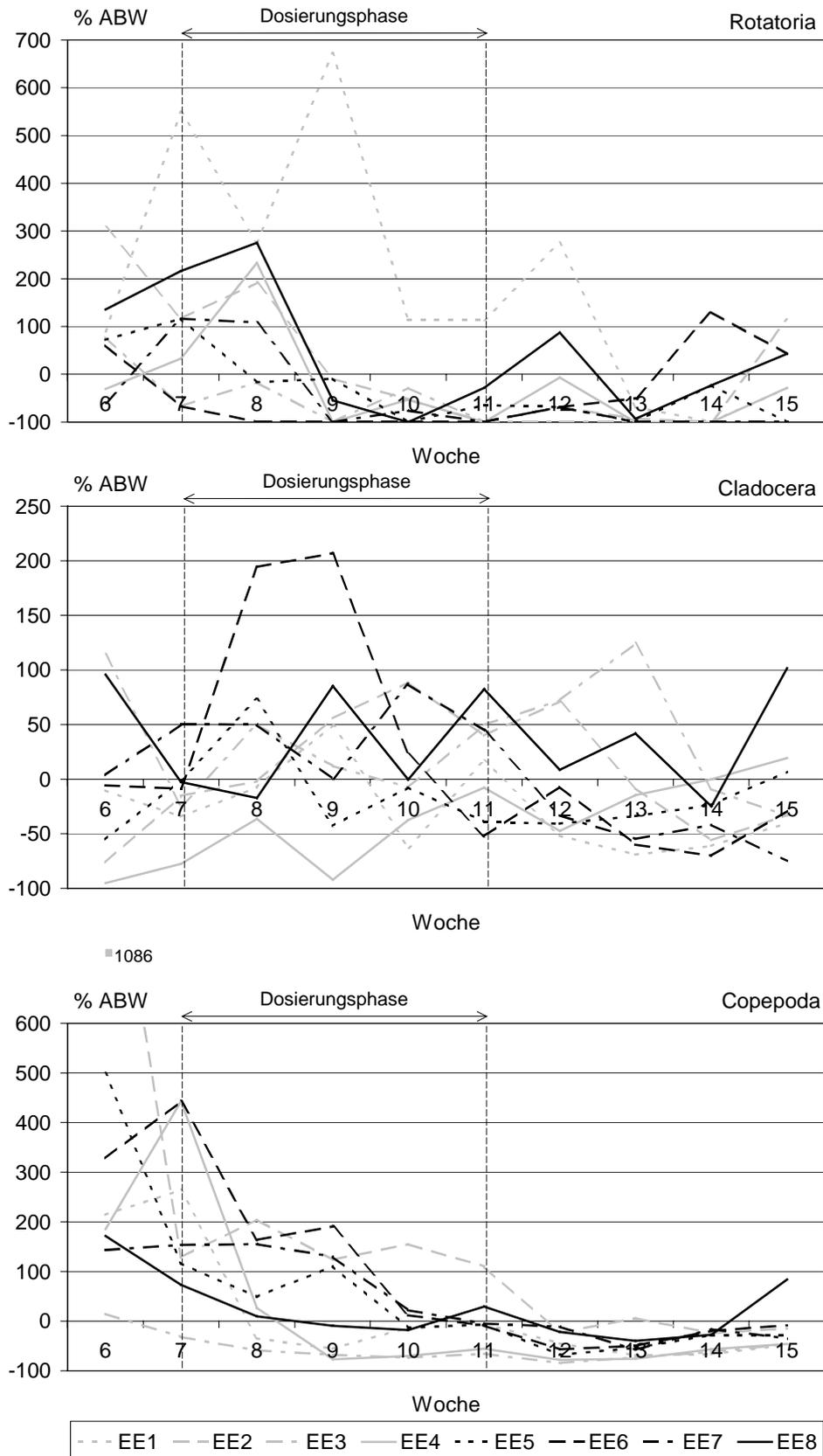


Abb. 70: %ABW_{EE} bei Rotatoria, Cladocera und Copepoda

(Punkte außerhalb der Skalierung sind als Symbole mit Angabe des Wertes eingezeichnet.)

3.5.2.5 **Populationsdynamik ausgewählter Zooplanktonarten (EE1 bis EE8)**

Ceriodaphnia reticulata trat zwischen Woche 6 und 15 in der Mehrzahl der Mikrokosmen (EE1, EE2, EE5 bis EE7) mit Abundanzen < 10 Individuen/L auf. Damit lagen die Individuendichten in diesen Mikrokosmen unterhalb des Mittelwertes der Kontrollen (\pm STABW), deren Individuendichten ab Woche 13 bis > 50 Individuen/L anstiegen. In EE4 wurden während der Postapplikationsphase Individuendichten im Bereich der Kontrollen gefunden. Auffallend hohe Individuenzahlen traten in EE8 auf. Hier schwankten die Abundanzen um ca. 25 Individuen/L von Woche 6 bis 10, in Woche 11 und 13 stiegen die Dichten auf 60 bzw. 80 Individuen/L (Abb. 71).

Daphnia longispina war in EE8 mit maximal 10 Individuen/L vertreten und lag unterhalb des durch den Mittelwert der Kontrollen (\pm STABW) abgedeckten Bereichs (Abb. 71). Ungefähr im Bereich der Kontrollen während der Dosierung waren die Abundanzen von EE3 und EE4, EE5 lag leicht, EE1 (mit Einschränkungen), EE2, EE6 und EE7 lagen zeitweise während der Dosierung deutlich über den Kontrollen. In EE2 traten nach der Dosierung in Woche 11 und 12 maximale Individuendichten von 45 bzw. 70 Individuen/L auf, bei EE1 gegen Ende der Dosierung in Woche 11 40 Individuen/L. Mit Ausnahme von EE2 (oberhalb der Kontrollen), EE3 und EE8 (unterhalb der Kontrollen) näherten sich die Dichten der anderen ehemals dosierten Mikrokosmen während der Postapplikationsphase den Dichten in den Kontrollmikrokosmen.

Sida crystallina kam in den meisten Mikrokosmen mit Individuenzahlen von weniger als 5 Individuen/L vor (Abb. 72). Ein Maximum wurde bei EE3 in Woche 8 zu Beginn der Dosierung (> 20 Individuen/L) bei EE8 in Woche 6 vor der Dosierung (> 15 Individuen/L) gefunden. *Sida crystallina* war häufiger in den meisten Kontrollmikrokosmen ab Woche 6 vor der Applikation und während der Dosierung (maximal 20 Individuen/L).

Chydorus sphaericus (Abb. 72) erreichte bei allen Mikrokosmen (außer EE6) maximale Individuendichten in der Postapplikationsphase zwischen Woche 13 und 15 mit 30 bis 90 Individuen/L. Mit Ausnahme von EE5 lagen die Individuenzahlen in den dosierten Mikrokosmen meist unterhalb der Dichten in den Kontrollen. In EE6 traten maximale Individuenzahlen von > 60 Individuen/L in Woche 8 und 9 während der Dosierung auf. Die Populationsdichte von *Chydorus sphaericus* lag während der Dosierung mit Ausnahme von EE4 und EE8 im Bereich des Mittelwertes der Kontrollen (\pm STABW). Die Individuendichten in EE4 und EE8 waren während der Dosierung sehr niedrig (maximal 3 Individuen/L).

Die Populationsdichte der Nauplien-Stadien der Copepoden betrug während der Dosierung in Woche 9 für EE5 bis EE7 170 bis 210 Individuen/L und lag oberhalb der Dichte in den Kontrollen. Bei EE1 und EE2 lag das Maximum in Woche 10 und 11 bei ~ 100 bzw. > 250 Individuen/L, letzteres weit oberhalb der Dichten in den Kontrollen. In EE3 und EE4 betrug die Dichten ab Woche 6 vor der Dosierung bis zum Ende des Versuchs < 50 Individuen/L, und lagen damit unterhalb des Bereichs der Kontrollen. Die Copepodit-Stadien in den Mikrokosmen erreichten maximale Individuenzahlen von 60 Individuen/L. Die Copepodit-Dichten schwankten mit Ausnahme von EE6 und EE8 während der Dosierung um den Bereich der Dichten in den Kontrollen. Während der Postapplikationsphase waren die Dichten in den ehemals dosierten Mikrokosmen mit Ausnahme von EE6 und EE8 meist geringer als in den Kontrollen. Die Abundanzen von EE6 und EE8 lagen während der Dosierung in Woche 8 und 11 bei 10 bis 60 Individuen/L und damit deutlich über denen der Kontrollen. Adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* hatten Individuendichten von maximal 6 Individuen/L, meist jedoch 2 bis 4 Individuen/L, in den Kontrollen traten sie während der Dosierung im Mittel in geringerer Dichte auf (Abb. 73).

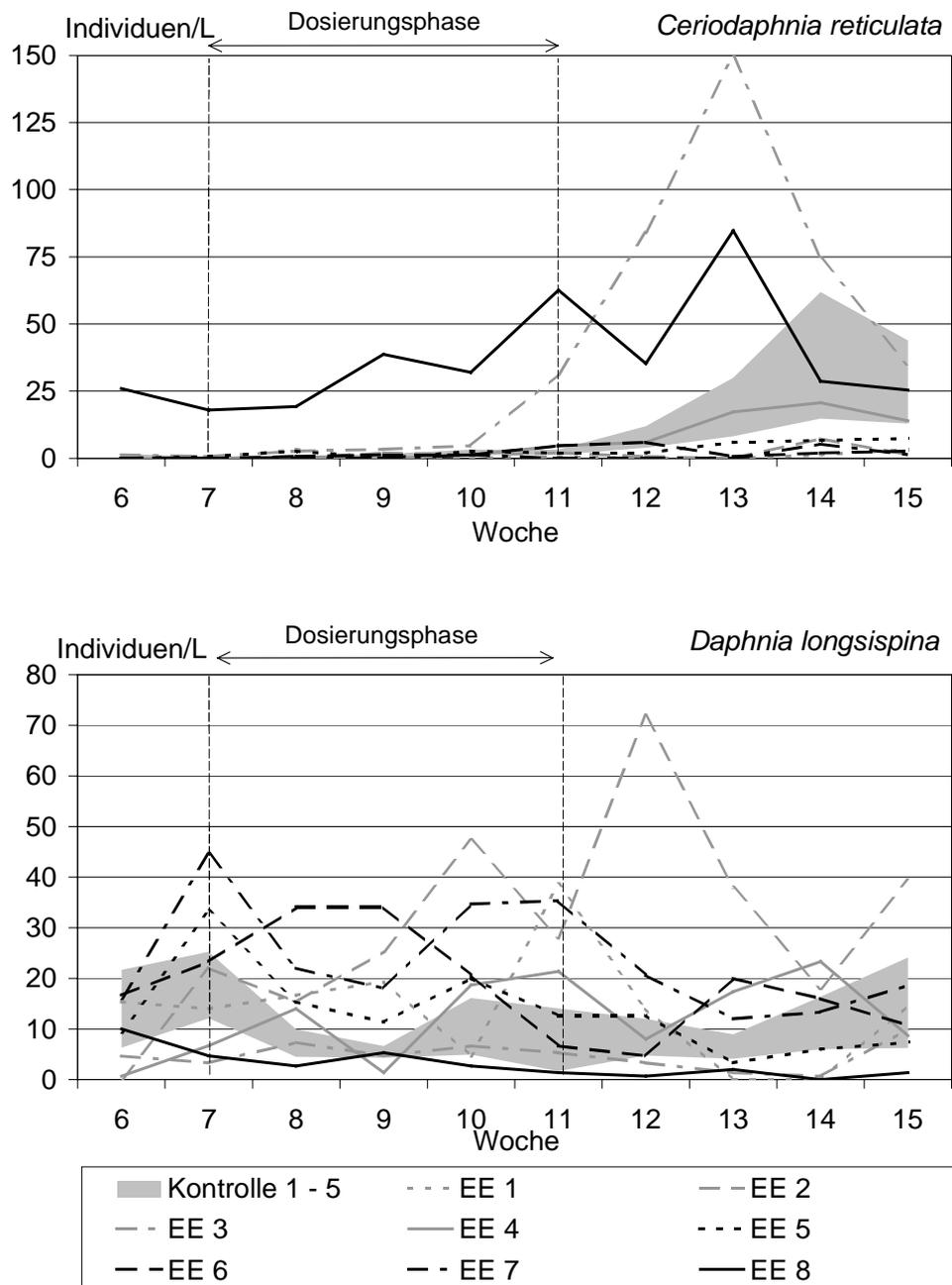


Abb. 71: Populationsdynamik von *Ceriodaphnia reticulata* und *Daphnia longispina* (Ethinylestradiol)

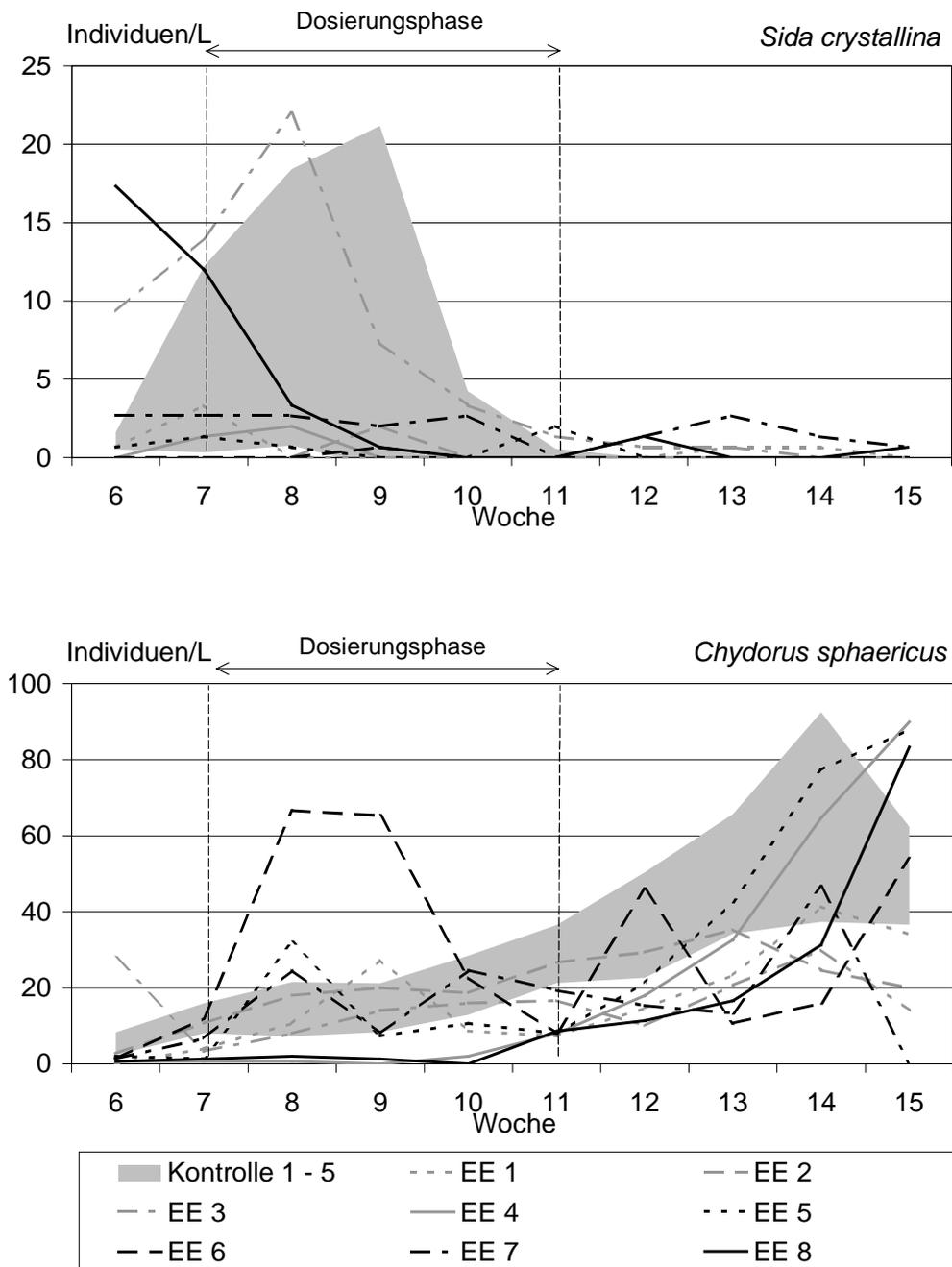


Abb. 72: Populationsdynamik von *Sida crystallina* und *Chydorus sphaericus* (Ethinylestradiol)

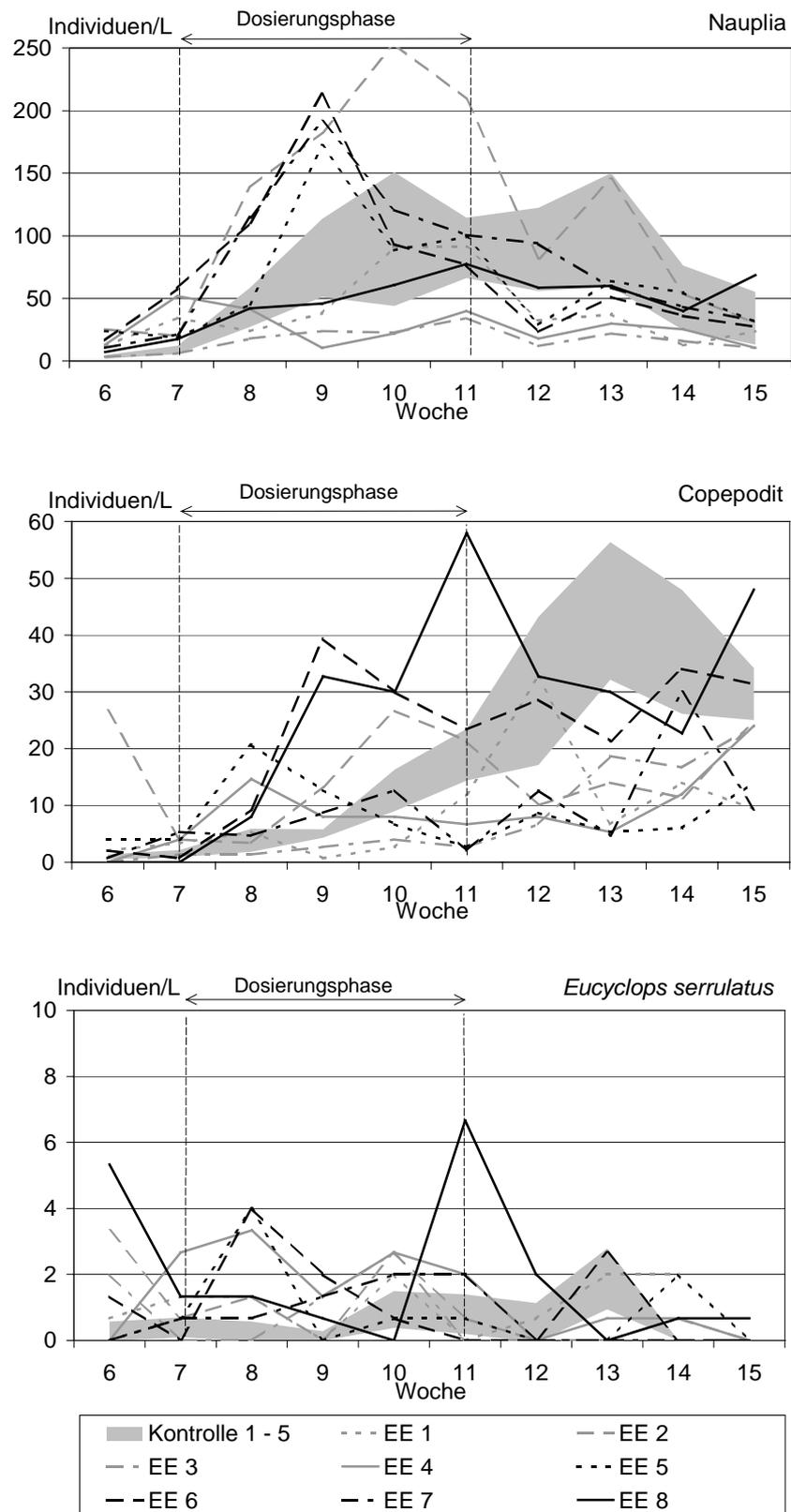


Abb. 73: Populationsdynamik der Entwicklungsstadien von *Eucyclops serrulatus* (Ethinylestradiol)

3.5.3 Principal-Response-Curves (Zooplankton, EE-Versuch)

3.5.3.1 Principal-Response-Curves (alle Zooplanktonarten, EE-Versuch)

Die Principal-Response-Curves der ersten Komponente für alle Arten (erklärte Varianz 18,4 %) zeigt, dass nach der 2. Durchmischung der Wassersäulen (zwischen Woche 5 und 6) in der Vorapplikationsphase die Varianzen der ab Woche 7 belasteten Mikrokosmen EE1 bis EE8 im Bereich der Kontrollen lagen (Abb. 74). Hohe Species-Scores tragen die Rotatorien-Spezies *Lecane monostyla* sowie die Gattungen *Synchaeta* spp. und *Polyarthra* spp. Außerdem haben die Nauplien-Stadien der Copepoden hohe Species-Scores. Mit sehr niedrigen Species-Scores erklären die Cladoceren *Polyphemus pediculus*, *Chydorus sphaericus* und *Daphnia longispina* die Abweichungen der PRCs in den negativen Bereich. Der Permutationstest ist nicht signifikant. Die cdt-Werte von EE1 lagen während der Dosierung und während der Postapplikationsphase im negativen Bereich (im Mittel 0,2). Die cdt-Werte von EE2 bis EE8 schwankten im selben Zeitraum um den Mittelwert der Kontrollen und wichen im Allgemeinen nur wenig von den Kontrollen ab (- 0,3 bis + 0,2 von Woche 7 bis 15).

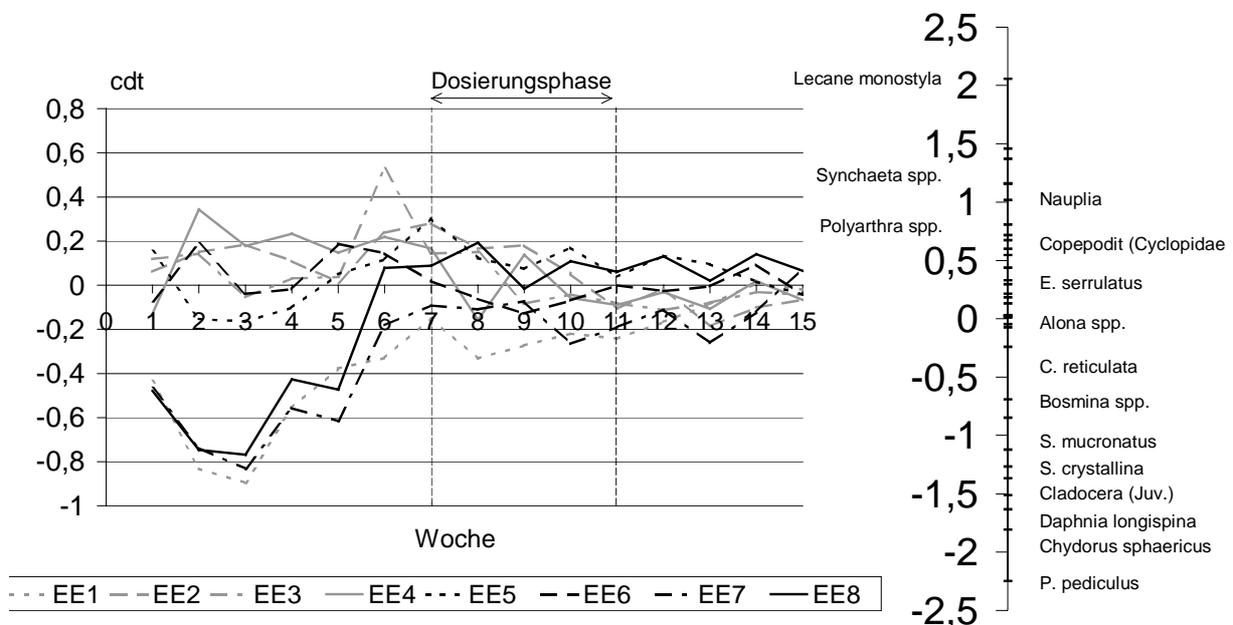


Abb. 74: Principal-Response-Curves und Species-Scores für alle Arten des Zooplanktons (Ethinylestradiol)

3.5.3.2 *Principal-Response-Curves (Rotatoria-Cladocera-Copepoda, EE-Versuch)*

Die erste Komponente der PRC der drei Hauptgruppen des Zooplanktons (Rotatoria, Cladocera und Copepoda) beim Mikrokosmenexperiment mit Ethinylestradiol (Abb. 75) erklärt 47,4 % der Varianz. Die Abweichung den der cdt-Werte für EE1 bis EE8 sind während der Dosierungsphase und Postapplikationsphase relativ gering. Es fällt auch hier auf, dass kein Zusammenhang mit der Applikation der Chemikalie besteht, da die Abweichungen den Populationen der belasteten Mikrokosmen von den Kontrollen vor der Dosierung größer ist und danach. Der Permutationstest für die Dosierungsphase (Woche 7 bis 11) war nicht signifikant, weswegen eine Korrelation des cdt-Wertes mit der EE-Konzentration, anders als beim Versuch mit Nonylphenol, nicht sinnvoll erscheint.

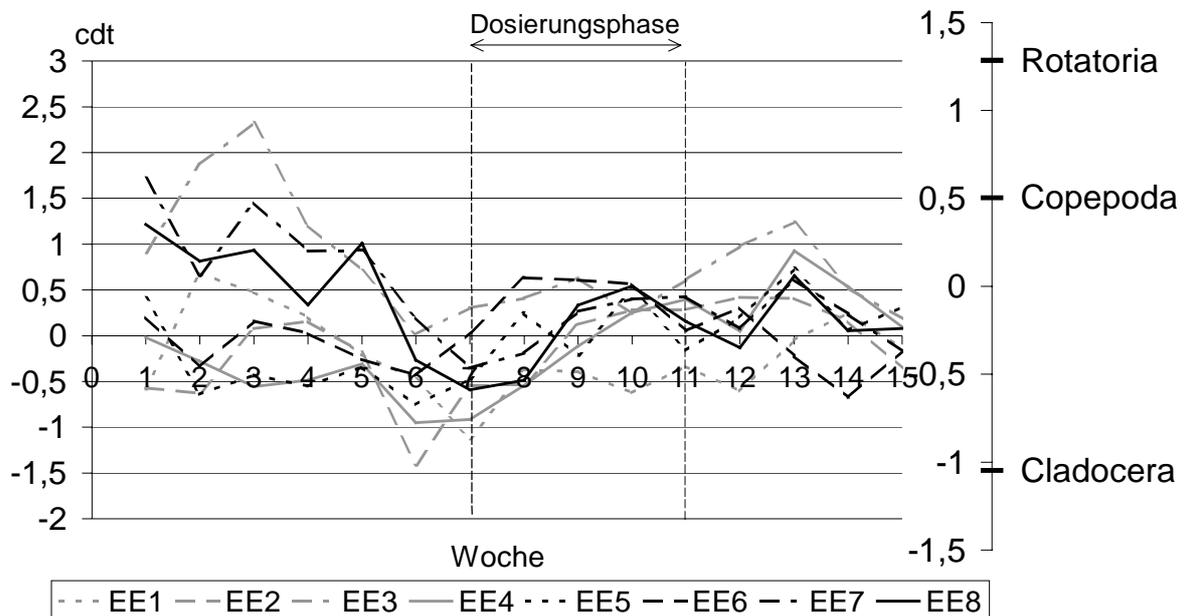


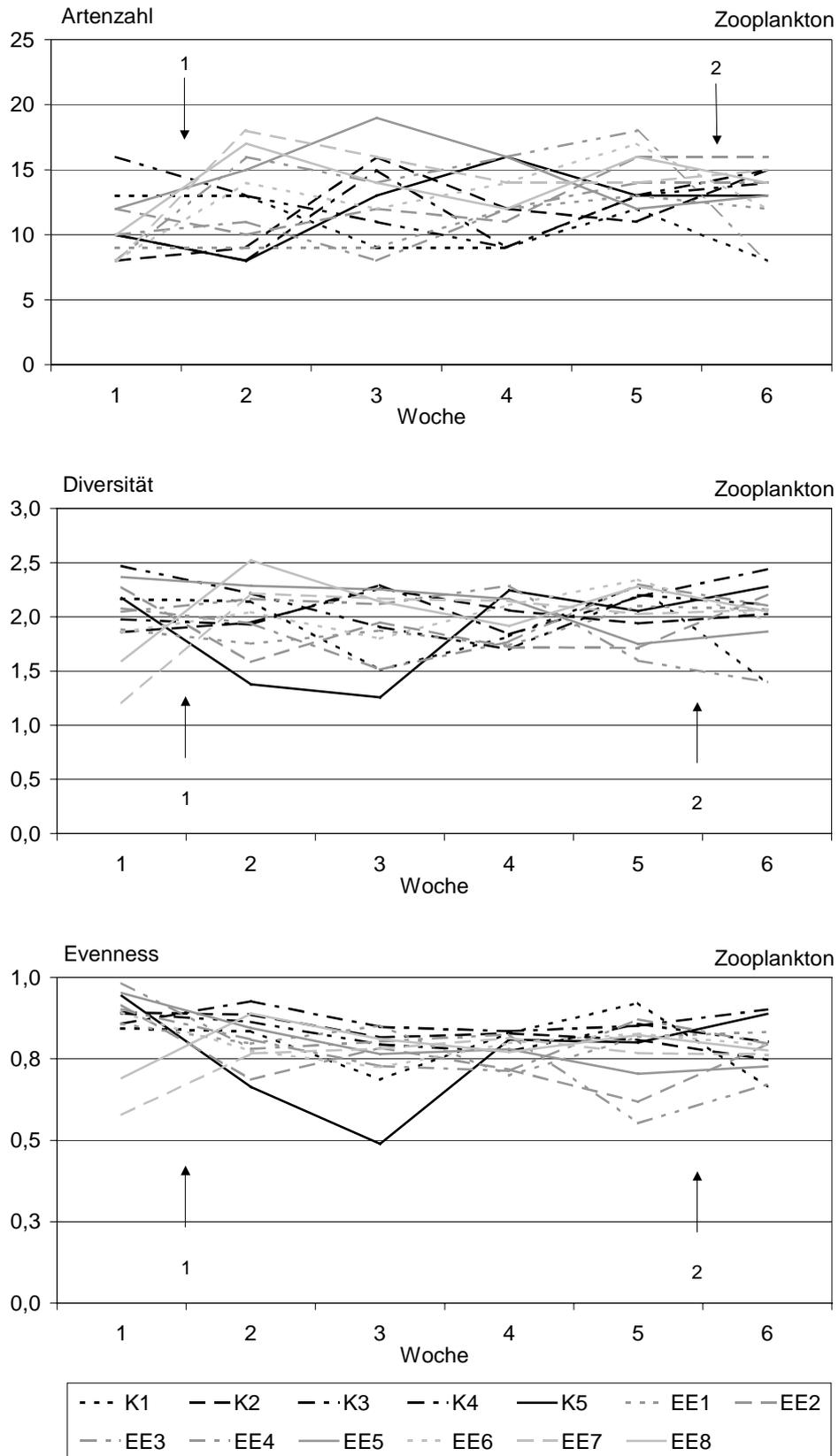
Abb. 75: Principal-Response-Curves und Species-Scores für Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Ethinylestradiol)

3.5.4 *Wirkung der Durchmischungen der Wassersäulen auf das Zooplankton*

3.5.4.1 **Artenzahl, Diversität und Evenness (EE-Versuch, Woche 1 bis 6)**

Die Artenzahlen in den Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase schwankten zwischen 8 und 19. Nach der ersten Durchmischung der Wassersäulen in der zweiten Woche kam es in etwa der Hälfte der Mikrokosmen zu leichten Zunahmen (auf 14 bis 17 Arten), die Artenzahlen der übrigen Mikrokosmen zeigten abnehmende Tendenz (7 bis 14 Arten). Nach der zweiten Durchmischung zu Beginn der Woche 6 wurden bei K1 und EE4 abnehmende Artenzahlen beobachtet (von 12 bzw. 17 auf 8 Arten), bei den übrigen Mikrokosmen blieb die Artenzahl konstant zwischen 13 und 16 (Abb. 76). Trotz zweimaliger Durchmischung der Wassersäulen konnten sich nicht alle Arten in den Mikrokosmen etablieren.

Der Diversitätsindex H' lag vor der ersten Durchmischung der Wassersäulen bei der Mehrzahl der Mikrokosmen zwischen 1,9 und 2,5. In EE2 und EE5 war die Diversität in Woche 1 mit 1,2 bzw. 1,6 niedriger. Nach der ersten Durchmischung der Wassersäulen nahm sie in diesen Mikrokosmen zu und lag nachfolgend im Bereich der übrigen Mikrokosmen. Die Diversität in K5 lag nach der ersten Durchmischung mit 1,3 und 1,4 in Woche 2 und 3 unter den Werten der anderen Mikrokosmen, infolge geringerer Evenness aufgrund der Dominanz von *Sida crystallina* (siehe 0). Nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen kam es bei den meisten Mikrokosmen zu geringfügigen Zunahmen der Diversität (von im Mittel 1,9 auf 2,1), lediglich bei K1 und EE4 nahm sie auf jeweils 1,4 ab. Die Entwicklung der Evenness war in etwa analog zur Entwicklung der Diversität mit Werten zwischen 0,5 und 1,0 (Abb. 76).



1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

Abb. 76: Artenzahl, Diversität und Evenness in den Mikrokosmen

3.5.4.2 **Relative Abundanz (Zooplankton, EE-Versuch, Woche 1 bis 6)**

Die Mikrokosmen lassen sich bezüglich der Zusammensetzung ihrer Zooplanktongesellschaften während der Vorapplikationsphase in zwei Gruppen unterteilen: die von Cladoceren dominierten Mikrokosmen EE3, EE7 und EE8 sowie alle übrigen, in denen die Rotatorien den größten Anteil der Zooplanktonpopulation stellten.

In EE3, EE7 und EE8 betrug der Anteil der Cladoceren zwischen 70 und 90 %. Nach der ersten Durchmischung der Wassersäulen gingen die Abundanzen der Cladoceren in EE7 und EE8 leicht zurück (um maximal 10 %), während die Rotatoria zunahmen. Im Gegensatz hierzu nahm der Anteil der Cladoceren in EE3 weiterhin leicht zu. *Sida crystallina* war in EE3, EE7 und EE8 während der Vorapplikationsphase mit Anteilen zwischen 5 und 20 % vertreten. Die wichtigsten Cladoceren-Spezies waren *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus*; die unter „Cladocera (sonstige)“ zusammengefassten Juvenilen und vereinzelt vorkommenden Arten waren ebenfalls mit Anteilen zwischen 30 und 50 % vorhanden. Die Copepoden waren in EE3, EE7 und EE8 lediglich mit geringen relativen Abundanzen (5 bis maximal 20 %) vertreten, wobei die Nauplien-Stadien überwogen. Die Rotatorien, hauptsächlich vertreten durch *Lecane spp.*, machten durchschnittlich maximal 30 % der Zooplanktongesellschaft aus (Abb. 80, Abb. 82, Abb. 83).

In den Mikrokosmen K1 bis K5, EE1, EE2, EE4 bis EE6 betrug der Anteil der Rotatorien an der Zooplanktongesellschaft zwischen 50 und 80 %. *Synchaeta spp.*, und *Lecane spp.* waren die dominierenden Gattungen, in EE5 trat auch *Polyarthra spp.* mit relativen Abundanzen bis 20 % auf. Bei den Cladoceren dominierte *Daphnia longispina* mit durchschnittlichen Anteilen von 20 bis 40 % vor. *Chydorus sphaericus* war weniger häufig (0 bis 20 %) und *Sida crystallina* trat lediglich nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen ab Woche 5 in einigen Mikrokosmen (K1, K3 und K4) mit < 7 % und in geringen Anteilen in K2, EE1, EE2 und EE5 (< 2 %) auf. Die Nauplien-Stadien der Copepoden traten in größeren Häufigkeiten in den Mikrokosmen mit Ausnahme von EE1 erst ab Woche 3 bis 5 auf. In K1, K2, K4 und EE8 waren ihre relativen Häufigkeiten mit 0 bis 10 % vergleichsweise gering. In den übrigen Mikrokosmen wurden Abundanzen bis 60 % erreicht. Copepodite und adulte Vertreter von *Eucyclops serrulatus* waren während der Vorapplikationsphase selten (< 20 % bzw. < 5 %) (Abb. 77 bis Abb. 83).

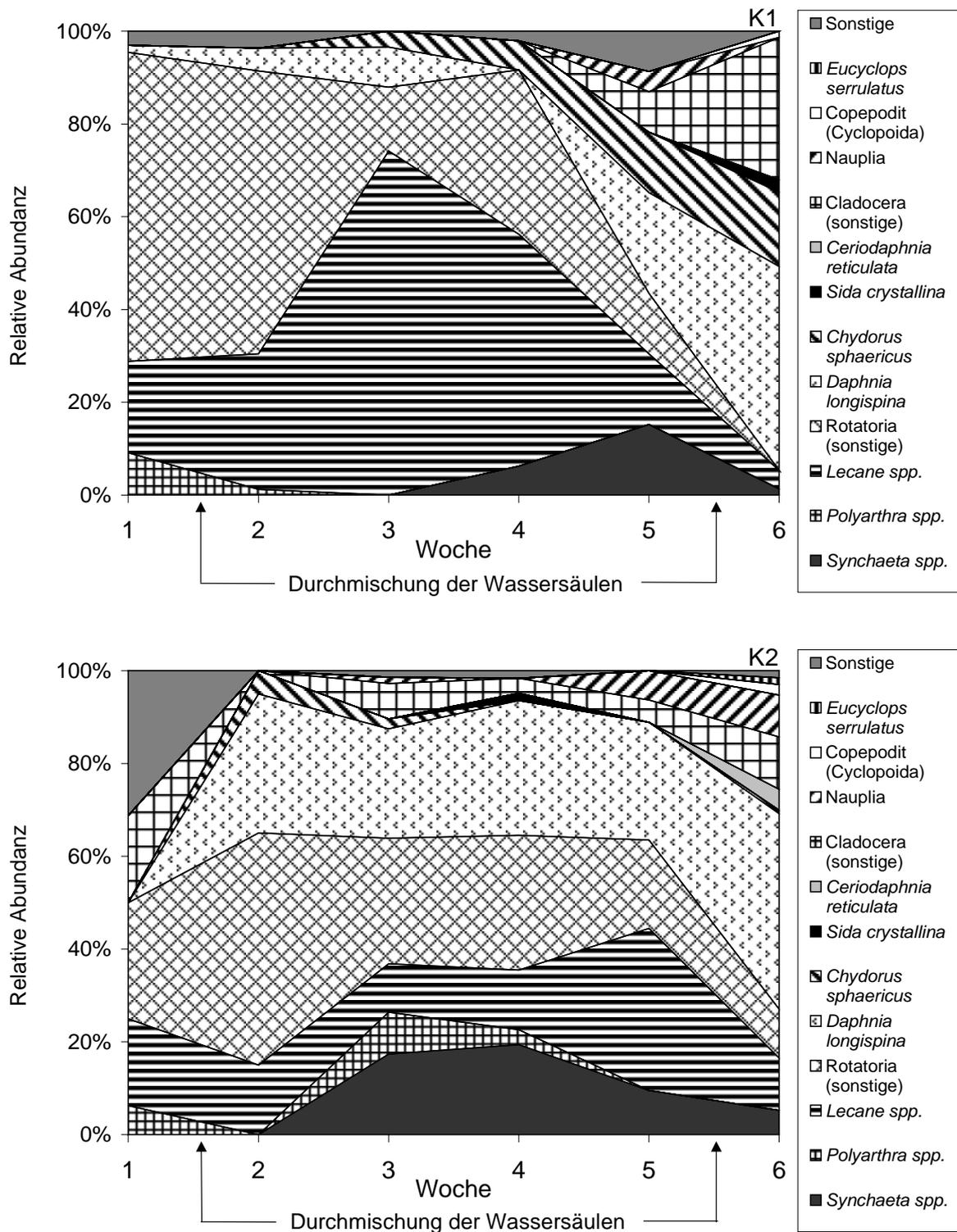


Abb. 77: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K1 und K2 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

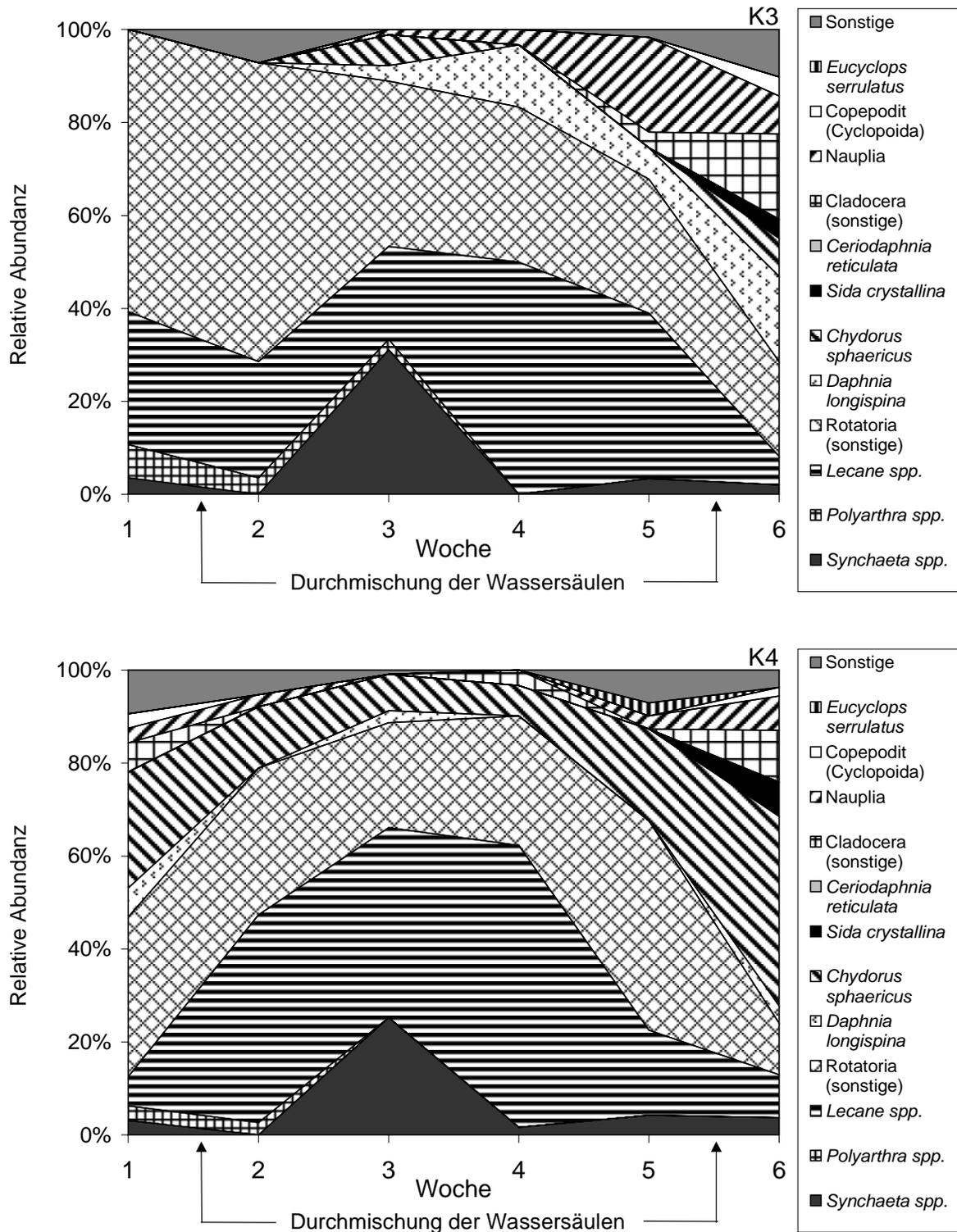


Abb. 78: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K3 und K4 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

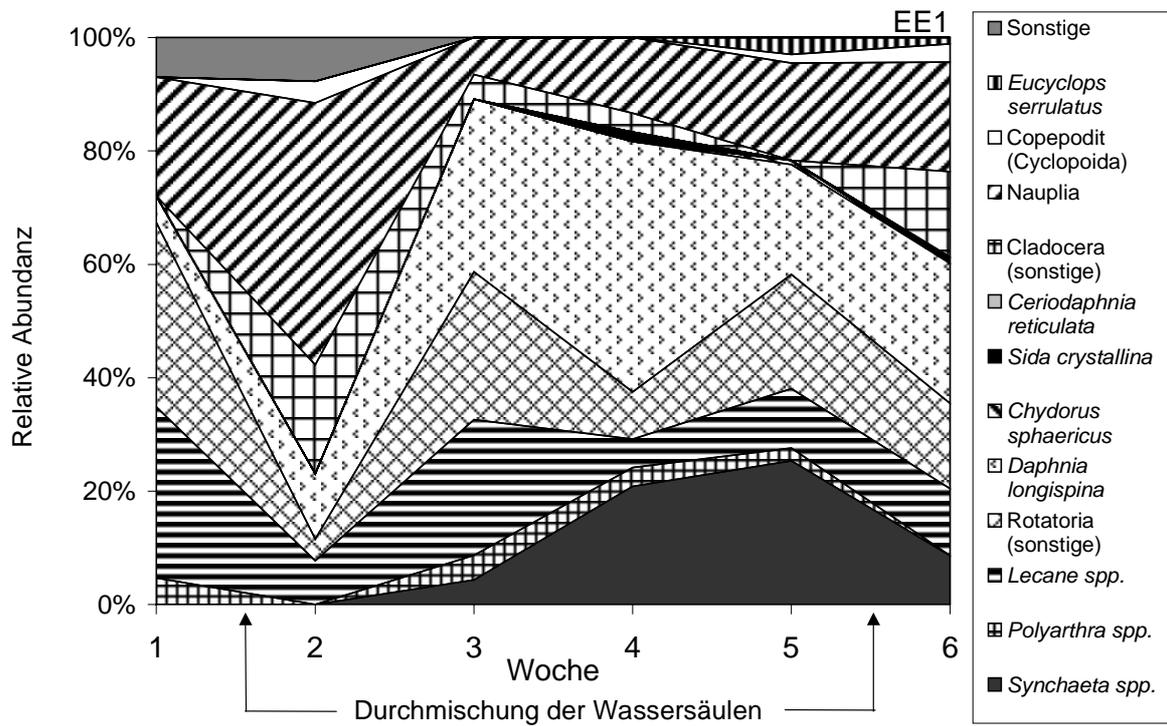
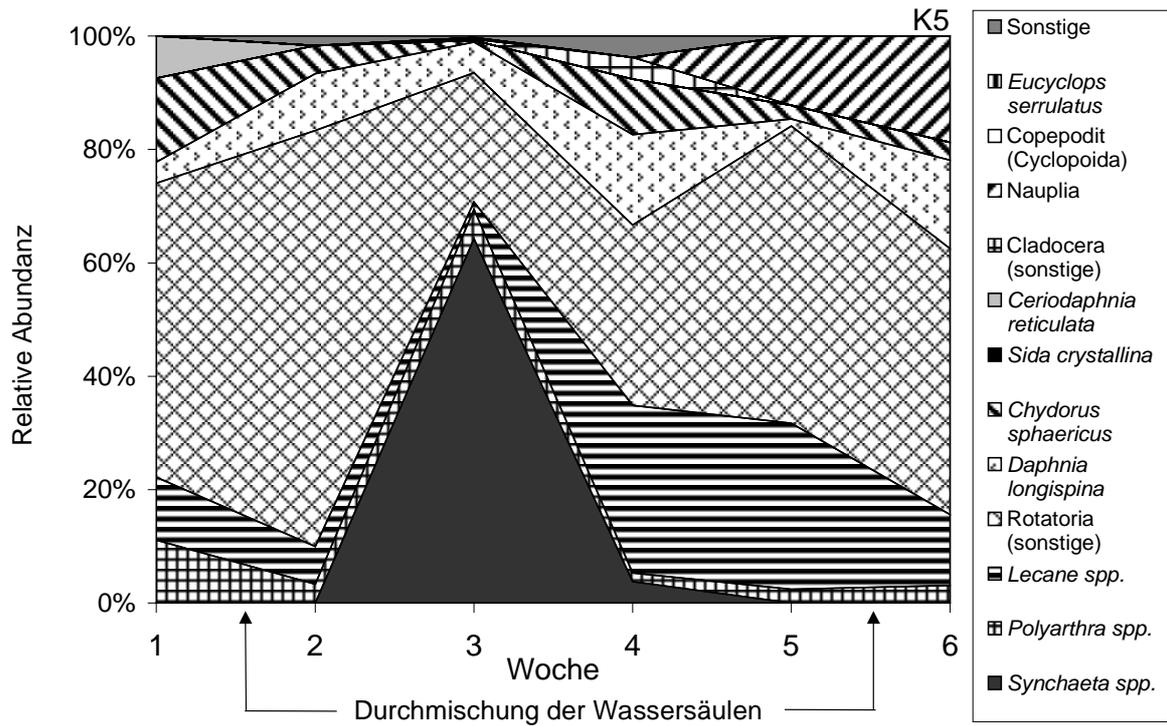


Abb. 79: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in K5 und EE1 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

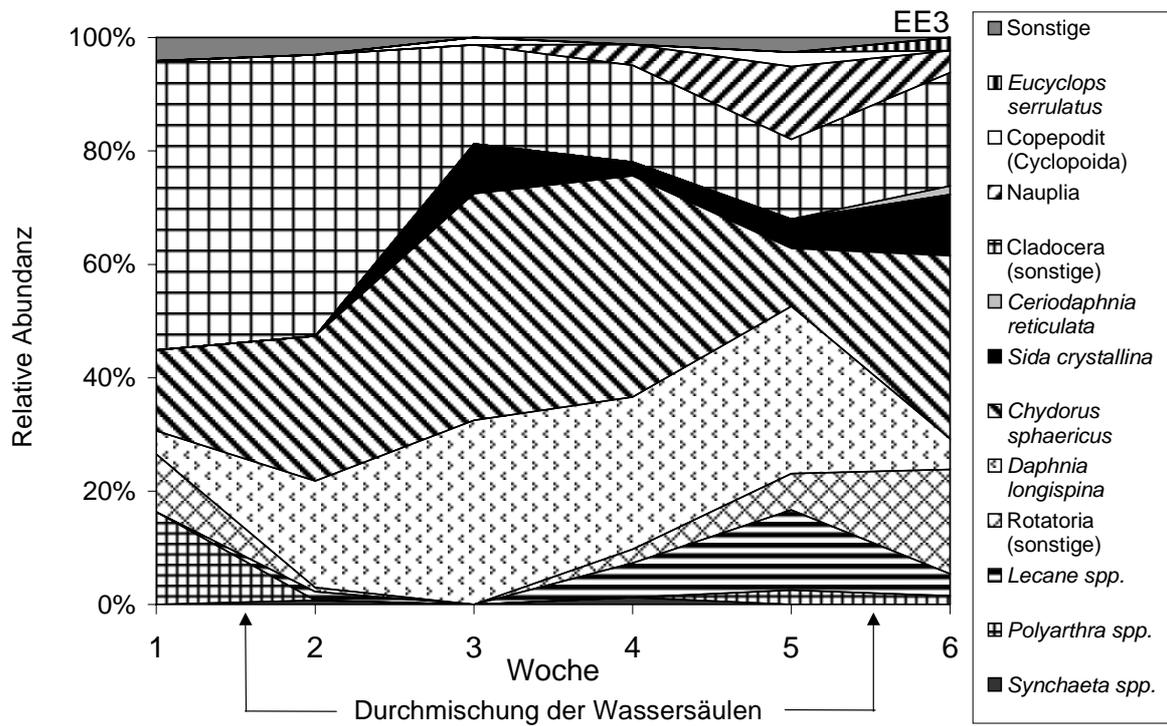
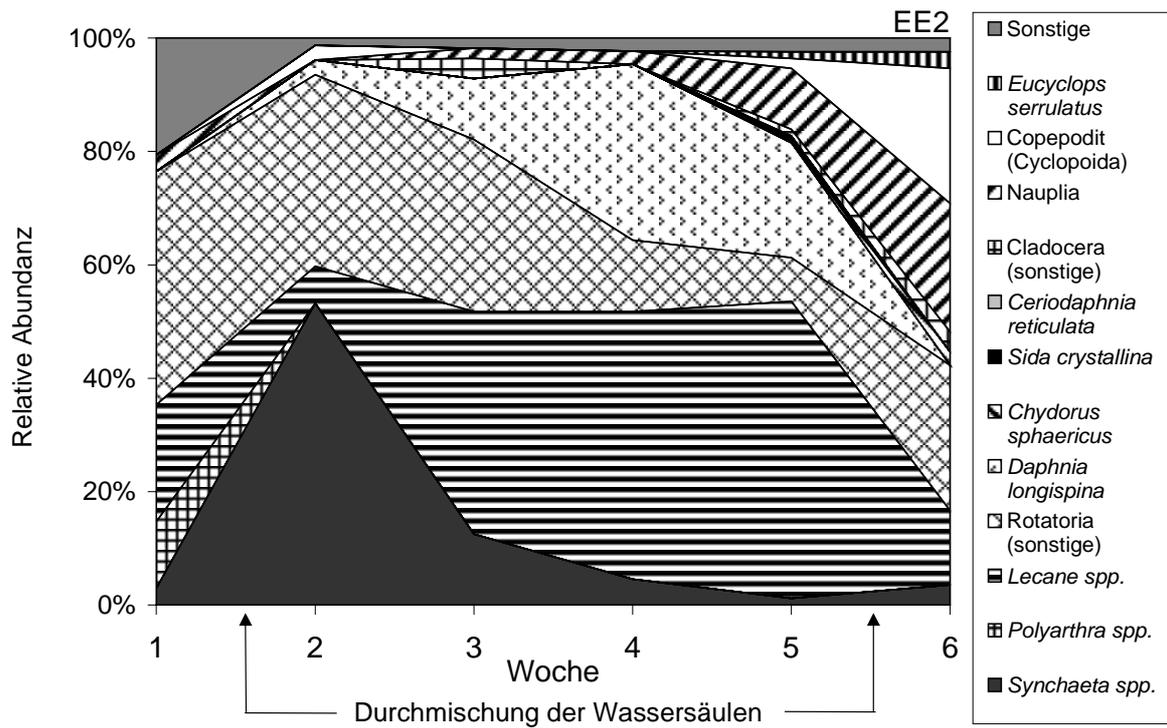


Abb. 80: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE2 und EE3 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

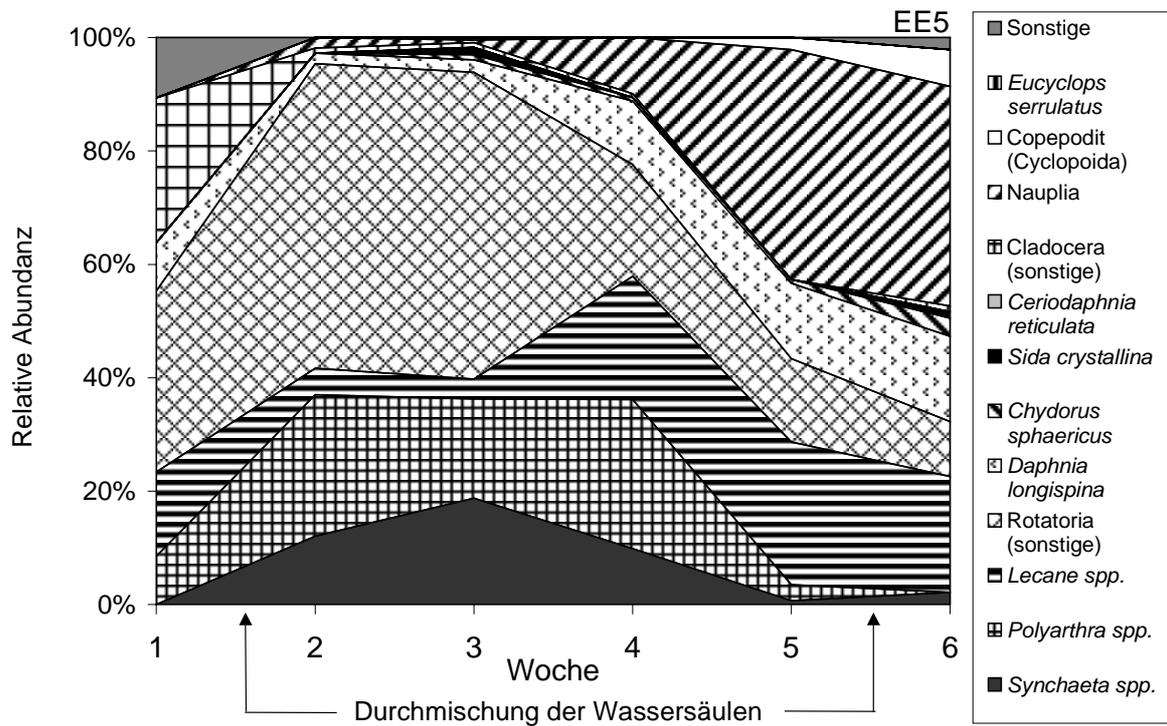
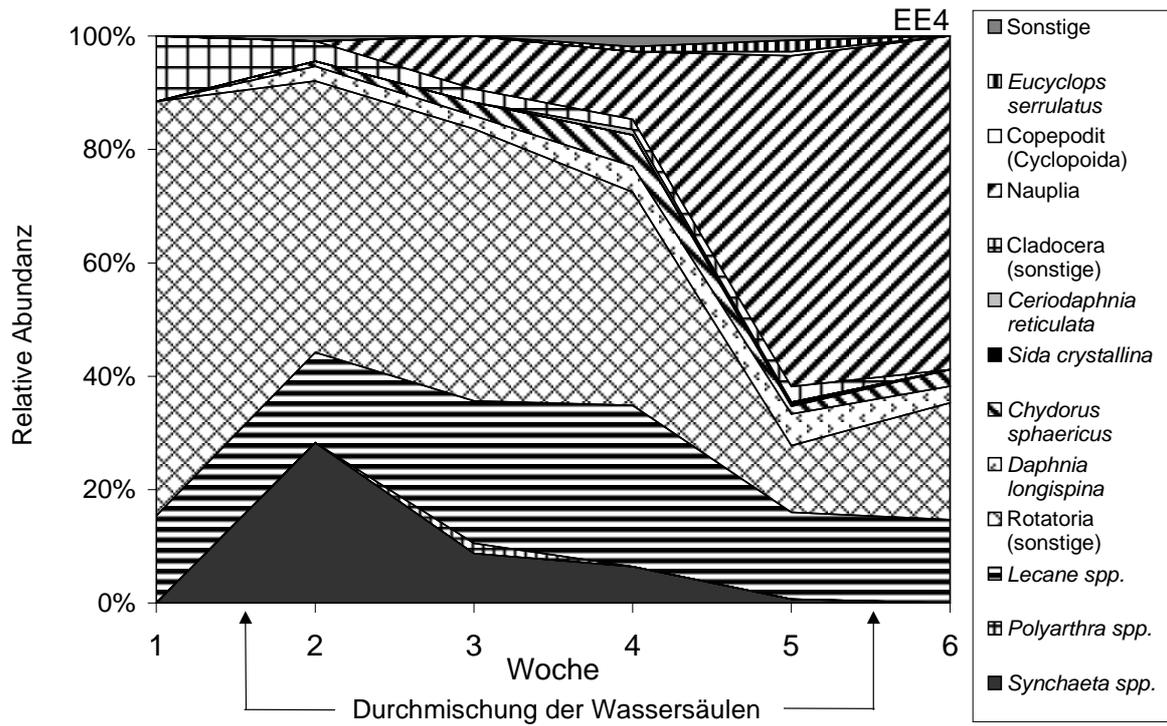


Abb. 81: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE4 und EE5 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

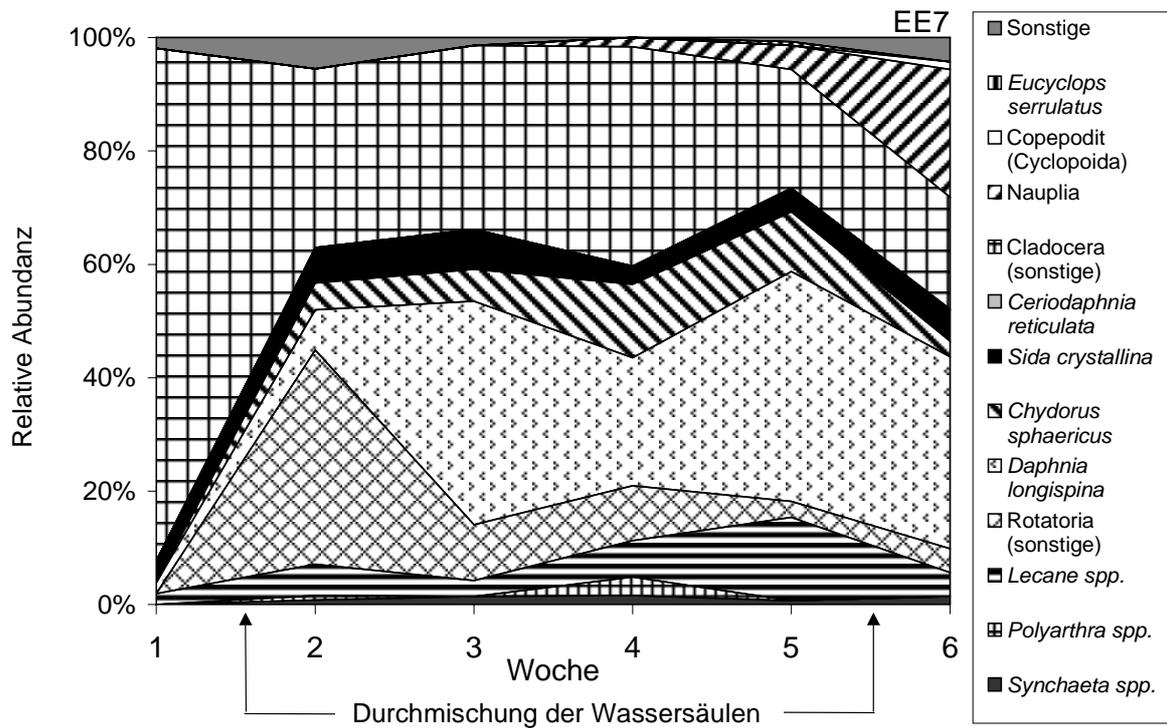
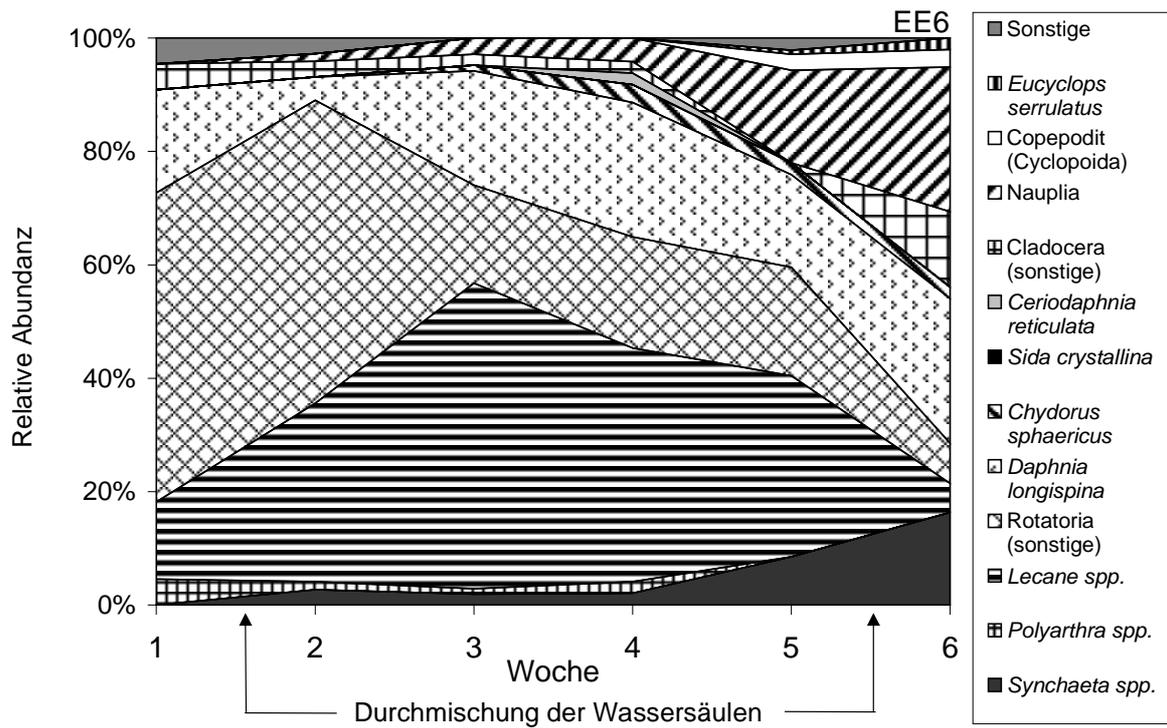


Abb. 82: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE6 und EE7 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

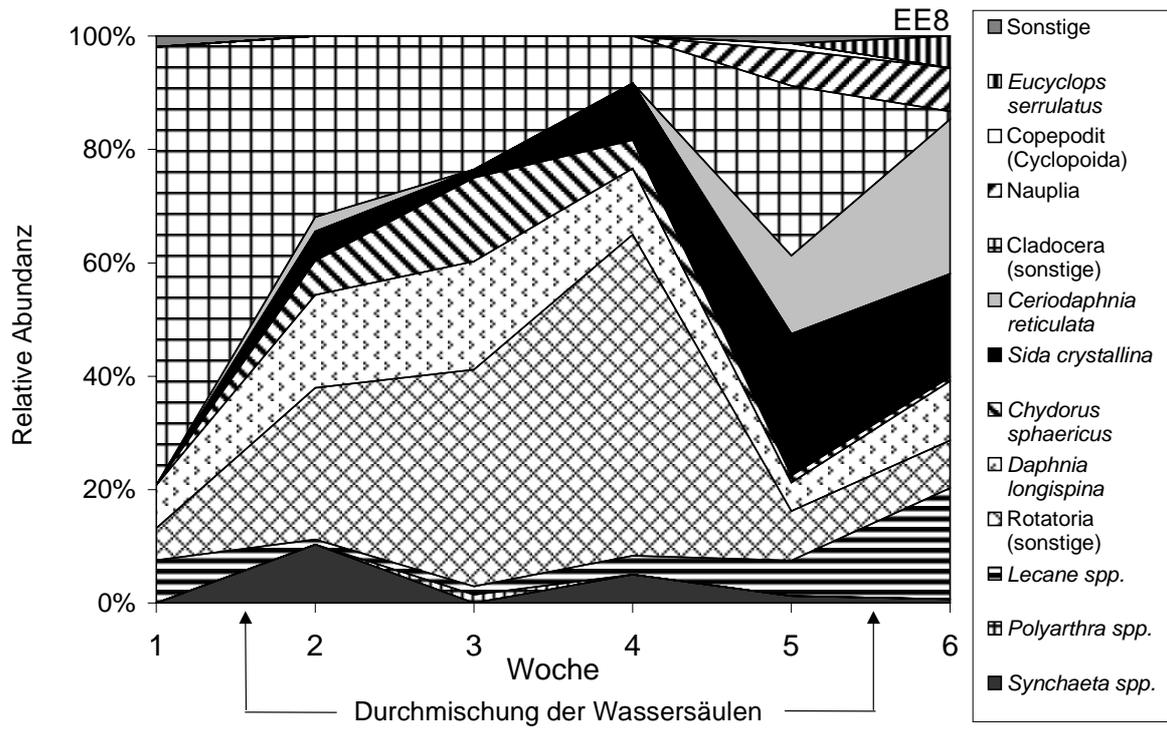


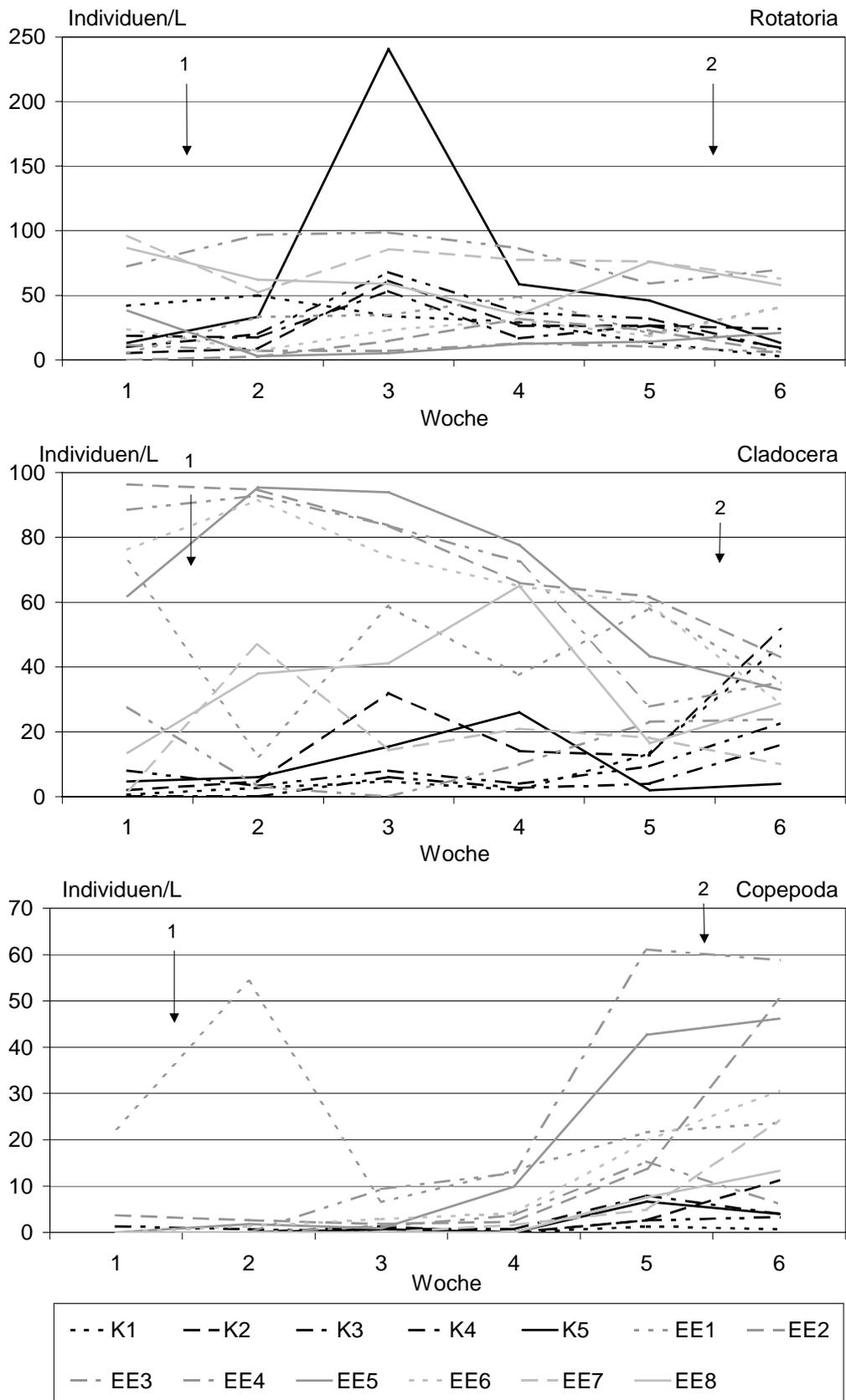
Abb. 83: Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in EE8 (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

3.5.4.3 *Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (EE-Versuch, Woche 1 bis 6)*

Die Rotatoria waren in den Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase mit Individuenzahlen zwischen 10 und 100 Individuen/L vertreten, wobei die Abundanzen von Woche 1 bis 6 in den jeweiligen Mikrokosmen verhältnismäßig konstant blieben. Lediglich in K5 wurde in Woche 3 ein Maximum von nahezu 250 Individuen/L erreicht. Eine Veränderung der Individuendichten infolge der Durchmischungen der Wassersäulen war nicht zu beobachten (Abb. 84).

Die Individuendichte der Cladoceren in den Mikrokosmen betrug in EE2 und EE4 bis EE6 von Woche 1 bis 4 zwischen 70 und 90 Individuen/L. Ab Woche 4 nahmen die Dichten auf 30 bis 50 Individuen/L ab. In den Mikrokosmen K1 bis K5 und EE3 lag die Individuenzahl von Ausnahmen in Woche 3 und 4 bei K2 und K5 abgesehen, bei < 20 Individuen/L, mit geringen Schwankungen. Kurz vor und nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen kam es bei einigen Mikrokosmen (K1 bis K4) zu leichten Zunahmen. In EE1, EE7, EE8 schwankten die Individuendichten zwischen 10 und 70 Individuen/L (Abb. 84). Die erste Durchmischung der Wassersäulen konnte die unterschiedlichen Individuendichten in den Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase (Woche 2 bis 4) nicht ausgleichen. Ab Woche 4 näherten sich die Dichten einander an, zeigten jedoch auch nach der zweiten Durchmischung noch relativ große Unterschiede mit Individuendichten von 5 bis 50 Individuen/L vor Beginn der Dosierung in Woche 6.

Die Individuenzahlen der Copepoden lagen mit Ausnahme von EE1 zwischen Woche 1 und 3 unterhalb von 10 Individuen/L. Ab Woche 4 stiegen in der Mehrzahl der Mikrokosmen (in EE1, EE2, EE4 bis EE7) die Individuenzahlen auf über 20 Individuen/L an. In den anderen Mikrokosmen stiegen die Dichten nur leicht an und blieben zwischen 2 und 12 Individuen/L bis zum Beginn der Dosierung in Woche 6. Die zweite Durchmischung der Wassersäulen konnte die unterschiedlichen Individuendichten der Copepoden nicht ausgleichen (Abb. 84).



1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

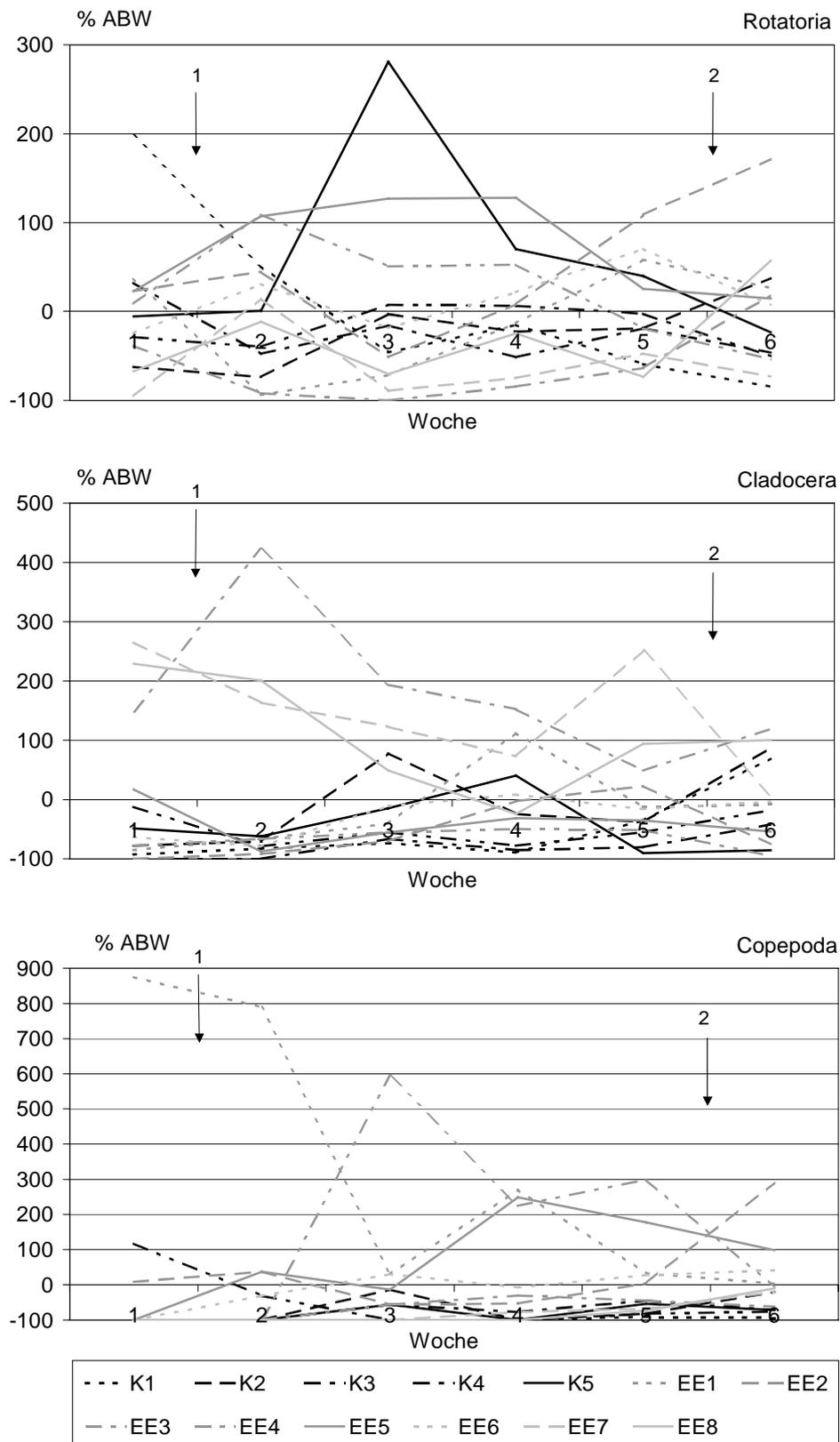
Abb. 84: Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

3.5.4.4 *Prozentuale Abweichung der Populationsdynamik der Rotatoria, Cladocera und Copepoda von ihren Mittelwerten (%ABW_{K+EE}) (EE-Versuch, Woche 1 bis 6)*

Die prozentuale Abweichung der Abundanzen der Rotatorien betrug für die Mehrzahl der Mikrokosmen zwischen - 100 und + 100 %. Lediglich bei K1 (Woche 1) und K5 (Woche 3) lag die Abweichung bei + 200 % bzw. + 270 %, in EE5 lagen die Werte zwischen Woche 2 und 4 bei ca. + 125 %. In EE2 kam es nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen zu Anstiegen von %ABW_{K+EE} von + 100 % auf über + 150 %. (Abb. 85).

Bei den Cladoceren (Abb. 85) betrug die Abweichungen in der Mehrzahl der Mikrokosmen (außer EE3, EE7 und EE8) zwischen - 100 und 0 %. Lediglich in K2 (Woche 3), K5 (Woche 4), EE1 (Woche 4) und EE2 (Woche 5) stiegen die Werte für %ABW_{K+EE} auf + 80 % (K2), + 45 % (K5), + 105 % (EE1) und + 30 % (EE2). In den Mikrokosmen EE3 lagen die Abweichungen vor der ersten Durchmischung in Woche 1 bei + 150 % und nahmen in Woche 2 auf + 415 % zu, um nachfolgend bis vor der zweiten Durchmischung der Wassersäulen in Woche 6 auf + 70 % abzunehmen. Die Abweichungen in EE7 und EE8 nahmen von Woche 1 bis Woche 6 von + 260 % bzw. + 220 % auf - 50 % bzw. + 2 % ab (Anstieg auf + 250 % in Woche 5 vor der zweiten Durchmischung bei EE7).

Die Werte für %ABW_{K+EE} bei den Copepoden betrug in den meisten Mikrokosmen von Woche 1 bis 6 zwischen - 100 und + 20 % (Abb. 85). Nach der ersten Durchmischung nahmen die Abweichungen in K4 von + 120 % auf - 40 % ab. In EE1 nahm die Abweichung von + 870 % in Woche 1 nach der ersten Durchmischung auf + 800 % (Woche 2) ab und lag in Woche 3 nur + 40 % über den Mittelwerten. Mit Ausnahme von Woche 4 (+ 280 %) schwankten die Abweichungen in EE1 nachfolgend nur geringfügig um die Mittelwerte. In EE4 stiegen die Abweichungen in Woche 3 von - 100 % auf + 600 % an und sanken bis vor der zweiten Durchmischung auf + 300 %. Die Abweichungen in EE5 stiegen in Woche 4 von 0 % auf + 250 % und sanken nach der zweiten Durchmischung auf + 100 % ab.



1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

Abb. 85: %ABW_{K+EE} der Rotatoria, Cladocera und Copepoda (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

3.5.4.5 Populationsdynamik ausgewählter Zooplanktonarten (EE-Versuch, Woche 1 bis 6)

Die Dichte von *Synchaeta spp.* von Woche 1 bis 6 lag bei den meisten Mikrokosmen < 5 Individuen/L. Es kam jedoch zu kurzfristigen Anstiegen auf 15 bis 29 Individuen/L bei EE2 und EE4 in Woche 2 nach der ersten Durchmischung der Wassersäulen, bei K2 bis K4 und EE5 in Woche 3 und bei EE1 in den Wochen 4 und 5. In K5 war ein Maximum von 165 Individuen/L in Woche 3. Die zweite Durchmischung der Wassersäulen hatte keinen Einfluss auf die Individuendichten von *Synchaeta spp.* (Abb. 86).

Die Abundanzen von *Polyarthra spp.* (Abb. 86) waren bei der Mehrzahl der Mikrokosmen < 3 Individuen/L. In EE5 stieg die Individuenzahl auf 18 bis 26 Individuen/L in Woche 2 bis 4. Die Durchmischung der Wassersäulen konnte diesen Anstieg der Populationsdichten nicht verhindern. In den Mikrokosmen K2 und K5 stiegen die Individuendichten in Woche 3 auf 7 bis 13 Individuen/L.

Vertreter der Gattung *Lecane* traten zu Versuchsbeginn mit Individuendichten bis 10 Individuen/L auf. Nach der ersten Durchmischung der Wassersäulen blieben die Abundanzen zunächst konstant bzw. stiegen nur wenig an. Unterschiedliche Dichten konnten durch die Durchmischungen der Wassersäulen nicht ausgeglichen werden. In K1, K3, EE1 und EE4 kam es in Woche 3 zu Anstiegen auf 30 bis 38 Individuen/L, bei K5 und EE5 stiegen die Individuenzahlen in Woche 4 auf > 20 Individuen/L, in EE 2 in Woche 5 auf ca. 60 Individuen/L an. Die Individuendichten der übrigen Mikrokosmen blieben unterhalb von 20 Individuen/L. Nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen betrugen die Abundanzen in allen Mikrokosmen zwischen 2 und 20 Individuen/L (Abb. 86).

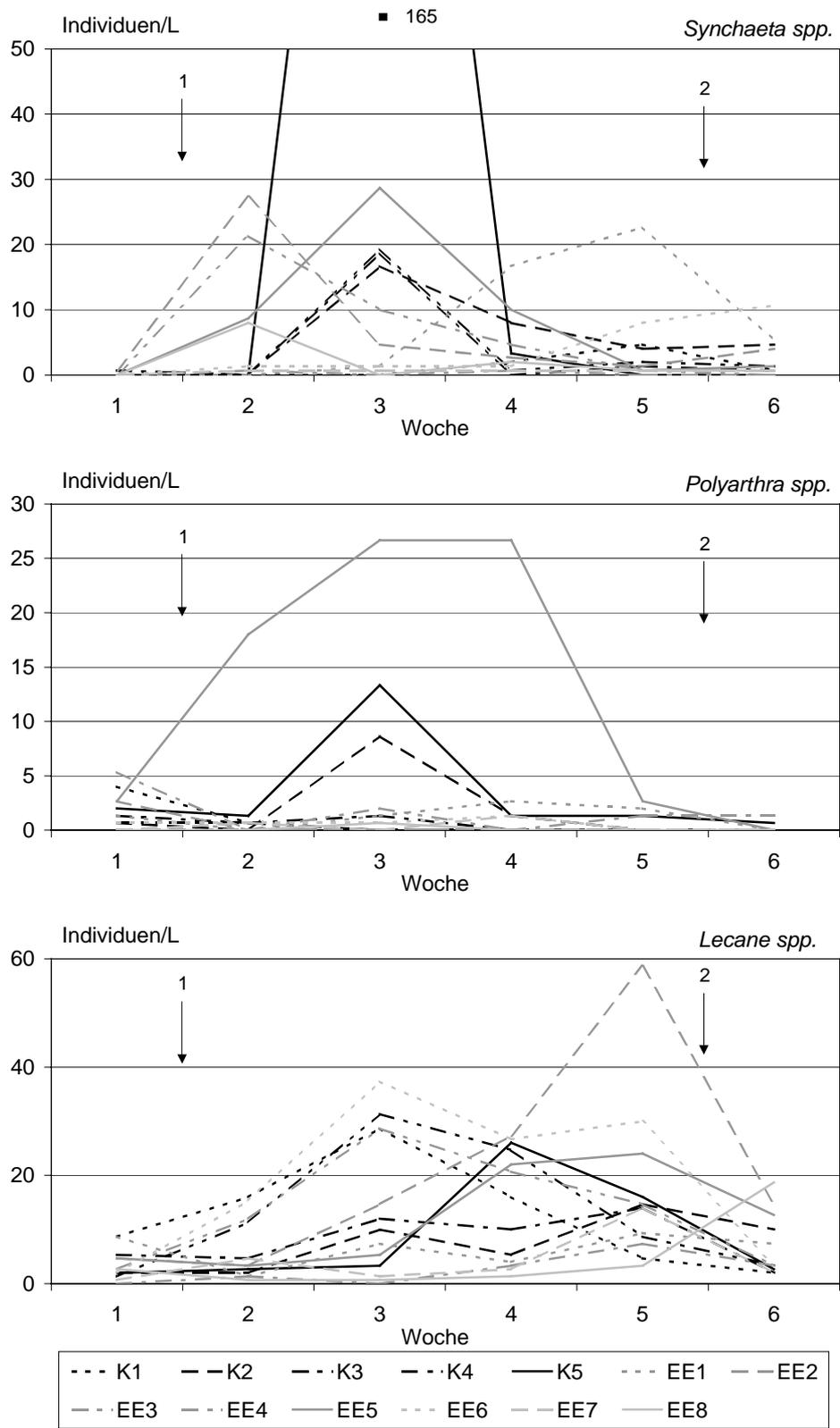
Daphnia longispina (Abb. 87) kam zu Versuchsbeginn mit Abundanzen unterhalb von 5 Individuen/L in den Mikrokosmen vor. Nachfolgend stiegen die Dichten in EE3 und EE8 in Woche 2 auf < 10 Individuen/L, die Abundanzen von K2 und EE7 lagen in Woche 3, bei EE2 in Woche 4 und 5 bei ~ 20 Individuen/L. Maximale Individuendichten von 35 bis 39 Individuen/L traten bei EE1 in Woche 4, bei EE7 in Woche 5 und bei K2 in Woche 6 auf. Die Dichten von *Daphnia longispina* lagen in K1, K3 bis K4 und EE4 während der ersten fünf (K1) bzw. sechs Versuchswochen bei unter 10 Individuen/L. Die Mischungen hatten offensichtlich keinen Einfluss auf die Entwicklung der Populationsdichten.

Chydorus sphaericus (Abb. 87) wurde in den Mikrokosmen meist mit < 5 Individuen/L gefunden. In Woche 1 und 2 kam es in EE3 zu Anstiegen der Dichten auf über 20 Individuen/L, die bis Woche 4 in etwa konstant blieben. Ab Woche 5 wurden in K1, K4 und EE3 Anstiege auf 7 bis 28 Individuen/L festgestellt. Die Durchmischungen der Wassersäulen konnten abweichende Dichten nicht ausgleichen.

Sida crystallina (Abb. 88) trat in Woche 1 lediglich in EE7 und EE8 mit Individuendichten von 1 bis 2 Individuen/L auf, nachfolgend mit 2 bis 5 Individuen/L. Ab Woche 2 trat sie auch in EE3 und EE5 mit < 5 Individuen/L auf. Bis Woche 6 wurden in allen Mikrokosmen vereinzelte Individuen von *Sida crystallina* gefunden. In EE8 stiegen die Abundanzen nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen auf über 15 Individuen/L, in EE3 auf 9 Individuen/L.

Ceriodaphnia reticulata trat in sehr geringen Individuendichten (< 5 Individuen/L) und auch nur in einem Teil der Mikrokosmen (K2, K5, EE3, EE4, EE6 und EE8) auf. Lediglich in EE8 traten erhöhte Individuendichten von > 5 Individuen/L in Woche 5 und > 25 Individuen/L in Woche 6 auf (Abb. 88).

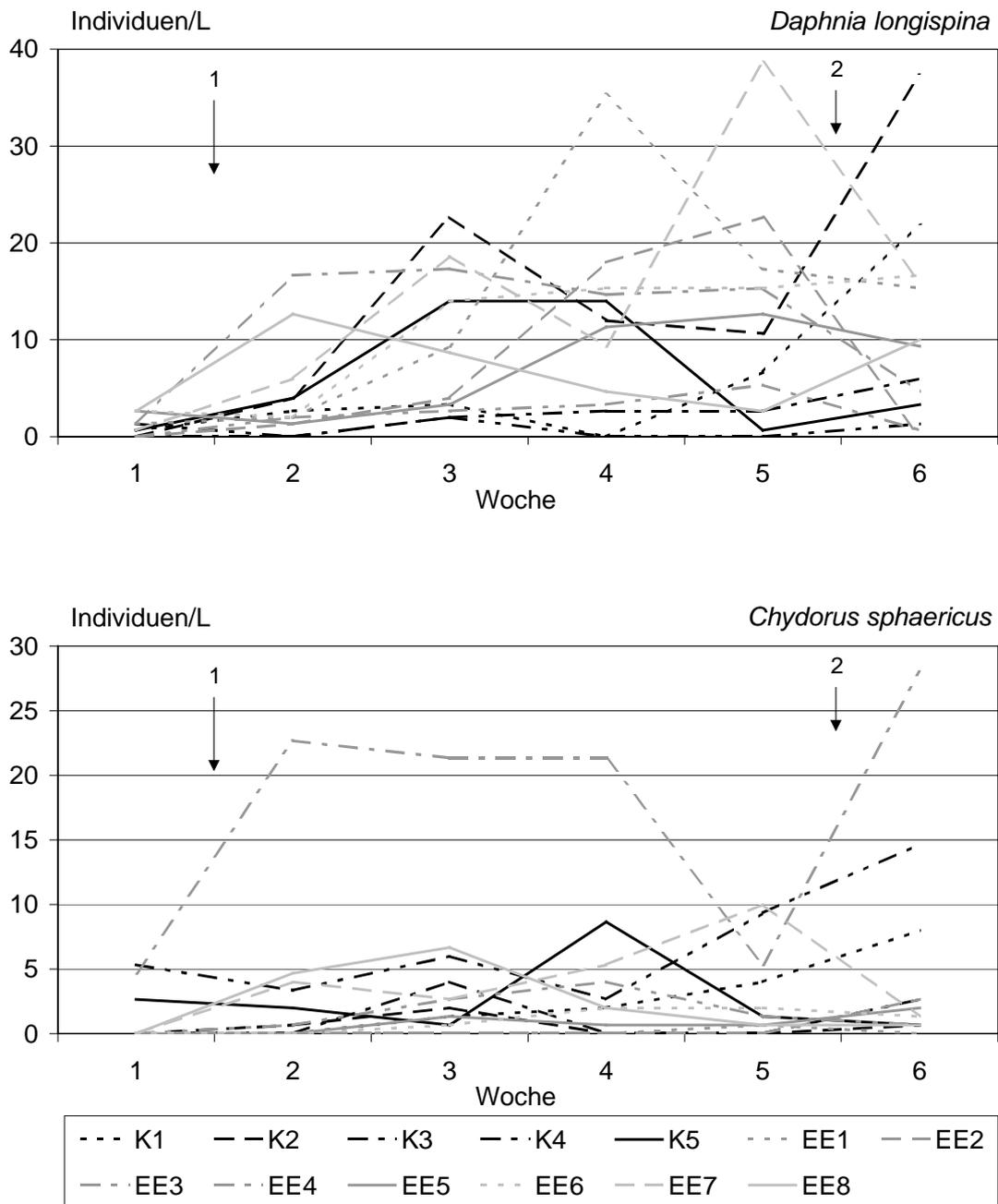
Die Nauplien-Stadien der Copepoden traten in den Mikrokosmen erst ab Woche 4 mit Individuenzahlen bis 10 Individuen/L auf, in EE4 und EE5 erreichten ihre Abundanzen in Woche 5 maximal > 56 bzw. 39 Individuen/L. In EE2, EE5 und EE6 traten Dichten zwischen 10 und 20 Individuen/L ab Woche 6 auf. Nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen lagen die Individuendichten zwischen 0 und 25 Individuen/L. Die Copepodit-Stadien wurden mit sehr geringen Abundanzen von maximal 4 Individuen/L gefunden. Nur in EE2 kam es ab Woche 5 zu Anstiegen auf > 25 Individuen/L. Adulte Exemplare von *Eucyclops serrulatus* wurden mit maximalen Individuendichten von 5 Individuen/L ab Woche 4 in den Mikrokosmen gefunden und traten nach der zweiten Durchmischung der Wassersäulen mit Dichten bis 5 Individuen/L auf (Abb. 89).



1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

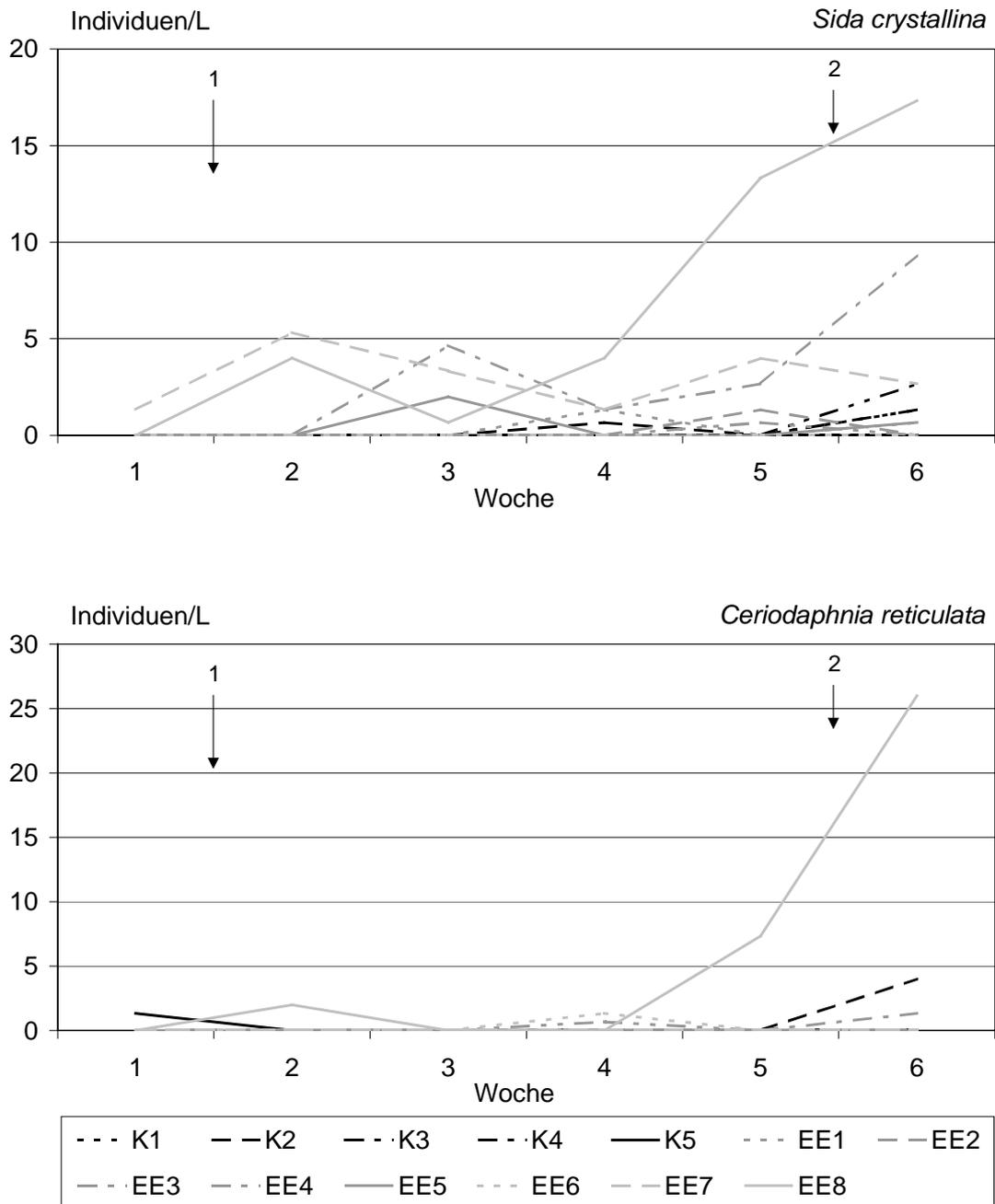
Abb. 86: Populationsdynamik von *Synchaeta spp.*, *Polyarthra spp.* und *Lecane spp.* (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

(Punkte außerhalb der Skalierung sind als Symbole mit Angabe des Wertes eingezeichnet.)



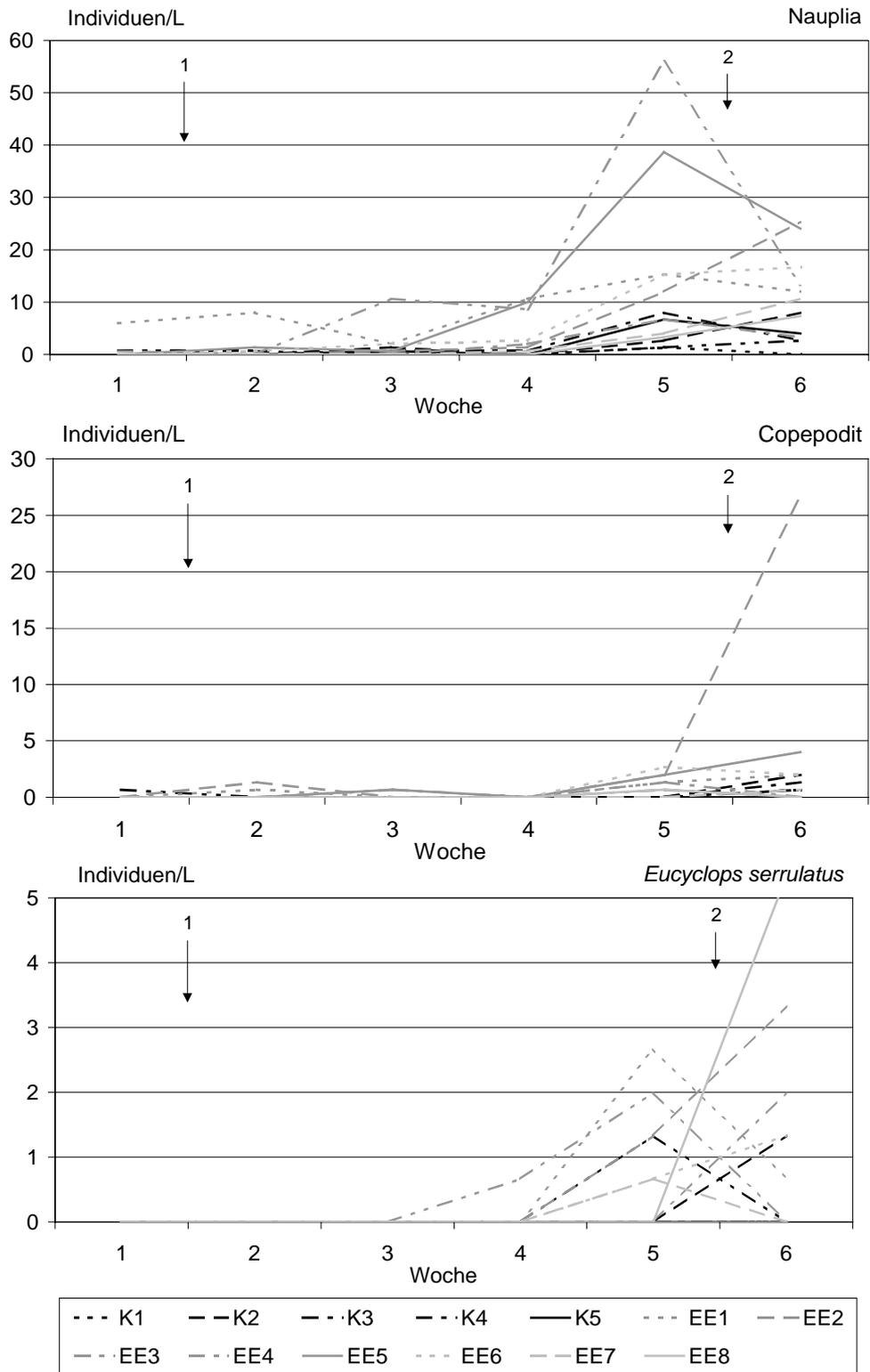
1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

Abb. 87: Populationsdynamik von *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus* (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)



1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

Abb. 88: Populationsdynamik von *Sida crystallina* und *Ceriodaphnia reticulata* (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)



1 und 2 Durchmischungen der Wassersäulen

Abb. 89: Populationsdynamik der verschiedenen Entwicklungsstadien von *Eucyclops serrulatus* (Durchmischungen der Wassersäulen am 25. Juni und 23. Juli)

3.6 Gegenüberstellung des Zooplanktons in den Kontrollen 1998 und 1999

Von den 22 Rotatorien-Arten, die in den Mikrokosmen beim Versuch mit Nonylphenol 1998 (9 Kontrollen) vorkamen, wurden 14 im Folgejahr wieder gefunden (5 Kontrollen). Dabei traten *Keratella cochlearis*, *Lecane (lecan)*, *Lecane monostyla*, *Polyarthra spp.*, *Synchaeta spp.*, *Trichocerca spp.* und *Trichotria spp.* mit Stetigkeiten von 100 % auf. Die 1998 gefundenen Taxa *Ascomorpha spp.*, *Dicranophorus spp.*, *Kellicottia longispina*, *Lecane spp.*, *Lecane luna*, *Notholca spp.*, *Proales spp.* und *Testudinella spp.* kamen im Ethinylestradiol-Experiment 1999 nicht mehr vor. *Colurella spp.*, *Conochilus spp.* und *Habrotrocha spp.* traten 1999 auf, wurden jedoch im Vorjahr nicht gefunden (Tab. 7).

Bei den Cladoceren traten im Versuchsjahr 1998 14 Arten, im Folgejahr 9 Arten auf. *Daphnia longispina*, *Chydorus sphaericus* und *Ceriodaphnia reticulata* erreichten in beiden Versuchen Stetigkeiten von 100 %. Arten, die 1998 auftraten, 1999 aber fehlten, waren *Acroperus harpae*, *Disparalona rostrata*, *Eurycerus lamellatus* und *Leydigia spp.*. 1999 wurde *Bosmina longirostris* identifiziert, im Folgejahr traten andere Vertreter der Gattung *Bosmina* in einigen Mikrokosmen auf, die jedoch nicht bis zur Art bestimmt wurden. Die 1998 als *Alona costata* und *Alona quadrangulis* identifizierten Cladoceren wurden 1999 als *Alona spp.* zusammengefasst (Tab. 8).

Bei den Copepoden trat in beiden Versuchsjahren *Eucyclops serrulatus* in allen Mikrokosmen auf. Nauplien- und Copepodit-Stadien erreichten ebenfalls Stetigkeiten von 100 %. 1998 traten vereinzelt Exemplare von *Canthocamptus staphylinus* und *Eudiaptomus gracilis* in einigen Mikrokosmen auf (Tab. 9).

1998 wurden vereinzelt *Baetidae (Ephemeroptera)*, *Nematoda* sowie *Hydra spp. (Hydrozoa, Coelenterata)* und Larven von *Nematocera (Diptera, Insecta)* gefunden. Diese traten 1999 nicht auf. *Ostracoda* wurden im Plankton aller Mikrokosmen in beiden Versuchsjahren beobachtet, *Chaoborus spp.* und *Argulus spp. (Crustacea)* traten ebenfalls in beiden Jahren auf, allerdings nur vereinzelt (Tab. 10).

Tab. 7: Artenzahl und Stetigkeit der Rotatorien in den Kontrollmikrokosmen

Rotatoria	Stetigkeit [%]	
	Nonylphenol 1998	Ethinylestradiol 1999
<i>Ascomorpha spp.</i>	100	0
<i>Asplanchna spp.</i>	100	60
<i>Brachionus spp.</i>	100	60
<i>Cephalodella spp.</i>	100	60
<i>Colurella spp.</i>	0	20
<i>Conochilus spp.</i>	0	40
<i>Dicranophorus spp.</i>	89	0
<i>Filinia spp.</i>	56	20
<i>Habrotrocha spp.</i>	0	100
<i>Kellicottia longispina</i>	67	0
<i>Keratella cochlearis</i>	100	100
<i>Keratella quadrata</i>	100	80
<i>Lecane (lecan)</i>	100	100
<i>Lecane monostyla</i>	100	100
<i>Lecane spp.</i>	100	0
<i>Lecane luna</i>	11	0
<i>Lepadella spp.</i>	89	100
<i>Monommata spp.</i>	78	100
<i>Notommata spp.</i>	0	100
<i>Notholca spp.</i>	67	0
<i>Polyarthra spp.</i>	100	100
<i>Proales spp.</i>	100	0
<i>Synchaeta spp.</i>	100	100
<i>Testudinella spp.</i>	56	0
<i>Trichocerca spp.</i>	100	100
<i>Trichotria spp.</i>	100	100
Artenzahl Rotatoria	22	18

Tab. 8: Artenzahl und Stetigkeit der Cladoceren in den Kontrollmikrokosmen

Cladocera	Stetigkeit [%]	
	Nonylphenol 1998	Ethinylestradiol 1999
<i>Acroperus harpae</i>	78	0
<i>Alona costata</i>	100	0
<i>Alona quadrangulis</i>	33	0
<i>Alona spp.</i>	0	100
<i>Bosmina spp.</i>	0	60
<i>Bosmina longirostris</i>	100	0
<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	100	100
<i>Chydorus sphaericus</i>	100	100
<i>Daphnia longispina</i>	100	100
<i>Diaphanosoma brachyurum</i>	100	60
<i>Disparalona rostrata</i>	22	0
<i>Eurycerus lamellatus</i>	22	0
<i>Leydigia spp.</i>	11	0
<i>Scapholeberis mucronata</i>	100	40
<i>Sida crystallina</i>	78	100
Cladocera (Juvenile)	100	100
Artenzahl Cladocera	14	9

Tab. 9: Artenzahl und Stetigkeit der Copepoden in den Kontrollmikrokosmen

Copepoda	Stetigkeit [%]	
	Nonylphenol 1998	Ethinylestradiol 1999
<i>Canthocamptus staphylinus</i>	11	0
<i>Eucyclops serrulatus</i>	100	100
<i>Eudiaptomus gracilis</i>	100	0
Copepodite	100	100
Nauplia	100	100
Artenzahl Copepoda	5	3

Tab. 10: Artenzahl und Stetigkeit der sonstigen Zooplanktonorganismen in den Kontrollmikrokosmen

Sonstige	Stetigkeit [%]	
	Nonylphenol 1998	Ethinylestradiol 1999
<i>Baetidae</i>	89	0
<i>Chaoborus spp.</i>	100	100
<i>Argulus spp.</i>	100	80
<i>Hydra spp.</i>	11	0
<i>Nematocera</i>	100	0
<i>Nematoda</i>	11	0
<i>Ostracoda</i>	100	100
Artenzahl Sonstige	7	3

4 Diskussion

4.1 Konzentrationsverlauf der Modellchemikalien

4.1.1 Nonylphenol

Durch die Dosierungsmethode Controlled-Release über semipermeable LDPE-Schläuche und damit kontinuierliche Freisetzung von Nonylphenol aus den Reservoirs, konnten Konzentrationsabfälle in den Mikrokosmen weitgehend ausgeglichen werden. Die Konzentrationen blieben nach deutlichen Anstiegen während der ersten 2 bis 2,5 Wochen über die nachfolgenden 4 Wochen etwa konstant (NP1) oder stiegen noch leicht an (NP2 bis NP7). Die Abnahmen der Konzentrationen im Wasser sind möglicherweise durch eine Verhinderung der Freisetzung aus den LDPE-Schläuchen durch Aufwuchs und eine daraus resultierende Blockierung der Poren verursacht. Verluste von Nonylphenol aus dem Wasser können weiter durch mikrobiellen (z.B. Ahel et al 1994b, d) bzw. photochemischen Abbau (Ahel et al. 1994c) sowie die Akkumulation in anderen Komponenten (Sediment, Biomasse) (z.B. Ahel et al 1994b) bedingt sein.

4.1.2 Ethinylestradiol

Anders als beim Experiment mit Nonylphenol konnte keine gleichmäßige Freisetzung von Ethinylestradiol aus den Reservoirs mit abgestuften Konzentrationen erreicht werden, auch wenn dies aufgrund der unterschiedlichen Länge der eingesetzten Schläuche zu erwarten gewesen wäre. Möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, dass hier eine nicht homogene Dispersion von kristallinem Ethinylestradiol in Triolein eingesetzt wurde, wodurch eine gleichmäßige Freisetzung nicht gewährleistet war.

4.2 Funktionelle Parameter

Die Applikation der Modellchemikalien Nonylphenol und Ethinylestradiol hatte keinen messbaren Einfluss auf die durch die Summenparameter repräsentierten Funktionen in den Mikrokosmen. Die Nährstoffverhältnisse, Sauerstoffsättigung, Leitfähigkeit und pH-Wert in den belasteten Mikrokosmen unterschieden sich nicht signifikant von den unbelasteten Kontrollen. Indirekte Effekte auf das Zooplankton, wie sie durch die Wirkung von Nonylphenol und Ethinylestradiol auf die Primärproduzenten und/oder Konsumenten auftreten können, wurden ebenfalls nicht beobachtet.

4.3 Zooplankton

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden in erster Linie die Effekte der Modellchemikalien auf die Organismen des Zooplanktons untersucht. Für das Experiment mit Nonylphenol liegen zum gegenwärtigen Zeitpunkt zusätzlich Phytoplanktondaten auf Ebene der Klassen vor. Zur vollständigen Beschreibung der Planktonzönose in den Mikrokosmen wäre außerdem die Berücksichtigung der Bakterienpopulation erforderlich. Heterotrophe Bakterien in Gewässern tragen in der Regel mit 20 bis 30 % zur Produktion bei. Ihre Abundanz in Oberflächengewässern beträgt etwa 10^6 Zellen/mL (Schmid-Araya & Schmid 2000).

Schätzungen zufolge weist das Sedimentporenwasser eine um mindestens 10^2 mal höhere Bakteriendichte auf, als das Freiwasser, wobei 90 % an Partikel gebunden sind (Schmid-Araya & Schmid 2000). Bakterien dienen als Nahrung für Ciliaten und Flagellaten, zu einem geringen Anteil auch für das Makrozooplankton. Das Grazing der Bakterienpopulation durch Rotatorien und Copepoden ist jedoch meist gering (Hakenkamp & Morin 2000). Heterotrophe Bakterien können stimulierende oder hemmende Wirkung auf das Wachstum des Phytoplanktons haben, in Abhängigkeit davon ob sie als Quelle oder Senke anorganischer Nährstoffe im Gewässer dienen. Im Epilimnion lebende heterotrophe Bakterien nutzen organische Substanzen als Kohlenstoffquelle (Güde 1989, Pedrós-Alió 1989). Möglicherweise wurden in den dosierten Mikrokosmen auch Nonylphenol bzw. Ethinylestradiol als C-Quellen genutzt (vgl. 4.1.1). In welchem Ausmaß und von welchen Mikroorganismen Nonylphenol bzw. Ethinylestradiol metabolisiert werden können, wurde für das Sediment der Mikrokosmen von Jontofsohn (in Vorbereitung) untersucht.

Ebenfalls in dieser Arbeit unberücksichtigt blieb die Rolle der Parasiten auf die Organismen des Phyto- bzw. Zooplanktons. Vor allem bei Wassertemperaturen über 20 °C und ausreichender Verfügbarkeit von Nährstoffen tritt in Gewässern verstärkt artspezifischer Parasitenbefall auf, der beispielsweise zu verstärkter Entwicklung von Konkurrenzarten führen kann (Van Donk 1989).

Im einzelnen untersucht wurden auch nicht Planktonorganismen $< 63 \mu\text{m}$, etwa die Protozoen. Diese dienen in Gewässern als Nahrung für größere Zooplanktonorganismen (DeMott 1989).

Aufgrund der durch diese Untersuchung erfassten Entwicklungsstadien, Arten, Gattungen und Gruppen des Zooplanktons in den Mikrokosmen, ist es jedoch möglich, verschiedene mögliche Nahrungsnetze zu konstruieren, die die Planktongesellschaft in den unbelasteten Mikrokosmen sowie unter dem Einfluss der Modellchemikalien beschreiben.

4.3.1 Rotatoria

Der Stamm der Rotatoria umfasst etwa 2.000 Arten, von denen rund 150 in Stillwasserhabitaten weltweit beschrieben sind. Von den zahlreichen planktonischen Arten wird bis zu 30 % der gesamten Süßwasserplanktonbiomasse gestellt. Man unterscheidet drei Klassen: die *Seisonidae* (2 Arten), die *Bdelloidea* (~ 360 Arten) und die *Monogononta* (~ 1.800 Arten). In den Mikrokosmen wurden 24 Vertreter der *Monogononta* gefunden. Die meisten Vertreter der *Monogononta* sind nicht größer als 1 mm, ihr unsegmentierter Körper ist weitgehend transparent. Die Tiere haben eine direkte Entwicklung, relativ kurze Lebenszyklen und vermehren sich parthenogenetisch. Nach dem Schlupf lassen sich drei Lebensstadien unterscheiden: die präreproduktive Phase (in der das somatische Wachstum stattfindet), die Reproduktionsphase (die meist den größten Teil des Lebens einnimmt und in der kontinuierlich Nachkommen produziert werden) und einer Postreproduktionsphase. Letztere tritt häufig in Laborkulturen auf, ist in natürlichen Populationen jedoch selten. Es existiert sexueller Dimorphismus, die Männchen sind sehr viel kleiner. Die weiblichen Tiere produzieren 15 bis 20 Eier, aus denen innerhalb weniger Stunden Jungtiere schlüpfen. Das Ausbilden von Dauereiern ist möglich und abhängig von den Umweltbedingungen. Die Lebensdauer der Tiere beträgt zwischen 7 und 10 Tagen. Rotatorien ernähren sich von kleineren Beutetieren (Ciliaten, heterotrophe Nanoflagellaten, Algen, Bakterien, Pilze), ihre Fortbewegung ist schwimmend oder treibend (Ricci & Balsamo 2000).

Das Nahrungsspektrum der Rotatorien umfasst Zellen < 20 µm; sehr große und kolonienbildende Algen, speziell *Cyanophyceae* werden verschmäht. Rotatorien spielen eine Rolle als Grazer des Biofilms, also der an Detrituspartikeln gebundenen Mikroorganismengesellschaften (Schmid-Araya & Schmid 2000). Vertreter der Gattung *Keratella* sind Generalisten und konsumieren ein breites Nahrungsspektrum. Zu den Spezialisten zählen die in den Mikrokosmen häufig aufgetretenen Gattungen *Polyarthra* und *Synchaeta*, die sich von größeren Partikeln (maximale Größe: *Cryptomonas*, ca. 25 µm) ernähren. Teilweise werden Picoplanktonalgen, kolonienbildende Diatomeen, Cyanophyceen, große Dinoflagellaten und Grünalgen mit Gallerthülle gefressen. Zu den beliebtesten Futteralgen zählen Vertreter der Gattung *Chlamydomonas* und *Cryptomonas*, also einzellige Nanoplanktonalgen ohne Schutzhülle (Sterner 1989). Die Selektion erfolgt u.a. nach dem Geschmackssinn. Die Futterschwellenkonzentrationen (Mindestdichte an Planktonalgen, die für den Fortbestand einer Art notwendig ist) der Rotatorien liegt zwischen 25 und 1.030 µg C/L. Je größer eine Art ist, desto mehr Eier kann sie produzieren und desto rascher erfolgt das Wachstum ihrer Population (DeMott 1989).

4.3.2 Cladocera

Die Gruppe der Cladoceren gehört zur Klasse der Branchiopoda, die acht Ordnungen umfasst. Zu den Cladocera gehören 4 Ordnungen, elf Familien und über 80 Gattungen. Die genaue Anzahl von Arten ist unbekannt, wird aber mit 450 – 600 Arten angegeben, von denen nur 2 % auf marine Habitate beschränkt sind. Die meisten Familien sind typischerweise planktonisch und leben substratunabhängig. In den Mikrokosmen traten Vertreter der *Sididae* (*Sida crystallina*, *Diaphanosoma brachyurum*), *Chydoridae* (*Acroperus harpae*, *Alona* sp., *Leydigia* sp., *Chydorus sphaericus*) und der *Daphniidae* (*Daphnia longispina*, *Ceriodaphnia* sp., *Scapholeberis mucronata*), *Bosminidae* (*Bosmina longirostris*) und der *Polyphemidae* (*Polyphemus pediculus*) auf. Die direkte Entwicklung erfolgt artspezifisch abhängig von der Temperatur und der zur Verfügung stehenden Nahrung. Die Lebensspanne beträgt 2 bis 3 Monate, wobei kontinuierliches Wachstum durch Häutung zu beobachten ist. Die Reproduktion erfolgt abhängig von den Umweltbedingungen obligat oder fakultativ parthenogenetisch, teilweise auch gametogenetisch (zweigeschlechtlich). Oftmals wechseln sich mono- und dizyklische Reproduktion ab. Abhängig von der Körpergröße des Tieres kann dieses unterschiedlich viele parthenogenetische Eier in der Brutkammer tragen, die Anzahl der Dauereier hingegen ist meist auf ein oder zwei beschränkt. Die männlichen Tiere sind kleiner als die weiblichen, ähneln diesen jedoch sehr. Die Tiere sind Nahrungsspezialisten und suchen spezielle Habitat auf. So sind Vertreter der *Daphniidae*, wie etwa die in den Mikrokosmen häufige *Daphnia longispina*, reine Planktonorganismen und ernähren sich von Algen. *Chydorus sphaericus*, ebenfalls regelmäßig in den Mikrokosmen auftretend, ist ein Weidegänger, der sich vom Periphyton auf Wasserpflanzen oder benthischen Algen ernährt. *Polyphemus pediculus* ist räuberisch, *Sida crystallina* klammert sich an Wasserpflanzen und ernährt sich von Epiphyton, während *Scapholeberis mucronata* an der Unterseite der Wasseroberfläche schwimmt und die dort lebenden Organismen abweidet (Dole-Olivier *et al.* 2000, DeMott 1989).

Die von Cladoceren, speziell von den nichtselektiven Vertretern der *Daphniidae*, bevorzugt aufgenommenen Planktonalgen haben eine Größe von 3 bis 20 µm und tragen keine Fortsätze oder Schutzhüllen. Picoplanktonalgen (< 2 µm) werden von Cladoceren nicht gefressen. Zu den beliebtesten Futteralgen gehören *Chlamydomonas* spp. und *Scenedesmus* spp. (*Chlorophyceae*), *Cryptomonas* spp. und *Rhodomonas* spp. (*Cryptophyceae*), *Chrysochromulina* spp. (*Chrysophyceae*) und *Cyclotella* spp. (*Bacillariophyceae*) (Sterner 1989).

Dabei erfolgt die Selektion nicht nach dem Geschmack. Die großen Vertreter der *Sididae* und *Daphniidae* können auch kleinere Partikel aufnehmen, wohingegen die kleinere Gattung *Chydorus* sich nicht so effektiv von Bakterien ernähren kann. Dies hängt damit zusammen, dass nicht die Körpergröße, sondern die Ausmaße des Filtrierapparates für die Selektivität maßgeblich ist. Die Futterschwellenkonzentrationen von *Daphnia* betragen im Labor bei 10 bis 20 °C zwischen 50 und 60 µg C/L, in natürlichen Gewässern ist der Bedarf höher. Größere Arten verhungern weniger leicht als kleine, da ihre gewichtsspezifische Metabolismusrate geringer ist. Dabei ist die Überlebensstrategie je nach Art unterschiedlich. Bei geringeren Futterdichten können sich Daphnien noch fortpflanzen, während *Bosmina* unter denselben Bedingungen weniger Energie in die Reproduktion investiert. Generell verhungern Jungtiere leichter als Adulte. Mit zunehmender Körpergröße produzieren Cladoceren geringfügig mehr Eier, so dass ihr Populationswachstum in Abhängigkeit von der Nahrungsverfügbarkeit nur leicht erhöht ist. Eine Ausnahme stellen die Chydoriden dar, die stets nur zwei Eier bilden (DeMott 1989).

4.3.3 Copepoda

Mit über 11.500 bekannten Arten stellen die Copepoda eine Unterklasse der *Maxillopoda* dar. Gegenwärtig umfasst sie zehn Ordnungen, von denen nur die *Harpacticoida*, *Cyclopoida*, *Calanoida* und *Gelyeloida* im Freiwasser freilebende Vertreter stellen. In den Mikrokosmen traten Vertreter der *Calanoida* (*Eudiaptomus gracilis*), der *Harpacticoida* (*Canthocamptus staphylinus*) und als bei weitem häufigste Art der zu den *Cyclopoida* gehörende *Eucyclops serrulatus* auf. Copepoden vermehren sich zweigeschlechtlich und machen eine stufenweise Entwicklung durch. Die Nauplien-Stadien werden aus den befruchteten Eiern entlassen und entwickeln sich über sechs Nauplien- und sechs Copepodit-Stadien zum erwachsenen Tier, das sich selbst nicht mehr häutet. Die Entwicklungsdauer ist abhängig von der Temperatur und der Nahrungssituation und dauert bei 11,5 °C etwa 65 Tage. Die Lebensdauer von *Eucyclops serrulatus* umfasst 4 bis 6 Monate, andere Arten können bis zu mehrere Jahre alt werden. Über die Ernährungsgewohnheiten der Copepoden in Stillgewässern ist noch wenig bekannt. Die Nauplien-Stadien sind allesamt Filtrierer. Einige große Cyclopoiden ernähren sich räuberisch von Nauplien, Rotatorien, Oligochaeten, Chironomiden-Larven und anderen kleinen Zooplanktonarten. *Eucyclops serrulatus* hingegen ist herbivor und weidet Periphyton ab bzw. frisst Planktonalgen. Diese Art bevorzugt sandiges Substrat sowie hyperbenthische oder epiphytische Habitate. Niedrige Sauerstoffsättigungen werden toleriert. *Eucyclops serrulatus* bevorzugt eutrophe Gewässer (Dole-Olivier 2000).

Zu den bevorzugten Habitaten dieser Art gehören das Benthos und das Litoral von Fließ- und Stillgewässern. *Eucyclops serrulatus* erreicht eine durchschnittliche Länge von 1,10 mm. Während der bis zu 79-tägigen Lebensdauer der Weibchen werden im Durchschnitt 18,5 Eipakete mit je ca. 35 Eiern ausgebildet. Insgesamt produziert ein Weibchen ca. 650 Nachkommen, die Generationszeit beträgt bei 20 °C im Durchschnitt 18,1 Tage (Robertson 2000). Ist ausreichend Nahrung vorhanden, werden die Tiere größer und können größere Eipakete bilden, wodurch das Populationswachstum zunimmt. Bei der Auswahl der Nahrung spielt der Geschmackssinn der Copepoden eine große Rolle (DeMott 1989).

4.4 Phytoplankton (Nonylphenol)

Chlorophyceae

Vertreter der *Chlorophyceae* besitzen eine zweischichtige Zellwand aus Pektin und Zellulose. Diese Algenklasse umfasst sowohl Flagellatentypen (z.B. *Volvocales*), als auch unbewegliche, kokkale Organisationsstufen der Grünalgen (z.B. *Chlorococcales*). In kleineren eutrophen Gewässern bilden sie die Hauptmenge des Phytoplanktons. Aufgrund ihrer Größe (5 bis 20 µm) und ihrer kompakten Form gehören sie zu den bevorzugten Futteralgen des Zooplanktons. Teilweise leben sie einzeln, bilden jedoch zum Teil auch hochorganisierte Kolonien (Huber-Pestalozzi 1974, Streble & Krauter 1978, Komarek & Fott 1983, Ettl 1988, Sterner 1989). In den Mikrokosmen (Nonylphenol-Versuch) waren die *Chlorophyceae* während des gesamten Beprobungszeitraums hauptsächlich mit *Chlorococcales* und *Volvocales* mit Anteilen von 10 % bis zu 90 % vertreten.

Cyanophyceae

Die auch als Blaualgen oder Cyanobakterien bekannten Vertreter der *Cyanophyceae* besitzen keinen echten Zellkern und sind zumeist im Süßwasser heimisch. Sie sind entweder einzellig, manche bilden sehr große, unbewegliche Kolonien, oder sie sind fädig und teilweise durch Schwingen und Kriechen zur Fortbewegung fähig. Fast alle Arten tragen Gallerthüllen, die durch Verschleimung der Zellmembranen entstehen oder durch die Zellen selbst ausgeschieden werden. Die Einzelzellen der Blaualgen sind meist sehr klein (< 5 bis 10 µm) und stets unbegeißelt. Einige Blaualgen bilden Toxine, die andere Algen, v.a. Grünalgen in ihrem Wachstum hemmen.

Deswegen, sowie wegen ihrer geringen Größe und der Gallerthülle werden *Cyanophyceae* nicht gerne von Zooplankton gefressen (Huber-Pestalozzi 1975a, Streble & Krauter 1978, Sterner 1989). In den Mikrokosmen waren die Cyanophyceen mit sehr geringen Anteilen (maximal 4 %) vorhanden.

Cryptophyceae

Cryptophyceen besitzen zwei unterschiedlich lange Flagellen und bewegen sich zitternd fort. Ihre asymmetrische Form wird durch eine zweischichtige, zarte und feste Pellicula bedingt. Aufgrund der fehlenden Umhüllung und ihrer Größe (10 bis 25 µm) gehören die *Cryptophyceae* zu den bevorzugten Futteralgen des Zooplanktons (Streble & Krauter, Huber-Pestalozzi 1968, Sterner 1989). Beim Versuch mit Nonylphenol wurden Vertreter dieser Algenklasse während der gesamten Beprobungsphase mit maximalen relativen Abundanzen von ca. 40 % gefunden.

Dinophyceae

Vertreter der *Dinophyceae* besitzen je eine Quer- und eine Längsfurche, in denen je eine Geißel liegt. Es existieren nackte Typen mit zarter Pellicula, jedoch werden von höheren Dinoflagellaten durch Zelluloseeinlagerungen in die Zellwände lederartige Hüllen bis hin zu regelrechten Panzern gebildet, die einen Schutz vor Grazing durch Zooplanktonorganismen darstellen. *Dinophyceae* gehören nicht zu den bevorzugten Futteralgen des Crustaceenplanktons (20 bis 30 µm) (Streble & Krauter 1978, Sterner 1989, Popovsky 1990). In den Mikrokosmen (Nonylphenol-Versuch) wurden die *Dinophyceae* mit relativen Abundanzen bis zu 60 % gefunden.

Chrysophyceae

Aufgrund ihres goldbraunen Chloroplasten tragen Vertreter der *Chrysophyceae* den Namen Goldalgen. Die meisten Arten sind sehr klein (< 15 µm). Häufig fehlt eine feste zellulosehaltige Zellwand, die Zellen sind dann in ihrer Form veränderlich. Manche Arten umgeben sich mit einem Gehäuse aus Zellulose und Pektin. Es existieren Flagellaten mit zwei meist ungleich langen Geißeln, nackte, amöbenähnliche Organismen sowie unbewegliche Zellen mit Gallerthüllen. Einige Arten gehören zu den bevorzugten Futteralgen der Cladoceren (Streble & Krauter 1978, Sterner 1989, Starmach 1985, Huber-Pestalozzi 1976). Die Chrysophyceen waren in den Mikrokosmen beim Versuch mit Nonylphenol lediglich in den ersten Wochen mit relativen Abundanzen bis 50 % vorhanden.

Bacillariophyceae

Diese auch als Diatomeen (Kieselalgen) bekannte Algenklasse trägt ihren Namen aufgrund der für sie charakteristischen Zellwand aus Kieselsäure. Silizium ist daher ein wichtiger Nährstoff und limitierender Faktor für diese Gruppe in Gewässern. Man unterscheidet runde (*Centrales*) und längliche Formen (*Pennales*). *Bacillariophyceae* sind in der Regel einzellig (5 bis 400 µm), teilweise bilden sie Kolonien. Kieselalgen stellen die wichtigste Gruppe der Aufwuchsalgen dar, es existieren jedoch auch viele planktischen Formen. Aufgrund ihrer Größe und Gestalt gehören Diatomeen nicht zu den bevorzugten Futteralgen des Zooplanktons. (Krammer 1996, Huber-Pestalozzi 1975b, Bay. LA f. Wasserwirtschaft 1987, Streble & Krauter 1978, Sterner 1989). In den Mikrokosmen (Nonylphenol-Versuch) waren *Bacillariophyceae* während der gesamten Versuchsdauer nur mit geringen Anteilen (bis maximal 25 % relative Abundanz) vorhanden.

Conjugatophyceae

Conjugatophyceae werden aufgrund ihrer speziellen sexuellen Fortpflanzung auch als Jochalgen bezeichnet. Man unterscheidet fädige (*Zygnemales*) mit schraubenförmigen Chloroplasten von einzelligen Formen (Zieralgen) mit bizzaren Strukturen. *Conjugatophyceae* gehören aufgrund ihrer Größe (25 bis 100 µm) und der sie umgebenden Gallertschichten nicht zu den bevorzugten Futteralgen des Zooplanktons (Streble & Krauter 1978, Förster 1982, Kadlubowska 1984). Beim Mikrokosmen-Versuch mit Nonylphenol war der Anteil der *Conjugatophyceae* an der gesamten Phytoplanktonbiomasse v.a. in der zweiten Hälfte der Beprobungsphase mit bis zu 90 % verhältnismäßig groß, wobei der Anteil der einzelligen Zieralgen überwog.

Xanthophyceae

Vertreter der *Xanthophyceae* (oder Gelbgrünalgen) ähneln in Form und Farbe den Grünalgen. Bei einigen Arten sind die Zellwände verkieselt, die beweglichen Stadien besitzen zwei ungleich lange Geißeln. Sie sind meist nicht größer als 20 µm (Huber-Pestalozzi 1968, Streble & Knauer 1978). In den Mikrokosmen (Nonylphenol-Versuch) waren Vertreter dieser Algenklasse in der Vorapplikationsphase mit relativen Abundanzen von maximal 20 %, im weiteren Versuchsverlauf in geringen Anteilen (bis zu maximal 5 %) zu finden.

4.5 Planktonökologie

4.5.1 Kontrollen K1 bis K9 (NP-Versuch)

In natürlichen Gewässern erfolgt aufgrund der Konkurrenz der verschiedenen Algentaxa um die Nährstoffe sowie durch die Ausbildung der Konsumentenpopulation eine jahreszeitliche charakteristische Sukzession (Sommer 1989). In den Mikrokosmen wurde während der Versuchsdauer von Ende Mai bis Anfang September ein Ausschnitt dieser Sukzession erfasst. Zu Beginn des Versuchs Ende Mai bis Mitte Juni dominierten zunächst die Chrysophyceen, dann die Chlorophyceen (bis Woche 3), im weiteren Verlauf erreichten die Cryptophyceen, Dinophyceen und in K2 die Xanthophyceen höhere relative Anteile. Hohe Zelldichten und Biomassen in den ersten Wochen deuten auf noch relativ geringen Grazing-Druck durch das Zooplankton hin. Ab Woche 2 nahmen die Rotatorien zu, die aufgrund ihrer kurzen Generationszeiten und der noch geringen Konkurrenz durch die Cladoceren hohe Individuendichten erreichten. Die Population der langsamer wachsenden *Daphnia longispina* stieg mit leichter Verzögerung ab Woche 3. Das exponentielle Wachstum der Zooplanktonpopulation ab Woche 4 führte zu einem Rückgang der Phytoplanktonzell-dichten. In den Mikrokosmen nahm der Anteil bevorzugter Futteralgen (*Chlorophyceae*, *Chrysophyceae*) vermutlich infolge des Grazings durch *Daphnia longispina* ab und die als Futteralgen weniger bevorzugten *Dinophyceae* traten mit etwas größeren Anteilen auf. Die Cladoceren-Dichten nahmen in Woche 4 bis 5 vermutlich aufgrund von Nahrungsknappheit ab. Ab Woche 4 (K3) bzw. 5 nahmen die relativen Abundanzen der weniger bevorzugten *Conjugatophyceae* deutlich zu; im weiteren Versuchsverlauf kam es zu einem moderaten Anstieg der Zelldichten und Biomassen. Es ist davon auszugehen, dass während der ersten Wochen (Woche 1 bis 3) die Dichte des Phytoplanktons die Entwicklung der Zooplanktonpopulation steuerte (*bottom-up*-Kontrolle), jedoch im weiteren Verlauf die Zooplanktondichten und –zusammensetzung die Zusammensetzung und Abundanzen des Phytoplanktons wesentlich beeinflusste (*top-down*-Kontrolle) (Abb. 90). Inwieweit die Zooplankter in den Mikrokosmen für die beobachtete Verschiebung der Phytoplanktonzusammensetzung verantwortlich waren, wäre durch spezifische Grazing-Experimente zu klären. Alternativ könnte die Sukzession durch abiotische Faktoren oder eine Kombination abiotischer und biotischer Faktoren bedingt sein.

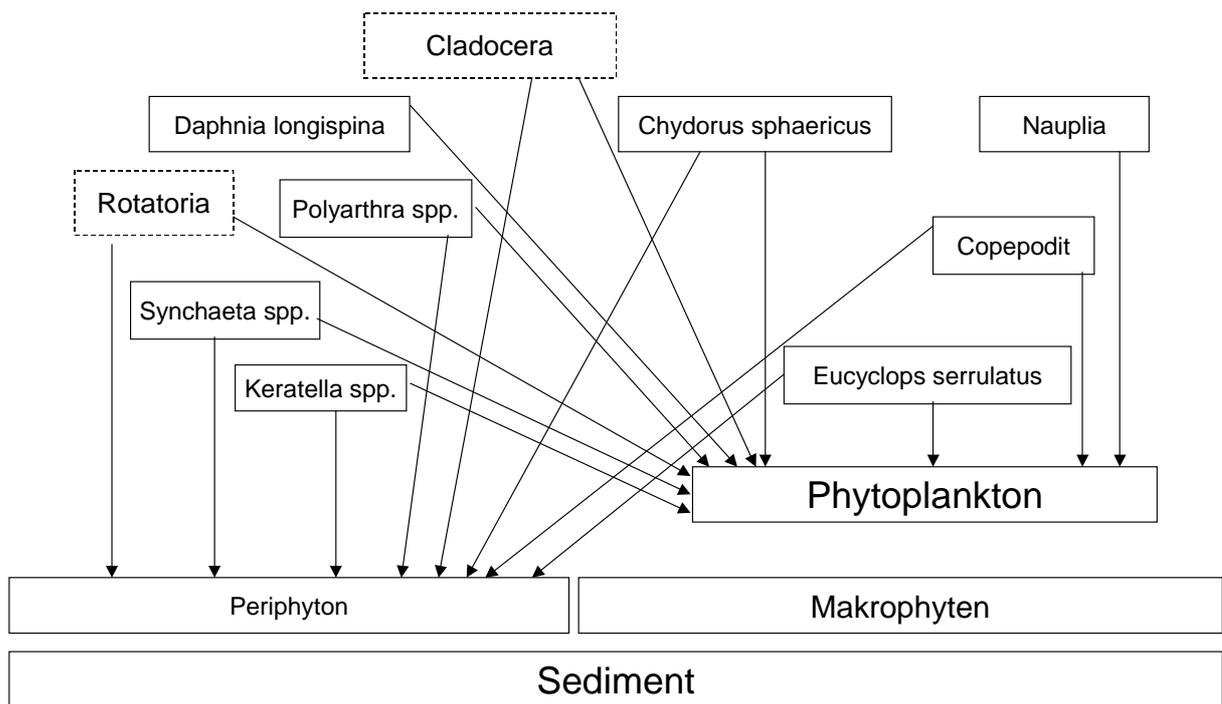
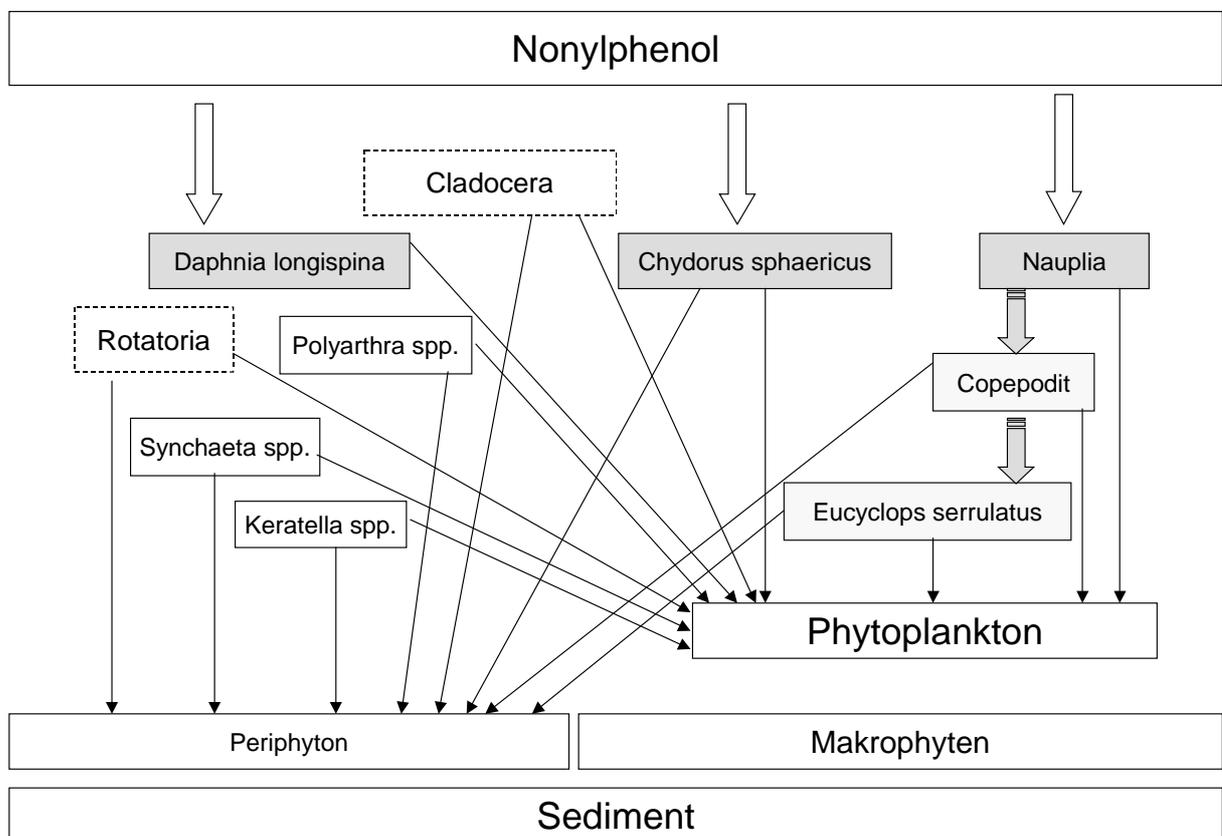


Abb. 90: Wirkungsgefüge der Planktonorganismen in den Kontrollen (NP-Versuch)

4.5.2 Nonylphenol-Mikrokosmen (NP1 bis NP7)

Die Verhältnisse in den Mikrokosmen während der Vorapplikationsphase ähnelten denen in den Kontrollen (Abb. 91). Das sich entwickelnde Phytoplankton diente als Nahrung für die sich entwickelnden Rotatorien- und Cladocerenpopulationen. Die zunehmende Zooplanktondichte führte schließlich zu Abnahmen der Phytoplanktonzellzahl und –biomasse. Während der Dosierung kam es ab NP-Konzentrationen von 19 bis 44 µg/L (NOEC-Werte Woche 6 bis 11) zu signifikanten Abnahmen der Cladoceren und Nauplien-Stadien der Copepoden und damit zu geringerem Grazing des Phytoplanktons (*top-down*-Steuerung). Beim in dieser Studie untersuchten Phytoplankton der Mikrokosmen NP4, NP5 und NP7 kam es zu Änderungen der relativen Abundanzen und unterschiedlichen Strukturierung der Phytoplankton-biozönosen. Während der Anteil der *Chlorophyceae* bei NP4 und NP5 in etwa konstant bei ca. 10 % blieb, nahmen die relativen Abundanzen der *Dinophyceae* deutlich auf bis 60 % zu. Die *Cryptophyceae* waren nur wenig häufiger vorhanden im Vergleich zu NP2 und den Kontrollen. Während der Postapplikationsphase nahm der Anteil der *Dinophyceae* in NP4 und NP5 ab und die *Conjugatophyceae* traten häufiger auf. Der Anteil der *Chlorophyceae* blieb trotz der Erholung (Recovery) der Cladoceren und möglichem Grazing in etwa gleich. In NP7 nahm der relative Anteil der *Chlorophyceae* vermutlich aufgrund des verringerten Grazings durch die Cladoceren während der Dosierungsphase deutlich zu.

Nach Dosierungsende kam es in NP7 zu einer starken Zunahme der *Dinophyceae*, während die *Chlorophyceae* deutlich abnahmen. Dies ist möglicherweise auf die Zunahme der Nauplien und das daraus resultierende Grazing zurückzuführen. Nonylphenol hatte neben direkten Effekten durch die Veränderungen der Phytoplanktonbiozönose vermutlich auch indirekte Effekte auf das Zooplankton. Inwieweit das Phytoplankton nur indirekt durch Veränderungen in der Zooplanktonbiozönose beeinflusst, oder auch direkt durch die Chemikalie geschädigt wurde, müssen Toxizitätstests mit ausgewählten Arten zeigen. Der EC 50-Wert für *Scenedesmus subspicatus* lag bei 56 µg/L (Kopf 1997) und lässt direkte Effekte auf Phytoplanktonorganismen bei langfristiger Exposition möglich erscheinen.



(in grau: Arten, die direkt bzw. indirekt von Nonylphenol beeinträchtigt wurden)

Abb. 91: Wirkungsgefüge der Planktonorganismen in mit Nonylphenol belasteten Mikrokosmen

Diversität und Evenness der mit Nonylphenol belasteten Mikrokosmen zeigten im Gegensatz zu O'Halloran *et al.* (1999) keine Abweichungen von den unbelasteten Kontrollen. Die Artenzahlen waren in NP5 und NP7 niedriger im Vergleich zu den Kontrollen, wobei dies möglicherweise eher in den geringeren Artenzahlen der Vorapplikationsphase (ab Woche 3) begründet ist, als durch die Dosierung mit Nonylphenol.

Während der letzten beiden Wochen der Dosierung lagen die Abundanzen der Rotatorien unterhalb denen in den Kontrollen, wobei vermutlich *Lecane spp.* und *Synchaeta spp.* negativ durch Nonylphenol beeinflusst waren. Die Gattungen *Trichocerca* und *Acroperus*, für die O'Halloran *et al.* (1999) Abundanzabnahmen fanden, traten nur mit sehr geringen Abundanzen auf, weswegen Aussagen für diese Taxa hier nicht möglich sind.

4.5.3 *Ethinylestradiol-Mikrokosmen*

4.5.3.1 ***Auswirkungen der Durchmischungen der Wassersäulen (Woche 1 bis 6, Vorapplikationsphase)***

Es konnten keine Angleichungen der Artenzahlen, Diversität und Evenness infolge der Durchmischungen der Wassersäulen beobachtet werden. Auch bei den Individuendichten der Rotatorien, Cladoceren und Copepoden war keine Angleichung möglich. Die Durchmischung der Wassersäulen zur Angleichung der Planktonbiozösen war offensichtlich nicht ausreichend. Abweichende Entwicklungen in verschiedenen Mikrokosmen können vermutlich nur unter Austausch bzw. Mischung großer Wassermengen ausgeglichen werden. Umso wichtiger ist daher die gleichmäßige Befüllung der Mikrokosmen zu Versuchsbeginn.

4.5.3.2 ***Effekte von Ethinylestradiol (Woche 6 bis 15)***

Die Zusammensetzung der Zooplanktonpopulationen war in den verschiedenen Mikrokosmen im Vergleich zum Nonylphenolversuch relativ uneinheitlich. Die Rotatorien waren mit sehr geringen Abundanzen vertreten, in einigen Mikrokosmen überwogen die Copepoden-Nauplien, in anderen die Cladocera. Aufgrund der noch nicht vorliegenden Phytoplanktonergebnisse lässt sich nur spekulativ ein Wirkungsgefüge über die Situation in den Mikrokosmen beim Versuch mit Ethinylestradiol aufstellen (Abb. 92).

Weder die Betrachtung der Populationsdynamik auf Artenebene, noch für die Zooplanktongruppen (Rotatoria, Cladocera, Copepoda) zeigten eindeutige konzentrationsabhängige Veränderungen der Zooplanktonbiozösen. Die Principal-Response-Curves während der Dosierungsphase zeigten ebenso wenig Effekte von Ethinylestradiol auf das Zooplankton. Die Analyse mit CANOCO ergab keine Komponente, die einen Effekt der Dosierung auf das Zooplankton erklären könnte. Eine Interpretation der Daten ist zudem durch die mangelhafte Expositionssituation während der Dosierung (vgl. 3.1.2 und 4.1.2) sowie fehlende Vergleichsstudien erschwert.

Eine spezielle endokrine Wirkung von Nonylphenol auf die Zooplanktonorganismen, konnte anhand der Ergebnisse des Versuchs mit Ethinylestradiol weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. Dies sowie mögliche direkte toxische Effekte müssen durch weitere Untersuchungen geklärt werden

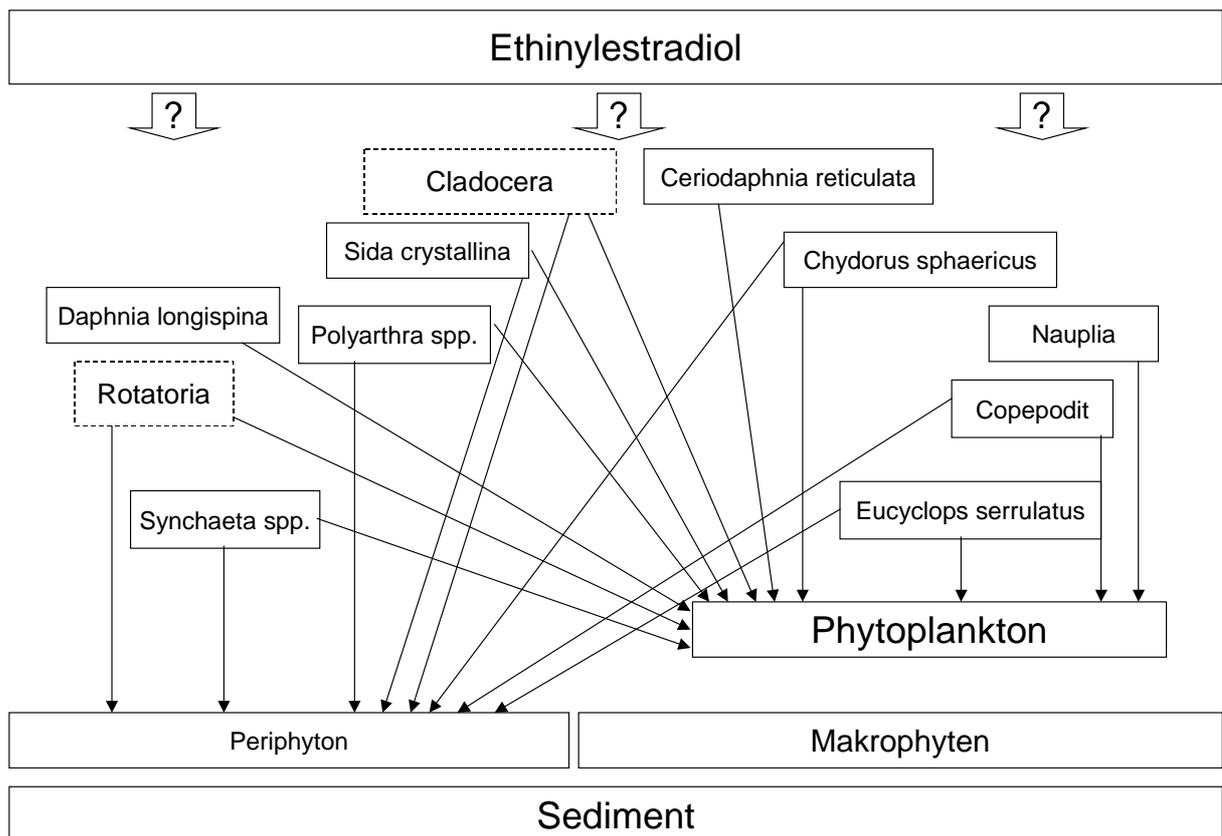


Abb. 92: Wirkungsgefüge in den Mikrokosmen beim Versuch mit Ethinylestradiol

4.6 Eignung der Mikrokosmen als ökotoxikologische Testsysteme

Die vorliegende Arbeit sollte die endokrine Wirkung von Nonylphenol und Ethinylestradiol auf eine Zooplanktongesellschaft unter Freilandbedingungen untersuchen. Zu diesem Zweck wurden Testsysteme eingesetzt, wie sie in der Ökotoxikologie zur Ermittlung des Gefahrenpotenzials von Pestiziden auf Organismen in der aquatischen Umwelt verwendet werden. Für die Durchführung ökotoxikologischer Tests in Mikro- und Mesokosmen existieren Empfehlungen hinsichtlich des Versuchsdesigns, der Applikation der Chemikalien, der Probenahme sowie der Auswertung des erhobenen Datenmaterials.

Aufgrund der speziellen Fragestellung, nämlich der Erfassung der Hormonwirkung von Xenobiotika bzw. eines synthetischen Hormons auf eine bestimmte Organismengruppe, unterschied sich der angewandte Versuchsansatz in einigen Punkten von den von Experten aus Industrie, Wissenschaft und Regulierungsbehörden erarbeiteten Vorgaben (Guidance Documents). Diese Abweichungen von den HARAP und CLASSIC Guidance Documents (Campbell *et al.* 1999, Heger *et al.* in Vorbereitung) sollen im folgenden dargestellt werden.

4.6.1 *Versuchsdesign*

Ein wichtiges Ziel ökotoxikologischer Tests ist die Ermittlung von Dosis-Wirkungsbeziehungen. Aus diesem Grund ist ein regressiver Ansatz anzustreben, in dem mindestens drei, bevorzugt fünf Konzentrationen getestet werden, mit mindestens zwei Replikaten pro Konzentration. Der getestete Bereich muss nach Möglichkeit im Rahmen zu erwartender Effektkonzentrationen liegen. Diese Vorgabe berücksichtigt zum einen das „ANOVA“-Design, bei dem wenige Konzentrationen im Bereich der erwarteten Umweltkonzentrationen mit mehreren Replikaten getestet werden (befürwortet von Touart & Slimak 1989), als auch den regressiven Ansatz, bei dem eine große Bandbreite an Testkonzentrationen zum Einsatz kommt und bei dem auf Replikate verzichtet wird. Sollte ein Dosis-Wirkungs-Ansatz (zur Erhebung von EC_x -Werten) nicht durchführbar sein, so sind LOEC- und NOEC-Werte auf Community-Level, also auf der Basis ganzer Populationen und Gesellschaften zu erheben. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Regressionsansatz gewählt, bei dem mehrere Konzentrationen über einen größeren Bereich ohne Replikate getestet werden sollten. Graney *et al.* (1989) befürworteten diesen Ansatz, da durch die Erfassung von Effekten von einer sehr geringen Konzentration, in der für die Biozönose noch keine Effekte zu erwarten sind, bis hin zu hohen Konzentrationen, die die Lebensgemeinschaften in den Testsystemen komplett schädigen, ein Aufstellen von Dosis-Wirkungsbeziehungen ermöglichen.

Eine direkte Applikation der Testchemikalie ist anderen Dosierungsmethoden (z.B. kontinuierliche Zugabe) vorzuziehen, die zwar realistischer, deren Resultate aber aufgrund der problematischen Reproduzierbarkeit schwieriger zu interpretieren und extrapolieren sind. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Regressionsansatz gewählt, bei dem die Substanzen per Controlled Release dosiert wurden, um Belastungssituationen zu simulieren, wie sie in der natürlichen Umwelt vorkommen. Für Nonylphenol und Ethinylestradiol ist dies beispielsweise die Freisetzung aus Kläranlagenausflüssen bzw. die Rücklösung aus angereicherten Sedimenten.

Der Einsatz von Replikaten ist bei dieser Art der Applikation problematisch, da trotz identischer Oberfläche des Reservoirs die Freisetzung unterschiedlich schnell erfolgt und gleiche Konzentrationen für die Replikate nicht erreicht werden können. Die Dosierung der Testchemikalie sollte im Frühjahr erfolgen, bei hoher Diversität und Individuendichten in den Modellökosystemen. Dies entspricht einem „worst case“-Szenario und mögliche Effekte können für ein breiteres Artenspektrum und hinsichtlich der Sukzession während der Vegetationsperiode untersucht werden. Außerdem bleibt so ausreichend Zeit, die Erholung der Biozönose nach dem Rückgang der Konzentrationen noch während derselben Vegetationsperiode zu untersuchen. In der Studie mit Nonylphenol erfolgte die Dosierung Mitte Juni, also bereits nach dem Frühjahrsmaximum der Rotatorien. Beim Versuch mit Ethinylestradiol wurde erst Ende Juli dosiert, die Einrichtung der Mikrokosmen fand während der Anfangsphase eines Hochwasserereignisses am Ammersee statt. Hierdurch wurde den Mikrokosmen eine verarmte Planktonbiozönose zugesetzt, deren Artenzahl und Individuendichte im Vergleich zum Vorjahr stark reduziert war. Die getesteten Konzentrationen lagen bei Nonylphenol in der Größenordnung der in der Umwelt gemessenen Werte. Bei Ethinylestradiol sollte der Bereich abgedeckt werden, für den in Single-Spezies-Tests Effekte gefunden wurden. Dies wurde aufgrund der problematischen Dosierung jedoch kaum erreicht.

4.6.2 *Statistische Auswertung*

Ökotoxikologische Untersuchungen haben die Ermittlung ökologisch akzeptabler Konzentrationen von Xenobiotika in der Umwelt, sogenannte EAC (Ecologically Acceptable Concentrations), zum Ziel. Die EAC ist definiert als die höchste Konzentration der betreffenden Umweltchemikalie, die zu keinen ökologisch signifikanten Effekten führt. Als geeigneter Endpunkt dient die $NOEC_{Community}$, durch die die Wirkung von Chemikalien auf Organismengesellschaften umfassend beschrieben wird, auch wenn die NOEC-Werte für Einzelarten unter denen der $NOEC_{Community}$ liegen.

Die EAC berücksichtigt sowohl das Ausmaß der Effekte, die Bedeutung der betroffenen Arten im Ökosystem sowie die Auswirkungen auf die Strukturen und Funktionen der Biozönosen (Heger *et al.*, in Vorbereitung). Zur Ermittlung von NOEC-Werten zur Detektion von direkten und indirekten Wirkungen sowie zur Erfassung der Recovery von Gesellschaften, eignen sich aus dem Bereich der multivariaten statistischen Analysen Ordinationen, wie z.B. die Principal-Response-Curves (PRCs) nach Van den Brink & Ter Braak (1999). Bei einem Versuchsdesign mit Replikaten läßt sich die $NOEC_{Community}$ mittels des in CANOCO (Version 4.0) realisierten Permutationstests errechnen.

In der vorliegenden Studie kamen jedoch keine Replikate zum Einsatz, weswegen die $\text{NOEC}_{\text{Community}}$ -Werte in Anlehnung an Liber *et al.* (1992) bestimmt wurden.

4.6.3 Recovery

Das Einbringen von Testsubstanzen stellt eine chemische Störung des Ökosystems dar, die als solche relativ zur seiner Recovery betrachtet werden muss (LaPoint & Fairchild 1989). Recovery, also die Erholung von Biozöosen nach Chemikalienbelastungen, kann sowohl anhand ansteigender Populationswachstumsraten auf das Niveau unbelasteter Kontrollen, als auch anhand der Wiederbesiedelung der durch die Chemikalie ausgelöschten Organismen erkannt werden. Für Zooplanktonpopulationen ist die Recovery eine Funktion ihrer verhältnismässig kurzen Generationszeit, der Anzahl der Expositionsergebnisse und der Persistenz des Schadstoffes in der Wassersäule (LaPoint & Fairchild 1989). Zur Erfassung von Recovery-Effekten ist im Versuchsdesign eine ausreichend lange Postapplikationsphase (2 bis 3 Generationszyklen, mindestens zwei aufeinanderfolgende Probenahmen) einzuplanen. Alternativ kann der Einsatz von *in-situ*-Assays oder weiterführende Single-Spezies-Tests für Arten mit komplexeren Lebenszyklen (z.B. Copepoden) verfolgt werden. In dieser Studie wurden die Mikrokosmen nach Dosierungsende im Experiment mit Nonylphenol noch für weitere sechs Wochen, bei Ethinylestradiol noch für vier Wochen untersucht. Im Nonylphenol-Versuch nahmen die Nauplien und Copepodite in NP4 bis NP6 während der Postapplikationsphase auf Abundanzen vergleichbar mit den Kontrollen zu (zwischen 1 bis 6 Wochen nach Applikationsende), in der höchsten Dosierung NP7 trat eine derartige Recovery bei den Nauplien und Copepoditen während der Postapplikationsphase nicht ein. Die Population von *Chydorus sphaericus* in NP7 erholte sich ebenfalls nicht während der erfassten Postapplikationsphase. Möglicherweise war die Beobachtungsdauer in diesem Fall zu kurz. Die statistischen Betrachtungen bestätigen diese Feststellung (vgl. 3.3.3).

Die Identifikation der Organismen in den Testsystemen sollte nach Möglichkeit auf Artniveau erfolgen. Dies gilt speziell für sehr sensitive Gruppen. Selten vorkommende Arten können für die Auswertung entsprechend zusammengefasst werden. Die Bestimmung der Taxa in den Mikrokosmen erfolgte so detailliert wie möglich. Teilweise konnten die Tiere auf Gattungs- bzw. Artniveau bestimmt werden, teilweise wurden sie in Gruppen, Entwicklungsstufen und Klassen zusammengefasst.

Wie der Vergleich der PRCs für alle Arten (vgl. Abb. 44) und für die drei Großgruppen des Zooplanktons (Rotatoria, Cladocera und Copepoda, vgl. Abb. 45) zeigt, geht durch die Zusammenfassung der Taxa auf dem Niveau der Klasse, Unterordnung bzw. Ordnung wichtige Information hinsichtlich der effektiven Wirkkonzentration verloren. Weiter können Effekte auf unterschiedlich sensitive Taxa innerhalb bestimmter taxonomischer Großgruppen bei mangelnder taxonomischer Auflösung nicht erfasst werden.

4.6.4 *Strukturelle und funktionelle Veränderungen*

Strukturelle Endpunkte bedeuten Änderungen der Artenzusammensetzung bzw. der Abundanzen der Individuen einer Biozönose. Im Versuch mit Nonylphenol war das beispielsweise die Abnahme der Nauplien- oder Cladoceren-Häufigkeiten (vgl. 3.3.2.2) sowie die Veränderung der Phytoplanktonbiozönose hinsichtlich der relativen Abundanzen der Algenklassen (vgl. 3.4.1.2). Primärproduktion und Nährstoffkreisläufe sind Funktionen innerhalb eines Ökosystems, die auch bei erheblichen Veränderungen der Biozöosenstruktur etwa durch Chemikalienwirkung aufrecht erhalten werden können. Änderungen der Funktionen innerhalb eines Ökosystems signalisieren daher meist gravierende Schädigungen der strukturellen Komponenten. Im Gegensatz zu strukturellen Veränderungen konnten in den Experimenten keine Störungen der Funktionen anhand der entsprechenden Summenparameter (Sauerstoffsättigung, Nährstoffkonzentrationen, pH, Leitfähigkeit) als Folge der Belastung festgestellt werden. Dies bestätigt die auch in anderen Studien (z.B. Peither *et al.* 1996) vertretene Auffassung, dass strukturelle Parameter sich aufgrund ihrer höheren Sensitivität besser zur Detektion schädlicher Effekte in Ökosystemen eignen als funktionelle Eigenschaften.

4.6.5 *Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Testsystemen auf die natürliche Umwelt*

In ökotoxikologischen Studien mit Modellökosystemen sind die betrachteten Taxa bzw. Biozöosen verschiedener trophischer Ebenen repräsentativ für die in der natürlichen Umwelt vorkommenden Biozöosen. Man geht davon aus, dass Effekte von Umweltchemikalien auf Störungen der Metabolismusfunktionen in den Testorganismen beruhen. Daher sind die bei bestimmten Konzentrationen auftretenden Effekte auf vergleichbare Populationen anderer Systeme (künstliche, wie natürliche) übertragbar. Dies wurde durch den Vergleich von Studien mit ähnlichen Komponenten bestätigt (Heger *et al.*, in Vorbereitung).

Bei isolierten Testsystemen und der Applikation einer Substanz, sind die EC_x - bzw. NOEC-Werte jedoch aufgrund der „worst case“-Exposition und des eingeschränkten Erholungspotenzials konservativ. Die im Rahmen der Mikrokosmenstudie erhobenen NOEC-Werte lassen sich also nicht ohne weiteres auf andere Systeme übertragen, sondern haben lediglich für die Systeme uneingeschränkte Gültigkeit, für die sie ermittelt wurden.

Die Übertragbarkeit der in Modellsystemen gewonnenen Ergebnisse auf natürliche Ökosysteme und Biozönosen hängt von der Vergleichbarkeit der Testsysteme mit realen Umweltbedingungen ab. Dies betrifft sowohl funktionelle als auch strukturelle Parameter. Beispielsweise muss geprüft werden, in wieweit die Bedeutung der durch die Chemikalie betroffenen Organismengruppe, ihre Häufigkeit und ihre Stellung im Nahrungsnetz in den Modellökosystemen vergleichbar ist mit der Situation in der natürlichen Umwelt. Weiter ist das Testsystem hinsichtlich seiner physikalisch-chemischen Charakteristika denen der natürlichen Umwelt gegenüberzustellen. Die in dieser Studie eingesetzten Mikrokosmen wurden mit Sediment, Wasser und der natürlichen Planktonbiozönose aus dem Litoral des Ammersees befüllt, wodurch zunächst die Biozönose eine gewisse Ähnlichkeit mit der des Ursprungsgewässers aufwies. Aufgrund der Isoliertheit der Mikrokosmen ist diese Vergleichbarkeit mit dem natürlichen Ökosystem jedoch eingeschränkt. Zum einen kann es im Ammersee zu Abwanderungen bzw. Zuwanderungen von Arten kommen (z.B. durch Zuflüsse, Verbreitung durch Wasservögel etc.), zum anderen beeinflussen dort Vertreter höherer Trophieebenen die natürliche Sukzession (z.B. Makroinvertebraten, Fische etc.). Die Anwesenheit dieser Trophiestufen mit Räubern spielt eine entscheidende Rolle für die Sukzession der Planktongesellschaft (Gliwicz & Pijanowska 1989). Weiter ist der Uferbereich durch abweichende physikalische und chemische Bedingungen charakterisiert. In den Mikrokosmen fehlt etwa die Dynamik des Wasserkörpers, dadurch bedingte Trübung der Wassersäule sowie Rücklösungsprozesse aus dem Sediment etc., wodurch sich die Planktonpopulationen anders entwickeln können (Reynolds 1989). Falls Recovery-Effekte in einem Modellökosystem nicht vollständig erfasst werden konnten, ist die Beantwortung dieser Frage hinsichtlich natürlicher Ökosysteme nicht möglich. Bevor diesbezügliche Aussagen getroffen werden können, müssen außerdem sämtliche Faktoren berücksichtigt werden, die die Erholung einer Population oder Biozönose möglicherweise beeinflussen können. Die Größe eines Modellökosystems im Vergleich zum natürlichen Ökosystem spielt bei der Übertragbarkeit der Ergebnisse eine entscheidende Rolle. Ergebnisse aus sehr kleinen Modellökosystemen, in denen nicht alle trophischen Ebenen repräsentiert sein können, haben in der Regel eine geringere Aussagekraft als Modellökosysteme mit vielen Kubikmetern Größe (Giddings 1983).

Weiter sind Modellökosysteme, die im natürlichen Ökosystem eingerichtet werden sehr ähnlichen Umweltbedingungen ausgesetzt und daher häufig vergleichbarer als weit vom natürlichen Ökosystem entfernte Testsysteme (Cairns 1988b). Die Vergleichbarkeit kleinerer und mittlerer Modellökosysteme mit dem natürlichen Ökosystem des Ammersees wird Gegenstand einer Vergleichsstudie sein (Sandmann, in Vorbereitung).

4.6.6 *Referenzcharakter des Versuchs mit Ethinylestradiol*

Um zu überprüfen, ob die Effekte von Nonylphenol auf das Zooplankton auf die hormonelle Wirkung der Substanz oder auf deren toxische Eigenschaften zurückzuführen sind, wurde der Versuch mit Ethinylestradiol als Positivkontrolle wiederholt. Das Versuchsdesign wurde bezüglich der Auswahl der Konzentrationen und der Art der Dosierung an die Fragestellung angepasst, die für zahlreiche andere Organismen bereits erwiesene östrogene Wirkung auch für Vertreter des Zooplanktons zu bestätigen. Die beim Experiment mit Ethinylestradiol erarbeiteten Ergebnisse weisen zunächst nicht auf einen Effekt der Chemikalie auf die Zooplanktonpopulation hin. Die Literaturdaten über die im Labor erfassten Effekte von Ethinylestradiol auf Invertebraten (vgl. hierzu 1.3.2) deuten auf Wirkkonzentrationen im Bereich zwischen 100 und 5.700 µg/L hin. In der vorliegenden Arbeit wurden maximale EE-Konzentrationen bis ca. 550 µg/L erreicht, es wurden also Konzentrationen im Bereich beobachteter Effekte getestet, wenn auch nicht über das gesamte in der Literatur ermittelte Spektrum. Ein Grund hierfür lag in der geringen Wasserlöslichkeit von Ethinylestradiol (bei pH 8,4 bei maximal 4.100 µg/L (Jaser, unveröffentlicht)). Auf den Einsatz von Lösungsvermittlern (z.B. Ethanol) bei der direkten Zugabe der konzentrierten EE-Lösungen wurde bewusst verzichtet, um eine Vergleichbarkeit mit dem Nonylphenol-Versuch zu gewährleisten.

5 Zusammenfassung

In Freilandexperimenten mit aquatischen Mikrokosmen (230 L) wurden die Effekte endokriner Disruptoren auf das Plankton aquatischer Modellökosysteme untersucht. Durch die Befüllung der Testsysteme mit Sediment, Wasser und der natürlichen Planktonbiozönose aus einem oligo-mesotrophen Litoralbereich des Ammersees, wurden komplexe Systeme geschaffen, die in ihrer Charakteristik zumindest ein hohes Potential an Naturnähe aufwiesen. Aquatische Modellökosysteme dienen in der ökotoxikologischen Forschung der Risikobewertung von Chemikalien. In der vorliegenden Arbeit stand die Detektion von hormonellen Effekten auf die Zooplanktongesellschaft in Mikrokosmen im Vordergrund, weswegen das Versuchsdesign von den für die Erhebung von Toxizitätspotenzialen von Pestiziden in Meso- und Mikrokosmenstudien vorliegenden Empfehlungen (Guidance Documents) abwich.

Als Modellchemikalie für ein Pseudohormon diente technisches Nonylphenol (NP) ausgewählt mit Testkonzentrationen im umweltrelevanten Bereich. Um eine Belastungssituation naturgetreu zu simulieren, wurde eine spezielle Dosierungsmethode (Controlled-Release) verwendet, bei der die Konzentrationen zu Versuchsbeginn langsam anstiegen und über sieben Wochen auf diskreten Niveaus gehalten werden konnten. Nach einer vierwöchigen Vorapplikationsphase wurden sieben Mikrokosmen mit NP-Konzentrationen zwischen 10 und 120 µg/L (max. Konzentrationen) belastet. An die sechswöchige Dosierungsphase schloss sich eine Postapplikationsphase von sechs Wochen an. Neun Mikrokosmen dienten als Kontrollen. Während der Versuchsphase von Mai bis September 1998 wurden wöchentlich physikalisch-chemische Parameter (Temperatur, Sauerstoffsättigung, pH, Leitfähigkeit, Nährstoffe) gemessen und Planktonproben entnommen.

Um Effekte von Nonylphenol auf das Zooplankton auf die östrogene Wirkung der Substanz zurückführen zu können, wurde im Folgejahr ein weiterer Versuch mit dem synthetischen Östrogen Ethinylestradiol (EE) durchgeführt (Juni bis September 1999). Während der sechswöchigen Vorapplikationsphase wurde das Wasser in den Mikrokosmen zweimal gemischt, um einem Auseinanderentwickeln der Biozönosen entgegenzuwirken. Dies war jedoch mit der angewandten Methode nicht möglich.

Fünf der insgesamt acht eingesetzten Testkonzentrationen erreichten Maximalwerte zwischen 40 und 670 ng/L und wurden per Controlled-Release-Dosierung dosiert. Die drei höchsten Konzentrationen (maximale Konzentrationen 50 bis 550 µg/L) wurden durch die direkte Applikation von konzentrierten EE-Stammlösungen erreicht. Die Dosierungsphase betrug fünf Wochen, die Postapplikationsphase vier Wochen. Fünf Mikrokosmen blieben unbelastet und dienten als Kontrollen.

Die funktionellen Parameter blieben durch die Chemikalien unbeeinflusst; die Sauerstoffsättigung, der pH-Wert, die Leitfähigkeit sowie Ammonium, Nitrat und Phosphat lagen in den belasteten Mikrokosmen im für die Kontrollen ermittelten Bereich.

Die Applikation von Nonylphenol ergab in den Mikrokosmen NP1 bis NP7 abgestufte diskrete NP-Konzentrationen mit starken Anstiegen während der ersten beiden Dosierungswochen, geringeren Anstiegen in den folgenden 3,5 Wochen sowie raschen Konzentrationsrückgängen innerhalb einer Woche nach dem Entfernen der Dosierungsvorrichtungen.

Beim Experiment mit Ethinylestradiol erfolgte in den Mikrokosmen EE1 bis EE5 ein Anstieg der EE-Konzentration in den ersten Tagen der Belastung, gefolgt von einem rascher Abfall der Werte nach zwei Wochen. Eine erneute Konzentrationszunahme fand kurz vor dem Entfernen der Reservoirs mit Ausnahme von EE3 nach 4 Wochen kurz vor dem Entfernen der Reservoirs statt. Die EE-Konzentrationen sanken daraufhin innerhalb weniger Tage unter die Nachweisgrenze. Bei den Mikrokosmen EE6 bis EE8 nahm die EE-Konzentration nach der direkten Applikation der Substanz rasch und kontinuierlich ab und erreichte etwa zum selben Zeitpunkt wie die niedriger dosierten Mikrokosmen die Nachweisgrenze.

Im Versuch mit Nonylphenol wurden Effekte auf die Zooplanktonbiozönose bei gleichzeitiger Berücksichtigung des Phytoplanktons untersucht. Vertreter aller Zooplanktongruppen wurden von Nonylphenol beeinträchtigt. Veränderungen in der Zooplanktonbiozönose führten ab NP4 zu strukturellen Veränderungen der Phytoplanktonbiozönose. Direkte toxische Effekte von Nonylphenol auf das Phytoplankton können nicht ausgeschlossen werden. Für die Sammelgruppe der Rotatorien wurde weder bei der Populationsdynamik noch bei den Principal-Response-Curves, ein Effekt der Chemikalie festgestellt. Eine Betrachtung auf Artenebene (Populationsdynamik und multivariate Analyse) deutete jedoch auf Abundanzabnahmen bei *Synchaeta spp.* und *Polyarthra spp.* während der Dosierungsphase hin. Die Populationsdynamik und die Principal-Response-Curves für die Gruppe der Cladoceren und Copepoden zeigte, dass diese beiden Gruppen bezüglich ihrer Abundanzen während der Dosierungsphase am stärksten von den Kontrollen abwichen.

Dies wurde mit Hilfe der multivariaten Statistik auf Artebene für die häufigsten Cladcoerenarten *Daphnia longispina* und *Chydorus sphaericus* sowie für die Nauplien-Stadien der Copepoden bestätigt. Bei ihnen kam es unter dem Einfluss von Nonylphenol in den Mikrokosmen NP4 bis NP7 zu konzentrationsabhängigen Abundanzabnahmen.

Beim Phytoplankton deuteten weder die Zelldichten noch die Phytoplanktonbiomasse auf die Wirkung von Nonylphenol hin. Bezüglich der Betrachtung der relativen Biomassen wurden im Mikrokosmos mit der höchsten Testkonzentration Zunahmen bei den *Chlorophyceae* zu Ungunsten der *Dinophyceae* festgestellt. Die Principal-Response-Curves ergaben für das Phytoplankton keine konzentrationsabhängigen Effekte von Nonylphenol.

Die Korrelation der cdt-Werte mit den logarithmierten NP-Konzentrationen führte zu NOEC_{Community}-Werten von 19,1 µg/L (konservativ) bzw. 30,1 µg/L (Mittelwert Woche 6 bis 11) für die untersuchten Systeme. Eine Recovery der Zooplanktongesellschaften wurde während der Beprobungsphase nur für die Mikrokosmen NP1 bis NP6 erfasst. Bei der höchsten Belastung konnte selbst 6 Wochen nach dem Ende der Dosierung keine Erholung der Zooplanktonpopulation festgestellt werden.

Beim Experiment mit Ethinylestradiol wurde kein Effekt des synthetischen Hormons auf die Artenzahl, Diversität und Evenness beim Zooplankton nachgewiesen. Bezüglich der Populationsdynamik der Zooplanktongruppen (Rotatorien, Cladoceren und Copepoden) bzw. auf Artebene wurden keine Effekte von Ethinylestradiol festgestellt. Die multivariate Analyse erbrachte weder für die drei Zooplanktongruppen, noch für die einzelnen Zooplanktonarten Hinweise auf eine Chemikalienwirkung. Möglicherweise lagen die Effektkonzentrationen oberhalb der maximalen in den Mikrokosmen erreichten EE-Konzentrationen von 550 µg/L.

Die verwendeten Testsysteme eigneten sich zur Untersuchung von Xenobiotika auf Planktonbiozönosen. Zur Interpretation der endokrinen Wirkung von Chemikalien auf Vertreter des Zooplanktons sind weiterführende Untersuchungen des Hormonsystems auf Artebene bzw. mit vereinfachten Ökosystemausschnitten für die bessere Interpretation der gefundenen Effekte wünschenswert. Der Einsatz von Hormonen mit bereits bekannter Wirkung in Mikrokosmen-Tests sowie *in-situ*-Studien stellen weitere denkbare Forschungsansätze dar.

6 Ausblick

Die Identifikation negativer Wirkungen von endokrinen Disruptoren in der Umwelt kann auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen. Zum einen besteht die Möglichkeit, aufgrund der Struktur eines Moleküls auf seine biologische Aktivität zu schließen. Die hormonelle Wirkung basiert auf der Anordnung der funktionellen Gruppen eines Moleküls, wodurch die Verbindung mit einem Hormonrezeptor möglich ist. Zur Modellierung dieser sogenannten SARs (structure activity relationships) existieren zahlreiche Ansätze (z.B. Bradbury 1994, Hahn 1995, Karcher & Devillers 1990). Eine weitere Möglichkeit der Detektion hormonell wirksamer Substanzen besteht im Einsatz von *in-vitro*-Assays. Sie basieren auf direkten oder indirekten Wechselwirkungen von endokrinen Disruptoren mit Hormonrezeptoren, wodurch es zur Expression entsprechender Gene und nachfolgend zu zellulären Effekten kommt. Diese dienen als Nachweis hormoneller Aktivität (Tattersfield *et al.* 1997). Aufgrund der fehlenden Stoffwechselaktivität bei *in-vitro*-Tests ist jedoch unklar, inwieweit sich durch diese Tests Effekte im lebenden Organismus (*in-vivo*) vorhersagen lassen. Eine Verifikation der Beobachtungen mittels *in-vivo*-Tests ist daher ergänzend notwendig.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte von Nonylphenol und Ethinylestradiol auf die Zooplanktongemeinschaft aquatischer Modellökosysteme (Mikrokosmen) untersucht. Zur Interpretation der Ergebnisse sind weiterführende Studien zur Endokrinologie der Testorganismen, Einzelspezies tests mit ausgewählten Arten (Zoo- und Phytoplankton) sowie Versuche mit vereinfachten Biozöosen (Räuber-Beute-Beziehungen zwischen Zoo- und Phytoplankton) eine wichtige Voraussetzung. Die Modifikation der Testsysteme hinsichtlich ihrer Größe und die Installation im natürlichen Ökosystem wären Möglichkeiten, die Naturnähe der Systeme und damit die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf natürliche Ökosysteme zu verbessern. Die Versuchsdauer müsste sowohl zu Beginn im Frühjahr, als auch gegen Ende der Vegetationsperiode im Herbst verlängert werden, um die Frühjahrsmaxima aller Gruppen bzw. mögliche Erholungseffekte besser zu erfassen. Hinsichtlich der Endokrinologie besteht speziell bei Invertebraten noch großer Forschungsbedarf. Zusätzliche Mikrokosmen-Experimente mit Substanzen, deren Wirkung auf das endokrine System von Zooplanktonorganismen bereits erforscht ist, können der Erfassung verschiedener Wirkarten auf Zooplanktonpopulationen unter Freilandbedingungen dienen. So sind beispielsweise ergänzend zu Labortests Mikrokosmentests mit Androgenen oder dem Häutungshormon Ecdyson denkbar, um die Eignung der Testsysteme für die Untersuchung von Effekten auf Zooplanktonpopulationen *in vivo* zu überprüfen. Gezielte Ansätze zur Erforschung der hormonellen Wirkung auf ausgewählte Spezies unter Freilandbedingungen bieten beispielsweise *in-situ*-Studien in den Mikrokosmen.

7 Literaturverzeichnis

Ahel M., Giger W., Koch M. 1994a Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment – I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Wat. Res.* 28: pp. 1131 – 1142.

Ahel M., Giger W., Schaffner C. 1994b Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment – II. Occurrence and transformation in rivers. *Wat. Res.* 28: pp. 1143 - 1152.

Ahel M., Scully F.E., Hoigné J., Giger W. 1994c Photochemical degradation of nonylphenol polyethoxylates in natural waters. *Chemosphere* 28: pp. 1361 – 1368.

Ahel M., Hršak D., Giger W. 1994d. Aerobic transformation of short-chain alkylphenol poly ethoxylates by mixed bacterial cultures. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26: pp. 540 – 548.

Analytical Bio Chemistry. 1984. Dynamic 96-hour acute toxicity of octylphenol to *Daphnia magna*. Report #31912, Analytical Bio Chemistry Laboratories, Columbia, Mo.

Ankley G.T., Peterson G.S., Lukasewycz M.T., Jenner D.A. 1990. Characteristics of surfactants in toxicity identification evaluations. *Chemosphere* 21: pp. 3 - 12.

Ankley G., Mihaich E., Stahl R., Tillitt D., Colborn Th., McMaster S., Miller R., Bantle J., Campbell P., Denslow N., Dickerson R., Folmar L., Fry M., Giesy J., Earl Gray L., Guiney P., Hutchinson T., Kennedy S., Kramer V., LeBlanc G., Mayes M., Nimrod A., Patino R., Peterson R., Purdy R., Ringer R., Thomas P., Touart L., van der Kraak G., Zacharewski T. (1998) Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/androgenic chemicals in wildlife. *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1) : pp. 68 - 87.

ATT-Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren e.V. 1998. Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen. ATT-Technische Informationen Nr. 7, 2. Auflage, Oldenbourg Verlag.

Baldwin W.S., LeBlanc G.A. 1994a. Identification of multiple steroid hydroxylases in *Daphnia magna* and their modulation by xenobiotics. *Environ. Toxicol. Chem.* 13: pp. 1013 - 1021.

Baldwin W.S., LeBlanc G.A. 1994b. In vivo biotransformation of testosterone by phase I and II detoxication enzymes and their modulation by 20-hydroxyecdysone in *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 29: pp. 103 - 117.

Baldwin W.S., Graham S.E., Shea D., LeBlanc G.A. 1997. Metabolic androgenization of female *Daphnia magna* by the xenoestrogen 4-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (9): pp. 1905 - 1911.

Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft. 1987. Kieselalgen in bayerischen Gewässern. München.

Benoit D.A., Sibley P.K., Juennenann J.L., Ankley G.T. 1997. *Chironomus tentans* life cycle test: Design and evaluation for use in assessing toxicity of contaminated sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: pp. 1165 - 1176.

Bettin C., Oehlmann J., Stroben E. 1996. TBT-induced imposex in marine neo-gastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 50: pp. 299 - 317.

Blaustein A.R., Wake D.B. 1990. Declining amphibian populations: A global phenomenon? *Trends Ecol. Evol.* 5: pp. 203 - 204.

Bortone, S.A., Davies W.B. and Bundrick C.M. 1989. Morphological and behavioral characters in mosquito fish as a potential bioindication of exposure to kraft mill effluent. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43: pp. 370 - 377.

Bradbury S.P. 1994. Predicting modes of toxic action from chemical structure: An overview. *SAR and QSAR Environ. Res.* 2: pp. 89 - 104.

Bringmann G., Kühn R. 1982. Results of toxic action of water pollutants on *Daphnia magna* Straus tested by an improved standardized procedure. *Zum Wasser Abwasser Forsch.* 15: pp. 1 - 6.

Brooke L.T. 1993. Acute and chronic toxicity of nonylphenol to ten species of aquatic organisms. Report to the U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN (contract no. 68-C1-0034) Lake Superior Research Institute, University of Wisconsin-Superior, Superior, Wisc.

Bryan G.W., Gibbs P.E., Hummerstone L.G., Burt G.R. 1986. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England: Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 66: pp. 611 – 640.

Campbell P.J., Arnold D.J.S., Brock T.C.M., Grandy N.J., Heger W., Heimback F., Maund S.J., Streloke M. 1999. Guidance document on higher-tier aquatic risk assessment for pesticides (HARAP). SETAC Publications, Order #61, (Europe publication), 179 pp.

Carins Jr. J. 1988a. Should regulatory criteria and standards be based on multispecies evidence? Environ. Profess. 10: pp. 157 – 165.

Cairns Jr. J. 1988b. Putting the eco in ecotoxicology. Reg. Toxicol. Pharmacol. 8: pp. 226 – 238.

Cairns Jr. J., Smith E.P. 1989. Developing a statistical support system for environmental hazard evaluation. Hydrobiologia 184: pp. 143 – 151.

Chang E.S., O'Connor D. 1988. Crustacea: Molting. In: Laufer H., Downer G.H., (eds). Endocrinology of Selected Invertebrate Types. Alan R. Liss, New York, NY, USA, pp. 259 - 278.

Chang E.S., Bruce M.J., Tamone S.L. 1993. Regulation of crustacean molting: A multi-hormone system. Am. Zool. 33: pp. 324 - 329.

Charniaux-Cotton H., Payen G. 1988. Crustacean reproduction. In: Laufer H., Downer G.H. (eds.) Endocrinology of Selected Invertebrate Types. Alan R. Liss, New York, NY, USA, pp. 279 - 303.

Clark E.J., Norris D.O., Jones R.E. 1998. Interactions of gonadal steroids and pesticides (DDE, DDE) on gonadal growth in larval Tiger Salamanders, *Ambystoma tigrinum*. General and Comparative Endocrinology 109: pp. 94 - 105, Article No. GC977013.

Comber M.H.I., Williams T.D. and Stewart K.M. 1992. The Effects of Nonylphenol on *Daphnia magna*. Wat. Res. 27: pp. 273 - 276. Imperial Chemical Industries PLC, Great Britain.

Crossland N.O., Bennett D., Wolff C.J.M., Swannell R.P.J. 1986. Evaluation of models used to assess the fate of chemicals in aquatic systems. Pestic. Sci. 17: pp. 297 - 304.

DeMott W.R. 1989. The role of competition in zooplankton succession. In: Sommer U. (ed.) 1989. Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Dole-Olivier M.J., Galassi D.M.P., Marmonier P., Creuzé des Châtelliers M. 2000. The biology and ecology of lotic microcrustaceans. *Freshwater Biology* 44: pp. 63 - 91.

Draxl, R.; 1990: Vergleich von Single-Species-Tests, Labor- und Freilandtestsystemen und deren Bedeutung bei der Abschätzung der Umweltgefährlichkeit von Pflanzenschutzmitteln. Dissertation, TU-München, Weihenstephan.

Earl Gray L. Jr, Ostby J., Wolf C., Lambright C., Kelce W. 1998. The value of mechanistic studies in laboratory animals for the prediction of reproductive effects in wildlife: endocrine effects on mammalian sexual differentiation. *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1): pp. 109 - 118.

England D.E. 1995. Chronic toxicity of nonylphenol to *Ceriodaphnia dubia*. Prepared for the Chemical Manufactures Association by ABC Laboratories Inc. Report #41756.

EPA. 1995. Research needs for assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the US EPA sponsored workshop. Draft Endocrine Disruptor Workshop Report, June 9.

EPA. 1997. Special report on environmental endocrine disruption: an effect assessment and analysis. EPA/630/R-96/012.

Ernst B., Julien G., Doe K., Parker R. 1980. Environmental investigations of the 1980 spruce budworm spray program in New Brunswick. Environment Canada, Environmental Protection Service, New Brunswick, Nova Scotia, Surveillance Report, EPS-5-AR-81-3.

Fent K. 1995. Wirkungen von Spurenstoffen. *EAWAG News* 40D: S. 8 - 12.

Fent K. 1998. Ökotoxikologie, Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York.

Forth W., Henschler D., Rummel W., Starke K. 1992. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftsverlag Mannheim/Leipzig/Wien/Zürich, 6. Auflage.

Fry D.M. and C.K. Toone. 1981. DDT-induced fertilization of gull embryos. *Science* 213: pp. 922 - 924.

Gibbs P.E., Pascoe P.L., Burt G.R. 1988. Sex change in the female dogwhelk *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 68: pp. 715 - 731.

Giddings J.M. (1983) *Microcosms for assessment of chemical effects of aquatic ecosystems. Hazard Assessment of chemicals, Current Developments, Vol 2, Academic Press, New York: pp. 45 - 94.*

Giger W., Brunner P.H., Schaffner. 1984. 4-nonylphenol in sewage sludge: Accumulation of toxic metabolites from non-ionic surfactants. *Science* 225: pp. 623 - 625.

Giger W., Ahel M., Koch, M., Laubscher H.U., Schaffner C., Schneider J. 1987. Behavior of alkylphenol-polyethoxylate surfactants and of nitriloacetate in sewage treatment. *Wat. Sci. Tech.* 19: pp. 449 - 460.

Gimeno S., Komen H., Venderbosch P.W.M., Bowmer T. 1997. Disruption of sexual differentiation in genetic male common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to an alkylphenol during different life stages. *Environ. Sci. Technol.* 31 : pp. 2884 - 2890.

Gliwicz Z.M., Pijanowska J. 1989. The role of predation in zooplankton. In: Sommer U. (ed.) 1989. *Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology.* Springer Verlag New York.

Graney R.L., Giesy Jr. J.P., DiToro D. 1989. Mesocosm experimental designs: advantages and disadvantages in ecological risk assessment. In: Voshell Jr. J.R. (ed.) 1989. *Using mesocosms to assess the aquatic ecological risk of pesticides: theory and practice.* Miscellaneous Publications, Entomology Society of America, Lanham. MD.

Gray M.A., Metcalfe C.D. 1997. Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (5): pp. 1082 - 1086.

Greim H. 1998. Hormonähnlich wirkende Stoffe in der Umwelt. *Nachr. Chem. Tech. Lab* 46 (1) S. 63 - 66.

Güde H. 1989. The role of grazing on bacteria in plankton succession. In: Sommer U. (ed.) 1989. Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Guillette L.J. Jr., Gross T.S., Masson G.R., Matter J.M., Percival H.F., Woodward A.R. 1994. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ. Health Perspect. 102: pp. 680 - 688.

Hahn M. 1995. Receptor Surface Models. 1. Definition and Construction. J. Med. Chem 38: pp. 2080 - 2090.

Hakenkamp C.C., Morin A. 2000. The importance of meiofauna to lotic ecosystem functioning. Freshwater Biology 44: pp. 165 - 175.

Harding L.E., Harris M.L., Stephen C.R., Elliott J.E. 1999. Reproductive and Morphological Condition of Wild Mink (*Mustela vison*) and River Otters (*Lutra canadensis*) in Relation to Chlorinated Hydrocarbon Contamination. Environmental Health Perspectives Volume 107, pp. 141 - 147.

Harries J.E., Sheahan D.A., Jobling S., Matthiessen P., Neall P., Routledge E., Rycroft R., Sumpter J.P. and Tylor T. 1996. A survey of oestrogenic activity in United Kingdom inland waters. Environ. Toxicol. Chem. 15: pp. 1993 - 2003.

Harries J.E., Sheahan D.A., Jobling S., Matthiessen P., Neall P., Sumpter J.P., Tylor T. and Zaman N. 1997. Oestrogenic activity in five United Kingdom rivers detected and measurement of vitellogenesis in cages male trout. Environ. Toxicol. Chem. 116: pp. 534 - 542.

Heger W. *et al.* (unveröffentlicht) Draft CLASSIC Guidance Document (Workshop on Community Level Aquatic System Studies Interpretation Criteria (CLASSIC)), Schmollenberg, Germany, 1999. Stand: Januar 2000.

Heinis L.J., Knuth M.L., Kirby S.J., Waldock M.J. 1999. Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries. Marine Pollution Bulletin 38: pp. 109 – 118.

Henshel D.S. 1998. Developmental neurotoxic effects of dioxin and dioxin-like compounds on domestic and wild avian species. Environ. Toxicol. Chem. 17 (1): pp. 88 - 89.

Hüls A.G. 1992. Acute and chronic toxicity of nonylphenol to *Daphnia magna*. Final study report numbers DK-522, DL-143, Marl, Germany.

Jaser W. (unveröffentlicht) Wirkung endokriner Modulatoren auf die Reproduktion von *Ceriodaphnia reticulata* und *Sida crystallina*, Cladocera. Diplomarbeit Technische Universität München, Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau, Fachbereich Biologie.

JCIA. 1997. A study on chemicals which affect the endocrine system. Part II: A study on "hormone-like (hormone-mimic) effects of exogenous substances" Shortened English Version.

Jobling S., Sheahan D., Osborne J.A., Matthiessen P., Sumpter J.P. 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. Environ. Toxicol. Chem. 15: pp. 194 - 202.

Jobling S., Sumpter J.P. 1993. Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. Aquat. Toxicol. 27: pp. 361 - 372.

Jontofsohn M. (in Vorbereitung). Mikrobielle Ökotoxikologie in chemisch belasteten aquatischen Mikrokosmen. Dissertation Ludwigs-Maximilians Universität München.

Kalbfus W. 1995. Belastung bayerischer Gewässer durch synthetische Östrogene. 50. Fachtagung des Bayerischen Landesamts für Wasserforschung, Institut für Wasserforschung. 7./8. November 1995.

Karcher W., Devillers J. 1990. Practical applications of quantitative structure-activity relationships (QSAR). In. Environmental Chemistry and Toxicology. Kluwer Publishers, The Netherlands.

Kopf W. 1997. Wirkung endokriner Stoffe in Biotests mit Wasserorganismen, Sonderdruck aus: Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie, Band 50, Stoffe mit endokriner Wirkung im Wasser, S. 82 - 101. R. Oldenbourg Verlag, München Wien.

Krebs F. 1983. Der Assimilations-Zehrungstest (A-Z-Test): Durchführung und apparative Ausstattung. Gewässerschutz, Wasser, Abwasser 63: S. 125 - 171.

Kreyszig E. 1979. Statistische Methoden und ihre Anwendung. Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen.

Lachaise F., LeRoux A., Hubert M., Lafont R. 1993. The molting gland of crustaceans : Localization, activity, and endocrine control. *J. Crust. Biol.* 13: pp. 198 - 234.

Lampert W., Sommer U. 1993. *Limnoökologie*. Thieme-Verlag.

LaPoint T.W., Fairchild J.F. 1994. Use of mesocosm data to predict effects in aquatic ecosystems: limits to interpretation. In: Graney R.L., Kennedy J.H., Rodgers J.H. 1994. *Aquatic mesocosm studies in ecological risk assessment*. SETAC Special Publications-Series. Lewis Publisher, Boca Raton.

Larsson, D.G.J., Adolfsson-Erici M., Parkkonen J., Pettersson M., Berg A.H., Olsson, P.-E., Forlin L. 1999. Ethinylestradiol - an undesired fish contraceptive? *Aquat. Toxicol.*, 45(2-3): pp. 91 - 97.

LeBlanc G.A. 1998. Steroid hormone-regulated processes in invertebrates as their susceptibility to environmental endocrine disruption. In Guilette L.J. Jr., (ed.) *Environmental Endocrine Disruptors: An Evolutionary Perspective*. Taylor and Francis, London, UK.

Liber K., Kaushik N.K., Solomon K.R., Carey J.H. 1992. Experimental designs for aquatic mesocosm studies. A comparison of the ANOVA method and "regression" design for accessing the impact for tetrachlorophenol on zooplankton populations in limnocorrals. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: pp. 61 – 77.

Liber K., Knuth M.L., Stay F.S. 1999a. An integrated evaluation of the persistence and effects of 4-nonylphenol in an experimental littoral ecosystem. *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (3): pp. 357 - 362.

Liber K., Gangl J.A., Corry T.D., Heinis L.J., Stay F.S. 1999b. Lethality and bioaccumulation of 4-nonylphenol in bluegill sunfish in littoral enclosures. *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (3): pp. 394 - 400.

Lonzano S.J., O'Halloran S.L., Sargent K.W., Brazner J.C. 1992. Effects of esfenvalerate on aquatic organisms in littoral enclosures. *Environ. Toxicol. Chem.* 11(1): pp. 35 - 48.

MacLatchy D., Peters L., Nickle J., van der Kraak G. 1997. Exposure to β -Sitosterol alters the endocrine status of goldfish differently than 17β -Estradiol. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (9): pp. 1895 - 1904.

Matthiessen P., Gibbs, P.E. 1998. Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environ. Toxicol. Chem.* 17(1): pp. 37 - 43.

Melzer A. 1976. Makrophytische Wasserpflanzen als Indikatoren des Gewässerzustandes oberbayerischer Seen. *Dissertationes Botanicae* 34.

Melzer A., Harlacher R., Held K., Vogt E. (1988). Die Makrophytenkartierung des Ammer-, Wörth-, und Pilsensees sowie des Weißlinger Sees. Informationsbericht des Bayerischen Landesamts für Wasserwirtschaft 1988/1. S. 1 - 266.

Monsanto Industrial Chemicals Co. 1985. Chemical hazard information profile: nonylphenol. Report to the Office of Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.

Müller H.J. (Hrsg.) 1984. Ökologie. Gustav Fischer Verlag Stuttgart.

Naylor C.G., Mierure J.P., Weeks J.A., Castaldi F.J., Romano R.R. 1992. Alkylphenol ethoxylates in the environment. *J. Am. Oil Chemists Soc.* 69: pp. 695 - 703.

Naylor C.G. 1995. Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates. *Textile Chemistry and Color* 27: pp. 29 - 33.

Neugebaur K.E. 1988. Beurteilung und Validierung der ökologischen Wirkung von Herbiziden durch vergleichende Untersuchungen in aquatischen Labor- und Freilandtestsystemen. Dissertation TU-München. Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau.

O'Halloran S.L., Liber K., Gangl, J.A., Knuth M.L. 1997. Effects of repeated exposure to 4-nonylphenol on the zooplankton community in littoral enclosures. *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (3): pp. 376 - 385.

Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U., Leffler U.S., Bauer B., Fioroni P., Oetken M., Kayser G., Korhammer S., Markert B. 1996. Umweltchemikalien mit hormonähnlicher Wirkung im Wasser – eine Gefahr für die Fortpflanzungsfähigkeit von Mensch und Tier? *IHI-Schriften* 2: S. 31 - 40.

Organization for Economic Cooperation and Development. 1992. OECD guidelines for testing of chemicals. Section 2: Guideline 202. *Daphnia sp.* acute immobilization test and reproduction test. Paris, France.

Pedrós-Alió C. 1989. Toward an autecology of bacterioplankton. In: Sommer U. (ed.) 1989. Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Peither A., Jüttner I., Kettrup A., Lay J.-P. 1996. A pond mesocosm study to determine direct and indirect effects of lindane on a natural zooplankton community. Environ. Poll. 93 (1): pp. 49 – 56.

Pelissero C., Flouriot G., Foucher J.L., Benneteau B., Dunogues J., Le Gac F., Sumpter J.P. 1993 : Vitellogenin synthesis in cultured hepatocytes; an in vitro test for the estrogenic potency of chemicals. J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 44: pp. 263 - 272.

Pfister G., Jüttner I., Severin G., Schramm K.-W., Kettrup A. (in Vorbereitung) Controlled release experiments with Nonylphenol in aquatic microcosms.

Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., Eno N.C., Tyler C.R. and Sumpter J.P. 1994. Oestrogenic effects of effluents from sewage treatment works. Chem. Ecol. 8: pp. 275 - 285.

Radix P., Severin G., Schramm K.-W., Kettrup A. Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disrupters. Chemosphere (eingereicht).

Reeder A.L., Foley G.L., Nichols D.K., Hansen L.G., Wikoff B., Faeh S., Eisold J., Wheeler M.B., Warner R., Murphy J.E., Beasley V.R. 1998. Forms and prevalence of intersexuality and effects of environmental contaminants on sexuality in cricket frogs (*Acris crepitans*). Environ. Health Perspectives 106(5): pp. 261 - 266.

Rehmann K., Schramm K.-W., Kettrup A. 1999. Applicability of a yeast oestrogen screen for the detection of oestrogen-like activities in environmental samples. Chemosphere 38 (14): pp. 3303 - 3312.

Reynolds C.S. 1989. Physical determinants of phytoplankton succession. In: Sommer U. (ed.) 1989. Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Ricci C., Balsamo M. 2000. The biology and ecology of lotic rotifers and gastrotrichs. Freshwater Biology 44: pp. 15 - 28.

Robertson A.L. 2000. Lotic meiofaunal community dynamics: colonisation, resilience and persistence in a spatially and temporally heterogeneous environment. *Freshwater Biology* 44: pp. 135-147.

Routledge E.J., Sheahan D., Desbrow C., Brighty G.C., Waldock M., Sumpter J.P. 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environ. Sci. Technol.* 32: pp. 1559 - 1565.

Routledge E.J., Sumpter J.P. 1997. Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity. *The Journal of Biological Chemistry* 272 (6): pp. 3280 - 3288.

Rurainki R.D., Theiss H.J., Zimmermann W. 1977. Über das Vorkommen von natürlichen und synthetischen Östrogenen im Trinkwasser. *gwf – Wasser/Abwasser* 118: S. 287 - 291.

Sandmann E. (in Vorbereitung) Microhabitat field-studies in a natural lake littoral zone and different mesocosm systems for an ecotoxicological test with cypermethrin. Dissertation Technische Universität München.

Schmid-Araya J.M., Schmid P.E. 2000. Trophic relationships: integrating meiofauna into a realistic benthic food web. *Freshwater Biology* 44: pp. 149 – 163.

Schmude K.L., Liber K., Corry T.D., Stay F.S. 1999. Effects of 4-nonylphenol on benthic macroinvertebrates and insect emergence in littoral enclosures. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: pp. 386 - 393.

Schwaiger J., Negele R.D. 2000. How „estrogenic“ is nonylphenol? Results from a complete life cycle test using rainbow trout as test organism. ASLO World Congress, 5. bis 9. Juni 2000, Kopenhagen, Dänemark.

Schwoerbel J. 1993. Einführung in die Limnologie. UTB für Wissenschaft / UNI Taschenbücher 31, 7. Auflage. Gustav Fischer Verlag Stuttgart.

Seifert M., Haindl S., Hock B. 1999. Development of an enzyme linked receptor assay (ELRA) for estrogens and xenoestrogens. *Analytica Chimica Acta* 386: pp. 191 – 199.

Sekela M., Brewer R., Moyle G., Tuominen T. 1999. Occurrence of an environmental estrogen (4-nonylphenol) in sewage treatment plant effluent and the aquatic receiving environment. *Wat. Sci. Techn.* Vol. 39 (10-11): pp. 217 - 220.

Servos M. 1999. Review of the Aquatic Toxicity, Estrogenic Responses and Bioaccumulation of Alkylphenols and Alkylphenol Polyethoxylates. *Water Qual. Res. J. Canada*, Vol. 34 (1): pp. 123 - 177.

Severin G., Sandmann E., Funk M., Huber W., Kettrup A. 1999. Mikrokosmos, Mesokosmos und Seenlitoral: Eine Gegenüberstellung der limnologischen Daten von Ökosystemen unterschiedlicher Größe. SETAC-Europe (German Language Branch) 4. Tagung in Weihenstephan, 13. u. 14. September 1999.

Shurin J.B., Dodson S.I. 1997. Sublethal toxic effects of cyanobacteria and nonylphenol on environmental sex determination and development in *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (6): pp. 1269 - 1276.

Sigg L., Stumm W. 1994. *Aquatische Chemie: eine Einführung in die Chemie wässriger Lösungen und natürlicher Gewässer*. 3. Auflage. vdf Verlag der Fachvereine, Zürich und Teubner Verlag, Stuttgart.

Sigl G. (unveröffentlicht) Vergleichende Untersuchungen zur Struktur der Kieselalpengemeinschaft und Funktion des Periphytons in Mikrokosmen und im Litoral des Ammersees. Diplomarbeit Technische Universität München, Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau, Fachbereich Biologie.

Smyly W. 1976. Some effects of enclosure on the zooplankton in an small lake. *Freshwater Biology* 6: pp. 1241 - 251.

Snell T.W., Carmona M.J. 1995. Comparative toxicant sensitivity of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environ. Toxicol. Chem.* (14): pp. 415 - 420.

Sommer U. 1989. Toward a Darwinian ecology of phytoplankton. In: Sommer U. (ed.) 1989. *Plankton ecology: succession in plankton communities*. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Soto A.M., Justicia H., Wray J.W., Sonnenschein C. 1991. P-nonylphenol: An estrogenic xenobiotic released from modified polystyrene. *Environ. Health Perspect.* 92: pp. 167 - 173.

Stahlschmidt-Allner P., Allner B., Römbke J., Knacker T. 1997. Endocrine disrupters in the aquatic environment. *Environ. Sci. & Pollut. Res.* 4(3): pp. 155 - 162.

Steinberg C., Brüggemann, R., Hartmann A., Heller W., Kirchner M., Lienert D., Müller K., Pestlin G., Scheunert I., Seiler K.-P., Spieser O.H., Klein J. 1993. Ökotoxikologie: Bestandsaufnahme und Perspektiven für ein ökologisches Bewertungskonzept. GSF-Bericht 40/1993.

Sterner R.W. 1989. The role of grazers in phytoplankton succession. In: Sommer U. (ed.) 1989. Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Stumpf M., Ternes T.A., Haberer K., Baumann W. 1996. Nachweis von natürlichen und synthetischen Östrogenen in Kläranlagen und Fließgewässern. Vom Wasser 87: S. 251 - 261.

Tattersfield L., Matthiessen P., Campbell P., Grandy N., Länge R. (editors). 1997. SETAC-Europe / OECD / EC Expert Workshop on Endocrine Modulators and Wildlife: Assessment and Testing EMWAT, Veldhoven, The Netherlands, 10-13 April 1997.

Touart L.W., Slimak M.W. 1989. Mesocosm approach for assessing the ecological risk of pesticides. In: Voshell J.R. (ed.) 1989. Using mesocosms to assess the aquatic ecological risk of pesticides: theory and practice. Miscellaneous Publications, Entomology Society of America, Lanham, MD.

Townsend C.R., Harper J.L., Begon M. 1996. Ecology. Individuals, Populations and communities. 3rd edition. Blackwell Science Inc. USA.

Townsend C.R., Harper J.L., Begon M. 2000. Essentials of ecology. Blackwell Science Inc. USA.

Van den Brink P.J., Ter Braak C.J.F. 1999. Principal response curves: analysis of time-dependent multivariate responses of biological community to stress. Environ Toxicol Chem 18 (2): pp. 138 - 148.

Van Donk E. 1989. The role of fungal parasites in phytoplankton succession. In: Sommer U. (ed.) 1989. Plankton ecology: succession in plankton communities. 1. Plankton-Ecology. Springer Verlag New York.

Vollenweider R.A., Kerekes J. 1980. The loading concept as basis for controlling eutrophication philosophy and preliminary results of OECD programme on eutrophication. Progr. Water Technol. 12: pp 5 - 38.

Volm, C. 1997. Aquatische Modellsysteme - Vergleich von aquatischen Modellsystemen unterschiedlicher Größe und Ausstattung mit einem durch landwirtschaftliche Nutzung beeinflussten Stehgewässer. Institut für Landespflege und Botanik, Lehrstuhl für Botanik. Verlag Dr. Kovac, Lamburg, Technische Universität München-Weihenstephan.

Vonier P.M. Crain D.A. McLachlan J.A., Guilette L.J., Arnold S.F. 1996. Interaction of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. Environ. Health Perspect. 104: pp. 1318 - 1322. USA

Wake D.B. 1991: Declining amphibian populations. Science 253: pp. 860.

Weeks J.A., Adams W.J., Guiney P.D., Hall J.F., Naylor C.G. 1996. Risk assessment of nonylphenols and its ethoxylates in U.S. river water and sediment. Proceedings of the 4th CESIO World Surfactants Congress 3: pp. 276 - 291.

Wetzel R.G. 1983. Limnology. 2. Auflage. Saunders College Publishing.

White R., Jobling S., Hoare S.A., Sumpter J.P., Parker M.G. 1994. Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. Endocrinology 135: pp. 175 - 182.

Zieris F.-J. 1986. Die Eignung von künstlichen aquatischen Ökosystemen im Freiland zur ökotoxikologischen Risikoabschätzung von Umweltchemikalien. Dissertation TU-München, Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau, Institut für Landespflege und Botanik, Lehrstuhl für Botanik.

Zou E., Fingerman M. 1997a. Synthetic estrogenic agents do not interfere with sex differentiation but do inhibit molting of the cladoceran *Daphnia magna*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58: pp. 569 - 602.

Zou E., Fingerman M. 1997b. Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea *Daphnia magna*. Ecotoxicol. Environ. Safety 36: pp. 281 - 285.

Bestimmungsliteratur

Flößner D. 1972. Die Tierwelt Deutschlands. Krebstiere, Crustacea; Kiemen- und Blattfüßer, Branchiopoda; Fischläuse, Branchiura 60. Gustav Fischer Verlag, Jena.

Herbst H.V. 1976. Blattfußkrebse (Phyllopoden: echte Blattfüßer und Wasserflöhe). Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, W. Keller & Co, Stuttgart.

Kiefer F. 1978. Freilebende Copepoda. – In: Die Binnengewässer Band 26. Das Zooplankton der Binnengewässer 2. Teil. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart.

Koste W. 1978. Rotatoria – Die Rädertiere Mitteleuropas. I. Textband. Verlag Gebr. Borntraeger Berlin, Stuttgart.

Koste W. 1978. Rotatoria – Die Rädertiere Mitteleuropas. II. Tafelband. Verlag Gebr. Borntraeger Berlin, Stuttgart.

Krause-Dellin D. 1997. Die Bestimmung des Zooplanktons in Flüssen und Seen. Lauterbornia 30. Dinkelscherben.

Ruttner-Kolisko A. 1972. Die Rotatoria. In: Die Binnengewässer Band 26. Das Zooplankton der Binnengewässer 1. Teil. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart.

Streble H., Krauter D. 1978. Das Leben im Wassertropfen. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart.

Cox E.J. 1996. Identification of freshwater diatoms from live material. Chapman & Hall, London.

Ettl H. 1978. *Xanthophyceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 3; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Ettl H. 1983. *Chlorophyta* – Teil 1: *Phytomonadina*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 9; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Ettl H., Gärtner G. 1988. *Chlorophyta* – Teil 2: *Tetrasporales*, *Chlorococcales*, *Gloeodendrales*; In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 10; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Förster K. 1982. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 8 (1): *Conjugatophyceae* – *Zygnematales* und *Desmidiiales* (excl. *Zygnemataceae*). In: Huber-Pestalozzi G. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. XVI; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Fott B. 1972. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 6: *Chlorophyceae* (Grünalgen) – Ordnung: *Tetrasporales*. In: Huber-Pestalozzi G. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Huber-Pestalozzi G. 1968. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 3: *Cryptophyceae*, *Chloromonadophyceae*, *Dinophyceae*. In: Huber-Pestalozzi G. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Huber-Pestalozzi G. 1969. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 4: Euglenophyceen; In: Thienemann A. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Huber-Pestalozzi G. 1974. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 5: *Chlorophyceae* (Grünalgen) – Ordnung: *Volvocales*. In: Thienemann A. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Huber-Pestalozzi G. 1975a. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 1: Allgemeiner Teil, Blaualgen, Bakterien, Pilze. In: Thienemann A. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Huber-Pestalozzi G. 1975b. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 2 (2): Diatomeen. In: Thienemann A. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Huber-Pestalozzi G. 1976. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 2 (1): Chrysophyceen, farblose Flagellaten, Heterokonten. In: Thienemann A. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Kadlubowska J.Z. 1984. *Conjugatophyceae* – Teil 1: *Zygnemales*; In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 16; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Komarek J., Anagnostidis K. 1999. *Cyanoprokaryota* – Teil 1: *Chroococcales*. In: Ettl H., Gärtner G., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 19 (1); Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Komarek J., Fott B. 1983. Das Phytoplankton des Süßwassers – Teil 7 (1): *Chlorophyceae* (Grünalgen) – Ordnung: *Chlorococcales*. In: Huber-Pestalozzi G. (ed.): Die Binnengewässer; Bd. 16; E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Krammer K. 1992. *Pinnularia*. In: Lange-Bertalot H. (ed.): Bibliotheca Diatomologica; Bd. 26; Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin.

Krammer K. 1996. Die cymbelloiden Diatomeen - Teil 1: Allgemeines und *Encyonema* part. In: Lange-Bertalot H. (ed.): Bibliotheca Diatomologica; Bd. 36; Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin.

Krammer K. 1997. Die cymbelloiden Diatomeen - Teil 2: *Encyonema* part., *Encyonopsis*, and *Cymbelloopsis*. In: Lange-Bertalot H. (ed.): Bibliotheca Diatomologica; Bd. 37; Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin.

Krammer K., Lange-Bertalot H. 1986. *Bacillariophyceae* – Teil 1: *Naviculaceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 2 (1); Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Krammer K., Lange-Bertalot H. 1988. *Bacillariophyceae* – Teil 2: *Bacillariaceae*, *Epithemiaceae*, *Surirellaceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 2 (2); Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991a. *Bacillariophyceae* – Teil 3: *Centrales*, *Fragilariaceae*, *Eunotiaceae*; In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 2 (3); Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Krammer K., Lange-Bertalot H. 1991b. *Bacillariophyceae* – Teil 4: *Achnantheaceae*. In: Ettl H., Gärtner G., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): Süßwasserflora von Deutschland; Bd. 2 (4); Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Lange-Bertalot H. 1993. 85 neue Taxa. In: Lange-Bertalot H. (ed.): *Bibliotheca Diatomologica*; Bd. 36; Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin.

Lange-Bertalot H., Krammer K. 1989. *Achnanthes*. In: Lange-Bertalot H. (ed.): *Bibliotheca Diatomologica*; Bd. 18; Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin.

Mrozinska T. 1985. *Chlorophyta* – Teil 6: *Oedogoniophyceae: Oedogoniales*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): *Süßwasserflora von Deutschland*; Bd. 14; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Popovsky J., Pfiester L.A. 1990. *Dinophyceae (Dinoflagellida)*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): *Süßwasserflora von Deutschland*; Bd. 6; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Starmach K. 1985. *Chrysophyceae* und *Haptophyceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heyning H., Mollenhauer D. (eds.): *Süßwasserflora von Deutschland*; Bd. 1; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

8 Anhang

Arbeitsplan 1998 - Nonylphenol

Datum	Durchgeführte Arbeiten
4. Mai 1998	Sedimententnahme am Ammersee
5. Mai 1998	Befüllen der Mikrokosmen mit Sediment
6. – 8. Mai	Wasserentnahme am Ammersee und Befüllen der Mikrokosmen
11. Mai	Zooplanktonentnahme am Ammersee
12. Mai	Zugabe des Zooplanktons in die Mikrokosmen
19. Mai	Zooplanktonentnahme am Ammersee
20. Mai	Zugabe des Zooplanktons in die Mikrokosmen
bis 24. Mai	Ruhephase
25. Mai- 14. Juni	Vorapplikationsphase
15. Juni – 30. Juli	Dosierungsphase
31. Juli – 7. September	Postapplikationsphase

Probenahmeplan Nonylphenol

Woche	Datum	Parameter	Woche	Datum	Parameter
W1	25.5.98	ZP, PP, WC, PM	W9	20.07.98	ZP, PP, WC, PM
W2	01.06.98	ZP, PP, WC, PM	W10	27.07.98	ZP, PP, WC, PM
W3	08.06.98	ZP, PP, WC, PM	W11	03.08.98	ZP, PP, WC, PM
W4	15.06.98	ZP, PP, WC, PM	W12	10.08.98	ZP, PP, WC, PM
W5	22.06.98	ZP, PP, WC, PM	W13	17.08.98	ZP, PP, WC, PM
W6	29.06.98	ZP, PP, WC, PM	W14	24.08.98	ZP, PP, WC, PM
W7	06.07.99	ZP, PP, WC, PM	W15	31.08.99	ZP, PP, WC, PM
W8	13.07.98	ZP, PP, WC, PM	W16	07.09.98	ZP, PP, WC, PM

ZP Zooplankton entnommen

PP Phytoplankton entnommen

WC Wasserchemische Messungen

PM Physikalische Messungen durchgeführt

Arbeitsplan 1999 - Ethinylestradiol

Datum	Durchgeführte Arbeiten
17. Mai	Sedimententnahme
18. Mai	Befüllung der Mikrokosmen mit Sediment
18. – 21. Mai	Wasserentnahme und Befüllung der Mikrokosmen
9. Juni	Zooplanktonentnahme
10. Juni	Zugabe des Zooplanktons in die Mikrokosmen
bis 21. Juni	Ruhephase
22. Juni – 29. Juli	Vorapplikationsphase
25. Juni	1. Durchmischung der Wassersäulen
23. Juli	2. Durchmischung der Wassersäulen
29. Juli – 6. September	Dosierungsphase
29. Juli	Applikation von Ethinylestradiol: EE1 bis EE5: Controlled Release EE6 und EE8: direkte Zugabe von EE-Stammlösungen
30. Juli	EE7: direkte Zugabe von EE-Stammösung
2. August	Nachdosierung von EE8 durch Zugabe einer EE-Lösung
6. September	Entnahme der Dosiereinrichtungen aus EE1 bis EE5
7. - 28. September	Postapplikationsphase

Probenahmeplan Ethinylestradiol

Woche	Datum	Parameter	Woche	Datum	Parameter
W1	22.06.99	ZP, PP, WC, PM	W9	10.08.99	ZP, PP, WC, PM
W2	29.06.99	ZP, PP, WC, PM	W10	17.08.99	ZP, PP, WC, PM
W3	06.07.99	ZP, PP, WC, PM	W11	24.08.99	ZP, PP, WC, PM
W4	13.07.99	ZP, PP, WC, PM	W12	31.08.99	ZP, PP, WC, PM
W5	20.07.99	ZP, PP, WC, PM	W13	07.09.99	ZP, PP, WC, PM
W6	27.07.99	ZP, PP, WC, PM	W14	14.09.99	ZP, PP, WC, PM
W7	06.07.99	ZP, PP, WC, PM	W15	21.09.99	ZP, PP, WC, PM
W8	02.08.99	ZP, PP, WC, PM			

ZP Zooplankton entnommen

PP Phytoplankton entnommen

WC Wasserchemische Messungen

PM Physikalische Messungen durchgeführt

Makrophytenbewuchs und Periphytonentwicklung in den Mikrokosmen am 09.10.98 (Teil 1)

	Deckung (gesamt)	Makrophytenbewuchs	Bemerkungen	Entwicklung von Periphyton
NP 1	60%	90% <i>Characeen</i> 10% <i>Potamogeton pusillus</i>	zentraler Bewuchs mit einzelnen Ausläufern am Rand	mäßig
NP 2	75%	60% <i>Characeen</i> 30% <i>Potamogeton pusillus</i> sehr vereinzelt <i>Potamogeton pectinatus</i> 10% <i>Zanichellia palustris</i>	aufgelockerter Bewuchs	mäßig
NP 3	80%	80% <i>Chara aspera</i> , zahlreiche weibliche Pflanzen 20% <i>Potamogeton pusillus</i> , vereinzelt <i>Potamogeton pectinatus</i>	aufgelockerter Bewuchs	mäßig
NP 4	65%	65% <i>Chara aspera</i> , viele weibliche Pflanzen 5% <i>Chara contraria</i> 25% <i>Potamogeton pusillus</i> 5% <i>Zanichellia palustris</i>	zentral bewachsen mit diffusen Ausläufern	keine
NP 5	75%	65% <i>Chara aspera</i> (viele weibliche Pflanzen) 25% <i>Potamogeton pusillus</i> 10% <i>Zanichellia palustris</i>	aufgelockerter Bewuchs	keine
NP 6	65%	75% <i>Chara aspera</i> , viele weibliche Pflanzen 15% <i>Chara fragilis</i> 10% <i>Potamogeton pusillus</i>	aufgelockerter Bewuchs	keine
NP 7	65%	70% <i>Chara aspera</i> 10% <i>Chara fragilis</i> 15% <i>Potamogeton pusillus</i> 5% <i>Zanichellia palustris</i>	zentraler Bewuchs mit Ausläufern	keine

Makrophytenbewuchs und Periphytonentwicklung in den Mikrokosmen am 09.10.98 (Teil 2)

	Deckung (gesamt)	Makrophytenbewuchs	Bemerkungen	Entwicklung von Periphyton
K1	60%	95% <i>Characeen</i> (gemischter Bestand von <i>Chara aspera</i> mit <i>Chara contraria</i> , vereinzelt auch <i>Chara fragilis</i>) 5% <i>Potamogeton pusillus</i>	diffuser Bewuchs	stark
K2	80%	50% <i>Chara aspera</i> , viele weibliche Pflanzen 50% <i>Potamogeton pusillus</i>	kompakter, dichter Bewuchs	mäßig
K3	95%	35% <i>Chara aspera</i> 25% <i>Potamogeton pusillus</i> 40% <i>Zanichellia palustris</i>	dichter Bewuchs	mäßig
K4	100%	25% <i>Chara aspera</i> 5% <i>Chara fragilis</i> 10% <i>Potamogeton pusillus</i> 60% <i>Zanichellia palustris</i>	dichter Bewuchs	mäßig
K5	60%	70% <i>Chara aspera</i> in kleinen Polstern, zahlreiche weibliche Pflanzen 30% <i>Potamogeton pusillus</i>	aufgelockerter Bewuchs	schwach
K6	60%	50% <i>Chara aspera</i> 10% <i>Potamogeton pusillus</i> 40% <i>Zanichellia palustris</i>	zentral bewachsen mit einzelnen Ausläufern	keine
K7	100%	25% <i>Chara aspera</i> 15% <i>Potamogeton palustris</i> 60% <i>Zanichellia palustris</i>	dichter Bewuchs	keine
K8	95%	40% <i>Chara aspera</i> , viele weibliche Pflanzen 20% <i>Potamogeton pusillus</i> 40% <i>Zanichellia palustris</i>	dichter Bewuchs	mäßig
K9	65%	65% <i>Chara aspera</i> 35% <i>Potamogeton pusillus</i> mit vereinzelt <i>Potamogeton pectinatus</i>	aufgelockerter Bewuchs	keine

Makrophytenbewuchs der Mikrokosmen am 24.09.99

	Deckung (gesamt)	Anteile		Deckung (gesamt)	Anteile
EE1	80%	<i>Potamogeton pusillus</i> 80% <i>Chara delicatula</i> 20%	K1	100%	<i>Potamogeton pusillus</i> 65% <i>Chara delicatula</i> 15% <i>Zanichellia palustris</i> 20%
EE2	65%	<i>Potamogeton pusillus</i> 30% <i>Chara delicatula</i> 70%	K2	50%	<i>Potamogeton pusillus</i> 50% <i>Chara delicatula</i> 50%
EE3	95%	<i>Potamogeton pusillus</i> 30% <i>Chara delicatula</i> 40% <i>Zanichellia palustris</i> 30%	K3	50%	<i>Chara delicatula</i> 100%
EE4	100%	<i>Potamogeton pusillus</i> 20% <i>Zanichellia palustris</i> 80%	K4	80%	<i>Chara delicatula</i> 30% <i>Potamogeton pusillus</i> 70%
EE5	95%	<i>Potamogeton pusillus</i> 10% <i>Chara delicatula</i> 20% <i>Zanichellia palustris</i> 70%	K5	70%	<i>Potamogeton pusillus</i> 60% <i>Chara delicatula</i> 40%
EE6	95%	<i>Potamogeton pusillus</i> 50% <i>Chara delicatula</i> 50%			
EE7	50%	<i>Chara delicatula</i> 95% <i>Zanichellia palustris</i> 5%			
EE8	100%	<i>Potamogeton pusillus</i> 80% <i>Chara delicatula</i> 20%			

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Gabriele Felicitas Severin
Geburtsdatum: 2. Mai 1969
Geburtsort: Frankfurt a. Main

Schulbildung

1975 – 1979 Grundschole an der Kirchenstrasse, Germering
1979 – 1988 Max-Born Gymnasium Germering
Jun. 1988 Abitur

Studium

1989 – 1994 Studium der Biologie an der Technischen Universität München
Mär. – Apr. 1994 Diplomprüfung
Mär. – Sep. 1993 Ausbildung zur Staatlich geprüften Forschungstaucherin
Mai 1994 – Mär. 1995 Diplomarbeit an der Limnologischen Station der Technischen Universität München in Iffeldorf (Thema: „Die Tiefenverteilung der Characeen und ihrer Oosporen im Sediment, dargestellt im Rahmen limnologischer Untersuchungen“)
Mär. – Dez. 1995 Freiberufliche Tätigkeit an der Limnologischen Station der Technischen Universität München

Berufliche Tätigkeit

Jan. – Dez. 1996 Wissenschaftliche Angestellte am Lehrstuhl für Landnutzungsplanung und Naturschutz der Forstlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians Universität München
Feb. – Dez. 1996 Freiberufliche Tätigkeit für die Bayerische Landesanstalt für Wasserforschung in Wielenbach
Feb. – Okt. 1997 Ausbildung zur Expertin für Geographische Informationssysteme (GIS)

Promotion

Nov. 1997 – Jul. 2000 Promotion am Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Umweltanalytik der Technischen Universität München