

TEXTE

67/2026

**Endbericht**

# Nutzung von Effektbasierten Monitoringmethoden zur besseren Bewertung der Wirkung von Schadstoffen auf die Gewässerökologie

**von:**

Apl. Prof. Dr. Andrea Sundermann, Ariane Moulinec, Nathalie Kaffenberger  
Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum Frankfurt, Abteilung Fließgewässerökologie  
und Naturschutzforschung

PD. Dr. Matthias Oetken, Sarah Hörchner, Andrea Dombrowski  
Goethe Universität Frankfurt, Abteilung Aquatische Ökotoxikologie

Prof. Dr. Peter Ebke, Thomas Bing, Lukas Kruckenfellner  
Mesocosm GmbH, Institut für Gewässerschutz, Homberg/Ohm

**Herausgeber:**

Umweltbundesamt



TEXTE 67/2026

REFOPLAN des Bundesministeriums Umwelt,  
Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz

Forschungskennzahl 3721 24 203 0

Endbericht

# **Nutzung von Effektbasierten Monitoringmethoden zur besseren Bewertung der Wirkung von Schadstoffen auf die Gewässerökologie**

von

Apl. Prof. Dr. Andrea Sundermann, Ariane Moulinec,  
Nathalie Kaffenberger  
Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum  
Frankfurt, Abteilung Fließgewässerökologie und  
Naturschutzforschung

PD. Dr. Matthias Oetken, Sarah Hörchner, Andrea  
Dombrowski  
Goethe Universität Frankfurt, Abteilung Aquatische  
Ökotoxikologie

Prof. Dr. Peter Ebke, Thomas Bing, Lukas Kruckenfellner  
Mesocosm GmbH, Institut für Gewässerschutz,  
Homburg/Ohm

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

## Impressum

### Herausgeber

Umweltbundesamt  
Wörlitzer Platz 1  
06844 Dessau-Roßlau  
Tel: +49 340-2103-0  
Fax: +49 340-2103-2285  
[buergerservice@uba.de](mailto:buergerservice@uba.de)  
Internet: [www.umweltbundesamt.de](http://www.umweltbundesamt.de)

### Durchführung der Studie:

Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung  
Senckenberganlage 25  
60325 Frankfurt

### Abschlussdatum:

Januar 2025

### Redaktion:

Fachgebiet II 2.4 Binnengewässer  
Dr. Jens Arle, Ingo Warnke

### DOI:

<https://doi.org/10.60810/openumwelt-8240>

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, April 2026

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen\*Autoren.

### **Kurzbeschreibung: Nutzung von Effektbasierten Monitoringmethoden zur besseren Bewertung der Wirkung von Schadstoffen auf die Gewässerökologie**

Fließgewässer weltweit sind stark von veränderter Landnutzung, Ressourcenausbeutung, Umweltverschmutzung, Klimawandel und invasiven Arten betroffen, was insbesondere in Feuchtgebieten und Auen zu erheblichen Biodiversitätsverlusten führt. Die genaue Rolle von Schadstoffen in diesem Zusammenhang ist noch unzureichend erforscht, da ihre Erfassung durch die große Anzahl registrierter Substanzen und technische Herausforderungen erschwert wird. Um eine ganzheitlichere Bewertung zu ermöglichen, sollen Bioassays oder effektbasierte Methoden (EBM), die Schadstoffwirkungen sowohl In-vivo als auch In-vitro messen, als alternativer und integrativer Bewertungsansatz genutzt werden. Vor diesem Hintergrund hatte das Projekt zum Ziel, Bioassays in zwei Szenarien anzuwenden, um ein integratives Überwachungskonzept zu testen, das chemische Analysen, effektbasierte Tests und ökologische Parameter miteinander verknüpft. Im ersten Szenario wurde die Alb bei Karlsruhe untersucht. Der ökologische Zustand der Alb war im Stadtgebiet stark beeinträchtigt. Die Ergebnisse der Bioassays zeigen den Einfluss von Schadstoffeinträgen aus städtischen und industriellen Quellen, wobei insbesondere polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) eine zentrale Rolle spielen. Während Trockenwetterphasen eine geringere Toxizität aufwiesen, führte Regen zu einer starken Verschlechterung der Wasserqualität durch episodische Stoßbelastungen mit Pestiziden, Per- und polyfluorierte Chemikalien (PFAS), Metallen und pharmazeutischen Rückständen, was sich in erhöhten ökotoxikologischen Effekten widerspiegelte. In einem zweiten Szenario wurden renaturierte Gewässerabschnitte und oberhalb gelegene Kontrollabschnitte untersucht. Die Renaturierungsmaßnahmen führten zwar zu einer Verbesserung der Habitatstruktur, jedoch blieb die Erholung der benthischen Makroinvertebraten aus. Die Bioassays zeigten eine deutliche Belastung der Sedimente in Kontroll- als auch in renaturierten Abschnitten. Schadstoffe, die sich über Jahre in Sedimenten angereichert haben, können durch Renaturierungsmaßnahmen remobilisiert werden. In der Studie konnte allerdings kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Renaturierungsmaßnahme und der Belastung der Sedimente festgestellt werden. Für eine erfolgreiche Renaturierung von Gewässern ist demnach entscheidend, neben der morphologischen Verbesserung auch chemische Belastungen systematisch zu reduzieren, wofür effektbasierte Methoden als integraler Bestandteil des Monitorings etabliert und durch standardisierte Testverfahren sowie einen intensiven Wissenstransfer zwischen Wissenschaft und Behörden in die wasserwirtschaftliche Praxis integriert werden sollten.

### **Abstract: Use of effect-based monitoring methods for better assessment of the impact of pollutants on aquatic ecology**

Flowing waters worldwide are heavily affected by altered land use, resource exploitation, pollution, climate change, and invasive species, leading to significant biodiversity losses, particularly in wetlands and floodplains. The exact role of pollutants in this context remains insufficiently studied, as their detection is complicated by the vast number of registered substances and technical challenges. To enable a more holistic assessment, bioassays or effect-based methods (EBMs), which measure pollutant effects both in-vivo and in-vitro, should be used as an alternative and integrative evaluation approach. Against this background, the project aimed to apply bioassays in two scenarios to test an integrated monitoring concept that combines chemical analyses, effect-based tests, and ecological parameters. In the first scenario, the Alb River near Karlsruhe was studied, revealing a significantly impaired ecological condition within the urban area. The results of the bioassays demonstrated the impact of pollutant inputs from urban and industrial sources, with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) playing a key role. While dry weather phases showed lower toxicity, rainfall led to a severe deterioration in

water quality due to episodic pollution peaks involving pesticides, PFAS, metals, and pharmaceutical residues, which were reflected in increased ecotoxicological effects. In the second scenario, restored river sections and upstream control sections were examined. Although restoration measures improved habitat structure, the recovery of benthic macroinvertebrates remained absent. Bioassays indicated significant contamination of sediments in both control and restored sections. Pollutants that had accumulated in sediments over the years can be remobilized by restoration activities. However, the study found no correlation between the age of the restoration measure and sediment contamination. For successful river restoration, it is therefore crucial to systematically reduce chemical pollution in addition to improving morphological conditions. Effect-based methods should be established as an integral part of monitoring and integrated into water management practices through standardized test procedures and intensive knowledge transfer between science and authorities.

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	10
Tabellenverzeichnis .....	11
Abkürzungsverzeichnis.....	12
Zusammenfassung.....	14
Summary .....	20
1 Einleitung.....	25
1.1 Derzeitige Situation der Fließgewässer.....	25
1.2 Monitoring von Schadstoffen in Fließgewässern.....	25
1.3 Monitoring von Arten- und Artengemeinschaften .....	26
1.4 Einsatz effektbasierter Methoden im Gewässermonitoring.....	27
1.5 Ziele und Fragestellung .....	29
1.6 Veröffentlichung der Ergebnisse.....	30
2 Datengrundlage und Methoden.....	31
2.1 Effektbasiertes Monitoring .....	31
2.1.1 Probenahme .....	31
2.1.2 Angewendete Testverfahren .....	31
2.1.2.1 Mikrotox-Assay (unspezifische Basistoxizität).....	32
2.1.2.2 Ames-Test (gentoxische Wirkung) .....	32
2.1.2.3 AREc32-Assay (oxidativer Stress).....	33
2.1.2.4 Hefereporteragenassays (endokrine Wirkung) .....	33
2.1.2.5 Hefereporteragenassays (dioxin-ähnliche Wirkung) .....	33
2.1.2.6 Fisch-Embryo-Akut-Toxizität.....	33
2.1.2.7 Toxizitätstest mit <i>Potamopyrgus antipodarum</i> .....	33
2.1.3 Ableitung von Klassengrenzen.....	33
2.1.4 Einsatz von Makrophyten zur Detektion phytotoxischer Effekte.....	35
2.2 Bewertung des ökologischen Zustands für die Qualitätskomponente Makrozoobenthos ..	36
2.3 Gewässerstrukturgütekartierung.....	37
2.4 Chemische Analytik.....	37
3 Abflussabhängige Toxizitätsdynamik und deren ökologische Relevanz .....	38
3.1 Hintergrund.....	38
3.1.1 Gewässer in urbanen Gebieten .....	38
3.1.2 Stoßbelastung bei Regenwetterereignissen .....	38
3.1.3 Modelgewässer der Alb in Karlsruhe und Zielsetzung.....	39

3.1.4	Ziele.....	39
3.2	Untersuchungsgebiet.....	40
3.3	Untersuchungsprogramm.....	42
3.4	Ergebnisse.....	42
3.4.1	Sedimente.....	42
3.4.2	Wasserproben.....	44
3.4.3	Abgleich der Ergebnisse zu den Trocken- und Regenwetterproben mit der Analytik.....	47
3.5	Diskussion.....	50
3.5.1	Hohe Belastung der Sedimente und Rolle der PAKs.....	50
3.5.2	Bedeutung von Stoßbelastungen auf die Ergebnisse der Bioassays.....	53
4	Effektbasierte Bewertung chemischer Belastungen: Schlüsselfaktor für Renaturierungserfolg?	55
4.1	Hintergrund.....	55
4.1.1	Bedeutung von Schadstoffen für die Wiederbesiedlung renaturierter Gewässerabschnitte.....	55
4.1.2	Schadstoffbelastung remobilisierter Sedimente.....	55
4.1.3	Ziele.....	56
4.2	Untersuchungsgebiet.....	56
4.3	Untersuchungsprogramm.....	59
4.3.1	Berechnung der relativen ökotoxikologischen Aktivitäten.....	59
4.3.2	Statistische Analysen.....	60
4.4	Ergebnisse.....	60
4.4.1	Unterschiede in der Morphologie und ökologische Reaktionen auf die Renaturierung.....	60
4.4.2	Vergleich der ökotoxikologischen Aktivitäten von Wasser- und Sedimentproben.....	62
4.4.3	Einfluss des Renaturierungsalters auf die Toxizität in Kontroll- und renaturierten Abschnitten.....	65
4.4.4	Zeitliche Trends ökologischer und ökotoxikologischer Unterschiede.....	66
4.5	Diskussion.....	67
4.5.1	Einfluss von Renaturierungsmaßnahmen auf die Habitatqualität und Makroinvertebratengemeinschaften.....	67
4.5.2	Ökotoxikologische Aktivität von Wasser- und Sedimentproben.....	67
4.5.3	Einfluss des Renaturierungsalters und -status auf Toxizität und PAK-Kontamination.....	68
4.5.4	Zeitliche Trends in ökologischen und ökotoxikologischen Reaktionen.....	69
5	Bedeutung der Ergebnisse für die wasserwirtschaftliche Praxis.....	72
6	Quellenverzeichnis.....	74

A	Anhang: Einsatz von Makrophyten zur Detektion phytotoxischer Effekte .....	87
A.1	Hintergrund und Überblick .....	87
A.2	Methodik.....	88
A.2.1	Aktives Monitoring (2022) .....	88
A.2.2	Laborversuche.....	90
A.2.3	Nährstoffmessungen in DMSO Extrakten .....	92
A.2.4	Statistik und Darstellung.....	92
A.2.5	Einteilung in Zustandsklassen .....	93
A.3	Ergebnisse und Diskussion der Untersuchungen.....	94
A.3.1	Aktives Monitoring im Freiland.....	94
A.3.2	Passives Monitoring im Labor .....	95
A.3.3	Zusammenfassung der Untersuchungen aus aktivem und passivem Monitoring .....	97
A.3.4	Zusammenfassung und Ausblick.....	97
A.4	Quellenverzeichnis .....	98
A.5	Rohdaten der Untersuchungen zum Einsatz von Makrophyten.....	99
A.5.1	Myriophyllum Freiland 2022.....	99
A.5.2	<i>Lemna</i> Freiland 2022.....	103
A.5.3	Periphyton Freiland 2022.....	105
A.5.4	Myriophyllum Labor 2022.....	108
A.5.5	<i>Lemna</i> Labor 2022.....	109
A.5.6	<i>Lemna</i> Labor 2023.....	112
A.5.7	Myriophyllum Labor 2023.....	114
B	Anhang .....	116
B.1	Ergebnisse des chemischen Monitorings an der Alb .....	116
B.2	Gemessene Stoffkonzentrationen der 16 PAKs an Kontroll- und renaturierten Abschnitten .....	118
B.3	Ergebnisse des multiplen linearen Modells zu DYS .....	119

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Anzahl der Publikationen im „Web of Science“ zum Thema effektbasierte Methoden .....	28
Abbildung 2:	Definition der Zustandsklassen für In-vitro-Testungen, basierend auf dem Normalwert (NW) und der Standardabweichung (SD) einer Messreihe.....	34
Abbildung 3:	Zustandsklassen für In-vitro-Testungen von Wasser- und Sedimentproben.....	35
Abbildung 4:	Lage der Probestellen an der Alb bei Karlsruhe .....	41
Abbildung 5:	Basistoxizität (Mikrotox-Assay) und oxidativer Stress (AREc32 Assay) der Sedimentproben.....	43
Abbildung 6:	Ergebnisse der Hefereportergergenassays zur estrogenen (YES), androgenen (YAS) und dioxinähnlichen Aktivität (YDS) der Sedimentproben.....	43
Abbildung 7:	Gentoxizität der Sedimentproben (Ames-Fluktuationstest) .....	44
Abbildung 8:	Basistoxizität der Trocken- und Regenwetterproben (Mikrotox-Assay) .....	45
Abbildung 9:	Estrogene Aktivität der Trocken- und Regenwetterproben (Hefereportergergenassays, YES) .....	45
Abbildung 10:	Dioxin-ähnliche Wirkung der Trocken- und Regenwetterproben (Hefereportergergenassays, YDS).....	46
Abbildung 11:	Ergebnisse des Ames-Fluktuationstest für Trockenwetterproben.....	46
Abbildung 12:	Ergebnisse des Ames-Fluktuationstest für Regenwetterproben .....	47
Abbildung 13:	PCA Biplot auf der Basis der gewässerchemischen Parameter .....	48
Abbildung 14:	Die "Variable Contributions" (Variablenbeiträge) der Substanzen für das Ergebnis der PCA .....	49
Abbildung 15:	Zusammenhang zwischen Ergebnissen der Bioassays und der Analytik.....	50
Abbildung 16:	Nachgewiesene PAKs an drei Stellen im Einzugsgebiet der Alb.....	52
Abbildung 17:	Lage der zehn untersuchten Renaturierungsprojekte .....	57
Abbildung 18:	Unterschiede in der Gewässerstrukturgüte an Kontroll- und renaturierten Abschnitten der zehn Untersuchungsgewässer .....	60
Abbildung 19:	Ökologischer Zustand an Kontroll- und renaturierten Abschnitten der zehn Untersuchungsgewässer .....	62
Abbildung 20:	Ökotoxikologische Zustandsklassen der bewerteten Wasser- und Sedimentproben aus alten (1–5) und jungen (6–10) Restaurierungsprojekten ..	63
Abbildung 21:	Lineare Regressionsanalyse der mittleren relativen ökotoxikologischen Aktivitäten der Sedimentproben und der mittleren MMI-Scores aus alten (1–5) und jungen (6–10) Renaturierungsprojekten.....	64
Abbildung 22:	Mittlere estrogenen und dioxinähnlichen Aktivitäten in Bezug auf die Probennahmestelle und das Renaturierungsalter .....	65
Abbildung 23:	Belastung durch PAKs an Kontroll- und renaturierten Abschnitten.....	66

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht der verwendeten In-vitro- und In-vivo-Testsysteme zum Nachweis ökotoxikologischer Wirkpotentiale .....	31
Tabelle 2:	Untersuchungsprogramm und Termine der Probennahmen an der Alb .....	42
Tabelle 3:	Charakterisierung der untersuchten Renaturierungsprojekte .....	57
Tabelle 4:	Umgesetzte Renaturierungsmaßnahmen .....	59
Tabelle 5:	Struktur, MMI, %EPT, Shannon-Wiener-Index und ökotoxikologische Effekte in Sedimentproben der Kontroll- und renaturierten Abschnitte .....	61

## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
DMSO	Dimethylsulfoxid
E2-Eq	Estradiol-Äquivalentkonzentration
EBM	Effekt-basiertes Monitoring
EC <sub>50</sub>	Effektkonzentration 50 %
EN	Europäische Norm
EQ	Äquivalent-Konzentration
FET	Fisch-Embryo-Akut-Toxizitäts Test
IR	Induktionsrate
ISO	International Organisation for Standardization
KIT	Karlsruher Institut für Technologie
KP & HH	Körperpflege und Haushaltmittel (Chemikalien)
LE	Laborexperiment
LOD	Nachweisgrenze, engl. limit of detection
LOQ	Bestimmungsgrenze, engl. limit of quantification
LUBW	Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg
MT	Mikrotox
MW	Mittelwert
NTL	Nicht-toxisches Limit
NW	Normalwert
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
PAK	Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe
PCA	Hauptkomponentenanalyse, engl. principle component analysis
PFAS	Per- und polyfluorierte Chemikalien
REF	Relativer Effektfaktor
SD	Standardabweichung, engl. standard deviation
SEM	Standardfehler, engl. standard error of mean
SEQ	Sediment-Äquivalent
SOP	Standard Operating Procedure
UQN	Umweltqualitätsnorm
WRRL	Wasserrahmenrichtlinie

<b>Abkürzung</b>	<b>Erläuterung</b>
<b>YAAS</b>	Yeast Anti-Androgen Screen
<b>YAES</b>	Yeast Anti-Estrogen Screen
<b>YDS</b>	Yeast Dioxin Screen
<b>YES</b>	Yeast Estrogen Screen
<b>β-NF-Eq</b>	β-Naphthoflavin-Äquivalentkonzentration

## Zusammenfassung

Die Fließgewässer weltweit stehen unter erheblichen Belastungen durch menschliche Aktivitäten wie veränderte Landnutzung, Ressourcenausbeutung, Umweltverschmutzung, Klimawandel und die Ausbreitung invasiver Arten. Diese Stressoren führen zu signifikanten Biodiversitätsverlusten, wobei Feuchtgebiete und Auen – wichtige Pufferzonen zur Hochwasserminderung und Anbieter von essenziellen Ökosystemdienstleistungen wie Trinkwasser und landwirtschaftlicher Bewässerung – besonders betroffen sind. Die nachhaltige Balance zwischen menschlicher Nutzung und ökologischer Funktion erfordert ein integratives Management, das über rein morphologische Eingriffe hinausgeht. In Europa bildet die Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) den regulatorischen Rahmen, um einen „guten“ ökologischen und chemischen Zustand der Gewässer zu erreichen. Allerdings verfehlen rund 90 % der Gewässer in Deutschland dieses Ziel. Zwar wurden in der Vergangenheit morphologische Verbesserungen vorangetrieben, doch zeigt sich, dass allein diese Maßnahmen nicht ausreichen – insbesondere, weil weitere Stressoren wie die Einträge von Nährstoffen, Pestiziden und pharmazeutischen Rückständen die Wirkung beeinträchtigen.

Die quantitative Erfassung von Schadstoffen in Gewässern gestaltet sich schwierig, da weltweit über 350.000 chemische Substanzen registriert sind und reguläre Monitoringprogramme nur einen Bruchteil (etwa 45 bis aktuell vorgeschlagen 68 priorisierte Stoffe) berücksichtigen. Technische Herausforderungen wie Degradation und variierende Bindung an verschiedene Ökosystemkompartimente erschweren die exakte Bestimmung der tatsächlichen Belastung. Darüber hinaus treten Schadstoffe selten isoliert auf, sondern in wechselwirkenden Mischungen, sodass additive oder synergistische Effekte auftreten können. Traditionelle Ansätze, die beispielsweise die Zusammensetzung von Makroinvertebratengemeinschaften erfassen, liefern zwar generelle Einblicke in den ökologischen Zustand, stoßen aber an ihre Grenzen, wenn es darum geht, spezifische Stressoren zu differenzieren. Ansätze wie der SPEAR-Index, der Arten nach ihrer Empfindlichkeit gegenüber Verschmutzungen klassifiziert, bieten eine direktere Verbindung zu chemischer Belastung, sind jedoch aufgrund begrenzter Datenlage und möglicher Toleranzanpassungen nicht uneingeschränkt einsetzbar. Daraus folgt, dass ein einzelner Indikator selten alle Aspekte der Belastung abbilden kann. Ein alternativer Ansatz besteht in der Anwendung von Bioassays, oder effekt-basierte Monitoringmethoden (EBM), die die Wirkung von Schadstoffmischungen In-vivo (z. B. mit Fischembryonen oder Wirbellosen) und In-vitro (z. B. mit Zell- oder Hefesystemen) messen.

**Ziel des Projektes** war es, diese Bioassays in zwei Untersuchungsszenarien anzuwenden, ökotoxikologische Endpunkte zu erfassen, diese in ein fünfstufiges Bewertungsschema zu überführen und mit klassischen chemischen Daten (z. B. Toxic Units, LC<sub>50</sub>-basierte Berechnungen) sowie ökologischen Indikatoren (Makrozoobenthos) abzugleichen. So soll ein integratives Überwachungskonzept getestet werden, das chemische Analysen, bioeffektbasierte Tests und ökologische Indikatoren miteinander verknüpft, um die Komplexität der Gewässerbelastungen umfassend zu erfassen.

### **Abflussabhängige Toxizitätsdynamik und deren ökologische Relevanz**

Um die Toxizitätsdynamik in Abhängigkeit des Abflussgeschehens beurteilen zu können, wurde die Alb, ein 51 km langer Fluss, im Bereich von Karlsruhe untersucht. Bereits vor dem Eintritt in das Stadtgebiet zeigt sich in der Alb eine Verschlechterung des ökologischen Zustands, was auf vielfältige Schadstoffeinträge aus städtischen und industriellen Quellen zurückgeführt wird. Ziel der Untersuchungen im Szenario 1 war es, mittels effektbasierter Methoden den ökotoxikologischen Zustand mit dem chemischen Zustand (z. B. anhand von Toxic Units und Ergebnissen einer Hauptkomponentenanalyse) und der Bewertung des Makrozoobenthos

abzugleichen. Diese Untersuchungen wurden bei normalem Abfluss als auch unter regenbedingten Stoßbelastungen durchgeführt. Letzteres war von Interesse, da davon ausgegangen werden kann, dass die Schadstoffkonzentrationen im Gewässer bei starken Regenereignissen um ein vielfaches ansteigen können. Insgesamt wurden an neun Standorten unterschiedliche Probenkonzepte verfolgt. Während an den Standorten 1–6 das Fließgewässer der Alb im Längsverlauf untersucht wurde, wurden an den Standorten 7–9 (Regenklär- und Überlaufbecken) nur bei Regenwasserabflüssen Proben entnommen. Dies ermöglichte die Untersuchung der Auswirkungen episodischer Stoßbelastungen auf die ökotoxikologische und chemische Belastung.

Die an den Standorten 1 bis 6 entnommenen Sedimentproben zeigten an fast allen Standorten erhöhte Toxizität – selbst an der oberhalb der Stadt Karlsruhe gelegenen, vermeintlichen Referenzstelle, Nr.1. Im Mikrottox-Assay, YDS und in gentoxischen Tests (Ames-Test) wurden insbesondere an den durch urbanen Einfluss stark belasteten Standorten signifikante toxikologische Effekte festgestellt. Ein Schwerpunkt lag dabei auf der Rolle von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs). Diese Substanzen aktivieren über den AhR-Signalweg den dioxinähnlichen Effekt und verursachen zudem direkte zytotoxische Schäden, was die Ergebnisse der Bioassays untermauert. Vergleichsdaten aus dem Umweltinformationssystem deuten darauf hin, dass bei einigen PAKs, wie Benzo(a)pyren oder Benzo(ghi)perylen, gemessene Konzentrationen die experimentell ermittelten EC<sub>50</sub>-Werte mehrfach überschreiten.

Während Wasserproben bei Trockenwetter generell eine vergleichsweise geringe Basistoxizität aufwiesen, zeigte sich bei Regenwetter eine deutliche Verschlechterung. Auffällig sind die Ergebnisse insbesondere an den Standorten, die ausschließlich bei Niederschlag wasserführend sind. Erhöhte estrogen- und dioxinähnliche Aktivitäten sowie mutagene Effekte wurden überwiegend unter regenbedingten Bedingungen festgestellt. Die chemische Charakterisierung mittels PCA verdeutlichte, dass Regenwasserproben ein anderes Stoffprofil (z. B. verstärkt Pestizide, PFAS, Metalle oder Pharmazeutika) aufweisen als Trockenwetterproben.

Die Ergebnisse aus den Bioassays korrelierten in Teilen signifikant mit den chemischen Messdaten (z. B. Mikrottox-Ergebnisse mit der ersten PCA-Achse und Toxic Units). Allerdings bestand häufig ein fehlender direkter Zusammenhang, was darauf hindeutet, dass weitere, in der Analytik nicht erfasste Substanzen (z. B. zusätzliche PAKs) die ökotoxikologischen Effekte beeinflussen. Zudem zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen dauerhaften und regenbedingten Belastungen, was den Einfluss episodischer Stoßbelastungen unterstreicht. Die hohe Sedimenttoxizität, die in den Proben festgestellt wurde, deutet auf eine starke Belastung durch Schadstoffe, insbesondere PAKs, hin, wie die Bioassays (wie Mikrottox und YDS) zeigen. Regenereignisse sind für signifikante Stoßbelastungen verantwortlich, die die Wasserqualität erheblich verschlechtern, da sie Schadstoffe aus urbanen Quellen und Rückhaltebecken in Gewässer einleiten. Eine Vergleichsanalyse zwischen chemischer Analytik, Bioassays und der ökologischen Bewertung des Makrozoobenthos zeigt, dass eine hohe Schadstoffbelastung häufig mit einem schlechteren ökologischen Zustand verbunden ist, auch wenn dies nicht kausal bewiesen werden konnte. Insbesondere in urbanen Gebieten, wo episodische Belastungen durch Regenereignisse auftreten, können die im Projekt angewandten Methoden dazu beitragen, frühzeitig Risiken für aquatische Organismen zu erkennen und als Grundlage für gezielte Maßnahmen im Gewässerschutz zu dienen.

## **Effektbasierte Methoden zur Bewertung chemischer Belastungen an renaturierten Gewässerabschnitten**

Ein zentraler Aspekt der Untersuchung war die Bedeutung von Schadstoffen für die Wiederbesiedlung renaturierter Gewässerabschnitte. Die hydromorphologische Degradation, hervorgerufen durch anthropogene Einflüsse wie Eingriffe in den Flusslauf, Bebauung, intensive Landwirtschaft und industrielle Nutzungen, hat die natürlichen Funktionen der Gewässer erheblich beeinträchtigt. Im Zuge der Renaturierungsmaßnahmen liegt der Fokus primär auf der Wiederherstellung der Morphologie, in der Hoffnung, dass eine verbesserte Habitatstruktur automatisch zu einer Steigerung der biologischen Vielfalt führt. Zahlreiche Studien zeigen jedoch, dass die biologische Erholung – insbesondere im Bereich der benthischen Makroinvertebraten – häufig nur marginal erfolgt, während andere Gruppen wie Fische, Makrophyten sowie Ufer- und Auenorganismen deutliche Verbesserungen aufweisen. Diese unterschiedlichen Reaktionen deuten darauf hin, dass chemische Belastungen eine zusätzliche, möglicherweise hemmende Wirkung haben, die die ökologische Regeneration verzögert. Besonders relevant ist hierbei die Remobilisierung von Sedimenten: Sedimente fungieren als zentrale Senken für anthropogene Schadstoffe, die sich über Jahre hinweg in den Sedimenten anreichern. Durch Renaturierungsmaßnahmen kommt es häufig zu einer mechanischen Störung dieser Sedimente sowie zu veränderten hydrodynamischen Bedingungen, wodurch gebundene Schadstoffe – darunter Schwermetalle, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) und organische Pestizide – erneut in die Wassersäule freigesetzt werden. Dieser Effekt führt in den ersten Monaten oder Jahren nach der Renaturierung zu einer kurzfristig erhöhten chemischen Belastung, was insbesondere für Organismen, die in direktem Sedimentkontakt stehen, negative Folgen haben kann. Langfristig wird zwar erwartet, dass sich durch natürliche Sedimentationsprozesse ein neues Gleichgewicht einstellt, jedoch kann die persistente Eintragung von Schadstoffen aus diffusen oder punktuellen Quellen die ökologische Erholung nachhaltig beeinträchtigen.

Die vorliegende Studie verfolgt einen multidimensionalen Ansatz, der neben der Bewertung der Gewässermorphologie auch die Analyse der Makrozoobenthosgemeinschaften, die Durchführung ökotoxikologischer Bioassays und chemischer Analysen der Sedimente umfasst. Ziel ist es, die Zusammenhänge zwischen den physikalisch-morphologischen Maßnahmen, der chemischen Belastung und der ökologischen Reaktion der Gewässer zu untersuchen. Die zentralen Fragestellungen lauten: Inwieweit verbessern Renaturierungsmaßnahmen die Habitatqualität und fördern die Wiederansiedlung von benthischen Makroinvertebraten? Zeigen Wasser- und Sedimentproben ökotoxikologische Effekte, die mit dem ökologischen Zustand korrelieren? Sind toxikologische Effekte in jüngst renaturierten Abschnitten stärker ausgeprägt als in Gebieten, in denen Renaturierungsmaßnahmen bereits länger zurückliegen? Und konvergieren ökotoxikologische und ökologische Parameter im Zeitverlauf zwischen renaturierten und nicht-renaturierten Abschnitten?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden an zehn Renaturierungsprojekten in den Bundesländern Hessen und Bayern umfangreiche Untersuchungen durchgeführt. Die ausgewählten Projekte decken unterschiedliche Gewässertypen ab und wurden anhand ihrer hydromorphologischen Renaturierungsmaßnahmen ausgewählt. Die Untersuchungsperioden umfassten zwei Beprobungskampagnen: Eine erste Gruppe von Projekten, deren Renaturierungsmaßnahmen bereits vor 13 bis 29 Jahren abgeschlossen wurden (mit einem Durchschnittsalter von etwa 22 Jahren), und eine zweite Gruppe, in der die Maßnahmen erst vor ca. drei bis vier Jahren umgesetzt wurden. In jedem Projekt wurde ein renaturierter Abschnitt analysiert und mit einem nicht-renaturierten Kontrollabschnitt verglichen, der den ursprünglichen Zustand vor der Renaturierung repräsentiert. Die Kontrollabschnitte lagen in

der Regel 355 bis 1270 Meter oberhalb des renaturierten Bereichs. Zwischen Kontroll- und renaturierten Abschnitt mündeten keine Einleiter oder Zuläufe kleinerer Fließgewässer.

Im Rahmen des Untersuchungsprogramms wurden an den renaturierten und Kontrollabschnitten sowohl Wasser- als auch Sedimentproben entnommen. Diese Proben wurden mithilfe verschiedener effektbasierter Methoden analysiert, um die ökotoxikologische Aktivität zu bestimmen. Zu den eingesetzten Bioassays zählten unter anderem Hefe-Reporter-Gen-Assays (YES und YDS), der Microtox-Test, der AREc32-Assay, der Ames-Fluktuationstest, der Fisch-Embryo-Akut-Toxizitätstest (FET) mit *Danio rerio* sowie reprotoxische Tests mit *Potamopyrgus antipodarum*.

Ergänzend zu den Bioassays erfolgten umfangreiche chemische Analysen, bei denen insbesondere die Konzentrationen von Schadstoffen wie PAKs in den Sedimenten bestimmt wurden. Statistische Analysen umfassten gepaarte Wilcoxon-Tests, zweifaktorielle ANOVA, Tukey-Post-hoc-Tests sowie lineare Regressionsanalysen, um den Einfluss von Renaturierungsstatus, Renaturierungsalter und lokalen Umweltbedingungen auf die ökotoxikologischen und ökologischen Kennwerte zu evaluieren.

Die Ergebnisse der Untersuchung ergaben, dass die Renaturierungsmaßnahmen zu einer signifikanten Verbesserung der Habitatstruktur führten. Die renaturierten Abschnitte wiesen in den meisten Fällen bessere hydromorphologische Kennwerte auf als die Kontrollabschnitte. Beispielsweise zeigten die Strukturgüteklassen der renaturierten Bereiche niedrigere Werte, was auf eine höhere Habitatqualität hinweist. Auch der Shannon-Wiener-Index, ein Maß für die Artenvielfalt, war in den renaturierten Abschnitten tendenziell höher als in den Kontrollen. Allerdings ergaben sich keine einheitlichen Verbesserungen in den anderen ökologischen Indikatoren, wie dem Multimetric Index (MMI) oder dem prozentualen Anteil der EPT-Taxa (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera). In sieben von zehn Gewässern waren die Unterschiede im MMI zwischen renaturierten und Kontrollabschnitten nur gering, und in einigen Fällen waren die renaturierten Bereiche sogar schlechter als die Kontrollen bewertet. Diese Diskrepanz zwischen der verbesserten Habitatstruktur und der fehlenden signifikanten ökologischen Erholung der benthischen Invertebraten weist darauf hin, dass andere Stressoren – namentlich chemische Belastungen – weiterhin einen hemmenden Einfluss ausüben.

Der Vergleich der ökotoxikologischen Aktivitäten zwischen Wasser- und Sedimentproben offenbarte deutliche Unterschiede. Während die Wasserproben in den meisten Bioassays überwiegend niedrige bis moderate Toxizitätswerte aufwiesen und daher als „sehr gut“ oder „gut“ bewertet wurden, fielen die Sedimentproben durchgehend schlechter aus. Insbesondere im Microtox-Test und im dioxinähnlichen Test (YDS) zeigten die Sedimente eine erhöhte Toxizität, was auf eine hohe Konzentration persistenter Schadstoffe, insbesondere PAKs, hindeutet. Im Ames-Test, der das mutagene Potential misst, waren die Wasserproben unauffällig, während mehr als die Hälfte der Sedimentproben ein mutagenes Potential aufwies. Auch reprotoxische Effekte, ermittelt anhand von Tests mit *Potamopyrgus antipodarum* und dem Fisch-Embryo-Akut-Toxizitätstest, deuten darauf hin, dass die chemische Belastung der Sedimente weiterhin ein erhebliches ökotoxikologisches Risiko darstellt. Die Ergebnisse der Makrophyten-Tests deuteten allerdings auf phytotoxische Effekte in den Wasserproben einzelner renaturierter Bereiche hin. Eine lineare Regressionsanalyse, die die mittleren relativen ökotoxikologischen Aktivitäten der Sedimente mit den ökologischen MMI-Werten verknüpfte, zeigte, dass Proben mit höheren Toxizitätswerten tendenziell mit schlechteren ökologischen Zuständen korrelierten – wenn auch ohne statistisch signifikante Korrelation.

Ein weiterer Untersuchungsaspekt war der Einfluss des Renaturierungsalters. Die Studie differenzierte zwischen älteren Renaturierungsprojekten (mit einem Alter von durchschnittlich

22 Jahren) und jüngeren Projekten (ca. 3 bis 4 Jahre alt). Statistische Auswertungen mittels zweifaktorieller ANOVA zeigten, dass das Alter der Renaturierungsmaßnahmen insbesondere in den Sedimentproben einen signifikanten Einfluss auf die dioxinähnliche Aktivität hatte. So wiesen ältere Kontrollabschnitte höhere dioxinähnliche Aktivitäten auf als die renaturierten Abschnitte in jüngeren Projekten, was auf eine langjährige Anreicherung und Persistenz der Schadstoffe hindeutet. Darüber hinaus ergaben Analysen der PAK-Kontamination signifikante Unterschiede: In den renaturierten Abschnitten, insbesondere bei älteren Projekten, waren die PAK-Konzentrationen deutlich niedriger als in den entsprechenden Kontrollabschnitten. Diese Befunde deuten darauf hin, dass Renaturierungsmaßnahmen, sofern sie zu einer Reduktion der Schadstoffmobilität beitragen, langfristig positive Effekte auf die chemische Belastung haben können. Dennoch wurde insgesamt kein konsistenter linearer Trend in der Verbesserung ökologischer und ökotoxikologischer Parameter in Abhängigkeit vom Renaturierungsalter festgestellt. Lokale Umweltbedingungen und die Art der durchgeführten Maßnahmen scheinen einen stärkeren Einfluss auf den Erfolg der Renaturierung zu haben als das Alter der Maßnahmen allein.

Die Diskussion der Ergebnisse unterstreicht, dass die Verbesserung der hydromorphologischen Struktur zwar einen wichtigen Fortschritt darstellt, jedoch ohne eine gleichzeitige Reduktion chemischer Belastungen der Renaturierungserfolg in ökologischer Hinsicht begrenzt bleibt. Persistente Schadstoffe, insbesondere jene, die in den Sedimenten gebunden sind, stellen ein erhebliches Hindernis für die Wiederansiedlung benthischer Organismen dar. Trotz einer signifikanten Verbesserung der Habitatstruktur zeigte sich, dass in den renaturierten Abschnitten häufig keine Verbesserung der benthischen Invertebratengemeinschaften erkennbar war. Dies legt nahe, dass die chemische Belastung – etwa in Form von PAKs und dioxinähnlichen Verbindungen – als zentraler limitierender Faktor wirkt. Auch wenn sich in einigen Fällen Tendenzen zu einer besseren ökotoxikologischen Aktivität in den Wasserproben zeigten, blieb der ökologische Zustand insgesamt weitgehend „unbefriedigend“, wenn die Sedimentbelastung hoch ist. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass eine nachhaltige ökologische Erholung nur dann möglich ist, wenn neben der Wiederherstellung der Gewässermorphologie auch die chemische Belastung gezielt reduziert wird.

### **Bedeutung der Ergebnisse für die Praxis**

Für die wasserwirtschaftliche Praxis ergeben sich aus diesen Befunden weitreichende Konsequenzen. Die Studie zeigt, dass eine integrierte Betrachtung chemischer, ökotoxikologischer und ökologischer Parameter erforderlich ist, um die komplexen Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Stressoren adäquat zu erfassen. EBMs bieten hierbei ein vielversprechendes Instrument, da sie nicht nur die Anwesenheit von Schadstoffen, sondern auch deren biologische Wirkung auf Organismen messen. Im Rahmen eines internationalen Workshops wurde hervorgehoben, dass es dringend erforderlich ist, standardisierte Testverfahren, Triggerwerte und einen intensiven Wissenstransfer zwischen Wissenschaft und Behörden zu etablieren, um EBMs in die wasserwirtschaftliche Praxis zu integrieren. Langfristig sollte das effektbasierte Gewässermonitoring innerhalb der nächsten zehn Jahre fester Bestandteil der Regulatorik und der praktischen Umsetzung von Renaturierungsmaßnahmen werden. Dies erfordert eine Harmonisierung der Methoden, die Durchführung von Ringtests und die Einrichtung von Kompetenzzentren, um die Vorteile der EBMs systematisch zu nutzen und damit die Beurteilung chemischer Belastungen zu verbessern. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Erfolg von Renaturierungsmaßnahmen maßgeblich von der Fähigkeit abhängt, neben der Verbesserung der hydromorphologischen Strukturen auch die chemische Belastung nachhaltig zu reduzieren. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass persistierende Schadstoffbelastungen – vor allem in den Sedimenten – die

Wiederbesiedlung durch empfindliche benthische Invertebraten verhindern können, selbst wenn die Habitatqualität morphologisch verbessert wurde. Eine integrierte Monitoringstrategie, die klassische hydromorphologische Bewertungen mit ökotoxikologischen Bioassays und chemischen Analysen kombiniert, ist daher essenziell, um die komplexen Ursachen für den verzögerten ökologischen Renaturierungserfolg zu identifizieren und gezielt anzugehen. Nur durch die Reduktion chemischer Belastungen und die Berücksichtigung multipler Stressoren kann langfristig eine Verbesserung der Wasserqualität und der biologischen Vielfalt in renaturierten Fließgewässern erreicht werden. Die Erkenntnisse dieser Studie liefern somit wichtige Grundlagen für zukünftige Renaturierungsprojekte und unterstreichen die Notwendigkeit, effektbasierte Monitoringmethoden als festen Bestandteil der wasserwirtschaftlichen Praxis zu etablieren.

## Summary

Flowing waters around the world are subject to considerable pressures from human activities such as altered land use, resource exploitation, pollution, climate change, and the spread of invasive species. These stressors lead to significant losses in biodiversity, with wetlands and floodplains—important buffer zones for flood mitigation and providers of essential ecosystem services such as drinking water and agricultural irrigation—being particularly affected. Achieving a sustainable balance between human use and ecological function requires an integrated management approach that goes beyond purely morphological interventions.

In Europe, the Water Framework Directive (WFD) provides the regulatory framework to achieve a good ecological and chemical status of water bodies. However, approximately 90% of water bodies fail to meet this objective. Although morphological improvements have been pursued in the past, it has become evident that these measures alone are insufficient—especially because additional stressors, such as the inputs of nutrients, pesticides, and pharmaceutical residues, further impair the overall impact.

Quantitatively assessing pollutants in water bodies is challenging, as over 350,000 chemical substances are registered worldwide and European routine monitoring within the WFD programs only consider a fraction (approximately 45, with a current proposal to expand to 68 prioritized substances). Technical challenges, such as degradation and variable binding to different ecosystem compartments, complicate the precise determination of the actual load. Moreover, pollutants rarely occur in isolation; rather, they appear in interacting mixtures that can produce additive or synergistic effects. Traditional approaches, such as analyzing the composition of macroinvertebrate communities, provide general insights into the ecological condition but reach their limits when it comes to differentiating specific stressors. Approaches like the SPEAR index, which classifies species based on their sensitivity to pollution, offer a more direct link to chemical contamination; however, due to limited data and potential tolerance adaptations, they cannot be applied without restrictions. Consequently, a single indicator rarely captures all aspects of the pollution load. An alternative approach is the application of bioassays that measure the effects of pollutant mixtures in-vivo (e.g., using fish embryos or invertebrates) and in-vitro (e.g., with cell or yeast systems).

The **aim of the project** was to apply these bioassays in two investigation scenarios, capture ecotoxicological endpoints, translate them into a five-level evaluation scheme, and compare them with classical chemical data (e.g., Toxic Units, LC<sub>50</sub>-based calculations) as well as ecological indicators (macrozoobenthos). In this way, an integrated monitoring concept is to be tested that links chemical analyses, bioeffect-based tests, and ecological indicators to comprehensively capture the complexity of pollutant loads in water bodies.

### Flow-Dependent Toxicity Dynamics and Their Ecological Relevance

To assess the dynamics of toxicity in relation to flow conditions, the Alb—a 51 km long river in the Karlsruhe area—was investigated. Even before entering the urban area, the Alb shows a deterioration in ecological status, which is attributed to a variety of pollutant inputs from urban and industrial sources. The objective of the investigations in Scenario 1 was to compare the ecotoxicological condition with the chemical status (e.g., based on Toxic Units and the results of a principle component analysis) and the evaluation of the macrozoobenthos using bioeffect-based methods. These investigations were carried out under normal runoff conditions as well as under rainfall-related pulse loads. The latter was of interest because it can be assumed that pollutant concentrations in the water can increase many times over during heavy rainfall events.

For this purpose, different sampling concepts were pursued at nine sites. While at sites 1–6 the Alb river flow was examined longitudinally, at sites 7–9 (stormwater treatment and overflow basins) samples were only taken from stormwater runoff. This enabled the investigation of the effects of episodic pulse loads on the ecotoxicological and chemical burden.

The sediment samples collected at sites 1 to 6 showed increased toxicity at almost all sites—even at the supposed reference site. The sediment samples taken at sites 1 to 6 showed increased toxicity at almost all sites – even at the supposed reference site No. 1, located upstream the city of Karlsruhe. In the Microtox assay, YDS, and in genotoxicity tests (Ames test), significant toxicological effects were observed particularly at sites heavily impacted by urban influences. A focus was placed on the role of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). These substances activate a dioxin-like effect via the AhR signaling pathway and also cause direct cytotoxic damage, which supports the results of the bioassays. Comparative data from the environmental information system suggest that for some PAHs, such as Benzo(a)pyrene or Benzo(ghi)perylene, the measured concentrations exceed the experimentally determined EC<sub>50</sub> values multiple times.

While water samples under dry weather conditions generally exhibited comparatively low baseline toxicity, a marked deterioration was observed during rain. The results are particularly striking at sites that are water-bearing exclusively during rainfall. Elevated estrogenic and dioxin-like activities as well as mutagenic effects were predominantly observed under rain-induced conditions. The chemical characterization using principal component analysis (PCA) revealed that rainwater samples exhibit a different substance profile (e.g., increased levels of pesticides, PFAS, metals, or pharmaceuticals) than dry weather samples.

The results from the bioassays partially correlated significantly with the chemical measurements (e.g., Microtox results with the first PCA axis and Toxic Units). However, a direct correlation was often lacking, suggesting that additional substances not captured in the chemical analysis (e.g., additional PAHs) may influence the ecotoxicological effects. Moreover, there are distinct differences between persistent and rain-induced loads, which underlines the influence of episodic pulse loads. The high sediment toxicity observed in the samples indicates a strong burden by pollutants, particularly PAHs, as shown by the bioassays (such as Microtox and YDS). Rain events are responsible for significant pulse loads that considerably deteriorate water quality, as they introduce pollutants from urban sources and retention basins into water bodies. A comparative analysis between chemical analytics, bioassays, and the ecological evaluation of the macrozoobenthos shows that a high pollutant load is frequently associated with a poorer ecological condition, even though this has not been proven causally. Particularly in urban areas, where episodic loads occur due to rain events, the methods applied in the project can help to detect risks to aquatic organisms at an early stage and serve as a basis for targeted measures in water protection.

### **Bioeffect-Based Methods for Assessing Chemical Loads in Restored Water Bodies**

A central aspect of the investigation was the importance of pollutants for the recolonization of restored water sections. The hydromorphological degradation caused by human influences such as alterations to the river course, urban development, intensive agriculture, and industrial activities has significantly impaired the natural functions of water bodies. In the course of restoration measures, the primary focus is on restoring the morphology in the hope that an improved habitat structure will automatically lead to increased biological diversity. However, numerous studies show that biological recovery—particularly in the area of benthic macroinvertebrates—often occurs only marginally, while other groups such as fish, macrophytes, and riparian species show at least slight improvements. These varying responses

suggest that chemical loads have an additional, potentially inhibiting effect that delays ecological recovery. Particularly relevant is the remobilization of sediments: sediments act as central sinks for anthropogenic pollutants that accumulate over years. Restoration measures frequently cause mechanical disturbances of these sediments as well as altered hydrodynamic conditions, thereby releasing bound pollutants—such as heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and organic pesticides—back into the water column. This effect leads to a short-term increase in chemical load in the months or years following restoration, which can have negative consequences, especially for organisms in direct contact with the sediments. Although it is expected that a new equilibrium will eventually be established through natural sedimentation processes, the persistent input of pollutants from diffuse or point sources can sustainably impair ecological recovery.

The present study follows a multidimensional approach that, in addition to evaluating water body morphology, also encompasses the analysis of benthic invertebrate communities, the performance of ecotoxicological bioassays, and chemical analyses of sediments. The aim is to investigate the interrelationships between physical-morphological measures, chemical loads, and the ecological response of water bodies. The central research questions are: To what extent do restoration measures improve habitat quality and promote the recolonization of benthic macroinvertebrates? Do water and sediment samples show ecotoxicological effects that correlate with the ecological condition? Are toxic effects more pronounced in recently restored sections than in areas where restoration measures were implemented longer ago? And do ecotoxicological and ecological parameters converge over time between restored and non-restored sections?

To answer these questions, extensive investigations were carried out at ten restoration projects in the German states of Hesse and Bavaria. The selected projects cover different stream types that are typical in Central Europe and were chosen based on their hydromorphological restoration measures. The study periods included two sampling campaigns: one group of projects where restoration measures had been completed between 13 and 29 years ago (with an average age of approximately 22 years) and a second group where the measures were implemented only about three to four years ago. In each project, a restored section was analyzed and compared with a non-restored control section that represents the original state before restoration. The control sections were generally located 355 to 1270 meters upstream of the restored area.

Within the framework of the study, both water and sediment samples were taken at the restored and control sections. These samples were analyzed using various bioeffect-based methods to determine ecotoxicological activity. The bioassays employed included, among others, yeast reporter gene assays (YES and YDS), the Microtox test, the AREc32 assay, the Ames fluctuation test, the fish embryo acute toxicity test (FET) with *Danio rerio*, and reproductive toxicity tests with *Potamopyrgus antipodarum*. In addition to the bioassays, extensive chemical analyses were carried out, particularly to determine the concentrations of pollutants such as PAHs in the sediments. Statistical analyses, including paired Wilcoxon tests, two-factor ANOVAs, Tukey post-hoc tests, and linear regression analyses, were used to evaluate the influence of restoration status, restoration age, and local environmental conditions on the ecotoxicological and ecological indicators.

The results of the investigation showed that the restoration measures led to a significant improvement in habitat structure. In most cases, the restored sections exhibited better hydromorphological parameters than the control sections. For example, the structural quality classes of the restored areas had lower values, indicating a higher habitat quality. Additionally, the Shannon–Wiener index, a measure of species diversity, tended to be higher in the restored

sections compared to the controls. However, there were no consistent improvements in other ecological indicators, such as the Multimetric Index (MMI) or the percentage of EPT taxa (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera). In seven out of ten water bodies, the differences in the MMI between restored and control sections were minimal, and in some cases, the restored areas were even rated worse than the controls. This discrepancy between the improved habitat structure and the lack of significant ecological recovery in benthic invertebrate communities suggests that other stressors—namely chemical loads—continue to exert an inhibiting influence.

The comparison of ecotoxicological activities between water and sediment samples revealed marked differences. While water samples in most bioassays exhibited predominantly low to moderate toxicity values and were therefore rated as very good or good, the sediment samples consistently scored lower. In particular, the Microtox test and the dioxin-like test (YDS) showed increased toxicity in the sediments, which indicates a high concentration of persistent pollutants, especially PAHs. In the Ames test, which measures mutagenic potential, the water samples were unremarkable, whereas more than half of the sediment samples exhibited mutagenic potential. Additionally, reproductive toxicity effects, determined using tests with *Potamopyrgus antipodarum* and the fish embryo acute toxicity test, indicate that the chemical load in the sediments continues to pose a significant ecotoxicological risk. However, the results of the macrophyte test indicate phytotoxic effects in some water samples of restored areas. A linear regression analysis linking the average relative ecotoxicological activities of the sediments with the ecological MMI values showed that samples with higher toxicity values tended to correlate with poorer ecological conditions—even if the correlation was not statistically significant.

Another aspect of the investigation was the influence of the restoration age. The study differentiated between older restoration projects (with an average age of approximately 22 years) and younger projects (approximately 3 to 4 years old). Statistical evaluations using two-factor ANOVAs indicated that the age of the restoration measures had a significant influence on the dioxin-like activity in the sediment samples. Older control sections exhibited higher dioxin-like activities than the restored sections in the younger projects, suggesting a long-term accumulation and persistence of pollutants. Furthermore, analyses of PAH contamination revealed significant differences: In the restored sections, particularly in older projects, PAH concentrations were significantly lower than in the corresponding control sections. These findings suggest that restoration measures, if they contribute to reducing the mobility of pollutants, can have positive long-term effects on chemical loads. Nevertheless, no consistent linear trend in the improvement of ecological and ecotoxicological parameters was observed in relation to the restoration age. Local environmental conditions and the nature of the measures implemented seem to have a stronger influence on the success of restoration than the age of the measures alone.

The discussion of the results emphasizes that while the improvement of hydromorphological structure represents important progress, the ecological success of restoration remains limited without a simultaneous reduction in chemical loads. Persistent pollutants, particularly those bound to sediments, pose a significant barrier to the recolonization of benthic organisms. Despite a significant improvement in habitat structure, the restored sections frequently did not show any improvement in benthic invertebrate communities. This suggests that chemical loads—such as those in the form of PAHs and dioxin-like compounds—act as a central limiting factor. Even though there were tendencies toward better ecotoxicological activity in the water samples in some cases, the overall ecological condition remained largely unsatisfactory when sediment contamination was high. The results clearly indicate that sustainable ecological

recovery is only possible if, in addition to restoring water body morphology, chemical loads are specifically reduced.

### **Implications for Practice**

The findings have far-reaching consequences for water management practice. The study shows that an integrated consideration of chemical, ecotoxicological, and ecological parameters is essential to adequately capture the complex interactions between various stressors. Bioeffect-based methods (EBMs) offer a promising tool because they not only measure the presence of pollutants but also their biological effects on organisms. During an international workshop, it was emphasized that there is an urgent need to establish standardized test procedures, trigger values, and intensive knowledge transfer between science and authorities in order to integrate EBMs into water management practice. In the long term, bioeffect-based water monitoring should become an integral part of regulation and the practical implementation of restoration measures within the next ten years. This will require harmonizing methods, conducting ring tests, and establishing competence centers to systematically utilize the advantages of EBMs and thereby improve the assessment of chemical loads. The success of restoration measures depends crucially on the ability not only to improve hydromorphological structures but also to sustainably reduce chemical loads. The present results show that persistent pollutant loads—especially in sediments—can prevent the recolonization by sensitive benthic invertebrates even if the habitat quality has been morphologically improved. Therefore, an integrated monitoring strategy that combines classical hydromorphological assessments with ecotoxicological bioassays and chemical analyses is essential to identify and address the complex causes of delayed ecological recovery following restoration. Only by reducing chemical loads and considering multiple stressors can long-term improvements in water quality and biological diversity be achieved in restored flowing waters. The insights from this study thus provide important foundations for future restoration projects and underscore the need to establish bioeffect-based monitoring methods as a permanent component of water management practice.

# 1 Einleitung

## 1.1 Derzeitige Situation der Fließgewässer

Anthropogene Aktivitäten, und die dadurch verursachten Belastungen, stellen weltweit eine komplexe Bedrohung für Ökosysteme dar. Als primäre Treiber des globalen Biodiversitätsverlusts gelten Veränderungen der Landnutzung, die Ausbeutung natürlicher Ressourcen, der Klimawandel, Umweltverschmutzung sowie die Einführung invasiver, gebietsfremder Arten (Groh et al. 2022; IPCC 2023; Sylvester et al. 2023). Zu den am stärksten von Biodiversitätsverlust betroffenen Ökosystemen zählen die Feuchtgebiete (Davidson 2014). Deren funktionale und strukturelle Integrität ist von zentraler Bedeutung für das Überleben der aquatischen und terrestrischen Organismen, die eng mit diesen Ökosystemen verbunden sind. Darüber hinaus erbringen sie unverzichtbare Ökosystemdienstleistungen, darunter die Bereitstellung von sauberem Trinkwasser, landwirtschaftlicher Bewässerung und industrieller Wassernutzung. Naturnahe Auen fungieren als natürliche Puffer, die Hochwasserrisiken mindern und den Schutz angrenzender Siedlungen gewährleisten (Dixon et al. 2016; Cole et al. 2020). Flüsse und Auen mit hoher biologischer Vielfalt tragen zudem zur lokalen wirtschaftlichen Entwicklung bei, indem sie Fischerei, Erholung und Tourismus fördern (Lynch et al. 2023). Der Erhalt ihrer ökologischen Funktionen ist entscheidend, um eine nachhaltige Balance zwischen den Anforderungen menschlicher Gesellschaften und der Erhaltung der Umweltgesundheit sicherzustellen und zugleich die Resilienz gegenüber klimatischen Herausforderungen zu stärken (Thomas et al. 2016). Angesichts dieser Bedeutung erfordert das Management solcher Ökosysteme eine integrative Herangehensweise, die die Vielfalt der Stressoren ganzheitlich adressiert, um den anthropogen bedingten Biodiversitätsverlust zu minimieren und die Stabilität dieser Systeme langfristig zu sichern.

In der Praxis wird diese integrative Perspektive jedoch bisher nur unzureichend umgesetzt. Seit dem Jahr 2000 bildet die Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) in Europa den zentralen regulatorischen Rahmen zur Erreichung eines „guten“ ökologischen und chemischen Zustands der Gewässer in den Mitgliedstaaten und fordert die Implementierung von Überwachungsprogrammen (Directive 2000/60). Da rund 90% der Gewässer nicht den „guten“ ökologischen Zustand erreichen, wurden in den letzten Jahren eine Vielzahl von Maßnahmen ergriffen, um die ökologische Qualität zu verbessern, wobei der Fokus häufig auf morphologischen Verbesserungen lag (European Environment Agency -EEA 2018; Völker et al. 2022). Eine morphologische Verbesserung der Gewässer allein führt jedoch nicht zwangsläufig zu einer ökologischen Verbesserung der aquatischen Biota (Jähnig et al. 2010; Leps et al. 2016; Pilotto et al. 2019). Dies unterstreicht die Bedeutung weiterer Stressoren wie Wasser- und Sedimentqualität, die die potenziellen positiven Effekte solcher Maßnahmen beeinträchtigen können (Armitage et al. 2007; Malaj et al. 2014). Insbesondere die Einträge von Nährstoffen und chemischen Schadstoffen wie Pestiziden und pharmazeutischen Rückständen scheinen eine zentrale Rolle bei der Verfehlung des „guten“ ökologischen Zustands der Gewässer zu spielen (Battaglin et al. 2018; Liess et al. 2021).

## 1.2 Monitoring von Schadstoffen in Fließgewässern

Die Überwachung von Schadstoffen und deren Auswirkungen auf die aquatische Biota wird durch zwei wesentliche Herausforderungen erschwert: (i) die begrenzte quantitative Erfassung im Rahmen regulärer Monitoringprogramme und (ii) die komplexe Interaktion von Schadstoffen in einem multifaktoriellen Stressorenkontext. Die Messung chemischer Konzentrationen wird durch die immense Anzahl potenzieller Verbindungen, die Dynamik ihrer Exposition in

Ökosystemen und die methodischen Grenzen der chemischen Analytik erschwert. Schätzungen zufolge waren bis 2020 weltweit mehr als 350.000 chemische Substanzen und Mischungen für den kommerziellen Einsatz registriert (Wang et al. 2020). Der damit verbundene finanzielle und personelle Aufwand limitiert die Anzahl der Substanzen, die in standardisierten Überwachungsprogrammen, etwa im Rahmen der WRRL, berücksichtigt werden können. So umfasst die Liste priorisierter Substanzen bislang lediglich 45 Stoffe oder Stoffgruppen (Directive 2013/39) wobei ein aktueller Vorschlag zur Überarbeitung der WRRL deren Erweiterung auf 68 vorsieht (Backhaus 2023). Dennoch bietet auch diese erweiterte Liste keine Garantie für die Erfassung der tatsächlich relevanten Schadstoffbelastungen, da diffuse und punktuelle Einträge zeitlich variieren können und Stichproben solche periodischen Belastungen häufig nicht erfassen (Liess et al. 1999; Babitsch und Sundermann 2020; Pereira et al. 2020; Betz-Koch et al. 2023). Hinzu kommen technische Einschränkungen wie die Degradation kurzlebiger Substanzen während der Probenlagerung oder die ungleiche Bindung von Chemikalien an verschiedene Ökosystemkompartimente (Patrolecco et al. 2006; Chen et al. 2019). Folglich erfassen die meisten Monitoringprogramme nur einen Bruchteil der tatsächlichen Schadstoffbelastung (Babitsch und Sundermann 2020; Vormeier et al. 2023).

Darüber hinaus interagieren chemische Schadstoffe sowohl untereinander als auch mit anderen Stressoren. Sie treten selten isoliert auf, sondern in komplexen Mischungen, deren Zusammensetzung zeitlich stark variiert (Könemann et al. 2018). Substanzen können auch unterhalb ihrer individuellen Wirkungsschwellen zu einer Mischtoxizität führen (additive Effekte), während synergistische Effekte ihre Toxizität erheblich steigern können (Weisner et al. 2021). Die gleichzeitige Einwirkung zusätzlicher Stressoren wie Wassermangel (Tang und Escher 2014), die Mobilisierung historischer Schadstoffe bei Hochwasserereignissen (Karaouzas et al. 2018; Crawford et al. 2022) oder steigende Temperaturen (Laetz et al. 2014) kann die negativen Effekte weiter verstärken.

### **1.3 Monitoring von Arten- und Artengemeinschaften**

Eine Alternative zum Messen chemischer Substanzen ist die Aufnahmen von Lebensgemeinschaften, wie Makrophyten, Algen, Makroinvertebraten und Fische, um Belastungen der Gewässer integrativ bewerten zu können. In diesem Zusammenhang wurden mit der Implementierung der WRRL in Europa, in den letzten Jahren mehr als 400 biologische Bewertungssysteme entwickelt (Birk et al. 2012; Poikane et al. 2020). Dennoch fehlt es an Bewertungssystemen, die ausreichend sensibel sind, um spezifische Stressoren wie hydromorphologische Veränderungen und toxische Belastungen voneinander zu unterscheiden. So weisen benthische Makroinvertebratengemeinschaften eine stärkere Assoziation mit Verschmutzungen auf als Diatomeen- und Fischgemeinschaften (Waite et al. 2019). Diatomeen indizieren hingegen eher die Effekte von Nährstoffen und Schwermetallen (Rico et al. 2016; Waite et al. 2019). Fischgemeinschaften wiederum zeigen insgesamt eine geringere Reaktion auf Stressoren, die mit Wasser- oder Sedimentqualität zusammenhängen (Norton et al. 2002; Waite et al. 2019), und scheinen eher auf physikalischen Stressoren zu reagieren (Meador und Frey 2018). Eine eindeutige Zuordnung einer Reaktion einer bestimmten Qualitätskomponente zu einem einzelnen Stressor ist jedoch nur in Systemen möglich, in denen dieser ein Stressor dominant ist und eine alleinige limitierende Wirkung hat. Dies ist jedoch in den meisten Gewässern nicht der Fall. Die meisten Flüsse und Bäche sind einer Vielzahl von Stressoren ausgesetzt, die mit einer intensiven Landnutzung einhergehen. Das bedeutet, dass traditionelle Indizes, die unterschiedliche Aspekte der Artengemeinschaften beschreiben, wie die Zusammensetzung und Abundanzstruktur, Vielfalt und Diversität, Funktionalität oder auch die Sensitivität (Hering et al. 2004), wertvolle allgemeine Einblicke in den Zustand von Gewässern

liefern. Sie sind jedoch in ihrer Fähigkeit, spezifische Belastungseffekte zu identifizieren, eingeschränkt.

Neben den traditionellen biologischen Kennwerten wurden in den letzten Jahren Indizes entwickelt, die speziell darauf ausgelegt sind, die Auswirkungen von Verschmutzungen auf Organismen zu bewerten und primär auf Verschmutzungen, nicht aber auf andere Umweltstressoren, zu reagieren. Solche Indizes sollen eine klare Verbindung zu chemischer Kontamination aufweisen und diese entsprechend abbilden. In diesem Zusammenhang wurde der SPEcies At Risk (SPEAR)-Ansatz (Liess und von der Ohe 2005) entwickelt. Dieser Ansatz teilt die benthische Makroinvertebratengemeinschaft in sensible und nicht-sensible Arten ein. Diese Unterteilung basiert auf artspezifischen Merkmalen wie der physiologischen Empfindlichkeit gegenüber Insektiziden, dem Lebenszyklus oder dem Verhalten der Arten. Der SPEAR-Index betrachtet die Abundanz sensibler Arten, wobei der Anteil sensibler Arten (species at risk) mit zunehmendem Verschmutzungsgrad in einem Gewässer abnimmt. Dieser Index wurde ursprünglich für Pestizide entwickelt und u.a. für organische Schadstoffe (Beketov und Liess 2008) ergänzt. Der SPEAR-Ansatz basiert auf denselben taxonomischen Daten (resultierende Taxalisten nach Probenahmen) wie traditionelle Indizes für Makroinvertebraten und ist damit mit den taxonomischen Anforderungen der Überwachungsprotokollen verschiedener Länder kompatibel (Beketov et al. 2009; Liebmann et al. 2022). Die mit dem SPEAR-Ansatz abgeleiteten Einstufungen haben jedoch auch Einschränkungen. Die Ableitung der taxonspezifischen Einstufungen erfordert eine beträchtliche Menge an Daten und Untersuchungen. Informationen über die Sensitivitäts- und Toleranzmerkmale vieler Arten sind daher weiterhin begrenzt (Liess und von der Ohe 2005). Daher basieren aktuelle Berechnungen nur auf bereits vorhandenen Einstufungen, was die Extrapolation auf die Gemeinschaftsebene erschweren kann (Morin et al. 2009). Darüber hinaus kann ihre Effizienz durch überlagernde Faktoren beeinträchtigt werden, die möglicherweise mit den Auswirkungen der Verschmutzung interagieren (Morin et al. 2010; Berger et al. 2017; Wood et al. 2019). Vor allem kann eine frühere Exposition gegenüber Schadstoffen eine höhere Toleranz induzieren (Brock et al. 2008; Tlili et al. 2020; Carles et al. 2021), da progressiv die widerstandsfähigsten Individuen selektiert werden.

Dies verdeutlicht, dass ein einzelner Index allein oft nicht ausreicht und mit anderen Biomonitoring-Methoden oder der zusätzlichen Untersuchung abiotischer Parameter kombiniert werden muss, um die Auswirkungen von Schadstoffen auf die Gemeinschaften vollständig darzustellen, während gleichzeitig störende Faktoren berücksichtigt werden (Llorens et al. 2020).

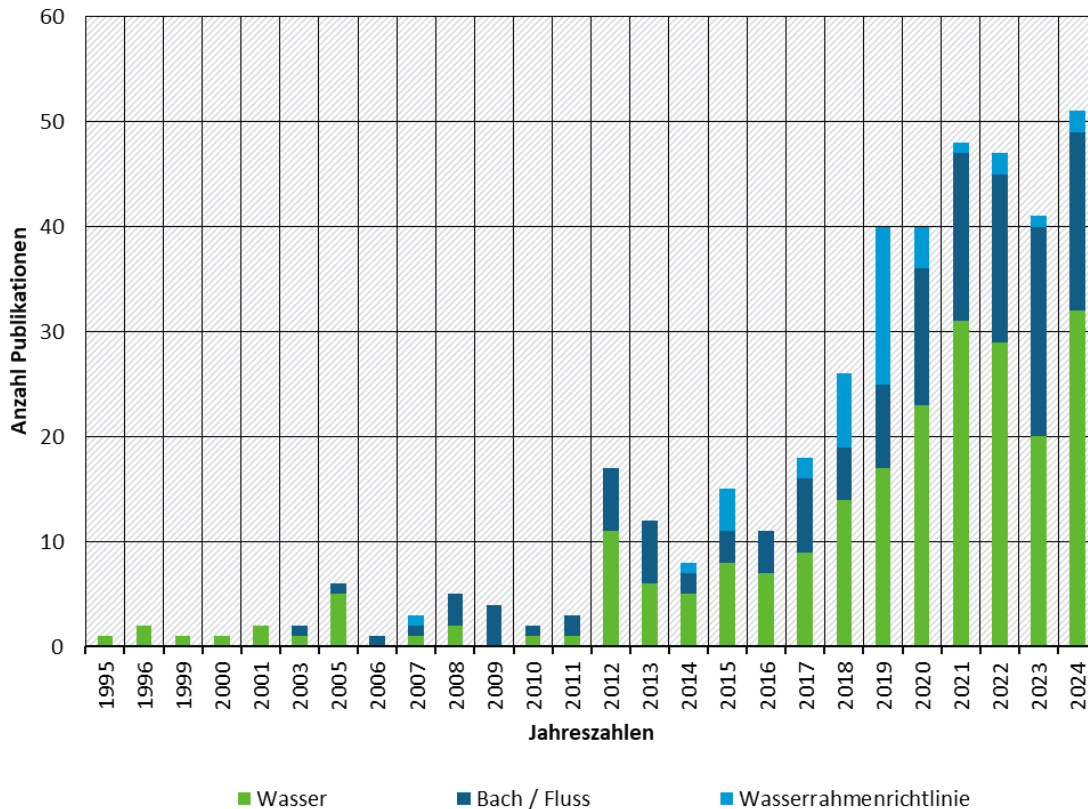
## 1.4 Einsatz effektbasierter Methoden im Gewässermonitoring

In diesem Zusammenhang haben in den letzten Jahren ökotoxikologische Bioassays (auch als effektbasierte Methoden, EBMs, bezeichnet) zunehmend an Bedeutung gewonnen. EBMs dienen dazu, die Wirkung chemischer Stoffe zu erkennen und zu messen, indem die Reaktion eines lebenden Zielorganismus (In-vivo) oder von Zellen (In-vitro) auf die Exposition untersucht wird. Sie decken eine Vielzahl von Endpunkten auf unterschiedlichen biologischen Organisationsebenen ab, von der organismischen bis zur suborganismischen Ebene (z. B. Effekte auf Organe, Zellen, Enzyme, Moleküle und das Genom). Die erfassten Endpunkte umfassen sowohl letale Parameter (z. B. Mortalität) als auch subletale Parameter (z. B. Häufigkeit von Deformitäten, Verhaltensänderungen) sowie biotische Populationsparameter (z. B. mittlere Körperlänge, Geschlechterverhältnis).

Aufgrund ihrer vielfältigen Vorteile und ihres erheblichen Potentials verzeichnet der Einsatz effektbasierter Monitoringmethoden in der Wasserforschung einen stetigen Anstieg. Dies spiegelt sich auch in der wachsenden Anzahl wissenschaftlicher Publikationen wider, die sich

mit effektbasierten Methoden befassen und gleichzeitig Bezüge zu Gewässern, wie Bächen oder Flüssen, sowie zur Wasserrahmenrichtlinie aufweisen. Eine systematische Analyse der Daten aus der bibliografischen Datenbank „Web of Science“ zeigt einen deutlichen Zuwachs solcher Publikationen über die Jahre und dokumentiert die jährliche Anzahl relevanter wissenschaftlicher Arbeiten in diesem Bereich (Abbildung 1).

**Abbildung 1: Anzahl der Publikationen im „Web of Science“ zum Thema effektbasierte Methoden**



Alle ausgewählten Publikationen enthielten im Titel, in den Schlüsselwörtern oder in der Zusammenfassung die Begriffe „effektbasierte Methoden“ (effect based method) und „Wasser“ (water). Dies gewährleistete die Selektion auf Publikationen aus dem Bereich der Wasserforschung. Zudem wurde überprüft, wie viele der ausgewählten Publikationen zusätzlich den Begriff „Wasserrahmenrichtlinie“ (water framework directive) oder die Begriffe „Bach / Fluss“ (stream OR river) enthielten. Alle Publikationen wurden hierbei einer der drei Gruppen zugeordnet und einfach gezählt.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Zu Beginn des analysierten Zeitraums ab 1995 war die Anzahl der Publikationen zu effektbasierten Ansätzen gering, und Bezüge zu Gewässern oder der Wasserrahmenrichtlinie waren kaum vorhanden. Auch nach Inkrafttreten der WRRL im Jahr 2000 blieb die Anzahl der Veröffentlichungen zum EBM über eine Dekade auf niedrigem Niveau. Erst in jüngerer Zeit zeigt sich ein deutlicher Anstieg der wissenschaftlichen Auseinandersetzung mit der Integration dieser Methoden in die Gewässerbewirtschaftung und die Wasserrahmenrichtlinie (Abbildung 1). Diese Entwicklung deutet auf eine zunehmende wissenschaftliche und praxisorientierte Relevanz effekt-basierter Methoden in der Wasserforschung hin. Insbesondere unterstreicht sie die wachsende Bedeutung dieser Ansätze im Zusammenhang mit ökologischen und regulatorischen Fragestellungen, wie sie durch die Anforderungen der Wasserrahmenrichtlinie definiert werden (Brack et al. 2015). Vor diesem Hintergrund wurde innerhalb der europäischen Untergruppe „Chemical Monitoring and Emerging Pollutants“ (CMEP) der Gemeinsamen

Umsetzungsstrategie (CIS) für die WRRL eine spezifische Aufgabe zur Entwicklung eines technischen Berichts über effektbasierte Methoden gestellt. Gemäß dem Mandat der CMEP war es das Ziel des technischen Berichts der Europäischen Kommission, potenzielle EBMs zu identifizieren, die im Kontext der verschiedenen Überwachungsprogramme (Überblicksmonitoring, operatives Monitoring und Monitoring zu Ermittlungszwecken) zur Verknüpfung chemischer und ökologischer Statusbewertungen genutzt werden könnten. Diese Methoden sollten zudem als Vorschlag für die Überarbeitung der WRRL dienen (Wernersson et al 2015).

Der Einsatz von EBMs im Rahmen der (behördlichen) Gewässerüberwachung wird zwar zunehmend diskutiert und es stehen mehrere wirkungsbasierte Methoden zur Verfügung (Brettschneider et al. 2019a; Triebkorn et al. 2022; Kienle 2023), eine breite Anwendung findet bisher jedoch noch nicht statt. Begründet wird dies unter anderem mit dem Fehlen von Standards für verschiedene methodische Techniken (z. B. Probenvorbereitung, Anreicherungsverfahren, Extraktion) sowie dem Mangel an Grenz- bzw. Triggerwerten für einzelne effektbasierte Methoden. Um dieses Problem anzugehen, wurden im Rahmen des von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt geförderten Forschungsprojektes DECIDE<sup>1</sup>, EBMs eingesetzt. Ziel war es, komplexe Wasserverschmutzungen zu charakterisieren, effektbasierte Triggerwerte abzuleiten und die Ergebnisse der einzelnen Biotests in einer wasserrahmenrichtlinien-konformen ökotoxikologischen Belastungsklasse auszudrücken.

## 1.5 Ziele und Fragestellung

Hier setzt das vorliegende Projekt an, baut auf den Vorarbeiten des DECIDE-Projekts auf und nutzt effektbasierte Methoden im Gewässermonitoring, um die Auswirkungen von Schadstoffen auf die Gewässerökologie in zwei unterschiedlichen Szenarien zu bewerten. Zudem wird in beiden Szenarien die Gemeinschaft der benthischen Invertebraten erfasst, um den ökotoxikologischen und den ökologischen Bewertungsansatz miteinander abzugleichen.

Im **ersten Szenario** werden effektbasierte Methoden an Gewässerabschnitten eingesetzt, die chemisch bereits „sehr gut“ charakterisiert sind. Die Untersuchungen erfolgen unter verschiedenen Abflussszenarien, sowohl bei Niedrigwasserabfluss unter Trockenwetterbedingungen als auch bei vergleichsweise höheren Abflüssen während Regenwettersituationen. Ziel dieses Ansatzes ist es, die durch den Abfluss bedingte Variabilität der Ergebnisse zu erfassen, zu bewerten und einen Link zur Besiedlung des Gewässers durch benthische Invertebraten herzustellen (Kapitel 3).

Das **zweite Szenario** konzentriert sich auf die Anwendung effektbasierter Methoden an renaturierten Gewässerabschnitten sowie an nahegelegenen, nicht renaturierten Vergleichsabschnitten (Kapitel 4). Hierbei soll überprüft werden, inwiefern eine stoffliche Belastung der Etablierung sensibler Arten in renaturierten Gewässerabschnitten entgegenwirkt und wie bedeutend dieser Aspekt im Multistressor-Gefüge einzelner Renaturierungsmaßnahmen für das Verfehlen des „guten“ ökologischen Zustands ist. Zudem wird untersucht, inwiefern in renaturierten Abschnitten die Toxizität höher ist als in den Vergleichsabschnitten. Diskutiert wird dies im Zusammenhang mit der möglicherweise stattfindenden Mobilisierung schadstoffbelasteter Sedimente bzw. einem höheren Anteil an (toxischen) Feinsedimenten in renaturierten Abschnitten. Inwieweit das an bisher wenigen

---

<sup>1</sup> DECIDE – Entwicklung und Evaluierung eines ökotoxikologischen, wasserrahmenrichtlinienkonformen Bewertungssystems für Fließgewässer. Gefördert durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU). <https://www.dbu.de/projektdatenbank/35663-01/>

Gewässerstellen beobachtete Muster (Brettschneider et al. 2019b) verallgemeinert und auf andere Renaturierungsmaßnahmen übertragen werden kann, ist bislang unklar.

## 1.6 Veröffentlichung der Ergebnisse

Wesentliche Teile dieses Berichts wurden bereits in Form wissenschaftlicher Publikationen veröffentlicht oder befinden sich derzeit im Begutachtungsprozess. Diese Arbeiten sollten als zentrale Referenzen für die dargestellten Ergebnisse herangezogen werden.

Hörchner, S.; Moulinec, A.; Sundermann, A.; Oehlmann, J.; Oetken, M. (2024): Under pressure: assessment of chemical stress on restored river sections using effect-based methods. In: *Restoration Ecology* 32, 7, e14206. <https://doi.org/10.1111/rec.14206>

Hörchner, S.; Forberg, C.; Oetken, M.; Oehlmann, J. (2025): Wastewater treatment plant effluents as an obstacle to the full recovery of restored river sections. In: *Environmental Pollution* (re-submitted)

Hörchner, S.; Moulinec, A.; Ulshöfer, L.; Sundermann, A.; Oehlmann, J.; Oetken, M. (o.J.): Ecotoxicological impacts and macroinvertebrate responses as indicators of river restoration success. (under review)

Moulinec, A.; Arle, J.; Hollert, H.; Hörchner, S.; Johann, S.; Kienle, C.; Oetken, M.; Sundermann, A. (o.J.): Assessing chemical pollution with biomonitoring approaches in streams and rivers: a critical review. (under review)

Moulinec, A.; de Donnová, S.; Bojková, J.; Straka, M.; Sundermann, A. (o.J.): Influence of Hydro-Morphological Quality and Pollution Pressure on Macroinvertebrate Assemblages in Restored Streams. (under review)

## 2 Datengrundlage und Methoden

In beiden oben genannten Szenarien wurden dieselben Methoden angewandt, die im Folgenden erläutert werden sollen.

### 2.1 Effektbasiertes Monitoring

#### 2.1.1 Probenahme

Je Probestelle wurden 2-4 Liter Wasser in Schottflaschen entnommen, unter Kühlung ins Labor gebracht und maximal 24 h in Dunkelheit bei 4° C gelagert. Anschließend wurden die Wasserproben auf OASIS HLB Festphasenkartuschen (6cc, 200 mg, Waters, Milford, MA, USA) 5.000-fach angereichert (Giebner et al. 2018). Nach Trocknung der Kartuschen erfolgte die Elution durch Methyl-tert-butyl-ether und Methanol. Daraufhin wurde Dimethylsulfoxid (DMSO) hinzugefügt und die Eluenten eingedampft. Anschließend wurde das Eluat bis zur Testung in den Bioassays bei -25°C gelagert. Im Falle des chronischen Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum* wurden native Wasserproben verwendet (Tabelle 1).

Zur Erfassung der Sedimenttoxizität wurden an allen Probestellen Sedimente entnommen. Die für die Sedimentanalysen benötigten Proben wurden an mehreren Stellen im Längs- und Querverlauf einer Probestelle genommen (dabei wurden nur maximal die obersten 5 cm des Sediments berücksichtigt) und anschließend zu einer Mischprobe zusammengeführt. Um alle sich in der Sedimentprobe befindenden Lebewesen abzutöten, wurden die Sedimente im Labor bei -23 °C tiefgefroren. Für die Sedimentextrakte wurden je 10 g Sediment gefriergetrocknet (Martin Christ, Osterode), anschließend in 100 mL Braunglasflaschen gefüllt und 40 mL Methanol hinzugegeben. Die Flaschen wurden über 1 h geschüttelt und danach für 10 min im Ultraschallbad behandelt. Die Lösung wurde anschließend zentrifugiert, gefiltert durch einen Glasmikrofaserfilter und das Methanol im Rotationsverdampfer abgezogen. Nach Zugabe von 500 µL DMSO wurden die Proben bis zur Weiterverwendung im Gefrierschrank gelagert (Details in Hörchner et al. 2024). Für die In-vivo-Experimente mit *P. antipodarum* wurde natives Sediment getestet, wobei Aliquots auf 2 mm gesiebt und bis zur Verwendung bei -23 °C im Dunkeln eingefroren wurden.

#### 2.1.2 Angewendete Testverfahren

Mit Blick auf die ökotoxikologische Bewertung der Wasser- und Sedimentproben wurde eine Vielzahl unterschiedlicher Assays eingesetzt, wobei Tabelle 1 dazu einen Überblick gibt.

**Tabelle 1: Übersicht der verwendeten In-vitro- und In-vivo-Testsysteme zum Nachweis ökotoxikologischer Wirkpotentiale**

Art des Testsystems	Testsystem	Effekt/Endpunkt	Spezies/Zelllinie	Art der Probe
In-vitro- Assay	Mikrotox-Assay (Interne SOP)	Basistoxizität (Leuchthemmung)	<i>Aliivibrio fischeri</i>	Extrakt Wasser- und Sedimentproben
In-vitro- Assay	Ames-Fluktuationstest (Interne SOP, in Anlehnung an ISO 11350)	Gentoxizität	<i>Salmonella typhimurium</i>	Extrakt Wasser- und Sedimentproben

Art des Testsystems	Testsystem	Effekt/Endpunkt	Spezies/Zelllinie	Art der Probe
In-vitro- Assay	AREc32 Assay (Interne SOP)	Oxidativer Stress		Extrakt Wasser- und Sedimentproben
In-vitro- Assay	Yeast Estrogen Screen (YES) (Interne SOP)	Estrogenität	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Extrakt Wasser- und Sedimentproben
In-vitro- Assay	Yeast Dioxin Screen (YDS) (Interne SOP)	Dioxin-ähnliche Wirkung	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Extrakt Wasser- und Sedimentproben
In-vivo-Assay	Fisch-Embryo-Akut-Toxizität-Test (FET) (ISO 15088)	Mortalität und Entwicklungstoxizität	<i>Danio rerio</i>	Extrakt Sedimentprobe
In-vivo-Assay	<i>Potamopyrgus antipodarum</i> Reproduktions-Test (OECD 242)	Mortalität/ Reproduktion	<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	Kombinierte Wasser/Sedimentprobe

### 2.1.2.1 Mikrotox-Assay (unspezifische Basistoxizität)

Zur Beurteilung der zyto- bzw. basistoxischen Wirkung der Wasserinhaltsstoffe wurde das Bakterium *Allivibrio fischeri* eingesetzt. Durch toxische Stoffe kann die Intensität der Lumineszenz über zahlreiche Faktoren, z. B. durch Störung des Wachstums sowie Metabolismus des Bakteriums, beeinflusst werden. Als nicht spezifischer Endpunkt wurde die Hemmung der Lumineszenz als standardisiertes EN ISO 11348-Verfahren zur Bewertung der Wasserqualität berücksichtigt, wobei für die Beurteilung der Toxizität ein modifizierter Ansatz nach Escher et al. (2008) herangezogen wurde. Indem der Test in 96-Well-Platten durchgeführt wurde, konnte in einem kurzen Zeitraum mit dem Einsatz von geringen Proben-Volumina eine große Probenanzahl in Verdünnungsreihen getestet werden. Die Auswertung erfolgte mit einem Mikrotiterplattenphotometer (Tecan, Schweiz). Die Basistoxizität von Sedimenten wurde ebenfalls mit Hilfe des Mikrotox-Assays nach ISO 11348-3 ermittelt und für 96-Wellplatten abgewandelt (Völker und Dombrowski 2022). Durch die methanolische Extraktion wurden (Schad-)Stoffe aus dem Sediment herausgelöst und als Extrakte zu den Bakterien *A. fischeri* gegeben. Anschließend sowie nach einer Inkubationszeit von 30 min. wurde jeweils die Lumineszenz gemessen. Proben, die eine Lumineszenzinhibition von mehr als 20% aufwiesen, wurden als (bakterien-)toxisch bezeichnet. Im Zusammenhang mit dem Mikrotox-Assay steht REF für Relative Effect Factor (Relativer Effektfaktor). Der REF wird verwendet, um die Toxizität verschiedener Proben vergleichbar zu machen. Er gibt an, wie stark eine Probe im Vergleich zu einer Referenzprobe oder einem Standardtoxin toxisch ist. Dies hilft, unterschiedliche Proben unabhängig von Konzentration oder Verdünnung zu normieren.

### 2.1.2.2 Ames-Test (gentoxische Wirkung)

Die Gentoxizität der Extrakte wurde anhand des Ames-Fluktuationstests mit Hilfe einer internen SOP (Wagner und Dombrowski 2020) mit dem Bakterium *Salmonella typhimurium* (Stämme YG 1041 und YG 1042) überprüft (Hagiwara et al. 1993). Da bei einigen Stoffen das mutagene Potential erst durch den Metabolismus aktiviert wird, wurden die beiden genannten Stämme sowohl mit als auch ohne S9-Mix getestet. Bei dem S9-Mix handelt es sich um ein Rattenleber-Extrakt, welches den Metabolismus einer Leber simuliert (Shao et al. 2020).

### 2.1.2.3 AREc32-Assay (oxidativer Stress)

Der zellbasierte AREc32-Assay wurde nach Völker und Dombrowski (2017) sowie nach Escher et al. (2012) durchgeführt und eingesetzt, um oxidativen Stress und die Zytotoxizität einer Probe zu bestimmen. Die Messung beruht auf der Induktion der Nrf2-vermittelten oxidativen Stressantwort auf zellulärer Ebene. Die so ausgelöste Transkription und Exprimierung von bestimmten Genen kann über eine Lumineszenzmessung quantitativ bestimmt werden. Weiterhin lässt sich eine mögliche Zytotoxizität von Substanzen ermitteln, indem die Stoffwechselleistung der Stellen nach Zugabe der Probe überprüft wird. Weist die Probe im Vergleich zur Negativkontrolle eine mindestens 1,5-fach (Wasserproben) bzw. 3-fach (Sedimentproben) erhöhte Induktionsrate (IR) auf, wird dies als Effekt gewertet und die Ergebnisse sind als Effektkonzentrationen (ECIR 1,5 bzw. 3) dargestellt.

### 2.1.2.4 Hefereportergerenassays (endokrine Wirkung)

Der Hefereportergerenassay YES (Yeast Estrogen Screen) wurden nach Wagner und Dombrowski (2019) sowie nach Giebner et al. (2018), Brettschneider et al. (2019a) und Abbas et al. (2019) durchgeführt. Dabei wurden die gemessenen Aktivitäten als Äquivalent-Konzentrationen (EQ) ausgedrückt. Die Nachweisgrenze (LOD) wurde aus dem Mittelwert und der dreifachen Standardabweichung der Negativkontrolle ermittelt.

### 2.1.2.5 Hefereportergerenassays (dioxin-ähnliche Wirkung)

Die hergestellten Extrakte wurden auf dioxin-ähnliche Effekte (Yeast Dioxin Screen, YDS) nach Stalter et al. (2011) getestet.

### 2.1.2.6 Fisch-Embryo-Akut-Toxizität

Der Fisch-Embryo-Akut-Toxizitäts Test (FET) basiert auf der toxikologischen Wirkung von Fremdstoffen auf die frühen Entwicklungsphasen von Fischembryonen. Dabei werden befruchtete Eier des Zebrafisch (*Danio rerio*) unter einer Schadstoffexposition über 96 h untersucht. Während der Embryonalentwicklung werden mögliche letale Effekte, wie die Koagulation des befruchteten Eis, das Fehlen der Somitenanlage, ein fehlender Herzschlag und die fehlende Ablösung des Schwanzes vom Dottersack nach 96 h, sowie subletale Effekte wie beispielsweise Ödeme oder das Fehlen der Augenanlage dokumentiert. Die Durchführung des FET erfolgte in Anlehnung an die ISO 15088 und wurde für die Testung von Sedimentextrakten auf 96-well Platten angepasst.

### 2.1.2.7 Toxizitätstest mit *Potamopyrgus antipodarum*

Das 28-tägige Laborexperiment (LE) wurde ebenfalls nach Brettschneider et al. (2019a) und in Anlehnung an die OECD Guideline 242 (OECD 2016) durchgeführt, wobei sechs Replikate pro Probestelle eingesetzt wurden. Dazu wurden jeweils 500 mL Gläser mit jeweils 400 mL Wasser und 40 g Sediment der Probestellen befüllt, pro Glas 10 *P. antipodarum* eingesetzt und belüftet. Einmal wöchentlich wurde das Wasser in diesen Standsystemen durch neue Wasserproben aus dem Freiland ersetzt. Die Tiere wurden dreimal pro Woche mit 70 µg/Tier/Tag gefüttert (TetraPhyll®, Tetra GmbH, Melle). Nach 28 Tagen wurden die Mortalität sowie die Reproduktion erfasst.

## 2.1.3 Ableitung von Klassengrenzen

Das Hauptziel im Forschungsprojekt DECIDE war die Entwicklung einer Bewertungsmethode zur Erfassung des ökotoxikologischen Zustandes von Gewässern. Um eine bessere Akzeptanz bei potentiellen Anwendern zu erreichen, sollte diese Bewertung in Anlehnung an bereits existierende Bewertungsverfahren der Wasserrahmenrichtlinie erfolgen. In DECIDE wurden

neben einer unspezifischen Toxizität verschiedene spezifische (endokrine, dioxinähnliche, gentoxische, neurotoxische und phytotoxische) Wirkungen In-vivo und In-vitro erfasst und anschließend in ein 5-stufiges Bewertungsschema überführt. Mit Blick auf die In-vivo-Tests mit der Art *P. antipodarum* orientierten sich die Klassengrenzen an der Arbeit von Brettschneider et al. (2019a) und Hof et al. (2023). Bei der Bewertung von In-vitro-Tests wurde sich, soweit möglich, an bereits existierenden Richtwerten orientiert. Dies war aktuell jedoch nur für den YES-Assay möglich, für dessen verwendete Referenzsubstanz ein Vorschlag für eine Umweltqualitätsnorm (UQN) von 0,4 ng/l 17- $\beta$ -Estradiol bereits existiert. Für alle anderen Fälle schlagen Brettschneider et al. (2019a) die Verwendung eines iterativen Verfahrens zur Ableitung von Klassengrenzen vor. In dem Zusammenhang wurde für jedes In-vitro-Verfahren eine Datenbank erstellt, in die die jeweiligen Ergebnisse verschiedener Projekte der letzten Jahre der Arbeitsgruppe Aquatische Ökotoxikologie (Goethe Universität) eingetragen wurden. Eingegangen sind dabei Daten aus nationalen und internationalen Projekten, wobei ein Gesamtdatensatz entstanden ist, welcher sowohl belastete, als auch unbelastete Probestellen umfasst (Details in Oetken et al. 2025). Die Berechnung von Normalwerten erfolgte nach Erhardt et al. (1996). Diese iterative Methode zur Bestimmung der Klassengrenzen wurde bereits behördlich für die Bewertung von Schwermetallbelastungen in der Umwelt eingesetzt wird (Weiss 1999; Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg, LUBW 2005; Schröder et al. 2010). Hierzu wurde der Mittelwert (MW) einer Messreihe berechnet und dessen 1,96-fache Standardabweichung addiert (SD). Alle Werte der Messreihe, die über diesem errechneten Wert liegen, wurden aus dem Datensatz gelöscht und die verbliebenen Werte bildeten die neue Berechnungsgrundlage. Dieses Verfahren wurde schrittweise wiederholt, bis keiner der Werte mehr diesen Grenzwert überschritt. Das Ergebnis bildet eine von Extremwerten bereinigte Messwertgruppe, deren Mittelwert den Normalwert (NW) angibt. Mittels des NW und dessen SD konnten nun Klassengrenzen definiert werden (Abbildung 2).

**Abbildung 2: Definition der Zustandsklassen für In-vitro-Testungen, basierend auf dem Normalwert (NW) und der Standardabweichung (SD) einer Messreihe**

Zustandsklasse	Klassengrenzen
Sehr gut	$x < \text{NW} - \text{SD}$
Gut	$\text{NW} - \text{SD} < x < \text{NW} + \text{SD}$
Mäßig	$\text{NW} + \text{SD} < x < \text{NW} + 3\text{SD}$
Unbefriedigend	$\text{NW} + 3\text{SD} < x < \text{NW} + 6\text{SD}$
Schlecht	$\text{NW} + 6\text{SD} < x$

NW: Normalwert; SD: Standardabweichung

Quelle: Oetken et al. (2025) und Hof et al. (o.J.)

Die Klassengrenzen für den YES-Assay für Wasserproben basieren auf der vorgeschlagenen UQN von 0,4 ng/l 17- $\beta$ -Estradiol. Dabei stellt die UQN die Grenze zwischen einem „guten“ (Klasse 2) und „mäßigen“ (Klasse 3) Zustand dar. Klasse 1 ist als  $\frac{1}{2}$  UQN definiert, ab Überschreitung der doppelten UQN wird die Klasse 4 und ab einer dreifachen Überschreitung die Klasse 5 vergeben.

**Abbildung 3: Zustandsklassen für In-vitro-Testungen von Wasser- und Sedimentproben**

Zustandsklasse	Wasserproben			Sedimentproben		
	Mikrotox [REF]	YES E-EQ [ng/l]	YDS βNF-EQ [µg/l]	Mikrotox [mg-SEQ]	YES E-EQ [ng/g]	YDS βNF-EQ [µg/g]
Sehr gut	> 187	< 0,2	< 0,03	> 187	< 0,2	< 0,1
Gut	115 - 187	0,2 - 0,4	0,03 - 0,14	125 - 187	0,2 - 0,6	0,1 - 0,4
Mäßig	77 - 115	0,4 - 0,8	0,14 - 0,25	84 - 125	0,6 - 1,0	0,4 - 0,7
Unbefriedigend	38 - 77	0,8 - 1,2	0,25 - 0,41	42 - 84	1,0 - 1,5	0,7 - 1,2
Schlecht	< 38	> 1,2	> 0,41	< 42	> 1,5	> 1,2
NTL / LOD	300	0,133	0,03	200	0,22	0,11

Berechnet wurden Zustandsklassen für die Assays Mikrotox, Yeast estrogen (YES) und Yeast dioxin (YDS). Für die entsprechenden Test sind jeweils das nicht-toxische Limit (NTL) sowie die durchschnittliche Nachweisgrenze (LOD) angegeben. mg-SEQ = mg-Sedimentäquivalent.

Quelle: verändert nach Oetken et al. (2025) und Hof et al. (o.J.)

Im Forschungsprojekt DECIDE wurden nach Anwendung des iterativen Verfahrens nach Erhardt et al. (1996) folgende Klassengrenzen für die Testsysteme YES, YDS und den Mikrotox-Assay festgelegt. Eine Übersicht dazu gibt Abbildung 3. Die Einteilung der Mutagenität (Ames-Assay) einer Probe erfolgt nur zweistufig in „gut“ (Klasse 2) oder „schlecht“ (Klasse 5).

#### 2.1.4 Einsatz von Makrophyten zur Detektion phytotoxischer Effekte

Neben den in Tabelle 1 beschriebenen Testverfahren wurden zudem Makrophyten (*Myriophyllum spicatum* und *Lemna* sp.) im effektbasierten Monitoring eingesetzt. Diese können eine wertvolle Ergänzung zu klassischen Testsystemen wie Mikrotox, Ames, AREc32, YDS, YES, FET und dem Reproduktionstest mit *P. antipodarum* darstellen. Während die genannten etablierten Tests spezifische biologische Endpunkte abdecken - wie genotoxische Effekte (Ames), oxidativen Stress (AREc32), hormonelle Wirkungen (YES, YDS), akute Toxizität (Mikrotox, FET) oder Auswirkungen auf die Fortpflanzung (*Potamopyrgus*-Reproduktionstest) - bieten Makrophyten eine zusätzliche Perspektive, wobei sie jedoch auch nicht in der Lage sind, einzelne Schadstoffgruppen zuverlässig zu indizieren.

Obwohl die Makrophyten-Tests über einen vergleichsweise kurzen Zeitraum von sieben Tagen durchgeführt werden, ermöglichen sie die Erfassung subletaler und akkumulativer Effekte auf die Produzenten in einem Ökosystem, insbesondere von Substanzen, die in aquatischen Systemen über längere Zeiträume wirksam sind. Dazu gehören insbesondere photosynthesehemmende Schadstoffe wie Herbizide (z. B. Atrazin, Diuron, Terbutylazin), die in klassischen Zell- oder Tiermodellen nicht spezifisch erfasst werden, jedoch durch Veränderungen im Chlorophyllgehalt, der Photosystem-II-Aktivität und der Wachstumsrate der Makrophyten nachweisbar sind. Ebenso können Metalle wie Kupfer, Zink, Cadmium oder Quecksilber über das Wurzelsystem der Pflanzen aufgenommen werden, wobei ihre toxische Wirkung zu gestörtem Wachstum, oxidativem Stress und Veränderungen in der Pigmentzusammensetzung führen kann – Effekte, die in den meisten klassischen Zell- und Bakterientests nicht adäquat erfasst werden. Darüber hinaus sind Makrophyten in der Lage, persistente organische Schadstoffe wie PAKs, polychlorierte Biphenyle (PCB) oder PFAS aufzunehmen und zu akkumulieren. Da diese Stoffe langfristig toxische Wirkungen entfalten können, sind sie in Kurzzeittests mit Bakterien oder Fischembryonen möglicherweise nicht sichtbar. Ein weiterer relevanter Schadstofftyp sind oxidativen Stress-auslösende Substanzen wie bestimmte Pestizide, Schwermetalle oder Industriechemikalien, die in *Lemna*- und *Myriophyllum*-Tests durch Veränderungen in enzymatischen Abwehrmechanismen,

Biomasseproduktion oder Pigmentgehalt nachgewiesen werden können, während sie in Zelllinien wie AREc32 nur auf molekularer Ebene erfasst werden.

Für die Tests mit Makrophyten musste allerdings aus technischen Gründen anstelle von nativen Wasserproben auf Extrakte zurückgegriffen werden. Dies führte dazu, dass insgesamt eine geringere Wassermenge für die Versuche zur Verfügung stand. Aus diesem Grund mussten die Laborversuche entsprechend angepasst und in miniaturisierter Form durchgeführt werden. Auch das Monitoring im Freiland erforderte eine methodische Anpassung oder Neuentwicklung. Im Freiland wurden Körbe oder Röhren mit den Makrophyten im Gewässer ausgebracht. Um eine geeignete Referenz für die Belastung der Pflanzen mit Schadstoffen zu schaffen, wurden ein Teil der Körbe oder Röhren mit einem Mantel aus Aktivkohle ausgestattet, der Schadstoffe aus dem Wasser herausfilterte. Dadurch konnten die Schadstoffe nur auf die Pflanzen in den nicht mit Aktivkohle ausgestatteten Körben wirken, während die Pflanzen in den Aktivkohlekörben als Referenz für unbelastete Bedingungen dienten. Diese Vorgehensweise ermöglichte eine gezielte Unterscheidung zwischen chemisch beeinflussten und unbelasteten Effekten, wodurch der Einfluss von Schadstoffen auf die Makrophyten klarer erfasst werden konnte.

Die Anpassung der Methoden zur Durchführung der Makrophyten-Tests sowohl im Labor als auch im Freiland hatte einen **innovativen Charakter**. Die Entwicklung der miniaturisierten Laborversuche sowie der Freiland-Expositionsmethode mit Aktivkohle-Kontrollen stellt eine Erweiterung bestehender Monitoringansätze dar. Da diese methodischen Anpassungen jedoch neuartig sind, müssen die erzielten **Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert** werden. Aus diesem Grund sind **sämtliche Ergebnisse** zu den Untersuchungen mit Makrophyten im **Anhang A dieses Berichts** zu finden, sodass sie im Kontext der methodischen Anpassungen betrachtet und entsprechend eingeordnet werden können.

## 2.2 Bewertung des ökologischen Zustands für die Qualitätskomponente Makrozoobenthos

Zur Erfassung des Makrozoobenthos wurde auf die bundesweite Standardmethode zurückgegriffen. Die Methode sieht vor, die Habitate proportional zu ihrem Vorkommen an der Probestelle (100 m Abschnitt) zu beproben (Multi-Habitat-Sampling). Hierzu wurden zunächst alle Habitate in 5 %-Stufen kartiert. Jedes 5 %-Habitat entsprach einer Teilprobe; insgesamt besteht die Gesamtprobe aus 20 Teilproben, die gemeinsam ausgewertet wurden. Die Größe einer Teilprobe umfasste eine Fläche von 0,25 x 0,25 m. Die Gesamtfläche aller 20 Teilproben beträgt daher 1,25 m<sup>2</sup>. Die Probenahme erfolgte im Wesentlichen nach der Methode des Kicksampling. Mit Hilfe einer Schwemntechnik wurde die mineralische Fraktion abgetrennt und noch im Gelände verworfen. Das verbliebene Probenmaterial wurde konserviert und zur weiteren Bearbeitung ins Labor gebracht. Im Labor wurde aus der organischen Fraktion (inkl. der Organismen) eine Grobfraktion ( $\geq 2$  mm) abgetrennt. Aus einer Unterprobe der Grobfraktion wurden sämtliche Organismen nach taxonomischen Einheiten getrennt ausgelesen, wobei der Umfang der Unterprobe mindestens 1/6 der Gesamtprobe und mindestens 400 Individuen entsprach. Weitere Details zur Probenahme und -bearbeitung finden sich bei Meier et al. (2006). Die Bestimmung der Organismen richtete sich nach den Kriterien der Operationellen Taxaliste (Haase et al. 2006). Zur weiteren Auswertung wurden die Individuenzahlen der ausgelesenen und bestimmten Taxa der Unterprobe auf die Gesamtprobe hochgerechnet. Die Berechnung des ökologischen Zustands und weiterer Indizes aus der Gesamtprobe erfolgte unter Zugrundelegung der Fassung des Online-Tools Perlodes Version 5.0.8 ([Link Homepage Gewässer-Bewertung-Berechnung](#)).

## 2.3 Gewässerstrukturgütekartierung

An den Untersuchungsstellen wurden gewässerstrukturelle Aufnahmen durchgeführt. Die Aufnahme und Bewertung der Gewässerstrukturgüte erfolgte nach der Kartieranleitung des Landesamtes für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen für die kleinen bis großen Fließgewässer (Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen - LANUV NRW 2018). Die Bewertungsergebnisse basieren dabei ausschließlich auf den indexgestützten Berechnungen.

## 2.4 Chemische Analytik

Für das Szenario 1 wurden Wasserproben bei Trocken- und bei Regenwetter analysiert. Dies erfolgte im Rahmen des Forschungsprojektes „Einträge von Bioziden in Gewässer über Mischwasserentlastungen und Regenwassereinleitungen und die Auswirkungen auf die Gewässerqualität am Beispiel der Stadt Karlsruhe“ (Kopp et al. 2025) sowie im Rahmen des forschungsprojektes „Weiterentwicklung der deutschlandweiten Bilanzierung der Einträge von Spurenstoffen und Bewertung von Reduzierungsmaßnahmen“ (FKZ 3719 21 202 0). In den genannten Projekten kamen Feststoffsammler zur Erzeugung homogenisierter (Ereignis-) Mischproben zum Einsatz. Die Proben wurden auf auf 100 Einzelsubstanzen untersucht. Basierend auf den Messwerten wurden Toxic Units berechnet. Das Konzept der Toxic Units (TU) setzt die Umweltkonzentration einer Substanz  $i$  in Relation zur  $LC_{50}$ - oder  $EC_{50}$ -Werten für möglichst sensitive Spezies. Für Invertebraten wird dabei üblicherweise die Immobilisation von Daphnien im Akuttest als Referenzwert verwendet. Der  $EC_{50}$  bezeichnet die mittlere effektive Konzentration, bei der 50 % der Testorganismen innerhalb eines definierten Zeitraums eine andere spezifische Wirkung als den Tod zeigen (Neubig et al. 2003). Für die untersuchten Wasserproben wurden die TU-Werte für jede Substanz auf Basis des  $LC_{50}$  für Crustacea berechnet (Kramer et al. 2024). Falls möglich, wurde das geometrische Mittel experimenteller Toxizitätsdaten verwendet, da es weniger anfällig für Ausreißer ist. Allerdings kann diese Methode dazu führen, dass besonders empfindliche Organismen nicht ausreichend berücksichtigt werden. In Fällen, in denen keine experimentellen Daten vorlagen, wurden modellierte  $LC_{50}$ -Werte herangezogen, die jedoch mit Unsicherheiten behaftet sein können. Für einige Substanzen waren keinerlei  $LC_{50}$ -Daten verfügbar. Für jede Wasserprobe wurde die Summe der TU-Werte aller enthaltenen Substanzen berechnet. TU-Werte werden logarithmisch ausgedrückt: Ein TU-Wert von 0 entspricht einer Konzentration, die genau dem  $LC_{50}$ -Wert entspricht. Eine Übersicht der verwendeten  $LC_{50}$ -Werte ist im Anhang in der Übersichtstabelle des chemischen Monitorings (Anhang B.1) zu finden. Zudem wurde auf der Basis der chemischen Daten eine Hauptkomponentenanalyse in R Version 4.3.1. (R Core Team 2021) mit dem Programmpaket FactoMineR (Lê et al. 2008) durchgeführt.

Für das Szenario 2 wurden Sedimente auf PAKs getestet. Dies von der Firma Chemlab in Bensheim durchgeführt. Die dabei verwendeten Analysemethoden und die gemessenen chemischen Werte befinden sich in Tabelle B.2 im Anhang.

## 3 Abflussabhängige Toxizitätsdynamik und deren ökologische Relevanz

### 3.1 Hintergrund

#### 3.1.1 Gewässer in urbanen Gebieten

Gewässerbelastung in urbanen Gebieten entsteht durch die vielfältigen menschlichen Aktivitäten, die zur Einleitung von Schadstoffen in Bäche und Flüsse führen. Urbane Gebiete sind geprägt durch eine hohe Bevölkerungsdichte, intensiven Verkehr, industrielle Aktivitäten und eine starke Flächenversiegelung, was die natürlichen Reinigungsprozesse von Oberflächenwasser beeinträchtigt. Zu den Hauptursachen der Gewässerbelastung gehören die Einträge aus der Kanalisation (Misch- und Trennsysteme), industriellen Abwässern, Oberflächenabflüssen (z. B. von Straßen und Parkplätzen) und diffusen Quellen wie atmosphärischen Depositionen.

Eine wesentliche Herausforderung in urbanen Gebieten stellt der sogenannte Oberflächenabfluss (urban runoff) dar. Regenereignisse führen dazu, dass Wasser über versiegelte Flächen abfließt und dabei Schadstoffe wie Schwermetalle, Öl, Mikroplastik, Pestizide und Nährstoffe (Stickstoff, Phosphor) in die Gewässer transportiert (Mutzner et al. 2022). Zudem enthalten Abflüsse aus urbanen Gebieten häufig organische Schadstoffe wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) oder endokrine Disruptoren, die sich negativ auf aquatische Ökosysteme auswirken können. Zudem können Nährstoffe eingetragen werden, die eine Eutrophierung begünstigen und zu Sauerstoffmangel in Gewässern führen können, was die Lebensbedingungen für viele Organismen verschlechtert.

Die Gewässerbelastung hat nicht nur Auswirkungen auf die chemische Wasserqualität, sondern auch auf die biologische Vielfalt und die ökologischen Prozesse im Wasser. Pflanzen, Fische und Wirbellose reagieren empfindlich auf veränderte physikalische und chemische Parameter wie den pH-Wert, die Sauerstoffkonzentration und den Schadstoffgehalt. Zur Überwachung und Bewertung des ökologischen Zustands von Gewässern in urbanen Gebieten sind daher sowohl chemische als auch EBMs erforderlich, um die Auswirkungen von Mehrfachbelastungen adäquat erfassen zu können.

#### 3.1.2 Stoßbelastung bei Regenwetterereignissen

Unter einer Stoßbelastung versteht man den plötzlichen und kurzzeitigen Eintrag von Schadstoffen in Gewässer infolge bestimmter Ereignisse. In urbanen Gebieten treten Stoßbelastungen häufig während Regenwetterereignissen auf, da starke Niederschläge das Kanalsystem überlasten und große Mengen belasteten Oberflächenwassers unkontrolliert in die Gewässer eingeleitet werden (Walsh et al. 2005; Olds et al. 2018; Dittmer et al. 2020). Dies ist insbesondere bei sogenannten Mischwassersystemen ein Problem, bei denen Regenwasser und Abwasser in einem gemeinsamen Kanalnetz gesammelt und abgeleitet werden. Wenn die Kapazität des Kanalnetzes überschritten wird, kommt es zu Entlastungen durch Mischwasserüberläufe (Combined Sewer Overflows, CSOs), bei denen ungereinigtes oder nur teilweise behandeltes Abwasser in die Gewässer gelangt (Dittmer et al. 2020).

Während eines solchen Ereignisses können die Schadstoffkonzentrationen in Gewässern kurzzeitig stark ansteigen. Ein weiteres Problem bei Stoßbelastungen ist die plötzliche Änderung der chemisch-physikalischen Parameter im Gewässer, wie z. B. der Temperatur und des pH-Wertes. Diese Veränderungen können Stress für die aquatische Flora und Fauna

bedeuten und in Kombination mit den Schadstoffeinträgen eine unmittelbare Gefahr für das ökologische Gleichgewicht darstellen. Besonders betroffen sind kleine bis mittelgroße Gewässer mit geringer Strömungsgeschwindigkeit, da die Verdünnungseffekte geringer sind und Schadstoffe länger im System verweilen.

Aus wissenschaftlicher Sicht ist die Untersuchung von Stoßbelastungen komplex, da die Ereignisse nur schwer vorhersagbar sind und Schadstoffe in sehr kurzen Zeiträumen in hohen Konzentrationen auftreten (Dittmer et al. 2020). Ein effizientes Überwachungs- und Managementsystem erfordert daher die Kombination von kontinuierlicher Überwachung und ereignisgesteuerten Messungen, um die Dynamik dieser Belastungen zu erfassen. Darüber hinaus sind Maßnahmen zur Regenwasserbewirtschaftung (z. B. Regenrückhaltebecken, Versickerungsanlagen und Gründächer) sowie die Umstellung auf Trennsysteme in der Kanalisation wichtige Strategien, um die Auswirkungen von Stoßbelastungen zu minimieren und die Qualität der urbanen Gewässer langfristig zu verbessern.

### **3.1.3 Modelgewässer der Alb in Karlsruhe und Zielsetzung**

Vor dem geschilderten Hintergrund wurde in den vergangenen Jahren ein umfangreiches gewässerchemisches Monitoring-Programm in der Alb im Stadtgebiet Karlsruhe durchgeführt. Dies erfolgte im Rahmen des Forschungsprojektes „Einträge von Bioziden in Gewässer über Mischwasserentlastungen und Regenwassereinleitungen und die Auswirkungen auf die Gewässerqualität am Beispiel der Stadt Karlsruhe“ (Kopp et al. 2025). Dabei wurden mehrere Messstandorte an der Alb und an Einleitern ausgewählt, um Eintragspfade wie Kläranlagen, Mischwasserüberläufe und Regenwasserabflüsse zu untersuchen. Die Probenahme erfolgte über einen Zeitraum von zwei Jahren (2021–2023).

### **3.1.4 Ziele**

Vor diesem Hintergrund sollten effektbasierte Methoden eingesetzt werden, um den chemischen Zustand der Alb in Karlsruhe – einem gewässerchemisch gut charakterisierten Fließgewässer – mit dem ökotoxikologischen und ökologischen Zustand in Beziehung zu setzen. Dabei galt es insbesondere zwei zentrale Aspekte zu beleuchten:

- ▶ **Abgleich von chemischer und ökotoxikologischer Bewertung:** Durch die Anwendung effektbasierter Methoden sollte überprüft werden, inwieweit der analytisch bestimmte chemische Zustand mit der tatsächlichen ökotoxikologischen Belastung und den beobachteten biologischen Effekten korreliert. Dies ermöglicht eine umfassendere Bewertung potenzieller Risiken für aquatische Organismen und trägt zur Identifikation von Stoffgemischen oder unbekanntem Schadstoffen bei, die durch klassische chemische Analysen möglicherweise nicht erfasst werden.
- ▶ **Einfluss episodischer Stoßbelastungen auf die Ökotoxikologie:** Ein weiteres zentrales Augenmerk lag auf der Variabilität der ökotoxikologischen Ergebnisse zwischen Trocken- und Regenwetterproben. Diese Differenzierung erlaubt eine gezielte Bewertung der Auswirkungen episodischer Stoßbelastungen, wie sie beispielsweise durch Regenereignisse und damit verbundene Oberflächenabflüsse verursacht werden. Dadurch kann abgeschätzt werden, in welchem Maße temporäre Schadstoffeinträge die toxikologische Belastung des Gewässers beeinflussen und welche Relevanz dies für die ökologische Bewertung hat.

Diese beiden Aspekte sind essenziell für ein umfassendes Verständnis der Gewässerbelastung, da sie sowohl die chemische Analytik mit biologischen Endpunkten verknüpfen als auch die Bedeutung dynamischer Belastungsmuster für die aquatische Ökotoxikologie hervorheben.

## 3.2 Untersuchungsgebiet

Das Untersuchungsgebiet der Alb wird ausführlich in Janssen (2023) beschrieben. Wesentliche Teile aus dieser Arbeit sind im Folgenden wiedergegeben. Die Alb ist ein Fließgewässer mit einer Länge von 51 km und entspringt im nördlichen Schwarzwald in der Nähe von Bad Herrenalb, Deutschland. Beim Übergang in die Oberrheinebene und das Stadtgebiet von Karlsruhe erfährt der Fluss signifikante morphologische Veränderungen. In diesem Bereich ist der Fluss über weite Strecken als „deutlich verändert“ klassifiziert (Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg, LUBW 2022) und weist einen ökologischen Zustand von „mäßiger“ bis „unbefriedigender“ Qualität auf (Umweltministerium Baden-Württemberg, UM-BW 2021). Die Gewässerumgebung in diesem Abschnitt ist vorwiegend durch urbane Gebiete geprägt, die nur vereinzelt landwirtschaftlich genutzte Flächen umfassen (UM-BW 2021). Innerhalb von Karlsruhe wird eine Kombination aus Misch- und Trennkanalisation angewendet (Tiefbauamt Karlsruhe 2010).

Ein Gutachten aus dem Jahr 2019 dokumentiert eine signifikante Verschlechterung der ökologischen Gewässergüte ab dem Eintritt des Flusses in das Stadtgebiet Karlsruhe (Roos und Stieber 2020). Im Rahmen der EU-Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) wurden in diesem Bereich der Alb 20 Gewässerabschnitte untersucht. Dabei wurden das Makrozoobenthos sowie die beiden Teilkomponenten Makrophyten und Diatomeen der Qualitätskomponente Makrophyten und Phytobenthos berücksichtigt, um die ökologischen Zustandsklassen zu bestimmen. Die Ergebnisse zeigten neben strukturellen Defiziten insbesondere auch die Einträge von Stoffen aus urbanen und landwirtschaftlichen Quellen als mögliche Ursachen der Verschlechterung. Der chemische Zustand der Alb wird weiterhin als „nicht gut“ eingestuft, wobei Quecksilber, Fluoranthren, Benzo(a)pyren und die Summe der pentabromierten Diphenylether die festgelegten Umweltqualitätsnormen (UQN) überschreiten (UM-BW 2021).

Die Untersuchung der Alb erfolgte in Kooperation mit dem Karlsruher Institut für Technologie (KIT), welches in einem eigenen Projekt die Spurenstoffeinträge aus Misch- und Regenwassereinleitungen quantifiziert und modelliert hat. Dabei wurden bereits bestehende Feststoffsammler an verschiedenen Standorten entlang des Flusses eingesetzt.

Insgesamt wurden neun Standorte untersucht (Abbildung 4). Standorte 1 bis 6 liegen im Gewässer der Alb. Standorte 7 bis 9 liegen in Einleitern, die nur nach Niederschlagsereignissen Wasser führen. Die Standorte sollen im Folgenden kurz skizziert werden.

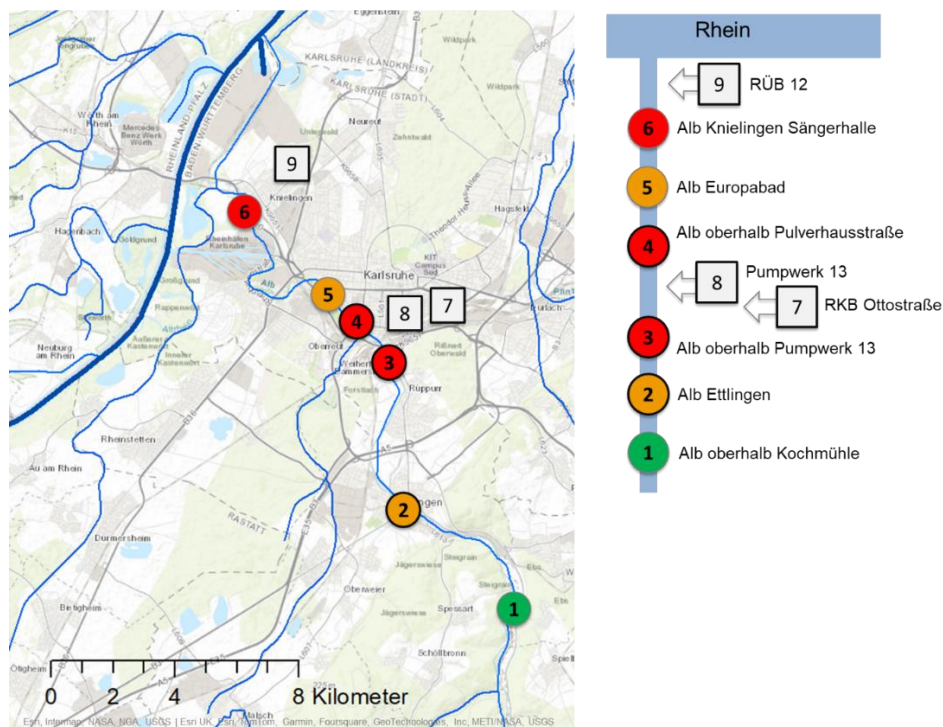
- ▶ **Standort 1** Alb oberhalb Kochmühle: Zur Bewertung des Einflusses urbaner Abflüsse auf die Wasser- und Gewässerqualität wurde ein Referenzstandort an der Alb deutlich vor dem Stadtgebiet Karlsruhe, oberhalb der Kochmühle genutzt.
- ▶ **Standort 2** Alb Ettlingen: An dieser Probestelle hat die Alb den großstädtischen Raum noch nicht durchflossen, unterliegt jedoch bereits dem städtischen Einfluss.
- ▶ **Standort 3** Alb oberhalb Pumpwerk 13: Dieser Standort liegt direkt vor der Einleitung aus dem Pumpwerk 13.
- ▶ **Standort 4** Alb oberhalb Pulverhausstraße: An der Katzenbrücke (Bulacher Straße) wurde ein weiterer Messpunkt eingerichtet, der oberhalb des Zuflusses des Malscher Landgrabens und der Regenwassereinleitung Pulverhausstraße, allerdings unterhalb des Zuflusses des Erlengrabens liegt.
- ▶ **Standort 5** Alb Europabad: An der Südtangente gelegen, unterhalb der L605.

- **Standort 6** Alb Knielingen: Dieser, an der Sängershalle gelegene, Standort liegt am weitesten flussabwärts und integriert dabei die vielfältigen Belastungsfaktoren aus dem Stadtgebiet.

Die folgenden Abschnitte 7 bis 9 führen nur bei Niederschlag Wasser und wurden daher lediglich bei Regenereignissen beprobt.

- **Standort 7** Regenklärbecken (RKB) Ottostraße (Trennsystem): Das RKB Ottostraße sammelt Regenwasser aus einem 49 ha großen, teils industriellen Einzugsgebiet.
- **Standort 8** Pumpwerk 13 (gemischte Herkunftsbereiche): Das Pumpwerk 13 nördlich von Weiherfeld-Dammerstock leitet Wasser aus verschiedenen Quellen ein, darunter das RKB Ottostraße. Es enthält zwei Becken, von denen eines abhängig von Niederschlag überläuft. Proben wurden aus dem gemeinsamen Ablauf entnommen.
- **Standort 9** Regenüberlaufbecken (RÜB) 12 (Mischsystem): Das RÜB 12 auf dem Gelände des Klärwerks Karlsruhe behandelt einen Großteil des Mischwassers der Stadt. Hier wurden Proben entnommen, um rund 85 % der über RÜBs entlasteten Wassermenge in die Alb zu erfassen.

**Abbildung 4: Lage der Probestellen an der Alb bei Karlsruhe**



An den Probestellen 1 bis 6 wurde die benthischen Invertebraten aufgenommen und der ökologische Zustand berechnet. Die Farben repräsentieren das Ergebnis der ökologischen Zustandsklasse nach WRRL. An den Probestellen 2 bis 4 und 7 bis 9 wurden gewässerchemische Aufnahmen gemacht (Kopp et al. 2025). RÜB: Regenüberlaufbecken; RKB: Regenklärbecken  
Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität unter Verwendung von OpenStreetMap-Shapefiles (Geofabrik GmbH & OpenStreetMap Contributors 2018: <https://download.geofabrik.de/europe/germany.html>) und ESRI-Grundkarten (Esri, Airbus DS, USGS, NGA, NASA, CGIAR, N Robinson, NCEAS, NLS, OS, NMA, Geodatastyrelsen, Rijkswaterstaat, GSA, Geoland, FEMA, Intermap, TomTom, Garmin, FAO, NOAA, USGS, © OpenStreetMap contributors, and the GIS User Community).

### 3.3 Untersuchungsprogramm

An allen Standorten an der Alb (1 bis 6) wurde das Makrozoobenthos mit einer einmaligen Aufnahme beprobt (Tabelle 2) und die ökologische Zustandsklasse ermittelt. Zeitgleich wurden an diesen Stellen die Sedimente im Gewässer beprobt (zur Methodik siehe Kapitel 2.1.1).

Zudem wurden Wasserproben bei Trocken- und Regenwetter an den Standorten 1 bis 6 und zusätzlich bei Regenwetter an den Standorten 7 bis 9 entnommen. Der Zeitraum der Probenahmen war hierbei gekoppelt an die Untersuchungstermine im Forschungsprojekt des KIT (Kopp et al. 2025). In dem genannten Forschungsprojekt wurden an den Standorten 2 bis 4 und 7 bis 9 Sammelmischproben genommen (siehe fett markierte Probenahmeterminale in Tabelle 2) und auf Spurenstoffe getestet. Es wurden 108 Stoffe gemessen, diese umfassten die folgenden Gruppen: Metalle, Körperpflege- und Haushaltschemikalien, Pestizide, Per- und polyfluorierte Chemikalien, Pharmazeutika sowie eine radioaktive Substanz. Von den 108 Stoffen wurden rund 60 % nachgewiesen (Anhang B.1). Diese Daten wurden genutzt, um für die einzelnen Standorte und Probenahmeterminale die Toxic Unit zu berechnen (vgl. Kapitel 2.4).

**Tabelle 2: Untersuchungsprogramm und Termine der Probenahmen an der Alb**

Nr.	Standort	Makrozoobenthos	EBM: Sedimente	EBM: Wasser
1	Alb oberhalb Kochmühle	02.07.2021	02.07.2021	TW: 12.08.2022, RW: 22.02.2022
2	Alb Ettlingen	01.07.2021	01.07.2021	<b>TW: 12.08.2022, RW: 14.03.2023</b>
3	Alb oberhalb Pumpwerk 13	01.07.2021	01.07.2021	<b>TW: 12.08.2022, RW: 14.03.2023</b>
4	Alb oberhalb Pulverhausstraße	02.07.2021	02.07.2021	<b>TW: 12.08.2022, RW: 14.03.2023</b>
5	Alb Europabad	01.07.2021	01.07.2021	TW: 12.08.2022, RW: 22.02.2022
6	Alb Knielingen Sängerkirche	02.07.2021	02.07.2021	TW: 12.08.2022, RW: 22.02.2022
7	Regenklärbecken Ottostraße	-	-	<b>RW: 11.04.2022</b>
8	Pumpwerk 13	-	-	<b>RW: 11.04.2022</b>
9	Regenüberlaufbecken 12	-	-	<b>RW: 22.02.2022</b>

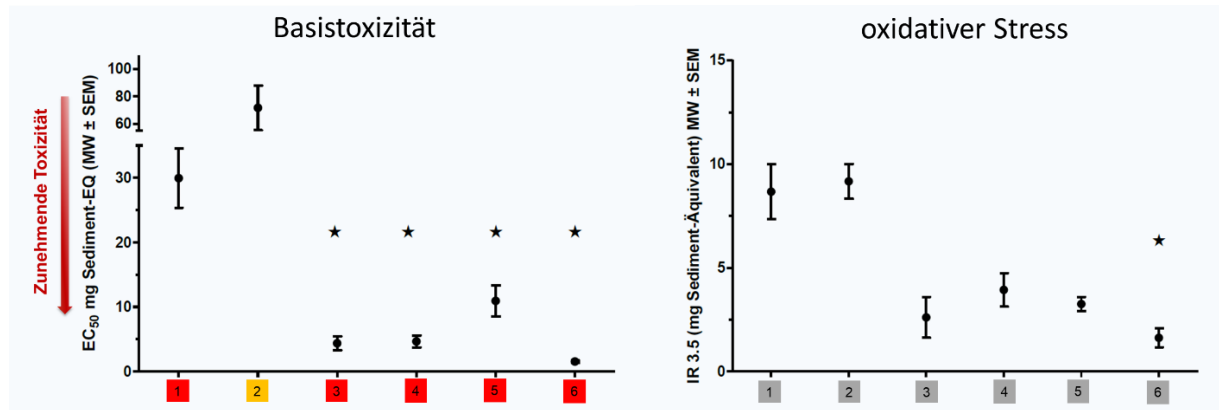
TW: Trockenwetter, RW: Regenwetter. Fett markiert sind Probenahmen, zu denen auf Daten zur Spurenstoffanalytik zurückgegriffen werden konnte.

### 3.4 Ergebnisse

#### 3.4.1 Sedimente

An allen sechs Standorten der Alb war die **Basistoxizität** deutlich erhöht (Abbildung 5, rechts). Dies war selbst am Standort 1 der Fall, der als vermeintlich wenig belasteter Referenz-Standort dienen sollte. Werden die Ergebnisse in die ökotoxikologische Zustandsklasse überführt (siehe Kapitel 2.1.3), erreicht lediglich Standort 2 die „unbefriedigende“ Zustandsklasse, alle anderen werden als „schlecht“ bewertet. Der **oxidative Stress** ist an Probestelle 1 und 2 im Vergleich zu den übrigen Standorten am geringsten. Probestellen 3 und 6 hingegen sind am auffälligsten (Abbildung 5, rechts).

**Abbildung 5: Basistoxizität (Mikrotox-Assay) und oxidativer Stress (AREc32 Assay) der Sedimentproben**

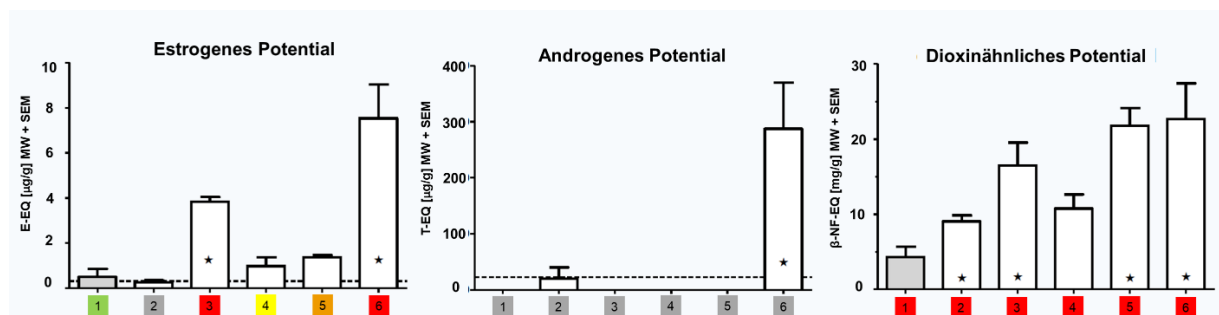


Die Probestellen 1 bis 6 sind farbig markiert; die Farben entsprechen der ökotoxikologischen Zustandsklasse (siehe Kapitel 2.1.3). Signifikante Unterschiede zur eigentlichen Referenzstelle (Standort 1) wurden mittels ungepaartem t-Test oder Welch-Test bei ungleichen Varianzen bestimmt (★:  $p < 0,05$ ).

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Das estrogenes Potential wird an Standort 1 mit „gut“ bewertet und ist an Standort 2 nicht nachweisbar. Während Standorte 4 und 5 mit „mäßig“ und „unbefriedigend“ bewertet werden, schneiden auch bei diesem Test die Probestellen 3 und 6 am schlechtesten ab (Abbildung 6, links). Androgenes Potential wies lediglich die Probe des Standortes 6 auf (Abbildung 6, mitte). Das dioxinähnliche Potential war an allen sechs Standorten auffällig hoch und mit „schlecht“ bewertet (Abbildung 6, rechts). Dies war selbst am vermeintlichen Referenzstandort Nr. 1 der Fall. Im Vergleich zum Standort 1 war das dioxinähnliche Potential der anderen Proben, insbesondere 3, 5 und 6 noch um ein Vielfaches höher.

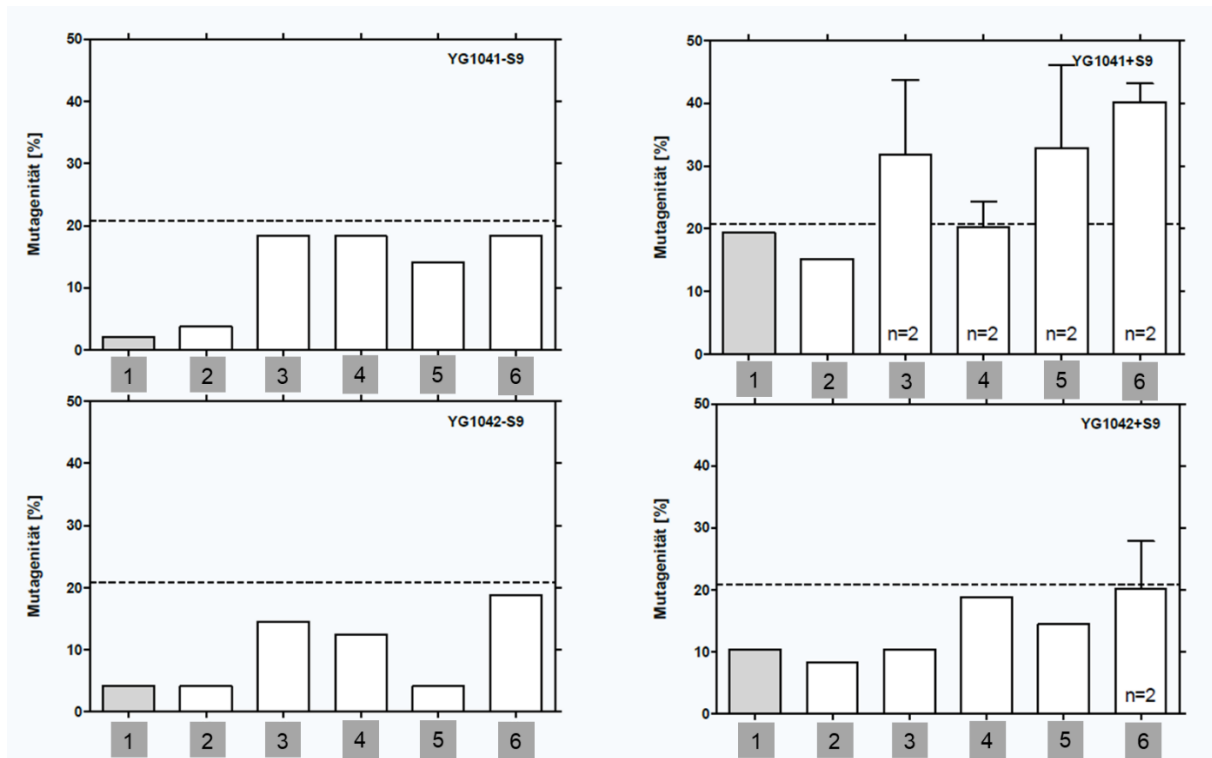
**Abbildung 6: Ergebnisse der Hefereportergerassays zur estrogenen (YES), androgenen (YAS) und dioxinähnlichen Aktivität (YDS) der Sedimentproben**



Die Probestellen 1 bis 6 sind farbig markiert; die Farben entsprechen der ökotoxikologischen Zustandsklasse (siehe Kapitel 2.1.3). Grau markierte Probestellen: Eine Bewertung kann nicht erfolgen, da Ergebnisse entweder unterhalb der Bestimmungsgrenze oder es liegen keine Klassengrenzen vor. Signifikante Unterschiede zur Referenzstelle Nr. 1 (gestrichelte Linie) sind mit „★“ markiert.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

**Abbildung 7: Gentoxizität der Sedimentproben (Ames-Fluktuationstest)**



Gestrichelte Linie: NTL. Lediglich die Proben 3, 5 und 6 werden bei YG 0141+S9 als toxisch bewertet.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

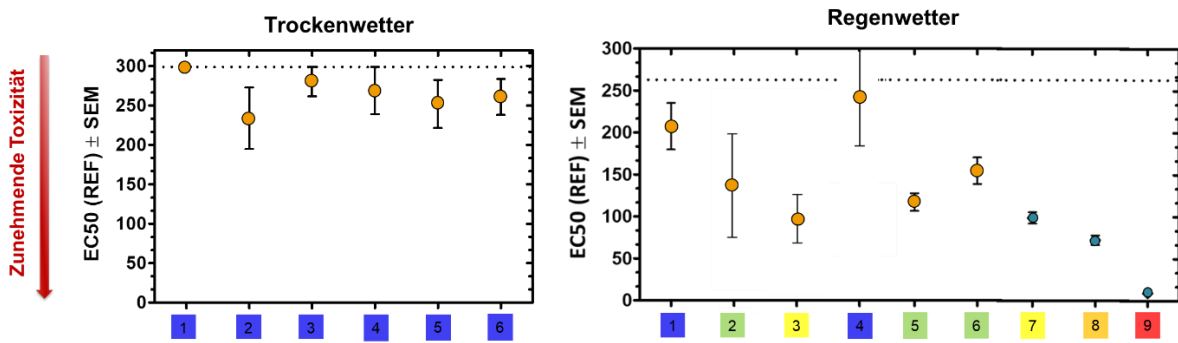
Im Hinblick auf die Gentoxizität, zeigen die Proben der Standorte 3, 5 und 6 mutagenes Potential mit YG 1041 + S9 (Abbildung 7).

### 3.4.2 Wasserproben

Teile der in diesem Kapitel dargestellten Ergebnisse wurden der Arbeit von Janssen (2023) entnommen bzw. in Anlehnung an Janssen (2023) verändert. Die bei Trockenwetter genommenen Wasserproben der Standorte 1 bis 6 sind im Hinblick auf die Basistoxizität unauffällig und mit „sehr gut“ bewertet (Abbildung 8, links). Bei Regenwetter wurde die Basistoxizität hingegen lediglich an den Standorten 1 und 4 mit „sehr gut“ bewertet. Die anderen Standorte weisen eine erhöhte Basistoxizität auf, wobei diese an den Standorten 3 und 7 bis 9 mit „mäßig“ oder schlechter bewertet wird (Abbildung 8, rechts).

Die estrogene Aktivität der Wasserproben ist sowohl bei Trocken- als auch bei Regenwetter erhöht und wird im besten Fall mit „mäßig“ bewertet (Standort 1 bei Trocken- und Regenwetter, Standort 4 bei Regenwetter, Abbildung 9). Bei Regenwetter ist die estrogene Aktivität an den Standorten 2, 3, 5 und 6 sowie 8 und 9 deutlich erhöht und mit „schlecht“ bewertet.

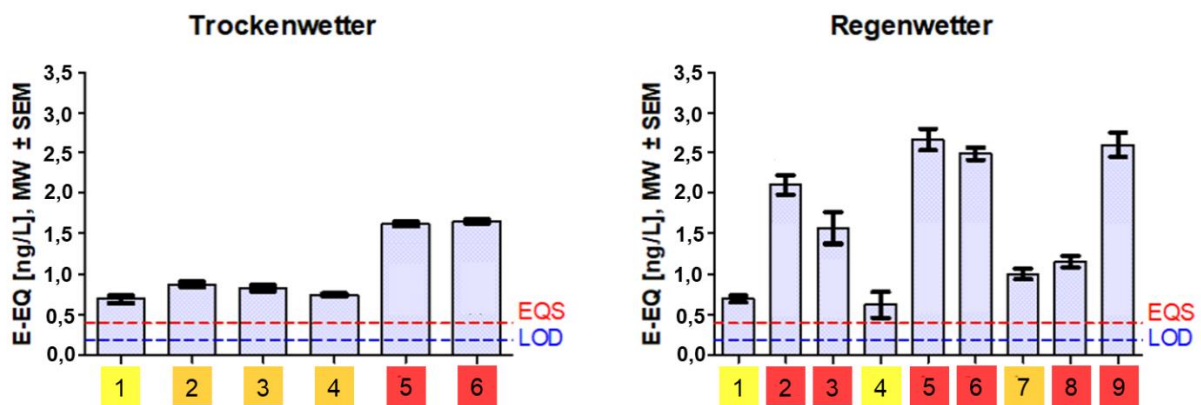
**Abbildung 8: Basistoxizität der Trocken- und Regenwetterproben (Mikrotox-Assay)**



Die Kreise stellen die mittlere 50%ige Effektkonzentration (EC<sub>50</sub>) dar, basierend auf dem REF der Wasserproben von drei unabhängigen Replikaten. Die gestrichelte Linie stellt das nicht toxische Limit (NTL) dar. Das NTL für Wasserproben wurde nach Hof et al. (2024) auf 300 REF festgelegt. Die Probestellen 1 bis 9 sind farbig markiert; die Farben entsprechen der ökotoxikologischen Zustandsklasse (siehe Kapitel 2.1.3).

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

**Abbildung 9: Estrogene Aktivität der Trocken- und Regenwetterproben (Hefereporterassays, YES)**

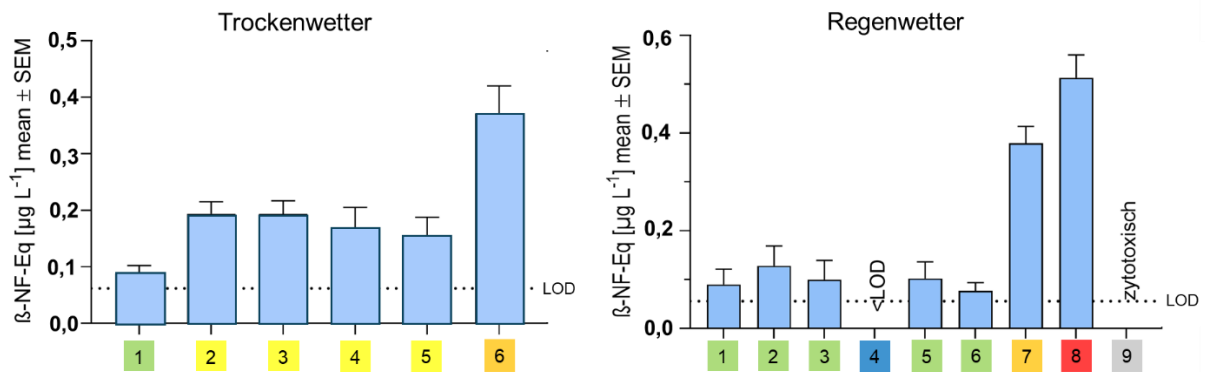


Die Balken stellen die mittlere estrogene Aktivität, ausgedrückt als 17β-Östradiol-Äquivalente (E<sub>2</sub>-Eq) von drei unabhängigen Replikaten. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts (SEM) dar. Die rot gestrichelte Linie stellt den Umweltqualitätsstandard (EQS) für 17β-Estradiol und die blau gestrichelte Linie die Bestimmungsgrenze (LOD) von 0.19 ng/L dar. Die Probestellen 1 bis 9 sind farbig markiert; die Farben entsprechen der ökotoxikologischen Zustandsklasse (siehe Kapitel 2.1.3).

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Die dioxinähnliche Wirkung der Wasserproben ist, in den Trockenwetterproben an Probestelle 1 mit „gut“ bewertet. Die übrigen Stellen 2 bis 5 werden mit „mäßig“ und Stelle 6 mit „unbefriedigend“ bewertet. Auffällig sind die Bewertungsergebnisse dieser Stellen bei Regenwetter, die besser ausfallen als bei Trockenwetter (Abbildung 10). Bei Regenwetter werden lediglich die Wasserproben der Probestellen 7 und 8 mit „unbefriedigend“ bzw. „schlecht“ bewertet.

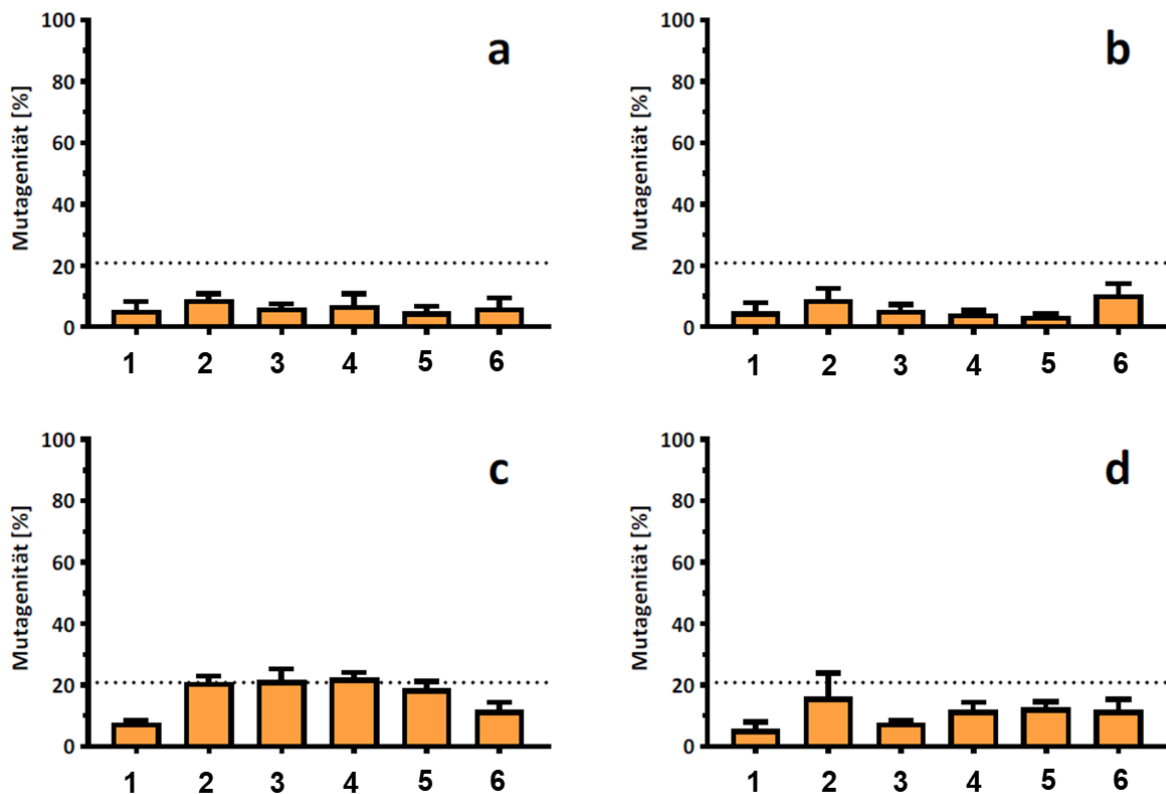
**Abbildung 10: Dioxin-ähnliche Wirkung der Trocken- und Regenwetterproben (Hefereporterassays, YDS)**



Die Balken stellen die mittlere dioxin-ähnliche Aktivität, ausgedrückt als  $\beta$ -Naphtoflavon-Äquivalente ( $\beta$ -NF-Eq) von drei unabhängigen Replikaten. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwerts (SEM) dar. Die gestrichelte Linie stellt die Bestimmungsgrenze (LOD) von  $0,05 \beta$ -NF-Eq L<sup>-1</sup> dar. Die Probeposten 1 bis 9 sind farbig markiert; die Farben entsprechen der ökotoxikologischen Zustandsklasse (siehe Kapitel 2.1.3). Grau: Keine Bewertung möglich.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

**Abbildung 11: Ergebnisse des Ames-Fluktuationstest für Trockenwetterproben**

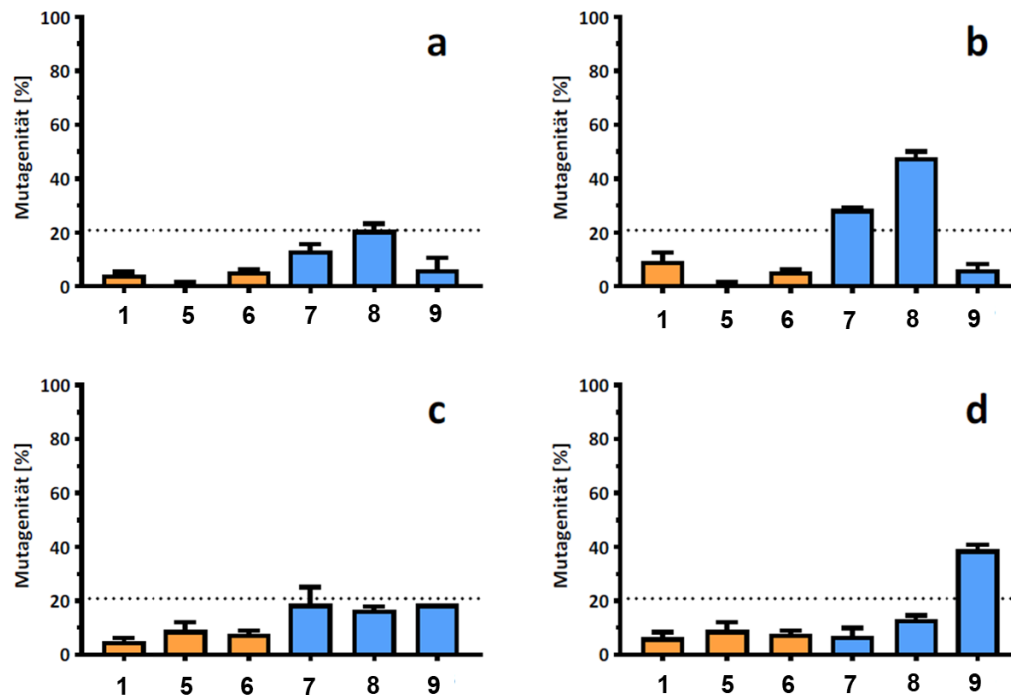


Die Ergebnisse sind dargestellt für die Stämme YG1041 ohne (a) und mit S9 (b) sowie YG1042 ohne (c) und mit S9 (d). Die Mutagenität ist als Anteil der Revertanten in % (MW  $\pm$  SEM) angegeben. Die gestrichelte Linie steht für den Schwellenwert von 20,8 % ab dem eine Probe als mutagen bewertet wird.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Während bei Trockenwetter keine Wasserprobe der Standorte 1 bis 6 mutagen war (Abbildung 11), werden die Wasserproben der Standorte 7, 8 (Abbildung 12b) und 9 (Abbildung 12d) bei Regenwetter als mutagen bewertet.

**Abbildung 12: Ergebnisse des Ames-Fluktuationstest für Regenwetterproben**



Die Ergebnisse sind dargestellt für die Stämme YG1041 ohne (a) und mit S9 (b) sowie YG1042 ohne (c) und mit S9 (d). Die Mutagenität ist als Anteil der Revertanten in % ( $MW \pm SEM$ ) angegeben. Die gestrichelte Linie steht für den Schwellenwert von 20,8 % ab dem eine Probe als mutagen bewertet wird.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

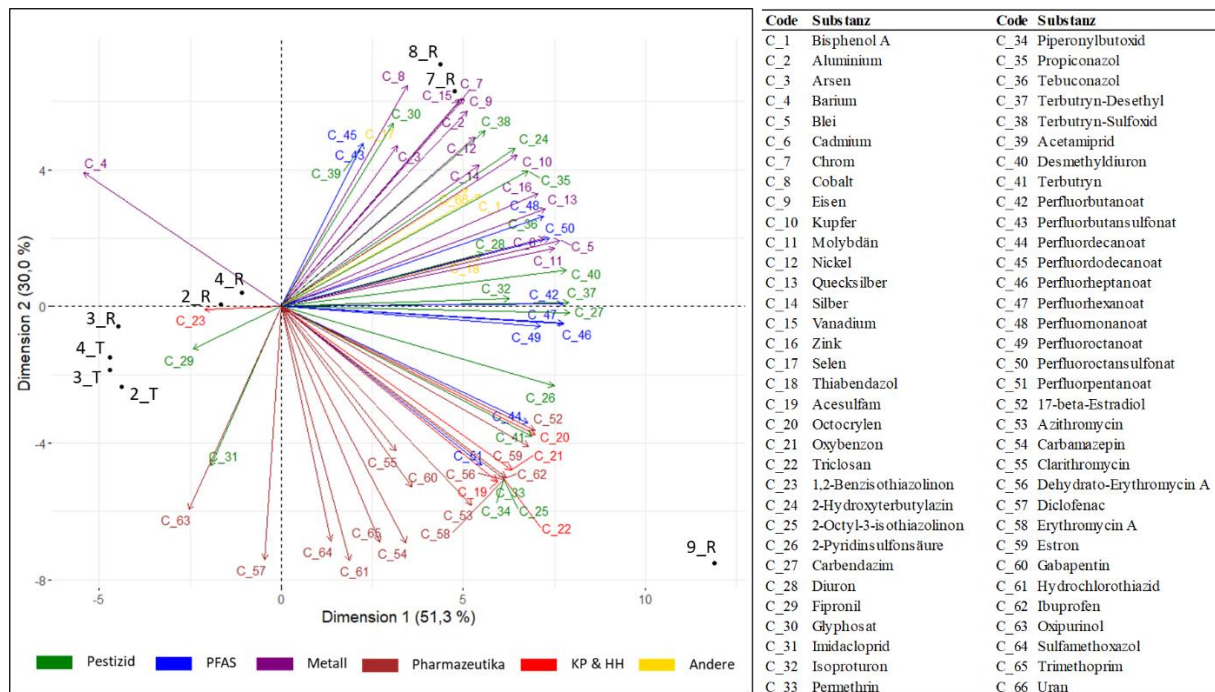
### 3.4.3 Abgleich der Ergebnisse zu den Trocken- und Regenwetterproben mit der Analytik

Von den 108 gemessenen Stoffen konnten 66 in den Wasserproben nachgewiesen werden (Anhang B.1). Um Muster, Ähnlichkeiten und Unterschiede in der chemischen Charakterisierung der einzelnen Wasserproben zu erkennen, wurde eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) berechnet. Die ersten beiden Hauptkomponenten erklären 51,3 % und 30,0 % der Gesamtvarianz, sodass zusammen 81,3 % der Variabilität in den Daten erfasst werden (Abbildung 13).

Ein zentrales Ergebnis der Analyse ist, dass die Wasserproben, die bei Regenwetter entnommen wurden, überwiegend im positiven Bereich der x-Achse (rechte Hälfte der faktoriellen Ebene) liegen. Dies deutet darauf hin, dass die chemische Zusammensetzung dieser Proben maßgeblich von den Variablen beeinflusst wird, die ebenfalls in dieser Richtung liegen. Die schwarzen Punkte, die die einzelnen Proben repräsentieren, zeigen eine deutliche Trennung zwischen Regen- und Trockenwetterproben, was darauf hindeutet, dass die Wasserchemie stark von den Witterungsbedingungen beeinflusst wird. Während in den Proben 7 und 8 bei Regenwetter vorwiegend bestimmte Pestizide, PFAS, und Metalle zu finden sind, zeigt Probestelle 9 bei Regenwetter eine starke Assoziation mit Pharmazeutika. Die Trockenwetterproben sind deutlich weniger stark belastet, während Proben 2 und 4 bei Regenwetter eine intermediäre

Belastung aufweisen. Probestelle 3 unterscheidet sich bei Regen- und Trockenwetter hinsichtlich ihrer chemischen Charakterisierung hingegen kaum (3\_R und 3\_T liegen vergleichsweise nah beieinander, Abbildung 13).

**Abbildung 13: PCA Biplot auf der Basis der gewässerchemischen Parameter**

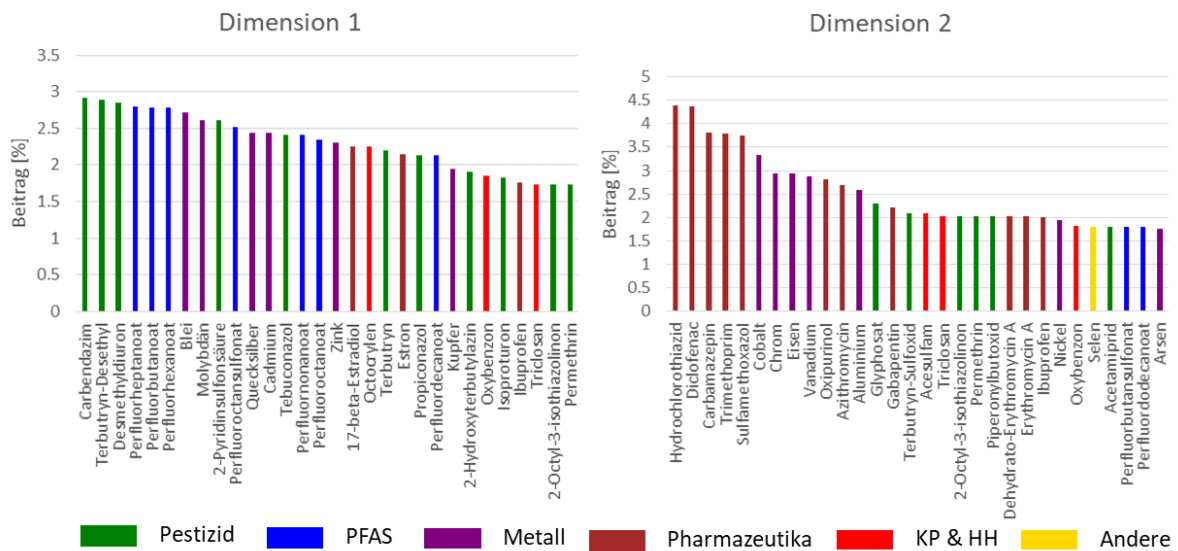


Jeder Punkt repräsentiert eine Wasserprobe der Probestellen 2 bis 4 und 7 bis 9, entweder bei Trocken- (T) oder bei Regenwetter (R). Die Vektoren (Pfeile) repräsentieren die am Datensatz nachgewiesenen Substanzen. Farblich gekennzeichnet ist die Zugehörigkeit der Substanzen zu Stoffgruppen.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Die beiden Balkendiagramme in Abbildung 14 zeigen die Beiträge der einzelnen Variablen (chemischen Stoffe) zu den ersten beiden Hauptkomponenten (Dimension 1 und Dimension 2). Die Farbcodierung entspricht unterschiedlichen Stoffgruppen (z. B. Pestizide, PFAS, Metalle, Pharmazeutika, etc.). Die wichtigsten Variablen für Dimension 1 sind vor allem Pestizide (grün) und PFAS (blau). Besonders auffällig sind Carbendazim, Terbutylazin-Desethyl und Desphenyl-Chloridazon, die einen besonders hohen Einfluss auf Dimension 1 haben. Dimension 2 trennt die Proben stärker nach der Belastung mit Pharmazeutika und Haushaltschemikalien, während PFAS und Metalle hier eine untergeordnete Rolle spielen. Betont werden muss, da jede einzelne Substanz nur einen vergleichsweise geringen Anteil an der Gesamtvarianz erklärt, dies bedeutet, dass die Differenzierung der Proben nicht von wenigen zentralen Chemikalien abhängt, sondern von einer Vielzahl unterschiedlicher Stoffe beeinflusst wird (Abbildung 14). Dies unterstreicht, dass bei der Bewertung der chemischen Belastung eines Gewässers nicht nur einzelne Leitsubstanzen betrachtet werden sollten, sondern ein breites Spektrum an Stoffen berücksichtigt werden muss.

**Abbildung 14: Die "Variable Contributions" (Variablenbeiträge) der Substanzen für das Ergebnis der PCA**

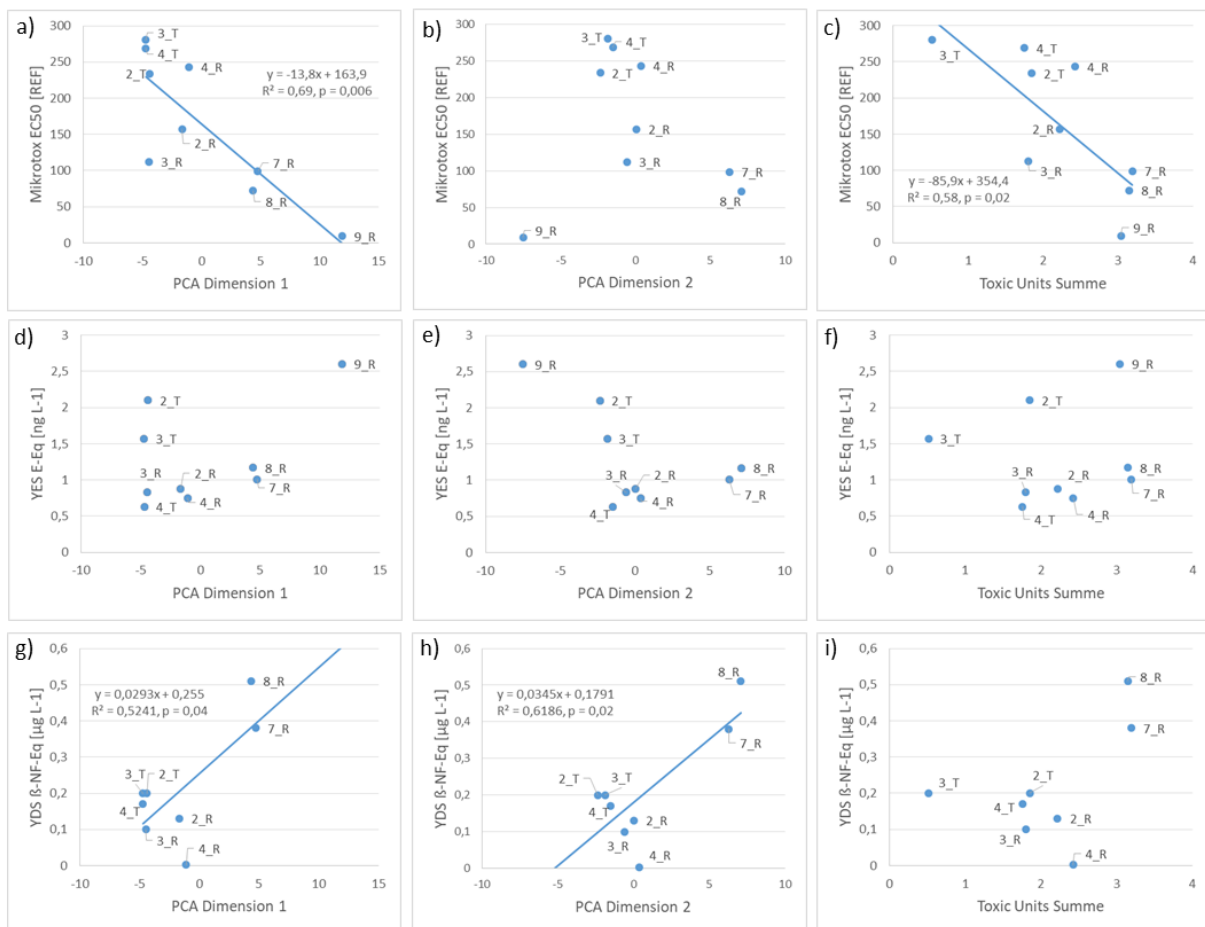


Dargestellt ist, wie stark jede ursprüngliche Variable zur Bildung einer bestimmten Hauptkomponente (Dimension) beiträgt. Je höher der Wert, desto größer der Einfluss auf die Hauptkomponente. Dargestellt sind die Ergebnisse für die 30 wichtigsten Variablen (Substanzen) der Dimension 1 und 2. Farblich gekennzeichnet ist die Zugehörigkeit der Substanzen zu Stoffgruppen.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Es wurde Scatterplots erstellt, um zu überprüfen inwiefern die Ergebnisse der Bioassays mit den Ergebnissen zur Analytik in Einklang zu bringen sind. Die chemische Belastung wurde hierbei ausgedrückt als erste und zweite Achse der PCA und als Toxic Units, die basierend auf den Messwerten berechnet wurden. Es wurden einfache lineare Regressionsmodelle berechnet, um auf einen Zusammenhang zu prüfen. Ein signifikant linearer Zusammenhang zeigte sich lediglich zwischen dem Ergebnis des Mikrotox-Assay und der ersten Achse der PCA sowie der Summe der Toxic Units (Abbildung 15 a und c), sowie zwischen dem Ergebnis des YDS-Test und der ersten und zweiten Achse der PCA (Abbildung 15 g und h). Der oftmals fehlende Zusammenhang zwischen Testergebnis und der Analytik weist daraufhin, dass offenbar weitere Substanzen für die Ergebnisse der Bioassays verantwortlich sind, die mit der Analytik der Wasserproben nicht erfasst wurden. Als Beispiel seien hier die PAKs genannt.

**Abbildung 15: Zusammenhang zwischen Ergebnissen der Bioassays und der Analytik**



Scatterplots der Ergebnisse des Bioassays in Abhängigkeit der Dimension 1 und 2 der Hauptkomponentenanalyse sowie der berechneten Toxic Units. Ergebnisse der linearen Regression sind nur dargestellt, wenn diese Ergebnisse mit  $p < 0,05$  signifikant waren.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

## 3.5 Diskussion

### 3.5.1 Hohe Belastung der Sedimente und Rolle der PAKs

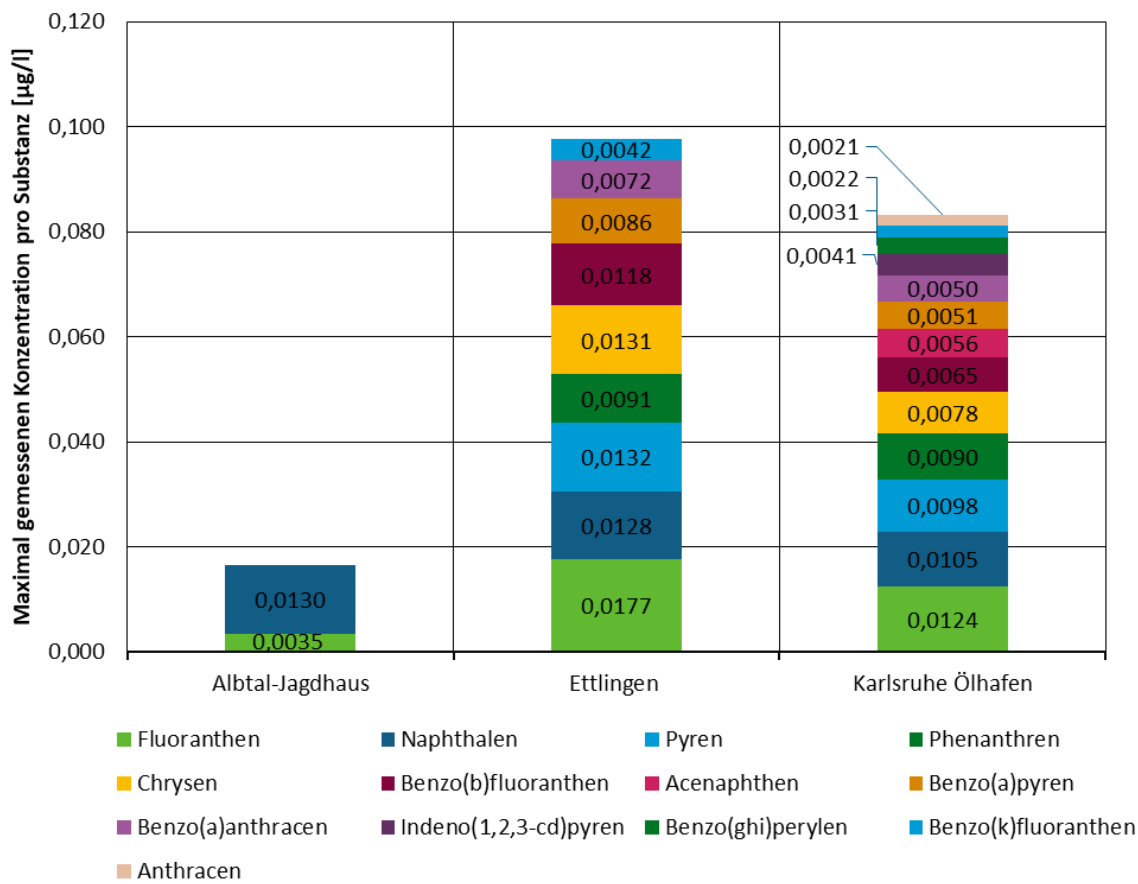
Besonders auffällig waren die Sedimentproben der Alb, die in den durchgeführten ökotoxikologischen Tests erhöhte Toxizitäten aufwiesen. Insbesondere in den Mikrotox-Assays sowie im YDS wurden toxische Effekte festgestellt (Abbildung 5 und Abbildung 6), die auf eine hohe Schadstoffbelastung hindeuten. Da für die Sedimente keine Analytik durchgeführt werden konnte, kann nicht verifiziert werden, welche Schadstoffe dieses Ergebnis hervorgerufen haben.

Im YDS werden allerdings Substanzen detektiert, die den Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AhR) aktivieren, ein Signalweg, der an der Regulation von Entgiftungsmechanismen beteiligt ist. Bestimmte polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs), insbesondere höhermolekulare Vertreter wie Benzo[a]pyren, besitzen eine hohe AhR-Affinität und können als partielle AhR-Agonisten fungieren. Dies führt zur Aktivierung von AhR-abhängigen Genen in der Hefe, die als Testorganismus eingesetzt wurde, wodurch eine messbare Antwort im YDS generiert wird. Eine erhöhte AhR-Aktivität in den Testergebnissen weist somit auf das Vorhandensein bioaktiver PAKs hin.

Neben der AhR-vermittelten Wirkung können PAKs auch eine direkte zytotoxische Wirkung entfalten, was sich insbesondere im Mikrottox-Assay widerspiegelt. Dieses Testsystem basiert auf biolumineszenten Bakterien (*A. fischeri*), deren Lichtemission durch toxische Substanzen beeinträchtigt wird. PAKs können in diesem Assay über mehrere Mechanismen eine Hemmung der Lumineszenz verursachen: Einerseits interkalieren sie aufgrund ihrer hydrophoben Struktur in die bakterielle Zellmembran, wodurch die Membranintegrität gestört und zelluläre Prozesse beeinträchtigt werden. Andererseits können PAKs über oxidative Stoffwechselprozesse die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies fördern, die zu oxidativem Stress und damit zur Schädigung wichtiger Zellbestandteile führen. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass PAKs bestimmte Enzymsysteme direkt hemmen, die für die Biolumineszenz der Bakterien essenziell sind.

Vor dem Hintergrund, dass der „gute“ chemische Zustand der Alb unter anderem durch das Überschreiten der UQN für Benzo(a)pyren, einem PAK, nicht erreicht wird (UM-BW 2021), wurde überprüft, inwiefern Messdaten zur PAKs im Einzugsgebiet der Alb frei zugänglich sind (Grundlage: Daten aus dem Umweltinformationssystem (UIS) der LUBW Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg). Dies war der Fall für drei Stellen im Einzugsgebiet der Alb. Die Chemiemessstellen Albtal-Jagdhaus liegt im Oberlauf der Alb, Luftlinie rund 14 km oberhalb des im Projekt untersuchten Standortes 1 (Alb bei Kochmühle). Die Chemiemessstelle bei Ettlingen liegt am oberen Ortsrand des Stadtteils Ettlingen, während der im Projekt untersuchte Standort 2 ca. 2,5 km weiter unterhalb liegt. Die dritte Chemiemessstelle Karlsruhe-Ölhafen liegt im Unterlauf der Alb, ca. 5 km unterhalb des im Projekt untersuchten Standortes 6. Die Daten für die Chemiemessstelle Albtal-Jagdhaus wurden im Jahr 2020 aufgenommen, die Daten für die Chemiemessstellen Ettlingen und Karlsruhe Ölhafen im Jahr 2023. Es wurden an allen drei Stellen 16 unterschiedliche PAKs an 12 Terminen im Jahr untersucht. Davon konnten 13 PAKs an zumindest einer der drei Messstellen nachgewiesen werden. Es wurde für jede Messstelle und jede Substanz die maximal gemessene Konzentration in Abbildung 16 aufgetragen. Auffällig ist hierbei beispielsweise die Substanz Benzo(k)fluoranthen. Diese Substanz hat einen experimentell abgeleiteten  $EC_{50}$ -Wert von  $0,0014 \mu\text{g/L}$  (Kramer et al. 2024), gemessen wurde die Substanz am 12.07.2023 an der Chemiemessstelle Ettlingen mit einer Konzentration von  $0,0042 \mu\text{g/L}$ , welche 3-fach über dem des  $EC_{50}$ -Wertes liegt. Auch an der Chemiemessstelle Karlsruhe-Ölhafen gab es Substanzen, deren Messwerte deutlich über dem experimentell abgeleiteten  $EC_{50}$ -Wert lagen. Dies war beispielsweise der Fall für Benzo(ghi)perylen: Gemessen wurden am 27.03.2023 eine Konzentration von  $0,0031 \mu\text{g/L}$ , wobei der  $EC_{50}$ -Wert bei  $0,0002 \mu\text{g/L}$  liegt und damit um ein mehr als 15-faches überschritten wurde. Wenn die drei Messstellen und insbesondere die beiden bei Ettlingen und Karlsruhe-Ölhafen repräsentativ für den Unterlauf der Alb sind, dann wären die hohen Aktivitäten im YDS durchaus plausibel. Dies ist insbesondere vor dem Hintergrund zu betrachten, dass die Messwerte in der Wasserphase erhoben, während für den YDS Sedimente getestet wurden. Da PAKs stark lipophile Eigenschaften aufweisen, neigen sie dazu, sich bevorzugt an organisches Material und Feinsedimente zu binden, anstatt in der Wasserphase gelöst zu bleiben. Wenn PAKs bereits in der Wasserphase nachgewiesen werden, deutet dies darauf hin, dass die Konzentrationen im Sediment noch deutlich höher ausfallen sollten. Dies liegt daran, dass Sedimente aufgrund ihrer hohen Sorptionskapazität als zentrale Schadstoffsenske fungieren, wodurch sich lipophile Substanzen wie PAKs dort akkumulieren und über längere Zeiträume persistieren können. Somit stellt ein erhöhter Nachweis in der Wasserphase ein starkes Indiz für eine signifikante Sedimentbelastung dar, die insbesondere in Bereichen mit geringer Strömung oder hohem organischen Anteil besonders ausgeprägt sein dürfte.

**Abbildung 16: Nachgewiesene PAKs an drei Stellen im Einzugsgebiet der Alb**



Dargestellt sind Daten zu nachgewiesenen PAKs aus dem Umweltinformationssystem (UIS) der LUBW Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg. Für jede Substanz ist die maximale Konzentration aus 12 Einzelmessungen aufgetragen. Die Messungen stammen aus den Jahren 2020 (Albtal-Jagdhaus) bzw. 2023 (Ettlingen und Karlsruhe-Ölhafen).

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Die Ergebnisse des YDS und des Mikrotox-Assays in PAK-belasteten Gewässerabschnitten zeigen somit einen deutlichen Zusammenhang zwischen der chemischen Belastung durch PAKs und deren ökotoxikologischen Effekten. Die ökologische Relevanz dieser Ergebnisse wurde unter anderem in Forschungsprojekt DECIDE untersucht (Oetken et al. 2025). Die Bewertung der Qualitätskomponente Makrozoobenthos zeigte in diesen Untersuchungen nur in Ausnahmefällen ein besseres Ergebnis als die aus den Sedimentanalysen abgeleitete ökotoxikologische Zustandsklasse des YDS. Dies bedeutet, dass eine „schlechte“ Bewertung der ökotoxikologischen Zustandsklasse im YDS in den meisten Fällen mit einem ebenfalls „schlechten“ ökologischen Zustand übereinstimmte. Dieser Zusammenhang ist mit Vorsicht zu betrachten, da eine Korrelation nicht zwangsläufig auf eine kausale Beziehung hinweist. Es besteht die Möglichkeit, dass weitere Faktoren, wie zusätzliche chemische Belastungen oder hydromorphologische Einflüsse, sowohl die ökotoxikologische als auch die ökologische Bewertung beeinflussen.

Dennoch kann es als Indiz gewertet werden, dass eine hohe Schadstoffbelastung der Sedimente ein limitierender Faktor für das Vorkommen sensibler benthischer Makroinvertebraten in der Alb sind. Die einzige Messstelle mit einem „guten“ ökologischen Zustand befand sich im obersten Abschnitt der Alb und wies gleichzeitig das geringste dioxinähnliche Potential auf. Im Gegensatz dazu wurden alle weiteren untersuchten Standorte als „unbefriedigend“ bis „schlecht“ eingestuft

und zeigten zudem erhöhte YDS-Werte, was auf eine höhere AhR-Aktivität und damit eine stärkere Belastung mit dioxinähnlichen Substanzen hinweist.

### 3.5.2 Bedeutung von Stoßbelastungen auf die Ergebnisse der Bioassays

Starkregenereignisse haben erhebliche Auswirkungen auf die Ergebnisse von toxikologischen Tests, da sie durch Oberflächenabfluss, Kanalüberläufe und den Eintrag von Sedimenten eine Vielzahl von Schadstoffen in Gewässer eintragen. Diese plötzliche Veränderung der Wasserzusammensetzung kann zu einer stärkeren ökotoxikologischen Belastung führen. In der vorliegenden Studie spiegelte sich dies wider in den Ergebnissen des Mikrotox Assays und beim YES-Test. Bei diesen Tests waren die Ergebnisse der Wasserproben, welche im Regenereignis genommen wurden, deutlich auffälliger, was in schlechteren Zustandsklassen resultierte, als die Trockenwetterproben (Abbildung 8 und Abbildung 9).

Beim Mikrotox Assay, der die Toxizität von Wasserproben anhand der Biolumineszenzhemmung von *A. fischeri* misst, können Starkregenereignisse eine erhöhte Hemmung durch eingetragene Schwermetalle, Pestizide, Nährstoffe und organische Stoffe verursachen (Masoner et al. 2019). Auch der YES-Test, der die estrogenen Aktivität von Wasserproben anhand der Aktivierung von Estrogenrezeptoren in Hefezellen untersucht, wird durch Starkregenereignisse ebenfalls stark beeinflusst. Der Eintrag von hormonell aktiven Substanzen aus landwirtschaftlichen, industriellen und städtischen Abwässern kann kurzfristig zu einer erhöhten Estrogenwirkung führen, was sich in einem stärkeren Signal im Test niederschlägt. Gleichzeitig können Starkregenereignisse jedoch auch Schwebstoffe und Sedimente hormonell aktive Stoffe adsorbieren und so deren Bioverfügbarkeit verringern, was potenziell zu einer Verringerung der Toxizität hätte führen können. Gleiches gilt für eine Verdünnung der Schadstoffkonzentrationen bei Regenereignissen.

Auffällig waren insbesondere die Testergebnisse der Messstellen 7 bis 9, die nur bei Niederschlagsereignissen wasserführend sind. Im Ames-Test wiesen ausschließlich diese Proben eine genotoxische Belastung auf (Abbildung 12). Zudem zeigten auch die Ergebnisse der übrigen Bioassays hier die höchsten Auffälligkeiten und die schlechtesten Bewertungsergebnisse.

Regenrückhaltebecken und Regenüberlaufbecken spielen eine zentrale Rolle im Regenwassermanagement, da sie Niederschlagswasser aus urbanen und industriellen Flächen temporär speichern und kontrolliert an Fließgewässer abgeben. Obwohl sie zur Hochwasserprävention beitragen, kann ihr Wasser bei Niederschlagsereignissen eine erhöhte Toxizität aufweisen (Makepeace et al. 1995). Dies liegt daran, dass sie Schadstoffe aus Straßenabflüssen, Industriegebieten und landwirtschaftlichen Flächen konzentrieren, was sich in den Bioassay-Ergebnissen widerspiegelt. Während Regenfällen gelangen Öle, Treibstoffe, Schwermetalle (z. B. Blei, Kupfer, Zink), Reifenabrieb (Mikroplastik, PAKs) und Auftausalze in diese Becken. Diese Substanzen können akuttoxische Wirkungen auf Wasserorganismen haben und im Mikrotox Assay zu hohen Toxizitätswerten führen. Besonders in Gewerbegebieten kann das Regenwasser zusätzlich mit Lösungsmitteln, Metallen oder anderen industriellen Chemikalien belastet sein, was häufig eine genotoxische Belastung im Ames-Fluktuationstest zur Folge hat. Darüber hinaus können Regenrückhaltebecken durch Abflüsse aus Kläranlagen oder städtischen Flächen estrogenaktive Substanzen wie Weichmacher, Bisphenol A oder Arzneimittelrückstände aufnehmen, die im YES-Test zu erhöhten Werten führen. Die auffälligen Testergebnisse der Messstellen 7 bis 9 bestätigen, dass Regenrückhaltebecken nicht nur temporäre Wasserspeicher sind, sondern auch eine wesentliche Quelle für toxische Belastungen in Fließgewässern darstellen können.

Zusammenfassend spiegeln auffällige Ergebnisse der Bioassays oft eine schlechte Wasserqualität wider, die sich auch im ökologischen Zustand des Fließgewässers bemerkbar macht. Während chemische Analysen lediglich die Konzentration bestimmter Schadstoffe messen, zeigen Bioassays deren biologische Wirkung auf lebende Organismen. Diese direkte Verbindung macht sie zu einem wichtigen Instrument in der Umweltüberwachung und erlaubt es, frühzeitig negative Entwicklungen im Ökosystem zu erkennen. Ein „schlechter“ ökologischer Zustand wird letztlich nicht nur durch punktuelle Schadstoffeinträge, sondern auch durch langfristige Belastungen, Habitatveränderungen und den Verlust ökologischer Funktionen geprägt, was durch eine Kombination aus Bioassays und ökologischen Monitoring-Methoden erfasst werden kann.

### Kernaussagen

Die Untersuchungen am Modelgewässer der Alb lassen die folgenden Kernaussagen zu.

- ▶ In den ökotoxikologischen Tests der Sedimentproben wurden toxische Effekte festgestellt, deren Ursache eine hohe Schadstoffbelastung ist, die u.a. durch polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) hervorgerufen sein könnte.
- ▶ Starkregenereignisse verstärken die Toxizität in der Wasserphase; Regenrückhaltebecken speichern und konzentrieren Schadstoffe aus dem urbanen Raum.
- ▶ Der im Forschungsprojekt DECIDE dargelegte Zusammenhang zwischen ökotoxikologischer und ökologischer Zustandsklasse lassen auf einen, wenn auch nicht notwendigerweise kausalen, Zusammenhang zwischen hohen Schadstoffbelastung und Ausprägung der benthischen Lebensgemeinschaften schließen.

## 4 Effektbasierte Bewertung chemischer Belastungen: Schlüsselfaktor für Renaturierungserfolg?

### 4.1 Hintergrund

#### 4.1.1 Bedeutung von Schadstoffen für die Wiederbesiedlung renaturierter Gewässerabschnitte

Die hydromorphologische Degradation von Fließgewässern infolge anthropogener Einflüsse stellt eine der zentralen Herausforderungen im Gewässerschutz dar (Feld et al. 2011; Hering et al. 2015; Lemm et al. 2021; Eastwood et al. 2023). Im Zuge der Implementierung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) wurde verstärkt in die Renaturierung von Fließgewässern investiert, um die ökologischen Funktionen dieser stark veränderten Systeme wiederherzustellen (Wernersson et al. 2015; Muhar et al. 2016; Welti et al. 2024). Dabei liegt der Fokus vieler Maßnahmen auf der morphologischen Wiederherstellung, wobei erwartet wird, dass sich daraus positive Effekte auf die biologische Diversität und den ökologischen Zustand ergeben. Allerdings zeigen Untersuchungen, dass die biologische Erholung trotz erheblicher struktureller Verbesserungen oft hinter den Erwartungen zurückbleibt und stark zwischen verschiedenen Organismengruppen variiert (Sundermann et al. 2011; Palmer et al. 2014; Friberg et al. 2016; Kaiser et al. 2020; Sinclair et al. 2023). Während Fische, Makrophyten sowie Ufer- und Auenorganismen häufig positiv auf Renaturierungsmaßnahmen reagieren (Jähnig et al. 2011; Lorenz et al. 2012; Haase et al. 2013; Hering et al. 2015), zeigen benthische Makroinvertebraten oft nur marginale oder gar keine Verbesserungen in ihrer Diversität (Jähnig et al. 2010; Leps et al. 2016; Brettschneider et al. 2023). Dies deutet darauf hin, dass neben der morphologischen Aufwertung auch chemische Belastungen eine maßgebliche Rolle für die ökologische Erholung spielen (Hering et al. 2015; Posthuma et al. 2020; Heß et al. 2024).

#### 4.1.2 Schadstoffbelastung remobilisierter Sedimente

Ein bedeutender und bisher möglicherweise unterschätzter Effekt von Renaturierungsmaßnahmen ist die Remobilisierung von Sedimenten, die eine zentrale Senke für anthropogene Schadstoffe darstellen (Macikova et al. 2014; Crawford et al. 2022; Johann et al. 2024). Die mechanische Störung und die veränderten hydrodynamischen Bedingungen im Zuge der Maßnahmen können dazu führen, dass in den Sedimenten gebundene Schadstoffe, darunter Schwermetalle, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) und organische Pestizide, erneut in die Wassersäule übergehen. Dieser Prozess kann zu einer kurzfristig erhöhten chemischen Belastung führen, was insbesondere in den ersten Monaten oder Jahren nach einer Renaturierungsmaßnahme zu einer gesteigerten Toxizität in betroffenen Gewässerabschnitten führt (vgl. Alfee und Bloor 2025). Im Vergleich zu oberhalb gelegener, nicht renaturierter Bereiche, in denen die Sedimentstruktur weitgehend stabil bleibt, kann dies eine erhöhte Belastung für aquatische Organismen darstellen. Langfristig sollte dieser Effekt jedoch nachlassen, da sich durch natürliche Sedimentationsprozesse eine neue Gleichgewichtslage einstellt. Mobilisierte Schadstoffe können entweder ausgewaschen, abgebaut oder erneut sedimentiert werden, wodurch die Konzentrationen in der Wassersäule allmählich sinken. Nach mehreren Jahren sollte daher eine Angleichung der chemischen Belastung zwischen renaturierten und nicht-renaturierten Gewässerabschnitten zu beobachten sein.

Die erhöhte Freisetzung von Schadstoffen im Zuge der Sedimentremobilisierung könnte insbesondere benthische Makroinvertebraten stark beeinträchtigen, da diese Organismengruppe direkt mit den kontaminierten Sedimenten interagiert (Brettschneider et al.

2023). In der Frühphase nach einer Renaturierung könnten daher Rückgänge in der Artenvielfalt und eine verstärkte Selektion schadstofftoleranter Taxa beobachtet werden. Mit der Zeit könnte sich jedoch eine ökologische Stabilisierung einstellen, die den Bedingungen in nicht renaturierten Abschnitten ähnelt (Leps et al. 2016). Sollten allerdings andauernde chemische Belastungen vorliegen – etwa durch kontinuierliche Einträge aus diffusen oder punktuellen Quellen –, könnte dies die ökologische Erholung erheblich beeinträchtigen und eine langfristige Verbesserung der Makroinvertebratengemeinschaften verhindern (Hörchner et al. o.J.).

#### **4.1.3 Ziele**

Vor diesem Hintergrund umfasst die vorliegende Studie eine multidimensionale Analyse, bestehend aus der Bewertung des morphologischen Zustands der Gewässer, der Erfassung der benthischen Invertebratengemeinschaften, der Durchführung ökotoxikologischer Bioassays zur Bestimmung der Toxizität sowie chemischen Schadstoffmessungen in den Sedimenten.

Daraus ergeben sich zentrale wissenschaftliche Fragestellungen:

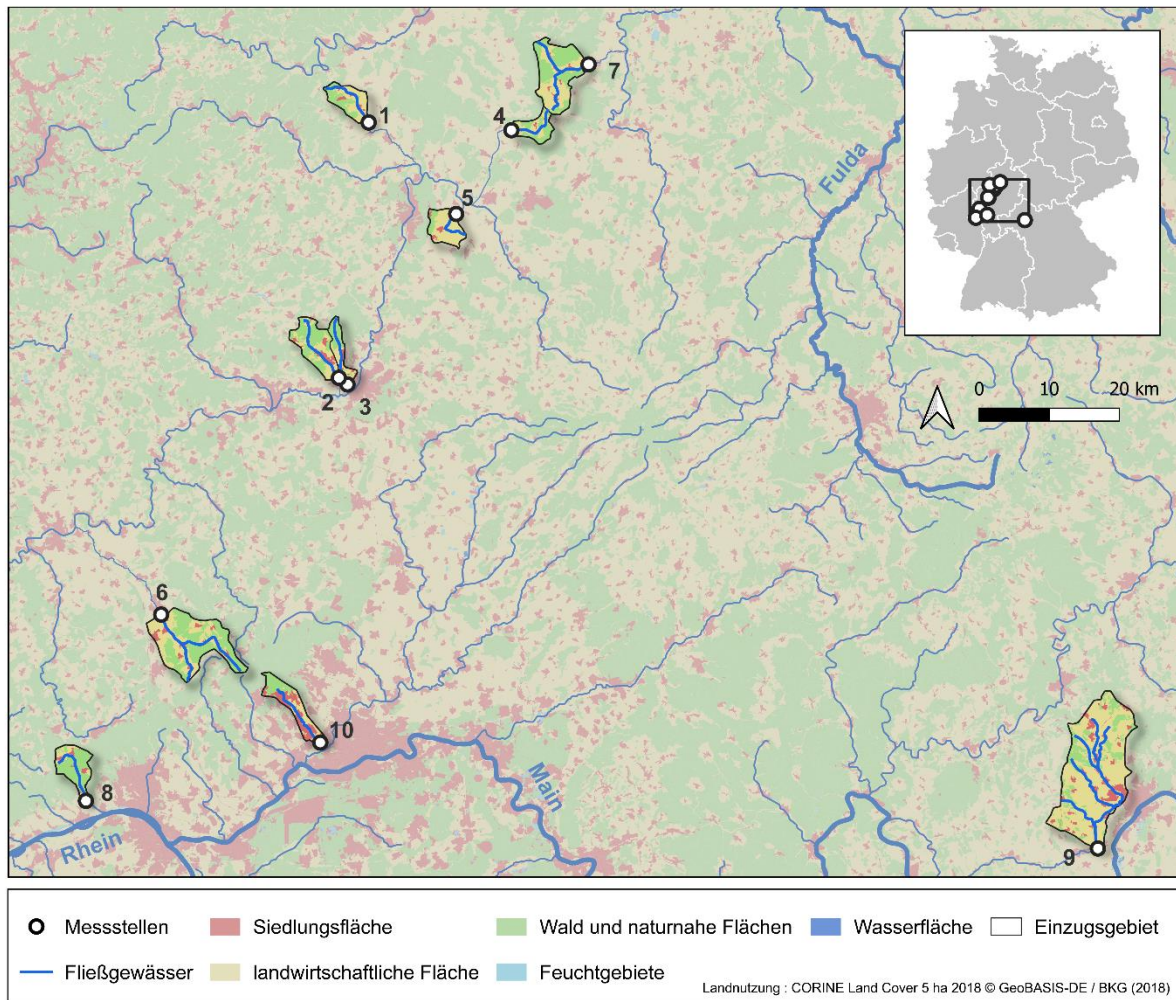
- ▶ Inwieweit führen Renaturierungsmaßnahmen zu einer Verbesserung der Habitatqualität und der benthischen Makroinvertebratengemeinschaften?
- ▶ Weisen Wasser- und Sedimentproben ökotoxikologische Effekte auf, und bestehen Korrelationen mit dem ökologischen Zustand?
- ▶ Sind toxikologische Effekte in kürzlich renaturierten Gewässerabschnitten stärker ausgeprägt als in Bereichen, in denen die Renaturierung bereits länger zurückliegt?
- ▶ Konvergieren die ökologischen und ökotoxikologischen Parameter von renaturierten und nicht-renaturierten Gewässerabschnitten über den Zeitverlauf?

Diese Untersuchung trägt dazu bei, ein fundiertes Verständnis der Interaktion zwischen morphologischer Wiederherstellung, chemischer Belastung und biologischer Reaktion zu gewinnen und liefert wesentliche Erkenntnisse für die langfristige Erfolgskontrolle von Renaturierungsmaßnahmen im Rahmen der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie.

## **4.2 Untersuchungsgebiet**

Die Untersuchungen wurden an zehn Renaturierungsprojekten in Hessen und Bayern durchgeführt (Abbildung 17). Die ausgewählten Projekte wurden aufgrund der umfassenden hydromorphologischen Renaturierungsmaßnahmen ausgewählt, die typische Techniken der Renaturierungspraxis in Mitteleuropa darstellen (Details siehe Tabelle 3 und Tabelle 4). Die Projekte deckten drei unterschiedliche Gewässertypen gemäß der Klassifikation von Pottgiesser (2018) ab: Typ 5 (grobmaterialreiche silikatische Mittelgebirgsbäche), Typ 5.1 (feinmaterialreiche silikatische Mittelgebirgsbäche) und Typ 6 (feinmaterialreiche karbonatische Mittelgebirgsbäche). Die Einzugsgebiete der untersuchten Bäche umfassten Größen zwischen 13,5 und 160 km<sup>2</sup>.

**Abbildung 17: Lage der zehn untersuchten Renaturierungsprojekte**



Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

**Tabelle 3: Charakterisierung der untersuchten Renaturierungsprojekte**

Nr.	Name	Koordinaten renaturierter Abschnitt	Koordinaten Kontrollabschnitt	Distanz	Typ	Länge	Alter
1	Asphe	50.92194956 8.683498811	50.92908765 8.678383997	970	5	1100	29
2	Bieber	50.59441505 8.627442776	50.60311089 8.616097262	1250	5	1600	13
3	Fohnbach	50.58579928 8.643162987	50.59186918 8.635267422	1050	5	1600	20
4	Josbach	50.91239585 8.973452758	50.91193326 8.980424916	550	5.1	1900	29
5	Würf	50.80496166 8.861570526	50.7973178 8.849401033	1270	5.1	3700	19
6	Emsbach	50.2890288 8.2719845	50.2848377 8.2741634	500	5	1000	3

Nr.	Name	Koordinaten renaturierter Abschnitt	Koordinaten Kontrollabschnitt	Distanz	Typ	Länge	Alter
7	Gilsa	50.9969306 9.1322554	50.9958535 9.1211442	760	5	700	3
8	Walluf	50.0494751 8.1248465	50.0512042 8.1224397	355	5	< 400	3
9	Wern	49.9839697 10.1382385	49.9902927 10.1377693	610	6	820	4
10	Westerbach	50.1294661 8.5884664	50.1247167 8.5934344	455	6	720	4

Nr.: Nummer des untersuchten Gewässers, Distanz: Distanz zwischen renaturierter Strecke und Kontrollabschnitt in Metern, Typ: Fließgewässertyp, Länge: Länge des renaturierten Abschnittes in Metern, Alter: Alter der Maßnahme in Jahren

Die Beprobung der Gewässerabschnitte erfolgte zwischen März und Juni in den Jahren 2022 und 2023. Die erste Beprobung umfasste fünf Renaturierungsprojekte, deren Umsetzungen mehr als zehn Jahre vor der vorliegenden Untersuchung zurück liegen. Dies betraf die Bäche Asphe (1), Bieber (2), Fohnbach (3), Josbach (4) und Würf (5). Das Alter der Renaturierungsmaßnahmen (Zeitraum zwischen Abschluss der Maßnahmen und Beprobung) lag zwischen 13 und 29 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von  $22 \pm 7$  Jahren. Die Länge der renaturierten Abschnitte betrug mindestens 1100 m. Die zweite Beprobungskampagne umfasste ebenfalls fünf Renaturierungsprojekte, nämlich die Flüsse Emsbach (6), Gilsa (7), Walluf (8), Wern (9) und Westerbach (10). Diese Projekte wiesen ein durchschnittliches Alter von  $3,4 \pm 0,5$  Jahren auf, und die Länge der renaturierten Abschnitte reichte von 400 bis 3700 m.

Innerhalb eines jeden Renaturierungsprojekts wurde ein renaturierter Abschnitt für die Untersuchung ausgewählt sowie ein entsprechender, nicht-renaturierter Kontrollabschnitt, der 355 bis 1270 m oberhalb des renaturierten Abschnitts lag. Die Kontrollabschnitte wurden sorgfältig ausgewählt, um den Zustand der renaturierten Abschnitte vor der Renaturierung in Bezug auf Gewässertyp, Gewässerordnung, Wasserqualität und lokale Landnutzungsmuster zu repräsentieren. Dabei wurde darauf geachtet, dass keine Zuflüsse von Nebenflüssen, Punktquellen, Seen, Fischteichen oder Stauanlagen zwischen den beiden Abschnitten lagen.

**Tabelle 4: Umgesetzte Renaturierungsmaßnahmen**

Nr.	Name	Kurz
1	Asphe	Anhebung der Sohle; Abriss von Wehren; Installation von Strukturelementen
2	Bieber	Schaffung von Stillwasserzonen; Sicherung der Auenwaldsukzession; Entfernung von Flussbett- und Uferbefestigungen
3	Fohnbach	Schaffung einer sekundären Uferzone; Belassen von naturnahen Strukturelementen und Uferabbrüchen; Erhöhung der Strukturvielfalt; Entfernung von unnatürlicher Bett- und Uferstabilisierung
4	Josbach	Zugabe von Totholz und Anhebung der Sohle; natürliche Gewässerentwicklung; Wiederanbindung der Aue
5	Würf	Zugabe von Totholz und Kies; Bau von Flach- und Tiefwasserzonen; Schaffung von steilen und flachen Uferbereichen; Unterstützung der Ufervegetation; Entwicklung von Auenstrukturen
6	Emsbach	Entfernung von Hindernissen; Anhebung der Sohle; Zugabe von Totholz; Einführung von Strömungsdeflektoren; Installation einer rauen Rampe im rechten Uferbereich; Schaffung von Nebengewässern
7	Gilsa	Schaffung eines neuen Gewässers; Anhebung der Sohle; Zugabe von Totholz; Einbau von Strömungsdeflektoren; Verlängerung des Gewässerverlaufs
8	Walluf	Schaffung eines neuen Gewässers, Zugabe von Totholz und Anhebung der Sohle; natürliche Gewässerentwicklung; Wiederanbindung der Aue
9	Wern	Schaffung und Verlängerung eines neuen Gewässerverlaufs; Verbreiterung der Uferzone; Schaffung von Überflutungszonen; Zulassen der Ufererosion
10	Westerbach	Schaffung eines neuen Gewässerverlaufs; Wiederanbindung der Aue

### 4.3 Untersuchungsprogramm

In allen zehn renaturierten Abschnitten und Kontrollabschnitten wurden, wie in Kapitel 2 beschrieben, Wasser- und Sedimentproben entnommen, die effektbasierten Monitoringmethoden angewendet, die benthischen Invertebraten aufgenommen, die Gewässerstruktur bewertet und gewässerchemische Analysen durchgeführt.

#### 4.3.1 Berechnung der relativen ökotoxikologischen Aktivitäten

Um zu überprüfen, inwiefern die Ergebnisse der Bioassays mit dem ökologischen Zustand in Einklang zu bringen sind, wurde der prozentuale Anteil der relativen ökotoxikologischen Aktivitäten für Sedimentproben berechnet, basierend auf den durch die Bioassays definierten Endpunkten (Abbildung 20). Für die Hefe-Reporter-Gen-Assays (YES, YDS) und den FET mit *Danio rerio* wurden die gemessenen Aktivitäten durch die maximale im Assay bestimmte Aktivität dividiert. Beim Microtox- und AREc32-Assay wurde der niedrigste Effektwert für die Berechnung verwendet, da niedrigere EC<sub>50</sub>- und IR-Werte auf eine höhere Toxizität hinweisen. Im Ames-Fluktuationstest wurden Proben, die in mindestens einem der getesteten Stämme, mit oder ohne Metabolisierung, aktiv waren, einer Aktivität von 100 % zugeordnet. Die Bewertung der reprotoxischen Effekte mit *P. antipodarum* basierte auf den Abweichungen in der Embryoanzahl von der Negativkontrolle.

### 4.3.2 Statistische Analysen

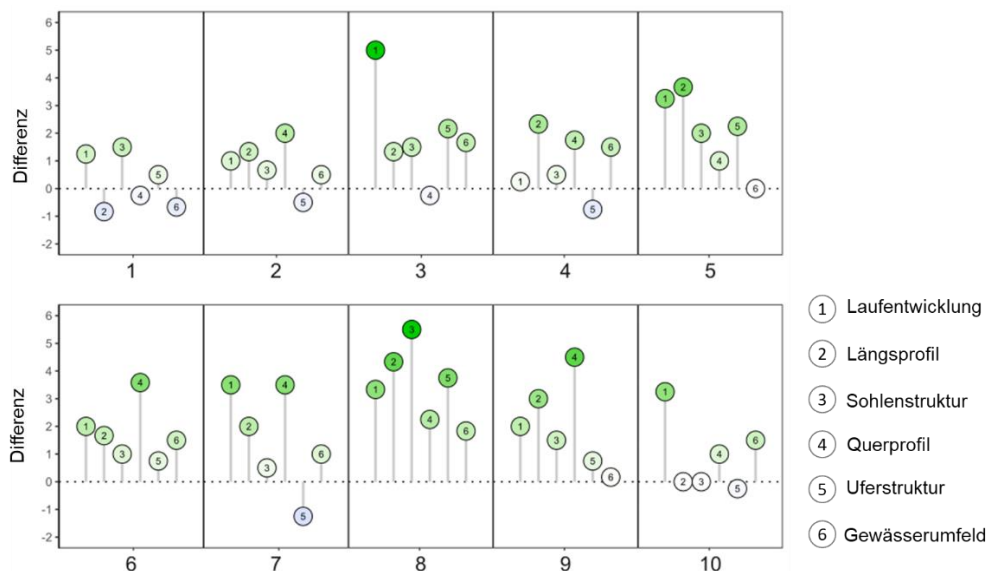
Die statistischen Analysen wurden mit der Software Microsoft Excel® 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) und GraphPad Prism®, v. 10.03.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) durchgeführt. Der Einfluss von Renaturierungsmaßnahmen auf ökologische Kennwerte und ökotoxikologische Effekte wurde durch den Vergleich der Ergebnisse aus den restaurierten und Kontrollabschnitten mittels gepaarter Wilcoxon-Tests bewertet. Um zu testen, ob das Alter der Renaturierung (jung vs. alt) oder der Renaturierungsstatus (Kontroll- vs. renaturierter Abschnitt) einen größeren Einfluss auf die Toxizitätsparameter hatte und ob Wechselwirkungen zwischen beiden Faktoren vorlagen, wurde eine zweifaktorielle ANOVA mit anschließendem Tukey-Post-hoc-Test durchgeführt. Der Einfluss des zunehmenden Renaturierungsalters auf die Veränderung ökologischer und ökotoxikologischer Parameter wurde durch eine einfache lineare Regressionsanalyse auf lineare Trends untersucht. Eine multiple lineare Regressionsanalyse wurde berechnet, um den Einfluss von Korngröße, Glühverlust und PAK-Konzentrationen auf dioxinartige Aktivitäten zu bewerten.

## 4.4 Ergebnisse

### 4.4.1 Unterschiede in der Morphologie und ökologische Reaktionen auf die Renaturierung

Es wurde analysiert, inwiefern die Gewässerstruktur an den renaturierten Abschnitten besser bewertet wurde, als an den Kontrollabschnitten. Die Ergebnisse variierten stark zwischen den betrachteten Bächen und Hauptparametern (Abbildung 18). Renaturierte Abschnitte wiesen an allen Standorten für mindestens fünf von sechs Hauptparametern höhere Werte auf, mit Ausnahme von Gewässer Nr. 1 (Asphe), wo nur drei Indizes eine positive Veränderung zeigten.

**Abbildung 18: Unterschiede in der Gewässerstrukturgüte an Kontroll- und renaturierten Abschnitten der zehn Untersuchungsgewässer**



Die sechs Hauptparameter, welche im Rahmen der Strukturgütekartierung unterschieden werden, sind durch nummerierte Punkte dargestellt. Die Differenz der Strukturgüte ergibt sich aus dem Ergebnis des renaturierten Abschnittes minus des Ergebnisses des Kontrollabschnittes. Positive, in grün gekennzeichnete, Werte repräsentieren eine bessere Strukturgüte im renaturierten Abschnitt, negative, in blau gekennzeichnete, Werte repräsentieren eine bessere Strukturgüte im Kontrollabschnitt. Im Hinblick auf die Nummer des Gewässers siehe Tabelle 3.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Die Strukturgütekategorie der renaturierten Abschnitte lag im Mittel bei  $3,67 \pm 0,62$ , die der Kontrollabschnitte bei  $5,15 \pm 1,02$ . Da ein niedrigerer Wert einer besseren Strukturgüte entspricht, weist die durchschnittliche Veränderung von  $-1,48 \pm 1,06$  zwischen den Kontroll- und renaturierten Abschnitten auf eine signifikant bessere Habitatstruktur an den renaturierten Abschnitten hin ( $p = 0,006$ ) (Tabelle 5). Keine signifikanten Veränderungen wurden im MMI und im Prozentsatz der EPT-Taxa beobachtet, während der Shannon-Wiener-Index an renaturierten Standorten mit  $2,57 \pm 0,62$  höhere Werte aufwies als an Kontrollstandorten ( $2,22 \pm 0,60$ ). Dies führte zu einer signifikanten ( $p = 0,025$ ) mittleren Differenz von  $0,35 \pm 0,37$ .

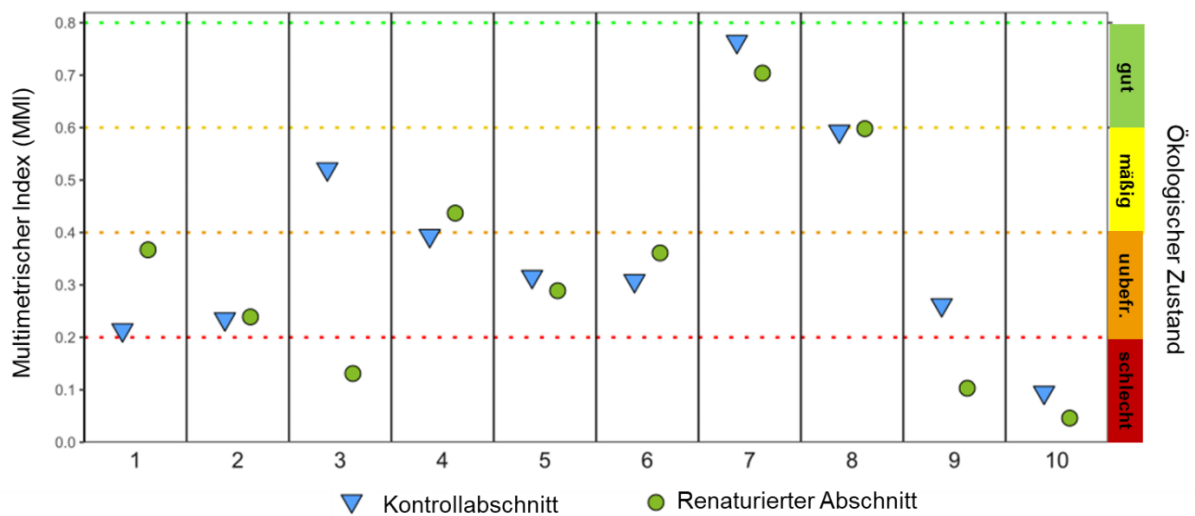
**Tabelle 5: Struktur, MMI, %EPT, Shannon-Wiener-Index und ökotoxikologische Effekte in Sedimentproben der Kontroll- und renaturierten Abschnitte**

Angegeben sind die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung aller zehn Kontroll- und renaturierten Abschnitte sowie die mittlere Differenz (renaturiert minus Kontrolle), Signifikanz (gepaarter Wilcoxon-Test) und die Anzahl der Projekte mit negativen (N-) und positiven (N+) Differenzen der Metrics. Signifikanzniveau (p-Wert) \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

Metric	Kontrollabschnitt	Renaturierter Abschnitt	Differenz	p-Wert	N-	N+
Struktur	$5,15 \pm 1,02$	$3,67 \pm 0,62$	$-1,48 \pm 1,06$	0,006**	9	1
MMI	$0,37 \pm 0,20$	$0,33 \pm 0,21$	$-0,04 \pm 0,15$	0,557	5	5
EPT [%]	$18,2 \pm 19,3$	$20,8 \pm 18,4$	$2,60 \pm 5,94$	0,322	3	7
Shannon-Wiener-Index	$2,22 \pm 0,60$	$2,57 \pm 0,62$	$0,35 \pm 0,37$	0,025*	3	7
Mikrotox: EC <sub>50</sub> [mg SEQ]	$17,3 \pm 14,4$	$16,1 \pm 9,61$	$-1,28 \pm 14,3$	> 0,999	4	6
AREc32: IR 3 [mg SEQ]	$6,52 \pm 1,02$	$5,91 \pm 2,64$	$-0,61 \pm 3,18$	0,695	5	5
YES: E2-Eq [ng g <sup>-1</sup> ]	$1,20 \pm 0,63$	$1,08 \pm 0,59$	$-0,12 \pm 0,68$	0,418	3	7
YDS: $\beta$ -NF-Eq [ $\mu$ g g <sup>-1</sup> ]	$14,8 \pm 15,7$	$6,35 \pm 6,50$	$-8,44 \pm 13,1$	0,084	7	3

Der MMI für Kontroll- und renaturierte Abschnitte war in sieben von zehn Gewässern nur geringfügig unterschiedlich (Abbildung 19). Lediglich in den Gewässern Asphe (1), Fohnbach (3) und Wern (9) waren deutliche Unterschiede zu verzeichnen. Während bei der Asphe (1) ein besseres Bewertungsergebnis im renaturierten Abschnitt erzielt werden konnte, schneiden die beiden renaturierten Bereiche im Falle des Fohnbachs (3) und der Wern (9) im renaturierten Bereich schlechter ab als im Kontrollabschnitt. Den „guten“ ökologischen Zustand erreichte lediglich die Gilsa (7) und dies sowohl im Kontroll- als auch im renaturierten Abschnitt. Insgesamt zeigen die Artgemeinschaften keinen einheitlichen Trend hin zu einem verbesserten ökologischen Zustand in den renaturierten Abschnitten.

**Abbildung 19: Ökologischer Zustand an Kontroll- und renaturierten Abschnitten der zehn Untersuchungsgewässer**



Multimerischer Index und ökologische Zustandsklasse an den verschiedenen Probenahmestellen der zehn Untersuchungsgewässer. Die gestrichelten Linien zeigen die Schwellenwerte für die ökologischen Zustandsklassen „schlecht“ (rot), „unbefriedigend“ (orange), „mäßig“ (gelb) und „gut“ (grün). Blaue Dreiecke stehen für Kontroll- und grüne Kreise für renaturierte Abschnitte. Im Hinblick auf die Nummer des Gewässers siehe Tabelle 3.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

#### 4.4.2 Vergleich der ökotoxikologischen Aktivitäten von Wasser- und Sedimentproben

Der Vergleich der ökotoxikologischen Aktivitäten in Sedimenten von Kontroll- und renaturierten Abschnitten aller Probestellen ergab keine signifikanten Unterschiede in der Basistoxizität ( $EC_{50}$  [mg SEQ]), der oxidativen Stressreaktion (IR3 [mg SEQ]), der estrogenen Aktivität ( $E_2$ -Eq [ng/g]) und der dioxinähnlichen Aktivität ( $\beta$ -NF-Eq [ $\mu$ g/g]). Die Effekte waren zwischen den Kontroll- und renaturierten Abschnitten ausgeglichen, mit sowohl positiven als auch negativen Veränderungen. Eine starke negative Verschiebung ( $p = 0,084$ ) und damit eine Verringerung der Toxizität in renaturierten Abschnitten wurde bei der dioxinähnlichen Aktivität der Sedimente beobachtet (Tabelle 5).

Zur Visualisierung der ökotoxikologischen Aktivitäten wurden die Bioassay-Ergebnisse in ökotoxikologische Zustandsklassen bzw. in eine Heatmap überführt. Auf dieser Basis können die Toxizitätsreaktionen zwischen den Kontroll- und renaturierten Abschnitten jedes Restaurierungsprojekts bewertet werden (Abbildung 20).

**Abbildung 20: Ökotoxikologische Zustandsklassen der bewerteten Wasser- und Sedimentproben aus alten (1–5) und jungen (6–10) Restaurierungsprojekten**

Gewässer Nr.	Microtox		YES		YDS		Ames		AREc32		FET		Reprodukt.		
	K	R	K	R	K	R	K	R	K	R	K	R	K	R	
Wasser		EC <sub>50</sub> [REF]		E2-Eq [ng/L]		β-NF-Eq [µg/L]		Revertanten [%]		EC <sub>IR1.5</sub> [REF]				# Embryonen	
	1	190,00	191,00	0,15	0,17	0,07	0,13	n.d.	n.d.	1,81	2,07			23,60	24,10
	2	300,00	300,00	0,18	0,13	0,04	0,07	n.d.	n.d.	2,30	2,07			25,30	26,80
	3	192,00	300,00	0,06	0,20	0,06	0,05	n.d.	n.d.	1,32	1,57			25,30	22,40
	4	300,00	300,00	0,02	0,49	0,02	0,03	n.d.	n.d.	2,68	2,10			23,90	24,70
	5	300,00	300,00	0,14	0,12	0,08	0,06	n.d.	n.d.	1,58	0,73			25,40	21,10
	6	300,00	300,00	0,04	0,09	0,02	0,03	n.d.	n.d.	2,02	1,51			12,50	14,80
	7	300,00	300,00	0,15	0,12	0,04	0,05	n.d.	n.d.	1,54	0,43			14,10	12,00
	8	300,00	300,00	0,03	0,06	0,05	0,05	n.d.	n.d.	2,12	1,75			14,80	16,70
	9	300,00	300,00	0,18	0,24	0,07	0,08	n.d.	n.d.	1,54	0,33			18,50	16,50
10	300,00	300,00	0,21	0,11	0,06	0,06	n.d.	n.d.	1,38	1,09			13,90	12,80	
Sedimente		EC <sub>50</sub> [mg SEQ]		E2-Eq [ng/g]		β-NF-Eq [µg/g]		Revertanten [%]		EC <sub>IR3</sub> [mg SEQ]		Effekt [%]		# Embryonen	
	1	7,48	6,83	2,20	2,17	6,96	5,47	n.d.	n.d.	7,33	4,80	30,00	35,00	23,60	24,10
	2	9,52	25,30	1,19	1,41	44,80	20,50	>20,8	n.d.	5,31	6,72	45,00	25,00	25,30	26,80
	3	21,00	31,70	1,40	1,10	39,40	1,43	>20,8	>20,8	5,82	8,61	60,00	40,00	25,30	22,40
	4	56,00	26,50	0,61	0,58	2,42	2,82	n.d.	n.d.	5,58	7,94	15,00	20,00	23,90	24,70
	5	3,90	11,30	1,84	1,05	23,40	14,00	n.d.	n.d.	5,33	4,42	35,00	90,00	25,40	21,10
	6	22,40	4,94	0,44	1,96	6,10	7,89	>20,8	>20,8	8,30	2,53	10,00	15,00	12,50	14,80
	7	9,16	21,90	1,41	0,39	1,21	0,32	>20,8	>20,8	6,27	11,00	15,00	15,00	14,10	12,00
	8	16,40	19,90	0,38	0,45	5,36	7,09	>20,8	>20,8	7,80	5,96	5,00	20,00	14,80	16,70
	9	6,14	7,35	1,90	1,10	10,80	0,56	>20,8	n.d.	6,21	1,83	15,00	70,00	18,50	16,50
10	21,30	4,75	0,61	0,59	7,39	3,38	>20,8	n.d.	7,30	5,33	25,00	95,00	13,90	12,80	

**Ökotoxikologische Zustandsklasse**

 sehr gut	 unbefriedigend	 geringe Aktivität	 hohe Aktivität
 gut	 schlecht		
 mäßig			

Die Ergebnisse sind angegeben für die Kontroll- (K) und renaturierten (R) Abschnitte. Die Ergebnisse der Bioassays Mikrottox, YES, YDS und Ames wurden in ökotoxikologische Zustandsklassen überführt (vgl. Kapitel 2.1.3). Für den AREc32 Assay, den FET und den Reproduktions-Test mit *P. antipodarum* liegen keine Klassengrenzen vor (vgl. Kapitel 2.1.3), so dass für diese Tests die gewählte Farbskala die Intensität der Aktivität repräsentiert. Graue Zellen bedeuten, dass keine Daten erhoben wurden. Die Tiere für den Reproduktions-Test wurden Wasser und Sediment simultan ausgesetzt, so dass die Ergebnisse für beide Kompartimente identisch sind. n.d.: nicht gentoxisch. Im Hinblick auf die Nummer des Gewässers siehe Tabelle 3. Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

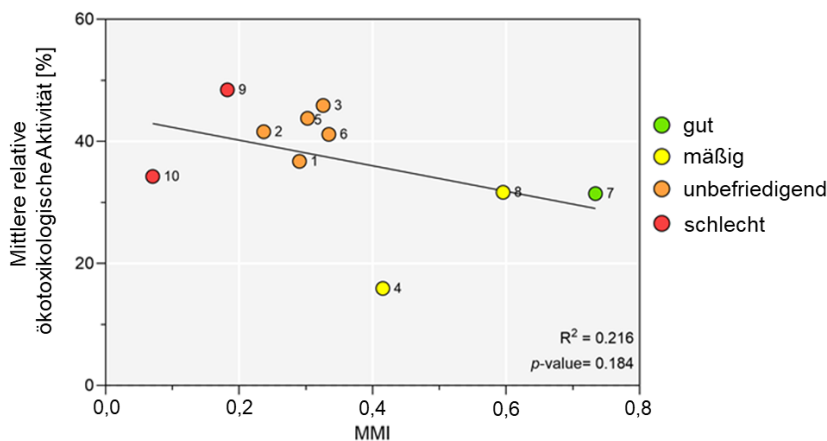
Der Microtox-Assay zeigte, dass drei Wasserproben aktiv waren, mit einem durchschnittlichen REF von 191, allerdings entsprechen diese drei aktiven Proben, wie auch allen anderen Wasserproben, dem „sehr guten“ ökotoxikologischen Zustand. Im Gegensatz dazu waren alle Sedimentproben aktiv, und bis auf eine Ausnahme als „schlecht“ bewertet. Im YES-Assay war die Aktivität in den Wasserproben, bis auf eine Ausnahme, vergleichsweise gering und als „sehr gut“ oder „gut“ bewertet. Die Ausnahme bildet der Josbach (Stelle Nr. 4), der mit einem E2-Eq von 0,49 ng/L im renaturierten Abschnitt eine leicht höhere Aktivität aufwies als der durchschnittliche jährliche Umweltqualitätsstandard (AA-EQS) von 0,4 ng/L für 17β-Estradiol (Kunz et al. 2015).

Im YDS-Assay wurde ein ähnliches Muster beobachtet. Auch hier waren die Wasserproben unauffällig und mit „sehr gut“ und „gut“ bewertet. Die Sedimentproben zeigten im YDS jedoch

eine deutlich stärkere Aktivität als in den Wasserproben. Lediglich zwei Sedimentproben wurden als „gut“ bewertet (renaturierter Abschnitt an der Gilsa (Stelle Nr. 7) und am Kontrollabschnitt der Walluf (Stelle Nr. 8). Alle übrigen Sedimentproben wurden als „mäßig“ oder schlechter eingestuft. Der Ames-Test zeigte kein mutagenes Potential für die Wasserproben, während mehr als die Hälfte der Sedimentproben aktiv war. Die Bewertung der reprotoxischen Effekte mittels *P. antipodarum* ergab keine auffälligen Abweichungen von der Negativkontrolle. In diesem Test wurden kombinierte Wasser-/Sedimentproben mit wöchentlichem Wasserwechsel verwendet, sodass Wasser- und Sedimentproben derselben Kategorie zugeordnet wurden. Im FET wurden kumulative embryotoxische Effekte (sublethal und letal) von bis zu 95 % im renaturierten Abschnitt von Gewässer 10 festgestellt. Die renaturierten Abschnitte zeigten leicht höhere Aktivitätsniveaus als die Kontrollabschnitte.

Insgesamt wird die toxikologische Aktivität in den Sedimentproben deutlich schlechter bewertet als die der Wasserproben. Die Mehrzahl der Sedimentproben wies durchgehend hohe toxische Aktivitäten auf, die in den meisten Bioassays als „mäßig“ bis „schlecht“ kategorisiert wurden. In den Wasserproben zeigten die meisten Standorte überwiegend niedrige bis moderate Aktivitäten in den verschiedenen Bioassays. Die Ergebnisse der Makrophyten-Tests deuteten allerdings auf phytotoxische Effekte in einigen Wasserproben aus renaturierten Bereichen hin (siehe Anhang A.2.2).

**Abbildung 21: Lineare Regressionsanalyse der mittleren relativen ökotoxikologischen Aktivitäten der Sedimentproben und der mittleren MMI-Scores aus alten (1–5) und jungen (6–10) Renaturierungsprojekten**



Farbig gekennzeichnet sind die ökologischen Zustandsklassen „gut“ (grün), „mäßig“ (gelb), „unbefriedigend“ (orange) und „schlecht“ (rot), die den renaturierten Abschnitten jedes Baches zugeordnet wurden. Die Güte des Modells ( $R^2$ ) und das Signifikanzniveau ( $p$ -value) sind angegeben.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

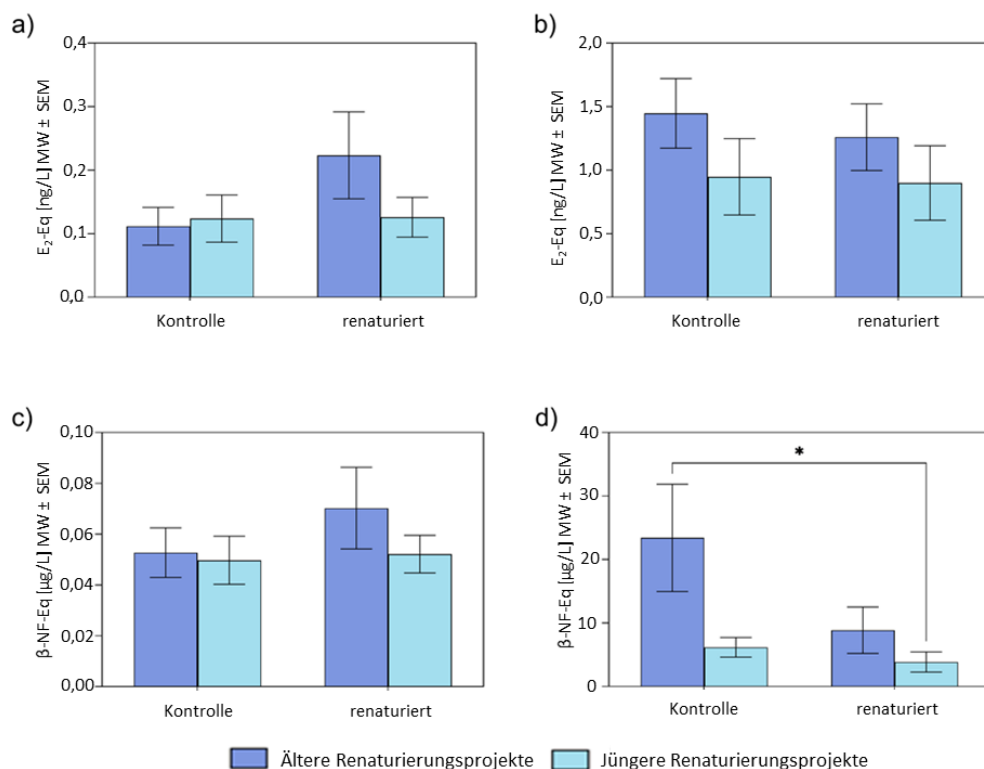
Um Trends zwischen toxischen Aktivitäten und dem ökologischen Zustand zu identifizieren, führten wir eine lineare Regressionsanalyse durch. Konkret wurden die mittleren relativen Aktivitäten der Sedimentproben (vgl. Kapitel 4.3.1) und die MMI-Scores gegeneinander in einem Scatterplot aufgetragen. Obwohl das Ergebnis für die lineare Regression nicht signifikant war, zeigten die Analyseergebnisse (Abbildung 21), dass die Probennahmestellen mit höheren mittleren relativen Aktivitäten auch der niedrigsten MMI-Bewertung und folglich den schlechtesten ökologischen Zustandsklassen entsprechen.

#### 4.4.3 Einfluss des Renaturierungsalters auf die Toxizität in Kontroll- und renaturierten Abschnitten

Der Einfluss des Renaturierungsalters (alt vs. jung) und des Renaturierungsstatus (Kontrolle vs. renaturiert) auf ökotoxikologische Effekte wurde mittels einer zweifaktoriellen ANOVA analysiert. Für Wasserproben wurde kein signifikanter Effekt des Renaturierungsalters, der Probennahmestelle oder der Interaktion zwischen diesen Faktoren in den verschiedenen Bioassays festgestellt.

Die Analyse der Sedimentproben ergab einen signifikanten Einfluss des Alters auf die in YDS gemessene dioxinähnliche Aktivität (21,0 %,  $p = 0,032$ ). In älteren Renaturierungsprojekten wurde eine mittlere dioxinähnliche Aktivität von  $16,1 \mu\text{g } \beta\text{-NF-Eq/g}$  festgestellt, während in jüngeren Projekten eine Konzentration von  $5,01 \mu\text{g } \beta\text{-NF-Eq/g}$  gemessen wurde, was zu einer durchschnittlichen Differenz von  $11,1 \pm 4,73 \mu\text{g } \beta\text{-NF-Eq/g}$  führte. Statistisch signifikante Unterschiede wurden zwischen den Kontrollabschnitten der alten Renaturierungen und den restaurierten Abschnitten der jungen Renaturierungen beobachtet ( $p = 0,044$ ) (siehe Abbildung 22d). Die dioxinähnliche Aktivität in jungen renaturierten Abschnitten ( $3,85 \pm 1,59 \mu\text{g } \beta\text{-NF-Eq/g}$ ) war signifikant niedriger als in den Kontrollabschnitten der alten Renaturierungen ( $23,4 \pm 8,44 \mu\text{g } \beta\text{-NF-Eq/g}$ ). Weitere signifikante Effekte der Probennahmestelle oder der Interaktion der beiden Faktoren wurden nicht festgestellt.

**Abbildung 22: Mittlere estrogene und dioxinähnliche Aktivitäten in Bezug auf die Probennahmestelle und das Renaturierungsalter**

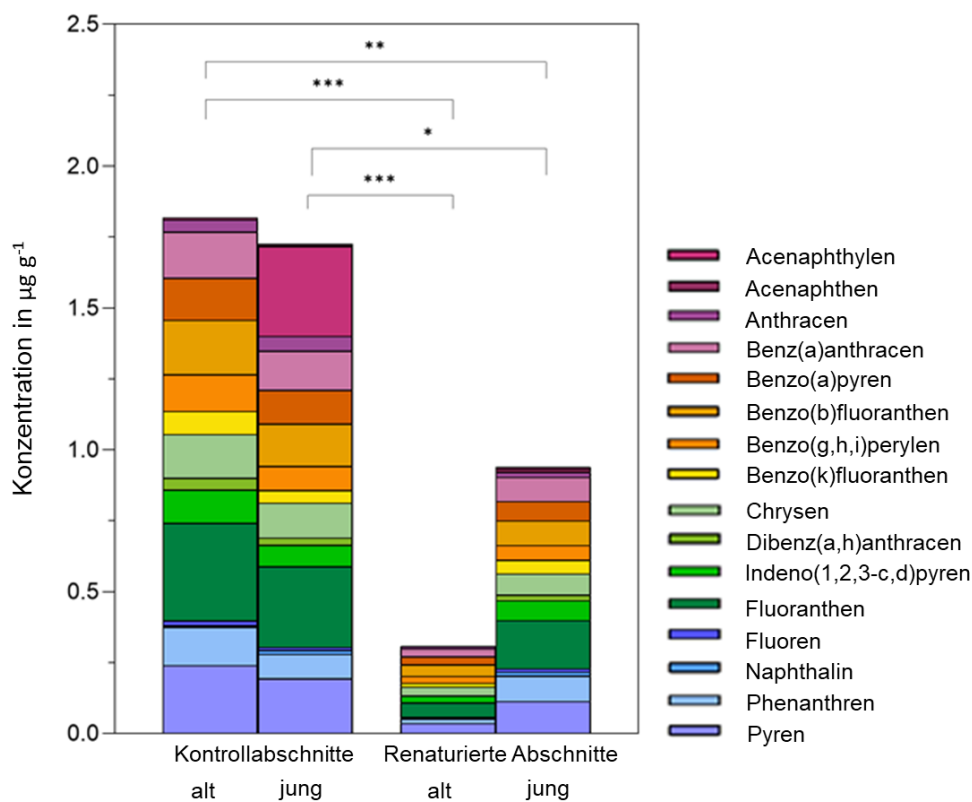


Die estrogene Aktivität in a) Wasser- und b) Sedimentproben wird als 17β-Estradiol-Äquivalente (E<sub>2</sub>-Eq) aus drei unabhängigen Replikaten ausgedrückt. Die dioxinähnliche Aktivität in c) Wasser- und d) Sedimentproben wird als β-Naphthoflavin-Äquivalente (β-NF-Eq) aus drei unabhängigen Replikaten angegeben. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar. Die Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (zweifaktorielle ANOVA mit Tukey-Test, \* $p < 0,05$ ). MW: Mittelwert. SEM: Standardfehler des Mittelwertes.

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

Die Analyse der PAK-Kontamination zeigte einen signifikanten Einfluss von Alter und Renaturierungsstatus (26,8 %,  $p < 0.001$ ) (Abbildung 23). Die gesamte PAK-Konzentration in den renaturierten Abschnitten der alten Renaturierungen betrug  $0,31 \mu\text{g/g}$  und war signifikant niedriger als in den jeweiligen Kontrollabschnitten ( $1,82 \mu\text{g/g}$ ) ( $p < 0.001$ ). Ebenso wurden signifikant niedrigere PAK-Konzentrationen von  $0,94 \mu\text{g/g}$  in den restaurierten Abschnitten der jungen Renaturierungen im Vergleich zu den Kontrollabschnitten der alten Renaturierungen festgestellt ( $p = 0,001$ ). Die Kontrollabschnitte der jungen Renaturierungen wiesen eine signifikant höhere PAK-Belastung ( $1,73 \mu\text{g/g}$ ) auf als die renaturierten Abschnitte der alten Renaturierungen ( $p < 0,001$ ) und die renaturierten Abschnitte der jungen Renaturierungen ( $p = 0,020$ ). Zwischen den Kontroll- und renaturierten Abschnitten unterschiedlichen Alters wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

**Abbildung 23: Belastung durch PAKs an Kontroll- und renaturierten Abschnitten**



Summe der PAK-Konzentrationen, dargestellt als mittlere Konzentrationen von Substanzen, die in Sedimenten aus Kontroll- und renaturierten Abschnitten von alten und jungen Renaturierungsprojekten (jeweils  $n = 5$ ) gefunden wurden, angegeben in  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Die Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (zweifaktorielle ANOVA mit Tukey-Test, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

Quelle: eigene Darstellung, Senckenberg / Goethe Universität

#### 4.4.4 Zeitliche Trends ökologischer und ökotoxikologischer Unterschiede

Mithilfe einer einfachen linearen Regressionsanalyse wurde untersucht, inwiefern lineare Trends in ökologischen Kennwerten und ökotoxikologischen Aktivitäten in Abhängigkeit vom Renaturierungsalter vorliegen. Hierbei konnte keine signifikante lineare Beziehung festgestellt werden. Die Gewässerstrukturgüte wies eine negative Korrelation mit dem Renaturierungsalter auf ( $p = 0,118$ ). Dies bedeutet, dass mit zunehmender Dauer der Renaturierung die Veränderungen in hydromorphologischen Indizes sowie die damit verbundene

Habitatverbesserung zwischen den Kontroll- und renaturierten Abschnitten tendenziell geringer ausfielen. Für die estrogene Aktivität wurde ein leichter, jedoch statistisch nicht signifikanter positiver Trend beobachtet ( $p = 0,093$ ), was auf eine Zunahme der Aktivität mit steigendem Renaturierungsalter hindeutet. Umgekehrt zeigte die oxidative Stressreaktion ebenfalls einen negativen, jedoch nicht signifikanten Trend mit erhöhter Aktivität in den jüngeren Projekten ( $p = 0,169$ ).

## 4.5 Diskussion

### 4.5.1 Einfluss von Renaturierungsmaßnahmen auf die Habitatqualität und Makroinvertebratengemeinschaften

Das erste Ziel dieser Studie war die Bewertung des Einflusses von Renaturierungen auf die Gewässerstrukturgüte und die Makroinvertebratengemeinschaften. Unsere Ergebnisse zeigten, dass die Renaturierung zu einer signifikanten Verbesserung der Habitatstruktur führte. Unter der Annahme, dass eine höhere Habitatvielfalt mit einer gesteigerten Biodiversität einhergeht (Palmer et al. 2010), deuten die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass die Renaturierungsmaßnahmen durch eine Erhöhung der strukturellen Komplexität des Habitats ein günstiges Umfeld für aquatische Organismen geschaffen haben (Soukup et al. 2022). Dennoch konnte kein positiver Einfluss der Renaturierungsmaßnahmen auf den %EPT-Wert oder den MMI festgestellt werden. Der mittlere MMI der Probenahmestellen führte insgesamt sowohl in den Kontroll- als auch in den renaturierten Abschnitten zu einer „unbefriedigenden“ Zustandsklasse. Während der Shannon-Wiener-Index eine signifikante positive Veränderung zeigte, ist dieser weniger geeignet, um die Auswirkungen von Umweltfaktoren auf benthische Invertebratengemeinschaften vorherzusagen als der MMI oder %EPT (Sundermann et al. 2013). Die Ergebnisse zeigen daher keine konsistente Beziehung zwischen der Habitatstruktur und der ökologischen Qualität der Invertebraten, was mit den Ergebnissen früherer Studien übereinstimmt (Jähnig et al. 2010; Haase et al. 2013; Friberg et al. 2014; Leps et al. 2016).

### 4.5.2 Ökotoxikologische Aktivität von Wasser- und Sedimentproben

Das zweite Ziel dieser Studie war die Identifizierung ökotoxikologischer Aktivitäten in Wasser- und Sedimentproben aus Kontroll- und renaturierten Abschnitten sowie die Untersuchung dieser Aktivitäten in Bezug auf den ökologischen Zustand.

Bei der ökotoxikologischen Bewertung der Sedimente wurden im Durchschnitt aller untersuchten Projekte keine signifikanten Unterschiede in der Toxizität zwischen Kontroll- und renaturierten Abschnitten festgestellt. Auffällig war allerdings, dass der ökotoxikologische Zustand der Sedimente deutlich schlechter ausfiel als für die Wasserproben. Einige chemische Stressoren können aus der Wassersäule relativ schnell verschwinden, jedoch im Sediment bestehen bleiben. Benthische Organismen, die in direktem Kontakt mit dem Sediment stehen, können daher langfristige Auswirkungen erleiden, während Populationen, die sich hauptsächlich in der Wassersäule befinden, sich möglicherweise schneller erholen (Gergs et al. 2016). Zu den Substanzen, die sich an Sedimente binden, zählen u.a. die PAKs wie Benzo(a)pyren, Chrysen und Dibenz(a,h)anthracen (Macikova et al. 2014; Boonen et al. 2020; Johann et al. 2024). Dies legt nahe, dass trotz reduzierter Aktivitäten in den renaturierten Abschnitten weiterhin nachteilige Effekte auf benthische Organismen an den untersuchten Standorten wahrscheinlich sind (Nakata et al. 2014; De Castro-Català et al. 2016; Jesus et al. 2022). PAK-Exposition kann oxidativen Stress und Zellschäden hervorrufen, was sich beispielsweise morphologisch an den Kiemen auswirken kann und die Entwicklung, den Fortpflanzungserfolg sowie die Populationsdynamik von Makroinvertebraten beeinträchtigen

kann (Onyena et al. 2024). Daher stellt die schlechte Qualität der Sedimente ein erhebliches Hindernis für den Erfolg struktureller Renaturierungsprojekte dar (Feld et al. 2011; Leitner et al. 2015; Brettschneider et al. 2023).

Es bleibt jedoch unklar, ob die beobachteten Effekte auf die Störung und anschließende Freisetzung von Schadstoffen während und nach der Bauphase (Brettschneider et al. 2019a; Steevens et al. 2020), auf Bioturbation durch sedimentbewohnende Organismen (Gkika et al. 2024), auf den Einfluss unterschiedlicher Substrattypen und Fließgeschwindigkeiten (Eggleton und Thomas 2004; McKenzie et al. 2024) oder auf andere Faktoren zurückzuführen sind. Zusätzlich sind renaturierte Gewässerabschnitte weiterhin anthropogenen Einflüssen ausgesetzt, darunter künstliche Entwässerungssysteme durch forst- und landwirtschaftliche Praktiken, die zu einer Verschlechterung der Wasser- und Sedimentqualität beitragen können (Leitner et al. 2023; Schürings et al. 2024). Die Landnutzung in den Einzugsgebieten der untersuchten Flüsse ist durch eine Vielzahl anthropogener Einflüsse geprägt, darunter intensive Landwirtschaft, Forstwirtschaft und urbane Gebiete. Dadurch gelangen verschiedene organische Mikroverunreinigungen wie Arzneimittel und industrielle Verbindungen sowohl aus Punktquellen wie Abwassereinleitungen (Hörchner et al. o.J.) als auch aus diffusen Quellen wie landwirtschaftlichen Abflüssen in die untersuchten Flüsse (Hörchner et al. 2024).

Unabhängig davon, worauf die Belastung der Probestellen zurückzuführen ist, bleibt festzuhalten, dass die Probenahmestellen in mehreren Bioassays der Sedimentproben als „mäßig“ oder schlechter bewertet wurden. Die niedrigsten Aktivitäten wurden an den Standorten 7 und 8 gemessen (Abbildung 20). Zumindest der Kontroll- oder renaturierte Abschnitt dieser Stellen wurde entweder im YES oder YDS mit „gut“ bewertet. Neben den geringeren Aktivitätsniveaus handelte es sich hierbei auch um die Probenahmestellen mit den höchsten MMI-Werten (Abbildung 19). Standort 8 wurde im ökologischen Zustand als „mäßig“ eingestuft, während Standort 7 der einzige Standort war, der einen „guten“ ökologischen Zustand erreichte.

Dies deutet darauf hin, dass eine Wiederbesiedlung renaturierter Abschnitte insbesondere dann stattfindet, wenn keine oder lediglich eine geringe chemische Belastung vorliegt. Bemerkenswert ist, dass auch der Kontrollabschnitt von Standort 7 einen „guten“ ökologischen Zustand erreichte. Dies bedeutet, dass in diesem Abschnitt - trotz der veränderten Morphologie - eine hinreichend diverse Besiedlung durch benthische Invertebraten möglich war.

Damit zeigt unsere Studie, dass in renaturierten Flussabschnitten ohne morphologische Degradation andere Stressoren, insbesondere die Wasser- und Sedimentqualität, als zentrale Hindernisse für einen „guten“ ökologischen Zustand erkennbar werden. Ohne eine Reduzierung der chemischen Belastung bleibt eine Verbesserung benthischer Invertebraten unwahrscheinlich (Posthuma et al. 2020; Heß et al. 2023), weshalb Maßnahmen, die nur einzelne Stressoren adressieren, möglicherweise nicht ausreichen, um ökologische Risiken effektiv zu verringern (Schäfer et al. 2016).

#### **4.5.3 Einfluss des Renaturierungsalters und -status auf Toxizität und PAK-Kontamination**

Das dritte Ziel dieser Studie war die Bewertung des Einflusses des Renaturierungsalters (alt vs. jung) und des Renaturierungsstatus (Kontrolle vs. renaturiert) auf ökotoxikologische Effekte und chemische Belastungen in den Renaturierungsprojekten. Die in Sedimentproben gemessene dioxinähnliche Aktivität war der einzige Endpunkt, der einen signifikanten Einfluss des Renaturierungsalters zeigte. Junge renaturierte Abschnitte wiesen eine signifikant niedrigere

Aktivität auf als alte Kontrollabschnitte – auch wenn die Aktivität in beiden Kategorien hinsichtlich des ökotoxikologischen Zustands als „schlecht“ bewertet wurde.

Die hohe Aktivität in den alten Kontrollabschnitten war vermutlich auf die langjährige stärkere Kontamination dieser Standorte zurückzuführen. Johann et al. (2024) stellten fest, dass die natürliche Erholung dioxinähnlich belasteter Standorte von lokalen Umweltbedingungen abhängt und auf biologisch abbaubare sowie bioverfügbare Substanzen beschränkt ist. Darüber hinaus berichteten die Autoren, dass das dioxinähnliche Potential signifikant mit dem Anteil feiner Sedimentkörnung korrelierte, jedoch weniger mit dem gesamten organischen Gehalt. Diese Ergebnisse stimmen mit den Befunden der vorliegenden Studie überein, die signifikante Einflüsse sowohl der Korngröße als auch der PAK-Kontamination auf die dioxinähnliche Aktivität in den Sedimentproben zeigten (Anhang B.3). Demnach nahm die dioxinähnliche Aktivität mit abnehmender Korngröße und steigenden PAK-Konzentrationen zu.

Diese Beobachtungen sind nicht vollständig mit früheren Studien vereinbar, die darauf hinweisen, dass der organische Kohlenstoffgehalt ein wesentlicher Faktor für die Verteilung von PAKs (Jesus et al. 2022; Brinkmann et al. 2024) und dioxinähnlichen Effekten (Hilscherová et al. 2009; Macikova et al. 2014) ist. Die Sedimentkorngröße, insbesondere der Anteil an Feinsand, sowie der Gehalt an organischer Substanz sind ebenfalls wichtige strukturelle Faktoren für benthische Makroinvertebratengemeinschaften. Ein höherer Anteil grober Substrate steht dabei in signifikant positiver Korrelation mit der Artenvielfalt (Picanço et al. 2014; Leitner et al. 2015; Brettschneider et al. 2023). Die untersuchten Bäche zeigten geringe Unterschiede in der Korngröße zwischen den Kontroll- und renaturierten Abschnitten desselben Baches. Die durchschnittliche Korngröße der meisten Sedimentproben lag zwischen 0,4 und 2,0 mm, was den Kategorien von mittlerem bis grobem Sand entspricht. Daher scheint der Erfolg der Renaturierungsmaßnahmen in dieser Studie nicht durch den Eintrag oder einen übermäßig hohen Anteil feiner Sedimente gefährdet zu sein.

Es ist möglich, dass die in den jüngeren Projekten umgesetzten Renaturierungsmaßnahmen, die überwiegend die Anlage neuer Flussläufe umfassten, zur Ausbaggerung potenziell kontaminierter Sedimente führten (Steevens et al. 2020). Dies könnte zu einer Verringerung der Toxizität beigetragen haben. Neben der Reduktion der dioxinähnlichen Aktivität an den renaturierten Standorten wurden signifikante Unterschiede in der PAK-Kontamination festgestellt. Die Sedimente wurden auf die 16 prioritären PAKs gemäß der USEPA untersucht (Wenzl et al. 2006) und die renaturierten Abschnitte wiesen signifikant geringere PAK-Belastungen auf. Die Toxizität von PAKs hängt jedoch maßgeblich von ihrer Bioverfügbarkeit ab. Da sie überwiegend an Sedimentpartikel adsorbiert sind, ist ihre Mobilität und Bioverfügbarkeit eingeschränkt (Skic et al. 2023). De Castro-Català et al. (2016) wiesen nach, dass Veränderungen in Invertebratengemeinschaften mit dem Anteil feiner Sedimente und der Toxizität von PAKs, insbesondere Chrysen und Pyren, in Verbindung stehen. Somit könnte die Kombination aus Partikelgrößenverteilung und PAK-Belastung einen Einfluss auf die dioxinähnliche Toxizität haben und die unzureichende Erholung benthischer Invertebraten an den Probennahmestellen erklären (Nakata et al. 2014; Picanço et al. 2014; Jesus et al. 2022).

#### **4.5.4 Zeitliche Trends in ökologischen und ökotoxikologischen Reaktionen**

Das letzte Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob es lineare Trends in den Unterschieden ökologischer und ökotoxikologischer Effekte in Abhängigkeit vom Renaturierungsalter gibt. Es wurde jedoch keine lineare Beziehung zum Alter der Renaturierung festgestellt. Wie bereits erläutert, scheinen vor allem lokale Umweltbedingungen die beobachteten Toxizitätsniveaus über die verschiedenen Projekte hinweg zu beeinflussen, während das Alter der Renaturierung selbst eine untergeordnete Rolle spielt. Ebenso konnte kein linearer Effekt auf die allgemeine

Veränderung der Artengemeinschaften nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stimmen mit früheren Studien überein, die zeigen, dass sich ökologischer Zustand selbst mehrere Jahre nach Umsetzung einer Renaturierung nicht zwangsläufig verbessert (Haase et al. 2013; Leps et al. 2016).

Die negative Korrelation zwischen Veränderungen der Habitatqualität und dem Renaturierungsalter deutet darauf hin, dass die positiven hydromorphologischen Veränderungen in den renaturierten Abschnitten bei jüngeren Projekten stärker ausgeprägt waren als bei älteren. Diese Beobachtung erscheint zunächst überraschend, da sich Habitatstrukturen, lokale Strömungsmuster sowie die Ufer- und Flussauenvegetation in der Regel über einen längeren Zeitraum nach einer Renaturierung entwickeln (Januschke et al. 2014; Leps et al. 2016; Baattrup-Pedersen et al. 2025). Die Art und Intensität der in den untersuchten Projekten durchgeführten Renaturierungsmaßnahmen könnte jedoch die Beobachtung dieses Phänomens beeinflussen. In den jüngeren Renaturierungsprojekten umfassten die Maßnahmen hauptsächlich die Anlage neuer Flussläufe und Nebengerinne sowie die Wiederanbindung der Flussaue. In den älteren Projekten hingegen standen die Entfernung von Wehren, die Installation struktureller Elemente wie Totholz und die Schaffung einer größeren Strömungsvielfalt im Fokus. Da aktive Maßnahmen wie der Bau gänzlich neuer Bachläufe einen stärkeren Einfluss auf mesohabitatbezogene Strukturelemente haben als passive Maßnahmen (Jähnig et al. 2010), könnte die im Laufe der Zeit abnehmende Habitatqualität eher auf die Art der durchgeführten Maßnahmen in jüngeren Projekten als auf das Renaturierungsalter selbst zurückzuführen sein.

Im Einklang mit anderen Studien (Jähnig et al. 2010; Palmer et al. 2010) zeigen unsere Ergebnisse, dass die Intensität der Renaturierungsmaßnahmen zwar unterschiedlich starke Auswirkungen auf die Habitatqualität hat, letztlich aber keine signifikanten Verbesserungen der benthischen Invertebratengemeinschaften bewirkt. Zusammenfassend ist es entscheidend, nicht nur die Habitatheterogenität zu fördern, sondern auch zusätzliche Stressoren, insbesondere chemische Belastungen, zu minimieren, um den ökologischen Zustand nachhaltig zu verbessern (Bernhardt und Palmer 2011; Sundermann et al. 2013; Brettschneider et al. 2023).

### Kernaussagen

Die Untersuchungen an den Kontroll- und renaturierten Gewässerabschnitten lassen die folgenden Kernaussagen zu.

- ▶ Einfluss der Renaturierung auf Habitatqualität und Makroinvertebraten: Die Renaturierungsmaßnahmen führten zu einer signifikanten Verbesserung der Habitatstruktur, jedoch nicht zu einer erkennbaren Verbesserung der Makroinvertebratengemeinschaften. Trotz höherer struktureller Komplexität blieb der ökologische Zustand in den meisten Fällen „mäßig“ oder schlechter.
- ▶ Ökotoxikologische Belastung von Wasser- und Sedimentproben: Zwischen renaturierten und Kontrollabschnitten konnten keine signifikanten Unterschiede in der Sedimenttoxizität festgestellt werden. Dennoch wurde in renaturierten Abschnitten eine geringere dioxinähnlichen Aktivität beobachtet, möglicherweise durch reduzierte Schadstoffmobilität und Adsorption an Sedimentpartikel.
- ▶ Chemische Belastung als zentrales Hindernis für Renaturierungserfolg: Eine nachhaltige Verbesserung der benthischen Invertebraten setzt eine Reduktion der chemischen Belastung voraus. Der ökologische Zustand war in Gewässerabschnitten mit geringer toxikologischer

Aktivität tendenziell besser, während hohe Schadstoffbelastungen eine Wiederbesiedlung behinderten.

- ▶ Keine messbare lineare Verbesserung über die Zeit: Es wurde kein klarer Zusammenhang zwischen dem Renaturierungsalter und der Verbesserung des ökologischen Zustands festgestellt. Lokale Umweltfaktoren und die Art der durchgeführten Maßnahmen scheinen einen stärkeren Einfluss auf den Erfolg der Renaturierung zu haben als das Alter der Maßnahmen selbst.

## 5 Bedeutung der Ergebnisse für die wasserwirtschaftliche Praxis

Die Ergebnisse dieser Untersuchung verdeutlichen, dass die Wirksamkeit von Renaturierungsmaßnahmen hinsichtlich ökologischer und ökotoxikologischer Effekte stark von lokalen Gegebenheiten sowie spezifischen Schadstoffquellen abhängt (vgl. Peschke et al. 2019). Durch die integrierte Anwendung ökologischer Metriken, ökotoxikologischer Methoden und chemischer Analysen konnte eine umfassende Bewertung der Auswirkungen lokaler Renaturierungsmaßnahmen vorgenommen und limitierende Belastungsfaktoren identifiziert werden, welche die Erholung benthischer Makroinvertebratengemeinschaften beeinträchtigen.

Obwohl in den renaturierten Geässerabschnitten keine maßgebliche morphologische Degradation festgestellt wurde, lassen sich zwei zentrale Erkenntnisse ableiten: Erstens führten die durchgeführten Maßnahmen zwar zu einer Verbesserung der Habitatqualität, jedoch nicht zwangsläufig zu einer Regeneration der benthischen Invertebratengemeinschaften (vgl. Jähnig et al. 2010; Leps et al. 2016; Pilotto et al. 2019; Sinclair et al. 2022). Zweitens wurde eine Wiederherstellung eines „guten“ ökologischen Zustands durch persistierende chemische Belastungen erheblich eingeschränkt. Diese Befunde entsprechen den initialen Erwartungen, da die Renaturierungsmaßnahmen nicht mit einer Reduktion der chemischen Belastung einhergingen (vgl. Lorenz et al. 2018; Nguyen et al. 2024). Zudem muss das Potential einer durch Schadstoffe induzierten Gemeinschaftstoleranz oder der Entwicklung von Resistenzen berücksichtigt werden, da sich Gemeinschaften durch den Austausch empfindlicher Taxa mit widerstandsfähigeren Arten verändern können (Blanck 2002). Solche Veränderungen könnten langfristig die funktionelle Diversität und damit verbundene Ökosystemfunktionen beeinträchtigen (Oguma und Klerks 2017, Kedzior et al. 2023).

Ein weiteres bedeutendes Ergebnis ist die Wechselwirkung chemischer Belastungen mit anderen Stressoren, wie veränderter Hydrologie und Nährstoffeinträgen, die in Kombination die Effekte multipler Stressoren verstärken können (Polazzo und Rico 2021). Diese Erkenntnis unterstreicht die Notwendigkeit eines integrierten Monitoringansatzes, einschließlich effektbasierter Methoden (EBMs), um die Komplexität dieser Wechselwirkungen und deren ökologische Konsequenzen zu erfassen. Neben der chemischen Belastung wurde zudem der Einfluss des Renaturierungsalters auf benthische Invertebratengemeinschaften sowie erstmals auf ökotoxikologische Effekte im Zusammenhang mit hydromorphologischen Maßnahmen untersucht. Ein signifikanter Einfluss des Renaturierungsalters konnte jedoch nicht festgestellt werden – zumindest nicht insofern, als dass der ökotoxikologische und der ökologische Zustand in älteren Maßnahmen gut war.

Renaturierungsmaßnahmen sollten daher nicht ausschließlich auf die Reduzierung einzelner Stressoren, wie hydromorphologische Degradation, fokussiert sein, sondern auch umfassende ökotoxikologische Überwachungen einbeziehen. Nur so können potenziell negative Effekte frühzeitig identifiziert und minimiert werden, die die Effektivität der Maßnahmen in Bezug auf die Verringerung ökologischer Risiken beeinträchtigen könnten.

Im Rahmen des Projektes wurden EBMs eingesetzt, um zukünftig ökotoxikologische Bewertungsverfahren für die Abschätzung der stofflichen Belastung von Gewässerabschnitten in der wasserwirtschaftlichen Praxis gezielt einzusetzen. Dies erfordert jedoch eine nationale sowie internationale Harmonisierung der eingesetzten Methoden und der Datenauswertung. Derzeit finden EBMs in der Praxis noch vergleichsweise selten Anwendung (aber siehe Kienle et al. 2023).

Im Themenworkshop "Effektbasiertes Gewässermonitoring (EGM)" diskutierten 22 internationale und nationale Experten aus Forschungseinrichtungen sowie Bundes- und Landesbehörden über die Herausforderungen und Möglichkeiten der Implementierung des EGM in die wasserwirtschaftliche Praxis<sup>2</sup>. Neben der Identifikation von Forschungsdefiziten und Standardisierungsbedarfen wurde insbesondere die Frage nach der erfolgreichen Etablierung des EGM im regulatorischen Kontext erörtert. Die Teilnehmer betonten die Notwendigkeit einer besseren Vernetzung der beteiligten Akteure und eines intensiveren Wissenstransfers zu neuen Methoden, darunter validierte Tests und Triggerwerte, sowie zur zukünftigen Rolle der chemischen Analytik.

Zahlreiche Hürden für die Implementierung des EGM wurden benannt, darunter die fehlende regulatorische Akzeptanz, eine historisch gewachsene Priorisierung chemischer Analyseverfahren und mangelnde Kenntnisse über die Vorteile des EGM. Zusätzlich mangelt es an einer einheitlichen wissenschaftlichen Positionierung zu priorisierten Tests, standardisierten Verfahren zur Festlegung von Triggerwerten (entsprechend Brion et al. 2019; Escher und Neale 2021) und methodischen Standards für Anreicherungsverfahren. Auch die unzureichende Verankerung des EGM in der EU-Wasserrahmenrichtlinie, fehlende personelle und finanzielle Ressourcen sowie eine mangelnde Vernetzung von Aktivitäten auf verschiedenen Ebenen wurden als Hemmnisse identifiziert.

Zur Förderung der Akzeptanz effektbasierter Methoden wurden verschiedene Lösungsansätze diskutiert. Eine intensivere Kommunikation zwischen Wissenschaft und Behörden könnte dazu beitragen, die Vorteile des EGM gegenüber der chemischen Analytik stärker herauszustellen. Zudem wurde eine gemeinschaftliche Expertenstellungnahme zu empfohlenen Tests und Grenzwerten, die Durchführung gut koordinierter Pilotprojekte sowie die Beauftragung von Best-Practice-Laboren mit entsprechenden Tests vorgeschlagen. Auch die Integration des EGM in Regelwerke zur Beurteilung der Gewässerqualität, beispielsweise durch eine verpflichtende Aufnahme in eine Revision der EU-Wasserrahmenrichtlinie, wurde als essenziell angesehen.

Im Rahmen des Workshops wurden aktuelle Forschungsergebnisse vorgestellt, darunter Möglichkeiten des Biomonitorings mit aquatischen Wirbellosen, In-vitro-Verfahren und eine Biotestbatterie zur ökotoxikologischen Beurteilung der Wasserqualität in Schweizer Fließgewässern (Kienle et al. 2023). Eine begleitende Literaturstudie zu den Auswirkungen von Spurenstoffen auf aquatische Organismen zeigte, dass zahlreiche Methoden für das EGM bereits verfügbar sind, jedoch vorrangig im Laborbereich standardisiert wurden (Triebkorn et al. 2022). Die Studie identifizierte zudem Anwendungsbereiche und Störfaktoren sowie Empfehlungen für Testbatterien und ihre regulatorische Etablierung.

Langfristig sollte angestrebt werden, dass EGM innerhalb der nächsten zehn Jahre in der wasserwirtschaftlichen Praxis und Regulatorik zu verankern. Hierfür werden verstärkte Kommunikation zwischen Wissenschaft, Behörden und der EU sowie die Einrichtung von Kompetenzzentren als zentrale Maßnahmen empfohlen. Ergänzend wird eine Standardisierung technischer Verfahren, die Durchführung von Ringtests und die Etablierung toxikologischer Schwellenwerte als notwendig erachtet. Diese Maßnahmen sollen dazu beitragen, die Anwendung effektbasierter Methoden im Wassermanagement zu verbessern und eine fundierte Beurteilung chemischer Belastungen in Gewässern zu ermöglichen.

---

<sup>2</sup> <https://www.ingenieur.de/fachmedien/gefahrstoffe/biomonitoring/biomonitoring-fuer-die-zukunft-3/>

## 6 Quellenverzeichnis

- Abbas, A.; Schneider, I.; Bollmann, A.; Funke, J.; Oehlmann, J.; Prasse, C.; Schulte-Oehlmann, U.; Seitz, W.; Ternes, T.; Weber, M.; Wesely, H.; Wagner, M. (2019): What you extract is what you see: Optimising the preparation of water and wastewater samples for in vitro bioassays. In: *Water Research*, 152, 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.12.049>
- Alfee, SL.; Bloor, MC. (2025): A global review of river sediment contamination and remobilization through climate change-induced flooding. In: *Sustainable Environment* 11, 1, 2440957. <https://doi.org/10.1080/27658511.2024.2440957>
- Armitage, PD.; Bowes, MJ.; Vincent, HM. (2007): Long-term changes in macroinvertebrate communities of a heavy metal polluted stream: the river Nent (Cumbria, UK) after 28 years. In: *River Research & Apps*, 23, (9), 997–1015. <https://doi.org/10.1002/rra.1022>
- Baatrup-Pedersen, A.; Friis, KB.; Friberg, N.; Riis, T. (2025): Inter-linkages between in-stream plant diversity and macroinvertebrate communities. In: *Hydrobiologia*, 852, 1, 235–247. <https://doi.org/10.1007/s10750-024-05700-5>
- Babitsch, D.; Sundermann, A. (2020): Chemical surveillance in freshwaters: small sample sizes underestimate true pollutant loads and fail to detect environmental quality standard exceedances. In: *Environmental Sciences Europe*, 32, 1, 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0285-y>
- Backhaus, T. (2023): Commentary on the EU Commission’s proposal for amending the Water Framework Directive, the Groundwater Directive, and the Directive on Environmental Quality Standards. In: *Environmental Sciences Europe*, 35, 1, 22. <https://doi.org/10.1186/s12302-023-00726-3>
- Battaglin, WA.; Bradley, PM.; Iwanowicz, L.; Journey, CA.; Walsh, HL.; Blazer, VS. (2018): Pharmaceuticals, hormones, pesticides, and other bioactive contaminants in water, sediment, and tissue from Rocky Mountain National Park, (2012)–(2013). In: *Science of The Total Environment*, 643, 651–673. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.150>
- Beketov, MA.; Foit, K.; Schäfer, RB.; Schriever, CA.; Sacchi, A.; Capri, E.; Biggs, J.; Wells, C.; Liess, M. (2009): SPEAR indicates pesticide effects in streams – Comparative use of species- and family-level biomonitoring data. In: *Environmental Pollution*, 157, 6, 1841–1848. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.01.021>
- Beketov, MA.; Liess, M. (2008): An indicator for effects of organic toxicants on lotic invertebrate communities: Independence of confounding environmental factors over an extensive river continuum. In: *Environmental Pollution*, 156, 3, 980–987. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.05.005>
- Berger, E.; Haase, P.; Kuemmerlen, M.; Leps, M.; Schäfer, RB.; Sundermann, A. (2017): Water quality variables and pollution sources shaping stream macroinvertebrate communities. In: *Science of The Total Environment*, 587–588, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.031>
- Bernhardt, ES.; Palmer, MA. (2011): River restoration: the fuzzy logic of repairing reaches to reverse catchment scale degradation. In: *Ecological Applications*, 21, 6, 1926–1931. <https://doi.org/10.1890/10-1574.1>
- Betz-Koch, S.; Jacobs, B.; Oehlmann, J.; Ratz, D.; Reutter, C.; Wick, A.; Oetken, M. (2023): Pesticide dynamics in three small agricultural creeks in Hesse, Germany. In: *PeerJ*, 11, e15650. <https://doi.org/10.7717/peerj.15650>
- Birk, S.; Bonne, W.; Borja, A.; Brucet, S.; Courrat, A.; Poikane, S.; Solimini, A.; Van De Bund, W.; Zampoukas, N.; Hering, D. (2012): Three hundred ways to assess Europe’s surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. In: *Ecological Indicators*, 18, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.10.009>

- Blanck, H. (2002): A Critical Review of Procedures and Approaches Used for Assessing Pollution-Induced Community Tolerance (PICT) in Biotic Communities. In: *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 8, 5, 1003–1034. <https://doi.org/10.1080/1080-700291905792>
- Boonen, I.; Van Heyst, A.; Van Langenhove, K.; Van Hoeck, E.; Mertens, B.; Denison, MS.; Elskens, M.; Demaegdt, H. (2020): Assessing the receptor-mediated activity of PAHs using AhR-, ER $\alpha$ - and PPAR $\gamma$ - CALUX bioassays. In: *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111602. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111602>
- Brack, W.; Altenburger, R.; Schüürmann, G.; Krauss, M.; López Herráez, D.; Van Gils, J.; Slobodnik, J.; Munthe, J.; Gawlik, BM.; Van Wezel, A.; Schriks, M.; Hollender, J.; Tollefsen, KE.; Mekenyan, O.; Dimitrov, S.; Bunke, D.; Cousins, I.; Posthuma, L.; Van Den Brink, PJ.; López De Alda, M.; Barceló, D.; Faust, M.; Kortenkamp, A.; Scrimshaw, M.; Ignatova, S.; Engelen, G.; Massmann, G.; Lemkine, G.; Teodorovic, I.; Walz, K.-H.; Dulio, V.; Jonker, M T O.; Jäger, F.; Chipman, K.; Falciani, F.; Liska, I.; Rooke, D.; Zhang, X.; Hollert, H.; Vrana, B.; Hilscherova, K.; Kramer, K.; Neumann, S.; Hammerbacher, R.; Backhaus, T.; Mack, J.; Segner, H.; Escher, B.; De Aragão Umbuzeiro, G. (2015): The SOLUTIONS project: Challenges and responses for present and future emerging pollutants in land and water resources management. In: *Science of The Total Environment*, 503–504, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.143>
- Brettschneider, DJ.; Misovic, A.; Schulte-Oehlmann, U.; Oetken, M.; Oehlmann, J. (2019a): Detection of chemically induced ecotoxicological effects in rivers of the Nidda catchment (Hessen, Germany) and development of an ecotoxicological, Water Framework Directive-compliant assessment system. In: *Environmental Sciences Europe*, 31, 1, 7. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0190-4>
- Brettschneider, DJ.; Misovic, A.; Schulte-Oehlmann, U.; Oetken, M.; Oehlmann, J. (2019b): Poison in paradise: increase of toxic effects in restored sections of two rivers jeopardizes the success of hydromorphological restoration measures. In: *Environmental Sciences Europe* 31, 1, 36. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0218-9>
- Brettschneider, DJ.; Spring, T.; Blumer, M.; Welge, L.; Dombrowski, A.; Schulte-Oehlmann, U.; Sundermann, A.; Oetken, M.; Oehlmann, J. (2023): Much effort, little success: causes for the low ecological efficacy of restoration measures in German surface waters. In: *Environmental Sciences Europe*, 35, 1, 31. <https://doi.org/10.1186/s12302-023-00736-1>
- Brinkmann, M.; Petersen, S.; Pelletier, A.; Bryshun, L.; Schaefer, N.; Barnes, M.; Doig, L.; Strickert, G.; Jardine, T. (2024): Multiple lines of evidence to assess risk from dioxins and dioxin-like chemicals in sediment and fish from waterbodies along a large prairie river. In: *Journal of Soils and Sediments*, 24, 1, 414–424. <https://doi.org/10.1007/s11368-023-03620-w>
- Brion, F.; De Gussem, V.; Buchinger, S.; Hollert, H.; Carere, M.; Porcher, J-M.; Piccini, B.; Féray, C.; Dulio, V.; Könemann, S.; Simon, E.; Werner, I.; Kase, R.; Aït-Aïssa, S. (2019): Monitoring estrogenic activities of waste and surface waters using a novel in vivo zebrafish embryonic (EASZY) assay: Comparison with in vitro cell-based assays and determination of effect-based trigger values. In: *Environment International* 130, 104896. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.06.006>
- Brock, TCM.; Solomon, KR.; Van Wijngaarden, R.; Maltby, L. (2008): Temporal extrapolation in ecological effect assessment of chemicals. In: Solomon, KR.; Brock, TCM.; De Zwart, D.; Dyer, D.; Posthuma, L; Richards, S.M.; Sanderson, H.; Sibley, P.K.; Van den Brink, PJ. [Hrsgs]: *Extrapolation Practice for Ecotoxicological Effect Characterization of Chemicals*, SETAC Press & CRC Press, Boca Raton, USA, 187 – 221. <https://doi.org/10.1201/b13610-6>
- Carles, L.; Wullschleger, S.; Joss, A.; Eggen, RIL.; Schirmer, K.; Schuwirth, N.; Stamm, C.; Tlili, A. (2021): Impact of wastewater on the microbial diversity of periphyton and its tolerance to micropollutants in an engineered flow-through channel system. In: *Water Research*, 203, 117486. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117486>

- Cedergreen, N.; Streibig, J.C.; Kudsk, P.; Mathiassen, S.K.; Duke, S.O. (2007): The Occurrence of Hormesis in Plants and Algae. In: *Dose-Response* 5, 2, 06-008. <https://doi.org/10.2203/dose-response.06-008>. Cedergreen
- Chen, H.; Reinhard, M.; Yin, T.; Nguyen, T.V.; Tran, N.H.; Yew-Hoong Gin, K. (2019): Multi-compartment distribution of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in an urban catchment system. In: *Water Research*, 154, 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.009>
- Cole, L.J.; Stockan, J.; Helliwell, R. (2020): Managing riparian buffer strips to optimise ecosystem services: A review. In: *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 296, 106891. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106891>
- Crawford, S.E.; Brinkmann, M.; Ouellet, J.D.; Lehmkuhl, F.; Reicherter, K.; Schwarzbauer, J.; Bellanova, P.; Letmathe, P.; Blank, L.M.; Weber, R.; Brack, W.; Van Dongen, J.T.; Menzel, L.; Hecker, M.; Schüttrumpf, H.; Hollert, H. (2022): Remobilization of pollutants during extreme flood events poses severe risks to human and environmental health. In: *Journal of Hazardous Materials*, 421, 126691. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126691>
- Davidson, N.C. (2014): How much wetland has the world lost? Long-term and recent trends in global wetland area. In: *Marine Freshwater Research*, 65, (10), 934. <https://doi.org/10.1071/MF14173>
- De Castro-Català, N.; Kuzmanovic, M.; Roig, N.; Sierra, J.; Ginebreda, A.; Barceló, D.; Pérez, S.; Petrovic, M.; Picó, Y.; Schuhmacher, M.; Muñoz, I. (2016): Ecotoxicity of sediments in rivers: Invertebrate community, toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools. In: *Science of The Total Environment*, 540, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.071>
- Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. (2000). Official Journal, L 327, 1-73. ELI: <http://data.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj>
- Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy Text with EEA relevance. (2013). Official Journal, L 226, 1-17. ELI: <http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj>
- Dittmer, U.; Bachmann-Machnik, A.; Launay, M.A. (2020): Impact of combined sewer systems on the quality of urban streams: Frequency and duration of elevated micropollutant concentrations. In: *Water*, 12, 3, 850. <https://doi.org/10.3390/w12030850>
- Dixon, S.J.; Sear, D.A.; Odoni, N.A.; Sykes, T.; Lane, S.N. (2016): The effects of river restoration on catchment scale flood risk and flood hydrology. In: *Earth Surface Processes and Landforms*, 41, 7, 997–1008. <https://doi.org/10.1002/esp.3919>
- Eastwood, N.; Zhou, J.; Derelle, R.; Abdallah, M.A.-E.; Stubbings, W.A.; Jia, Y.; Crawford, S.E.; Davidson, T.A.; Colbourne, J.K.; Creer, S.; Bik, H.; Hollert, H.; Orsini, L. (2023): 100 years of anthropogenic impact causes changes in freshwater functional biodiversity. In: *eLife*, 12, RP86576. <https://doi.org/10.7554/eLife.86576>
- European Environment Agency, Zal, N., Whalley, C., Christiansen, T., Kristensen, P., & Néry, F. (2018). *European waters: assessment of status and pressures 2018*, Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2800/303664>
- Eggleton, J.; Thomas, K.V. (2004): A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. In: *Environment International*, 30, 7, 973–980. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001>
- Erhardt, W.; Höpker, K.A.; Fischer, I. (1996): Bewertungsverfahren Verfahren zur Bewertung von immissionsbedingten Stoffanreicherungen in standardisierten Graskulturen. In: *Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie*, 8, 4, 237–240. <https://doi.org/10.1007/BF02940467>

Escher, BI.; Bramaz, N.; Mueller, JF.; Quayle, P.; Rutishauser, S.; Vermeirssen, ELM. (2008): Toxic equivalent concentrations (TEQs) for baseline toxicity and specific modes of action as a tool to improve interpretation of ecotoxicity testing of environmental samples. In: *Journal of Environmental Monitoring*, 10, 5, 612–621. <https://doi.org/10.1039/B800949J>

Escher, BI.; Dutt, M.; Maylin, E.; Tang, JYM.; Toze, S.; Wolf, CR.; Lang, M. (2012): Water quality assessment using the AREc32 reporter gene assay indicative of the oxidative stress response pathway. In: *Journal of Environmental Monitoring*, 14, 11, 2877. <https://doi.org/10.1039/c2em30506b>

Escher, BI.; Neale, PA. (2021): Effect-Based Trigger Values for Mixtures of Chemicals in Surface Water Detected with In Vitro Bioassays. In: *Environmental Toxicology and Chemistry* 40, 2, 487–499. <https://doi.org/10.1002/etc.4944>

Feld, CK.; Birk, S.; Bradley, DC.; Hering, D.; Kail, J.; Marzin, A.; Melcher, A.; Nemitz, D.; Pedersen, ML.; Pletterbauer, F.; Pont, D.; Verdonschot, PFM.; Friberg, N. (2011): From natural to degraded rivers and back again., In: *Advances in Ecological Research*, (Bd. 44, S. 119–209). Elsevier, 119–209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374794-5.00003-1>

Friberg, N.; Angelopoulos, NV.; Buijse, AD.; Cowx, IG.; Kail, J.; Moe, TF.; Moir, H.; O’Hare, MT.; Verdonschot, PFM.; Wolter, C. (2016): Effective river restoration in the 21st century. In: *Advances in Ecological Research*, (Bd. 55, S. 535–611). Elsevier, 535–611. <https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2016.08.010>

Friberg, N.; Baattrup-Pedersen, A.; Kristensen, EA.; Kronvang, B.; Larsen, SE.; Pedersen, ML.; Skriver, J.; Thodsen, H.; Wiberg-Larsen, P. (2014): The River Gelså restoration revisited: Habitat specific assemblages and persistence of the macroinvertebrate community over an 11-year period. In: *Ecological Engineering*, 66, 150–157. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.09.069>

Gergs, A.; Classen, S.; Strauss, T.; Ottermanns, R.; Brock, TCM.; Ratte, HT.; Hommen, U.; Preuss, TG. (2016): Ecological recovery potential of freshwater organisms: Consequences for environmental risk assessment of chemicals. In: P. De Voogt (Hrsg.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Volume 236, (Bd. 236, S. 259–294). Springer International Publishing, 259–294. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-20013-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-20013-2_5)

Giebner, S.; Ostermann, S.; Straskraba, S.; Oetken, M.; Oehlmann, J.; Wagner, M. (2018): Effectivity of advanced wastewater treatment: reduction of in vitro endocrine activity and mutagenicity but not of in vivo reproductive toxicity. In: *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 5, 3965–3976. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7540-1>

Gkika, IS.; Kraak, MHS.; Van Gestel, CAM.; Ter Laak, TL.; Van Wezel, AP.; Hardy, R.; Sadia, M.; Vonk, JA. (2024): Bioturbation affects bioaccumulation: PFAS uptake from sediments by a rooting macrophyte and a benthic invertebrate. In: *Environmental Science & Technology*, 58, 46, 20607–20618. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c03868>

Groh, K.; Vom Berg, C.; Schirmer, K.; Tlili, A. (2022): Anthropogenic chemicals as underestimated drivers of biodiversity loss: Scientific and societal implications. In: *Environmental Science & Technology*, 56, 2, 707–710. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08399>

Haase, P.; Hering, D.; Jähnig, SC.; Lorenz, AW.; Sundermann, A (2013): The impact of hydromorphological restoration on river ecological status: a comparison of fish, benthic invertebrates, and macrophytes. In: *Hydrobiologia*, 704, 1, 475–488. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1255-1>

Haase, P.; Sundermann, A.; Schindehütte, K. (2006): Informationstext zur Operationellen Taxaliste als Mindestanforderung an die Bestimmung von Makrozoobenthosproben aus Fließgewässern zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie in Deutschland - Stand März (2006).

Hagiwara, Y.; Watanabe, M.; Oda, Y.; Sofuni, T.; Nohmi, T., (1993): Specificity and sensitivity of *Salmonella typhimurium* YG1041 and YG1042 strains possessing elevated levels of both nitroreductase and

acetyltransferase activity. In: *Mutation Research, Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 291, 3, 171–180. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(93\)90157-U](https://doi.org/10.1016/0165-1161(93)90157-U)

Hering, D.; Aroviita, J.; Baattrup-Pedersen, A.; Brabec, K.; Buijse, T.; Ecke, F.; Friberg, N.; Gielczewski, M.; Januschke, K.; Köhler, J.; Kupilas, B.; Lorenz, AW.; Muhar, S.; Paillex, A.; Poppe, M.; Schmidt, T.; Schmutz, S.; Vermaat, J.; Verdonschot, PFM.; Verdonschot, RCM.; Wolter, C.; Kail, J. (2015): Contrasting the roles of section length and instream habitat enhancement for river restoration success: a field study of 20 European restoration projects. In: *Journal of Applied Ecology*, 52, 6, 1518–1527. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12531>

Hering, D.; Meier, C.; Rawer-Jost, C.; Feld, CK.; Biss, R.; Zenker, A.; Sundermann, A.; Lohse, S.; Böhmer, J. (2004): Assessing streams in Germany with benthic invertebrates: selection of candidate metrics. In: *Limnologica*, 34, 4, 398–415. [https://doi.org/10.1016/S0075-9511\(04\)80009-4](https://doi.org/10.1016/S0075-9511(04)80009-4)

Heß, S.; Hof, D.; Oetken, M.; Sundermann, A. (2023): Effects of multiple stressors on benthic invertebrates using Water Framework Directive monitoring data. In: *Science of The Total Environment*, 878, 162952. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162952>

Heß, S.; Hof, D.; Oetken, M.; Sundermann, A. (2024): Macroinvertebrate communities respond strongly but non-specifically to a toxicity gradient derived by effect-based methods. In: *Environmental Pollution*, 356, 124330. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124330>

Hilscherová, K.; Dušek, L.; Šídlová, T.; Jállová, V.; Čupr, P.; Giesy, JP.; Nehyba, S.; Jarkovský, J.; Klánová, J.; Holoubek, I. (2009): Seasonally and regionally determined indication potential of bioassays in contaminated river sediments. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29, 3, 522–534. <https://doi.org/10.1002/etc.83>

Hof D.; Bing T.; Heß S.; Oehlmann J.; Oetken, M. (2025): Developing an Effect-Based Ecotoxicological Assessment System for Surface Waters. (in prep.)

Hof, D.; Bing, T.; Heß, S.; Mayer, J.; Oehlmann, J.; Oetken, M. (2024): Temporal and spatial variations in the effect-based ecotoxicological assessment of streams. In: *Environmental Sciences Europe*, 36, 1, 167. <https://doi.org/10.1186/s12302-024-00992-9>

Hof, D.; Heß, S.; Bing, T.; Ebke, P.; Oehlmann, J.; Oetken, M. (2023): Effektbasiertes Biomonitoring zur ökotoxikologischen Bewertung von Fließgewässern. In: *Gefahrstoffe*, 83, 97–100. <https://doi.org/10.37544/0949-8036-2023-05-06-33>

Hörchner, S.; Forberg, C.; Oetken, M.; Oehlmann, J., (o.J.): Wastewater treatment plant effluents as an obstacle to the full recovery of restored river sections. In: *Environmental Pollution* (re submitted).

Hörchner, S.; Moulinec, A.; Sundermann, A.; Oehlmann, J.; Oetken, M. (2024): Under pressure: assessment of chemical stress on restored river sections using effect-based methods. In: *Restoration Ecology*, 32, 7, e14206. <https://doi.org/10.1111/rec.14206>

IPCC (2023): Sections. In: *Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 35-115. <https://doi.org/10.59327/IPCC/AR6-9789291691647>

ISO 11348-3:2007. (o. J.): ISO. Aus: Abgerufen 26. Februar 2025, von <https://www.iso.org/standard/40518.html>. Stand: 26.02.2025.

ISO 11350:2012. (o. J.): ISO. Abgerufen 26. Februar 2025, von: <https://www.iso.org/standard/50393.html>. Stand: 26.02.2025.

ISO 15088:2007. (o. J.): ISO. Aus: Abgerufen 26. Februar 2025, von <https://www.iso.org/standard/37368.html>. Stand: 26.02.2025.

Jähmig, SC.; Brabec, K.; Buffagni, A.; Erba, S.; Lorenz, AW.; Ofenböck, T.; Verdonschot, PFM.; Hering, D. (2010): A comparative analysis of restoration measures and their effects on hydromorphology and benthic invertebrates in 26 central and southern European rivers: Comparative analysis of river restoration measures. In: *Journal of Applied Ecology*, 47, 3, 671–680. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01807.x>

Jähmig, SC.; Lorenz, AW.; Hering, D.; Antons, C.; Sundermann, A.; Jedicke, E.; Haase, P. (2011): River restoration success: a question of perception. In: *Ecological Applications* 21, 6, (2007)–(2015). <https://doi.org/10.1890/10-0618.1>

Janssen, MA. (2023): Eventbasierte Untersuchung der Alb mit effektbasierten Methoden. Abschlussarbeit zur Erlangung des akademischen Grades Master of Science (M.Sc.) in Umweltwissenschaften. Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main.

Januschke, K.; Jähmig, SC.; Lorenz, AW.; Hering, D. (2014): Mountain river restoration measures and their success(ion): Effects on river morphology, local species pool, and functional composition of three organism groups. In: *Ecological Indicators*, 38, 243–255. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.10.031>

Jesus, F.; Pereira, JL.; Campos, I.; Santos, M.; Ré, A.; Keizer, J.; Nogueira, A.; Gonçalves, FJM.; Abrantes, N.; Serpa, D. (2022): A review on polycyclic aromatic hydrocarbons distribution in freshwater ecosystems and their toxicity to benthic fauna. In: *Science of The Total Environment*, 820, 153282. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153282>

Johann, S.; Düster, M.; Bellanova, P.; Schwarzbauer, J.; Weber, A.; Wolf, S.; Schüttrumpf, H.; Lehmkuhl, F.; Hollert, H. (2024): Dioxin-like and estrogenic activity screening in fractionated sediments from a German catchment after the (2021) extreme flood. In: *Environmental Sciences Europe*, 36, 1, 163. <https://doi.org/10.1186/s12302-024-00989-4>

Kaiser, NN.; Feld, CK.; Stoll, S. (2020): Does river restoration increase ecosystem services? In: *Ecosystem Services*, 46, 101206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2020.101206>

Karaouzas, I.; Theodoropoulos, C.; Vardakas, L.; Kalogianni, E.; Th Skoulikidis, NT. (2018): A review of the effects of pollution and water scarcity on the stream biota of an intermittent Mediterranean basin. In: *River Research & Applications*, 34, 4, 291–299. <https://doi.org/10.1002/rra.3254>

Kędzior, R.; Kędzior, R.; Dacewicz, E.; Chmielowski, K.; Ziernicka-Wojtaszek, A. (2023): Freshwater biodiversity crisis: macroinvertebrates response to receiving a wastewater treatment plant effluent along a downstream gradient. In: *Journal of Elementology* 4. <https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.102>

Kienle, C.; Olbrich, D.; Werner, I.; Vermeirssen, E.; Bramaz, N.; Schifferli, A. (2023): Beurteilung der Wasserqualität mittels Biotestbatterie. In: *Aqua & Gas*, 103, 4, 24–33. [https://www.aquaetgas.ch/de/wasser/gew%C3%A4sser/20230329\\_ag4\\_beurteilung-der-wasserqualit%C3%A4t-mittels-biotestbatterie/](https://www.aquaetgas.ch/de/wasser/gew%C3%A4sser/20230329_ag4_beurteilung-der-wasserqualit%C3%A4t-mittels-biotestbatterie/)

Könemann, S.; Kase, R.; Simon, E.; Swart, K.; Buchinger, S.; Schlüsener, M.; Hollert, H.; Escher, Bl.; Werner, I.; Ait-Aïssa, S.; Vermeirssen, E.; Dulio, V.; Valsecchi, S.; Polesello, S.; Behnisch, P.; Javurkova, B.; Perceval, O.; Di Paolo, C.; Olbrich, D.; Sychrova, E.; Schlichting, R.; Leborgne, L.; Clara, M.; Scheffknecht, C.; Marneffe, Y.; Chalon, C.; Tušil, P.; Soldàn, P.; Von Danwitz, B.; Schwaiger, J.; San Martín Becares, Ml.; Bersani, F.; Hilscherová, K.; Reifferscheid, G.; Ternes, T.; Carere, M. (2018): Effect-based and chemical analytical methods to monitor estrogens under the European Water Framework Directive. In: *Trends in Analytical Chemistry*, 102, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.02.008>

Kopp, L.; Fuchs, S.; Sacher, F. (2025): Einträge von Bioziden in Gewässer über Mischwasserentlastungen und Regenwassereinleitungen und die Auswirkungen auf die Gewässerqualität am Beispiel der Stadt Karlsruhe. In: TEXTE 09/2025, Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau. <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/eintraege-von-bioziden-in-gewaesser-ueber>

Kramer, L.; Schulze, T.; Klüver, N.; Altenburger, R.; Hackermüller, J.; Krauss, M.; Busch, W. (2024): Curated mode-of-action data and effect concentrations for chemicals relevant for the aquatic environment. In: *Scientific Data*, 11, 1, 60. <https://doi.org/10.1038/s41597-023-02904-7>

Kunz, PY.; Kienle, C.; Carere, M.; Homazava, N.; Kase, R. (2015): In vitro bioassays to screen for endocrine active pharmaceuticals in surface and waste waters. In: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 106, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.018>

Laetz, CA.; Baldwin, DH.; Hebert, VR.; Stark, JD.; Scholz, NL. (2014): Elevated temperatures increase the toxicity of pesticide mixtures to juvenile coho salmon. In: *Aquatic Toxicology*, 146, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.022>

LANUV - Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (2018): Gewässerstruktur in Nordrhein-Westfalen – Kartieranleitung für kleine bis große Fließgewässer. Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW. <https://www.lanuk.nrw.de/publikationen/publikation/gewaesserstruktur-in-nordrhein-westfalen-kartieranleitung-fuer-die-kleinen-bis-grossen-flieessgewaesser>

Lê, S.; Josse, J.; Husson, F. (2008): FactoMineR : An R Package for multivariate analysis. In: *Journal of Statistical Software*, 25, 1. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>

Leitner, P.; Graf, W.; Hauer, C. (2023): Ecological assessment of high sediment loads based on macroinvertebrate communities in the Bohemian Massif in Austria – A sensitivity analysis. In: *Limnologica*, 98, 125941. [https://doi.org/10.1016/j.limno\(2021\)125941](https://doi.org/10.1016/j.limno(2021)125941)

Leitner, P.; Hauer, C.; Ofenböck, T.; Pletterbauer, F.; Schmidt-Kloiber, A.; Graf, W. (2015): Fine sediment deposition affects biodiversity and density of benthic macroinvertebrates: A case study in the freshwater pearl mussel river Waldaist (Upper Austria). In: *Limnologica*, 50, 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2021.12594>

Lemm, JU.; Venohr, M.; Globevnik, L.; Stefanidis, K.; Panagopoulos, Y.; Van Gils, J.; Posthuma, L.; Kristensen, P.; Feld, CK.; Mahnkopf, J.; Hering, D.; Birk, S. (2021): Multiple stressors determine river ecological status at the European scale: Towards an integrated understanding of river status deterioration. In: *Global Change Biology*, 27, 9, 1962–1975. <https://doi.org/10.1111/gcb.15504>

Leps, M.; Sundermann, A.; Tonkin, JD.; Lorenz, AW.; Haase, P. (2016): Time is no healer: increasing restoration age does not lead to improved benthic invertebrate communities in restored river reaches. In: *Science of The Total Environment*, 557–558, 722–732. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.120>

Liebmann, L.; Vormeier, P.; Weisner, O.; Liess, M. (2022): Balancing effort and benefit – How taxonomic and quantitative resolution influence the pesticide indicator system SPEARpesticides. In: *Science of The Total Environment*, 848, 157642. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157642>

Liess, M.; Liebmann, L.; Vormeier, P.; Weisner, O.; Altenburger, R.; Borchardt, D.; Brack, W.; Chatzinotas, A.; Escher, B.; Foit, K.; Gunold, R.; Henz, S.; Hitzfeld, KL.; Schmitt-Jansen, M.; Kamjunke, N.; Kaske, O.; Knillmann, S.; Krauss, M.; Küster, E.; Link, M.; Lück, M.; Möder, M.; Müller, A.; Paschke, A.; Schäfer, RB.; Schneeweiss, A.; Schreiner, VC.; Schulze, T.; Schürmann, G.; von Tümpling, W.; Weitere, M.; Wogram, J.; Reemtsma, T. (2021): Pesticides are the dominant stressors for vulnerable insects in lowland streams. In: *Water Research*, 201, 117262 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117262>

Liess, M.; Schulz, R.; Liess, MH.-D.; Rother, B.; Kreuzig, R., (1999): Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. In: *Water Research*, 33, 1, 239–247. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00174-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00174-2)

Liess, M.; von der Ohe, PC. (2005); Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 4, 954–965. <https://doi.org/10.1897/03-652.1>

Llorens, E.; Ginebreda, A.; La Farré, M.; Insa, S.; González-Trujillo, JD.; Munné, A.; Solà, C.; Flò, M.; Villagrasa, M.; Barceló, D.; Sabater, S. (2020): Occurrence of regulated pollutants in populated Mediterranean basins:

Ecotoxicological risk and effects on biological quality. In: *Science of The Total Environment*, 747, 141224. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141224>

Lorenz, AW.; Haase, P.; Januschke, K.; Sundermann, A.; Hering, D. (2018): Revisiting restored river reaches – Assessing change of aquatic and riparian communities after five years. In: *Science of The Total Environment* 613–614, 1185–1195. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.188>

Lorenz, AW.; Korte, T.; Sundermann, A.; Januschke, K.; Haase, P. (2012): Macrophytes respond to reach-scale river restorations. In: *Journal of Applied Ecology*, 49, 1, 202–212. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02082.x>

LUBW - Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg [Hrsg.] (2005): Signale aus der Natur: 20 Jahre biologische Umweltbeobachtung, 2005. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe. [https://pudi.lubw.de/detailseite/-/publication/46607-20\\_Jahre\\_biologische\\_Umweltbeobachtung.pdf](https://pudi.lubw.de/detailseite/-/publication/46607-20_Jahre_biologische_Umweltbeobachtung.pdf)

LUBW - Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (2022): Daten- und Kartendienst der LUBW. Online verfügbar unter <https://udo.lubw.baden-wuerttemberg.de/public/pages/home/welcome.xhtml>, zuletzt geprüft am 20.02.2025.

Lynch, AJ.; Cooke, SJ.; Arthington, AH.; Baigun, C.; Bossenbroek, L.; Dickens, C.; Harrison, I.; Kimirei, I.; Langhans, SD.; Murchie, KJ.; Olden, JD.; Ormerod, SJ.; Owuor, M.; Raghavan, R.; Samways, MJ.; Schinegger, R.; Sharma, S.; Tachamo-Shah, R.; Tickner, D.; Tweddle, D.; Young, N.; Jähnig, SC. (2023): People need freshwater biodiversity WIREs. In: *Water*, 10, 3, e1633. <https://doi.org/10.1002/wat2.1633>

Macikova, P.; Kalabova, T.; Klanova, J.; Kukucka, P.; Giesy, JP.; Hilscherova, K. (2014): Longer-term and short-term variability in pollution of fluvial sediments by dioxin-like and endocrine disruptive compounds. In: *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 7, 5007–5022. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2429-8>

Makepeace, DK.; Smith, DW.; Stanley, SJ. (1995): Urban stormwater quality: Summary of contaminant data. In: *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 25, 2, 93–139. <https://doi.org/10.1080/10643389509388476>

Malaj, E.; von der Ohe, PC.; Grote, M.; Kühne, R.; Mondy, CP.; Usseglio-Polatera, P.; Brack, W.; Schäfer, RB. (2014): Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111, 26, 9549–9554. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321082111>

Masoner, JR.; Kolpin, DW.; Cozzarelli, IM.; Barber, L.B.; Burden, DS.; Foreman, WT.; Forshay, KJ.; Furlong, ET.; Groves, JF.; Hladik, ML.; Hopton, ME.; Jaeschke, JB.; Keefe, SH.; Krabbenhoft, DP.; Lowrance, R.; Romanok, KM.; Rus, DL.; Selbig, WR.; Williams, BH.; Bradley, PM. (2019): Urban Stormwater: An Overlooked Pathway of Extensive Mixed Contaminants to Surface and Groundwaters in the United States. In: *Environmental Science & Technology*. 53, 17, 10070–10081. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02867>

McKenzie, M.; Brooks, A.; Callisto, M.; Collins, AL.; Durkota, JM.; Death, RG.; Jones, JI.; Linares, MS.; Matthaei, CD.; Monk, WA.; Murphy, JF.; Wagenhoff, A.; Wilkes, M.; Wood, P.J.; Mathers, KL. (2024): Freshwater invertebrate responses to fine sediment stress: A multi-continent perspective. In: *Global Change Biology*, 30, 1, e17084. <https://doi.org/10.1111/gcb.17084>

Meador, MR.; Frey, JW. (2018): Relative Importance of Water-Quality Stressors in Predicting Fish Community Responses in Midwestern Streams. In: *Journal of the American Water Resources Association*, 54, 3, 708–723. <https://doi.org/10.1111/1752-1688.12646>

Meier, C.; Haase, P.; Rolauffs, P.; Schindehütte, K.; Schöll, F.; Sundermann, A.; Hering, D. (2006): Methodisches Handbuch Fließgewässerbewertung - Handbuch zur Untersuchung und Bewertung von Fließgewässern auf der Basis des Makrozoobenthos vor dem Hintergrund der EG-Wasserrahmenrichtlinie. [https://gewaesserbewertung.de/media/meier\\_handbuch\\_mzb\\_2006.pdf](https://gewaesserbewertung.de/media/meier_handbuch_mzb_2006.pdf)

Morin, S.; Bottin, M.; Mazzella, N.; Macary, F.; Delmas, F.; Winterton, P.; Coste, M. (2009): Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopixal): A case study in the Neste river system (South-West France). In: *Aquatic Toxicology*, 94, 1, 28–39.

<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.05.012>

Morin, S.; Pesce, S.; Tlili, A.; Coste, M.; Montuelle, B. (2010): Recovery potential of periphytic communities in a river impacted by a vineyard watershed. In: *Ecological Indicators*, 10, 2, 419–426.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2009.07.008>

Muhar, S.; Januschke, K.; Kail, J.; Poppe, M.; Schmutz, S.; Hering, D.; Buijse, AD. (2016): Evaluating good-practice cases for river restoration across Europe: context, methodological framework, selected results and recommendations. In: *Hydrobiologia* 769, 1, 3–19. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2652-7>

Mutzner, L.; Furrer, V.; Castebrunet, H.; Dittmer, U.; Fuchs, S.; Gernjak, W.; Gromaire, M-C.; Matzinger, A.; Mikkelsen, PS.; Selbig, WR.; Vezzaro, L. (2022): A decade of monitoring micropollutants in urban wet-weather flows: What did we learn? In: *Water Research*, 223, 118968. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118968>

Nakata, H.; Uehara, K.; Goto, Y.; Fukumura, M.; Shimasaki, H.; Takikawa, K.; Miyawaki, T. (2014): Polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters and sediments from the Yatsushiro Sea, Japan: Comparison of potential risks among PAHs, dioxins and dioxin-like compounds in benthic organisms. In: *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 99, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.10.005>

Neubig, RR.; Spedding, M.; Kenakin, T.; Christopoulos, A. (2003): International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification XXXVIII - Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. In: *Pharmacological Reviews*, 55, 4, 597–606. <https://doi.org/10.1124/pr.55.4.4>

Nguyen, HH.; Peters, K.; Kiesel, J.; Welti, EAR.; Gillmann, SM.; Lorenz, AW.; Jähnig, SC.; Haase, P. (2024): Stream macroinvertebrate communities in restored and impacted catchments respond differently to climate, land-use, and runoff over a decade. In: *Science of The Total Environment* 929, 172659.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172659>

Norton, SB.; Cormier, SM.; Suter, GW.; Subramanian, B.; Lin, E.; Altfater, D.; Counts, B. (2002): Determining probable causes of ecological impairment in the Little Scioto River, Ohio, USA: Part 1 Listing candidate causes and analyzing evidence. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 6, 1112–1124.

<https://doi.org/10.1002/etc.5620210603>

OECD (2016): *Potamopyrgus antipodarum* reproduction test. In: Organisation for Economic Co-operation and Development Test No. 242, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264264311-en>

Oetken, M.; Bing, T.; Dombrowski, A.; Ebke, P.; Heß, S.; Hof, D.; Sundermann, A. (2025): DECIDE - Entwicklung und Evaluierung eines ökotoxikologischen, wasserrahmenrichtlinienkonformen Bewertungssystems für Fließgewässer (Endbericht). <https://www.dbu.de/projektdatenbank/35663-01/> (Stand: 20.02.2025)

Oguma, AY.; Klerks, P.L. (2017): Pollution-induced community tolerance in benthic macroinvertebrates of a mildly lead-contaminated lake. In: *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 23, 19076–19085.

<https://doi.org/10.1007/s11356-017-9553-9>

Olds, HT.; Corsi, SR.; Dila, DK.; Halmo, KM.; Bootsma, MJ.; McLellan, SL. (2018): High levels of sewage contamination released from urban areas after storm events: A quantitative survey with sewage specific bacterial indicators. In: *PLOS Medicine*, 15, 7, e1002614. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002614>

Onyena, AP.; Manohar, CS.; Nkwoji, JA.; Chukwu, LO. (2024): Characterization of the molecular differential responses in marine benthic macroinvertebrates exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. In: *Aquatic Ecology*, 58, 2, 263–288. <https://doi.org/10.1007/s10452-023-10064-4>

- Palmer, MA.; Hondula, KL.; Koch, BJ. (2014): Ecological restoration of streams and rivers: Shifting strategies and shifting goals. In: *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45, 1, 247–269. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091935>
- Palmer, MA.; Menninger, HL.; Bernhardt, E. (2010): River restoration, habitat heterogeneity and biodiversity: a failure of theory or practice? In: *Freshwater Biology*, 55, s1, 205–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02372.x>
- Patrolecco, L.; Capri, S.; Angelis, SD.; Pagnotta, R.; Polesello, S.; Valsecchi, S. (2006): Partition of nonylphenol and related compounds among different aquatic compartments in Tiber River (Central Italy). In: *Water, Air, & Soil Pollution*, 172, 1–4, 151–166. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-9067-9>
- Pereira, A.; Silva, L.; Laranjeiro, C.; Lino, C.; Pena, A. (2020): Selected pharmaceuticals in different aquatic compartments: Part I - Source, Fate and Occurrence. In: *Molecules*, 25, 5, 1026. <https://doi.org/10.3390/molecules25051026>
- Peschke, K.; Capowicz, Y.; Köhler, H-R.; Wurm, K.; Triebkorn, R. (2019): Impact of a Wastewater Treatment Plant Upgrade on Amphipods and Other Macroinvertebrates: Individual and Community Responses. In: *Frontiers in Environmental Science*. 7, 64. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00064>
- Picanço, Thais TC.; Almeida, C.; Marisa, R.; Antunes, Carlos C.; Reis, Pedro PA. (2014): Influence of abiotic characteristics of sediments on the macrobenthic community structure of Minho estuary saltmarsh (Portugal). In: *Limnetica*, 33, 73–88. <https://doi.org/10.23818/limn.33.07>
- Pilotto, F.; Tonkin, JD.; Januschke, K.; Lorenz, AW.; Jourdan, J.; Sundermann, A.; Hering, D.; Stoll, S.; Haase, P., (2018): Diverging response patterns of terrestrial and aquatic species to hydromorphological restoration. In: *Conservation Biology*, 33, 1, 132–141. <https://doi.org/10.1111/cobi.13176>
- Poikane, S.; Salas Herrero, F.; Kelly, MG.; Borja, A.; Birk, S.; Van De Bund, W. (2020): European aquatic ecological assessment methods: A critical review of their sensitivity to key pressures. In: *Science of The Total Environment*, 740, 140075. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140075>
- Polazzo, F.; Rico, A. (2021): Effects of multiple stressors on the dimensionality of ecological stability. In: *Ecology Letters* 24, 8, 1594–1606. <https://doi.org/10.1111/ele.13770>
- Posthuma, L.; Zijp, MC.; De Zwart, D.; Van De Meent, D.; Globevnik, L.; Koprivsek, M.; Focks, A.; Van Gils, J.; Birk, S. (2020): Chemical pollution imposes limitations to the ecological status of European surface waters. In: *Scientific Reports*, 10, 1, 14825. . <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71537-2>
- Pottgiesser, T. (2018): Zweite Überarbeitung der Steckbriefe der deutschen Fließgewässertypen. - FE-Vorhaben des Umweltbundesamtes „Gewässertypenatlas mit Steckbriefen“ (FKZ 3714 24 221 0) (Stand Dezember 2018). [https://www.gewaesser-bewertung.de/media/steckbriefe\\_fliessgewaessertypen\\_dez2018.pdf](https://www.gewaesser-bewertung.de/media/steckbriefe_fliessgewaessertypen_dez2018.pdf)
- R Core Team (2021): R A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Rico, A.; Van Den Brink, PJ.; Leitner, P.; Graf, W.; Focks, A. (2016): Relative influence of chemical and non-chemical stressors on invertebrate communities: a case study in the Danube River. In: *Science of The Total Environment*, 571, 1370–1382. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.087>
- Roos, P.; Stieber, M. (2000): Die Alb im Stadtgebiet von Karlsruhe Bewertung des ökologischen Zustands. In: *Gewässerökologisches Gutachten*, Büro für Gewässer Ökologie.
- Schäfer, RB.; Kühn, B.; Malaj, E.; König, A.; Gergs, R. (2016): Contribution of organic toxicants to multiple stress in river ecosystems. In: *Freshwater Biology*, 61, 12, 2116–2128. <https://doi.org/10.1111/fwb.12811>

- Schröder, W.; Pesch, R.; Kratz, W.; Holy, M.; Zechmeister, H.; Harmens, H.; Fagerli, H.; Ilyin, I. (2010): Atmosphärische Deposition und Anreicherung von Schwermetallen und Stickstoff in Natura-(2000)-Gebieten Deutschlands. In: *Environmental Sciences Europe*, 22, 6, 711–720. <https://doi.org/10.1007/s12302-010-0145-2>
- Schürings, C.; Globevnik, L.; Lemm, JU.; Psomas, A.; Snoj, L.; Hering, D.; Birk, S. (2024): River ecological status is shaped by agricultural land use intensity across Europe. In: *Water Research*, 251, 121136. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121136>
- Shao, Y.; Schiwy, A.; Glauch, L.; Henneberger, L.; König, M.; Mühlenbrink, M.; Xiao, H.; Thalmann, B.; Schlichting, R.; Hollert, H.; Escher, BI. (2020): Optimization of a pre-metabolization procedure using rat liver S9 and cell-extracted S9 in the Ames fluctuation test. In: *Science of The Total Environment*, 749, 141468. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141468>
- Sinclair, JS.; Mademann, JA.; Haubrock, PJ.; Haase, P. (2023): Primarily neutral effects of river restoration on macroinvertebrates, macrophytes, and fishes after a decade of monitoring. In: *Restoration Ecology*, 31, 3, e13840. <https://doi.org/10.1111/rec.13840>
- Skic, K.; Boguta, P.; Klimkowicz-Pawlas, A.; Ukalska-Jaruga, A.; Baran, A. (2023): Effect of sorption properties on the content, ecotoxicity, and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bottom sediments. In: *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130073. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130073>
- Soukup, PR.; Näslund, J.; Höjesjö, J.; Boukal, DS. (2022): From individuals to communities: Habitat complexity affects all levels of organization in aquatic environments WIREs. In: *Water*, 9, 1, e1575. <https://doi.org/10.1002/wat2.1575>
- Stalter, D.; Magdeburg, A.; Wagner, M.; Oehlmann, J. (2011): Ozonation and activated carbon treatment of sewage effluents: Removal of endocrine activity and cytotoxicity. In: *Water Research*, 45, 3, 1015–1024. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.008>
- Steevens, JA.; Besser, JM.; Dorman, RA.; Sparks, DW. (2020): Influence of remediation on sediment toxicity within the Grand Calumet River, Indiana, USA. In: *Chemosphere*, 249, 126056. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126056>
- Sundermann, A.; Gerhardt, M.; Kappes, H.; Haase, P. (2013): Stressor prioritisation in riverine ecosystems: Which environmental factors shape benthic invertebrate assemblage metrics? In: *Ecological Indicators*, 27, 83–96. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.12.003>
- Sundermann, A.; Stoll, S.; Haase, P. (2011): River restoration success depends on the species pool of the immediate surroundings. In: *Ecological Applications*, 21, 6, 1962–1971. <https://doi.org/10.1890/10-0607.1>
- Sylvester, F.; Weichert, FG.; Lozano, VL.; Groh, KJ.; Bálint, M.; Baumann, L.; Bässler, C.; Brack, W.; Brandl, B.; Curtius, J.; Dierkes, P.; Döll, P.; Ebersberger, I.; Fragkostefanakis, S.; Helfrich, E.J.N.; Hickler, T.; Johann, S.; Jourdan, J.; Klimpel, S.; Kminek, H.; Liquin, F.; Möllendorf, D.; Mueller, T.; Oehlmann, J.; Ottermanns, R.; Pauls, SU.; Piepenbring, M.; Pfefferle, J.; Schenk, GJ.; Scheepens, JF.; Scheringer, M.; Schiwy, S.; Schlottmann, A.; Schneider, F.; Schulte, LM.; Schulze-Sylvester, M.; Stelzer, E.; Strobl, F.; Sundermann, A.; Tockner, K.; Tröger, T.; Vilcinskas, A.; Völker, C.; Winkelmann, R.; Hollert, H. (2023): Better integration of chemical pollution research will further our understanding of biodiversity loss. In: *Nature Ecology and Evolution*, 7, 10, 1552–1555. <https://doi.org/10.1038/s41559-023-02117-6>
- Tang, JYM.; Escher, BI. (2014): Realistic environmental mixtures of micropollutants in surface, drinking, and recycled water: Herbicides dominate the mixture toxicity toward algae. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33, 6, 1427–1436. <https://doi.org/10.1002/etc.2580>
- Tiefbauamt Karlsruhe (2010): Die Stadtentwässerung in Karlsruhe. Broschüre. 6. Aufl. Hg. v. Stadt Karlsruhe. Online verfügbar unter <https://www.yumpu.com/de/document/read/21231544/die-stadtentwässerung-karlsruhe-pdf-1205-mb>, zuletzt geprüft am 20.02.2025.

- Thomas, SM.; Griffiths, SW.; Ormerod, S J. (2016): Beyond cool: adapting upland streams for climate change using riparian woodlands. In: *Global Change Biology*, 22, 1, 310–324. <https://doi.org/10.1111/gcb.13103>
- Tlili, A.; Corcoll, N.; Arrhenius, Å.; Backhaus, T.; Hollender, J.; Creusot, N.; Wagner, B.; Behra, R. (2020): Tolerance Patterns in Stream Biofilms Link Complex Chemical Pollution to Ecological Impacts. In: *Environmental Science & Technology*, 54, 17, 10745–10753. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02975>
- Triebskorn, R.; Wilhelm, S.; Wurm, K. (2022): Abschlussbericht: Literaturstudie zu Auswirkungen von Spurenstoffen auf aquatische Organismen in Fließgewässern und Empfehlungen für ein effektbasiertes Spurenstoffmonitoring Projekt O 820 des Länderfinanzierungsprogramms. In: *Wasser, Boden und Abfall*, 2020. [https://uni-tuebingen.de/securedl/sdl-eyJ0eXAiOiJKV1QiLCJhbGciOiJIUzI1NiJ9.eyJpYXQiOiJlE3NDUyNzA4NjcsImV4cCI6MTc0NTM2MDg2NywidXNlci6M CwiZ3JvdXBzIjpbMCwtMV0sImZpbGUuOiJmaWxIYWRTaW4vVW5pX1R1ZWJpbmdblbi9GYWt1bHRhZXRlbi9CaW9s b2dpZS9JbnN0aXR1dF9mdWVvYX0V2b2x1dGlvlbI91bmRfT2Vrb2xvZ2llL1BoeXNpb2xvZ2lzY2hIX1x1MDBkNmtvbG 9naWVfZGVyX1RpZXJlXy1fQmIsZGVyL0Rva3VtZW50ZS9Eb2t1bWVudGUtUE9FRFQvU3B1cmVuc3RvZmZtb25pd G9yaW5nX0xBV0EucGRmliwicGFnZSI6NDcyfQ.n7YtcGz8YDofg6WCyl6NHxlm4KZ8tH6KOKaNPkKzYMY/Spurenst offmonitoring\\_LAWA.pdf](https://uni-tuebingen.de/securedl/sdl-eyJ0eXAiOiJKV1QiLCJhbGciOiJIUzI1NiJ9.eyJpYXQiOiJlE3NDUyNzA4NjcsImV4cCI6MTc0NTM2MDg2NywidXNlci6M CwiZ3JvdXBzIjpbMCwtMV0sImZpbGUuOiJmaWxIYWRTaW4vVW5pX1R1ZWJpbmdblbi9GYWt1bHRhZXRlbi9CaW9s b2dpZS9JbnN0aXR1dF9mdWVvYX0V2b2x1dGlvlbI91bmRfT2Vrb2xvZ2llL1BoeXNpb2xvZ2lzY2hIX1x1MDBkNmtvbG 9naWVfZGVyX1RpZXJlXy1fQmIsZGVyL0Rva3VtZW50ZS9Eb2t1bWVudGUtUE9FRFQvU3B1cmVuc3RvZmZtb25pd G9yaW5nX0xBV0EucGRmliwicGFnZSI6NDcyfQ.n7YtcGz8YDofg6WCyl6NHxlm4KZ8tH6KOKaNPkKzYMY/Spurenst offmonitoring_LAWA.pdf)
- UDO - Umwelt-Daten und -Karten Online (UDO), (o.J.):Aus: <https://udo.lubw.baden-wuerttemberg.de/public>. Stand: 20.02.2025.
- UM-BW - Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg (2021): Begleitdokumentation zum Teilbearbeitungsgebiet 34 Murg-Alb Umsetzung der EG Wasserrahmenrichtlinie. <https://rp.baden-wuerttemberg.de/themen/wasserboden/wrrl/tbg34/begleitdokumentation/>. Stand: 27.02.2025.
- Völker, J.; Arle, J.; Baumgarten, C.; Blondzik, K.; Frauenstein, J.; Hilliges, F.; Hofmeier, M.; Krakau, M.; Mönnich, J.; Mohaupt, V.; Naumann, S.; Osiek, D.; Rechenberg, J.; Richter, N.; Schnäckel, A.; Schulte, C.; Ullrich, A.; Vetter, F. (2022): Die Wasserrahmenrichtlinie - Gewässer in Deutschland 2021. Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau. <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/die-wasserrahmenrichtlinie-gewaesser-in-deutschland>
- Völker, J.; Dombrowski, A. (2017): AREc32-Assay zur Induktion von oxidativem Stress und Zytotoxizität. Goethe Universität Frankfurt am Main.
- Völker, J.; Dombrowski, A. (2022): Bakterientoxizitätstest mit *Allivibrio fischeri*. Goethe Universität Frankfurt am Main.
- Vormeier, P.; Schreiner, VC.; Liebmann, L.; Link, M.; Schäfer, RB.; Schneeweiss, A.; Weisner, O.; Liess, M. (2023): Temporal scales of pesticide exposure and risks in German small streams. In: *Science of The Total Environment*, 871, 162105. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162105>
- Wagner, M.; Dombrowski, A. (2019): Rekombinante Hefereportergerassays (SOP). Goethe Universität Frankfurt am Main.
- Wagner, M.; Dombrowski, A. (2020): Ames-Fluktuationstest. Standard Operation Procedure, Goethe Universität Frankfurt am Main.
- Waite, IR.; Munn, MD.; Moran, PW.; Konrad, CP.; Nowell, LH.; Meador, MR.; Van Metre, PC.; Carlisle, DM. (2019): Effects of urban multi-stressors on three stream biotic assemblages. In: *Science of The Total Environment*, 660, 1472–1485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.240>
- Walsh, CJ.; Roy, AH.; Feminella, JW.; Cottingham, PD.; Groffman, PM. (2005): The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. In: *Journal of the North American Benthological Society*, 24, 706–723. <https://doi.org/10.1899/04-028.1>

- Wang, Z.; Walker, GW.; Muir, DCG.; Nagatani-Yoshida, K. (2020): Toward a global understanding of chemical pollution: A first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories. In: *Environmental Science & Technology*, 54, 5, 2575–2584. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06379>
- Weisner, O.; Frische, T.; Liebmann, L.; Reemtsma, T.; Roß-Nickoll, M.; Schäfer, R. B.; Schäffer, A.; Scholz-Starke, B.; Vormeier, P.; Knillmann, S.; Liess, M. (2021): Risk from pesticide mixtures – The gap between risk assessment and reality. In: *Science of The Total Environment*, 796, 149017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149017>
- Weiss, P., (1999): Elementgehalte von Fichtennadeln, Pappel- und Ahornblättern. Umweltbundesamt Österreich, Wien. <https://www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/BE143.pdf>
- Welti, EAR.; Bowler, DE.; Sinclair, JS.; Altermatt, F.; Álvarez-Cabria, M.; Amatulli, G.; Angeler, DG.; Archambaud, G.; Arrate Jorrín, I.; Aspin, T.; Azpiroz, I.; Baker, NJ.; Bañares, I.; Barquín Ortiz, J.; Bodin, CL.; Bonacina, L.; Bonada, N.; Bottarin, R.; Cañedo-Argüelles, M.; Csabai, Z.; Datry, T.; De Eyto, E.; Dohet, A.; Domisch, S.; Dörflinger, G.; Drohan, E.; Eikland, KA.; England, J.; Eriksen, TE.; Evtimova, V.; Feio, MJ.; Ferréol, M.; Floury, M.; Forcellini, M.; Forio, MAE.; Fornaroli, R.; Friberg, N.; Fruget, J.-F.; Garcia Marquez, JR.; Georgieva, G.; Goethals, P.; Graça, MAS.; House, A.; Huttunen, K.-L.; Jensen, TC.; Johnson, RK.; Jones, JI.; Kiesel, J.; Larrañaga, A.; Leitner, P.; L'Hoste, L.; Lizée, M.-H.; Lorenz, AW.; Maire, A.; Manzanos Arnaiz, JA.; Mckie, B.; Millán, A.; Muotka, T.; Murphy, JF.; Ozolins, D.; Paavola, R.; Paril, P.; Peñas Silva, FJ.; Polasek, M.; Rasmussen, J.; Rubio, M.; Sánchez Fernández, D.; Sandin, L.; Schäfer, RB.; Schmidt-Kloiber, A.; Scotti, A.; Shen, LQ.; Skuja, A.; Stoll, S.; Straka, M.; Stubbington, R.; Timm, H.; Tyufekchieva, VG.; Tziortzis, I.; Uzunov, Y.; Van Der Lee, GH.; Vannevel, R.; Varadinova, E.; Várбірó, G.; Velle, G.; Verdonschot, PFM.; Verdonschot, RCM.; Vidinova, Y.; Wiberg-Larsen, P.; Haase, P. (2024): Time series of freshwater macroinvertebrate abundances and site characteristics of European streams and rivers. In: *Scientific Data*, 11, 1, 601. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03445-3>
- Wenzl, T.; Simon, R.; Anklam, E.; Kleiner, J. (2006): Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. In: *Trends in Analytical Chemistry*, 25, 7, 716–725. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2006.05.010>
- Wernersson, A-S.; Carere, M.; Maggi, C.; Tusil, P.; Soldan, P.; James, A.; Sanchez, W.; Dulio, V.; Broeg, K.; Reifferscheid, G.; Buchinger, S.; Maas, H.; Van Der Grinten, E.; O'Toole, S.; Ausili, A.; Manfra, L.; Marziali, L.; Polesello, S.; Lacchetti, I.; Mancini, L.; Lilja, K.; Linderoth, M.; Lundeberg, T.; Fjällborg, B.; Porsbring, T.; Larsson, DJ.; Bengtsson-Palme, J.; Förlin, L.; Kienle, C.; Kunz, P.; Vermeirssen, E.; Werner, I.; Robinson, CD.; Lyons, B.; Katsiadaki, I.; Whalley, C.; Den Haan, K.; Messiaen, M.; Clayton, H.; Lettieri, T.; Carvalho, RN.; Gawlik, B.M.; Hollert, H.; Di Paolo, C.; Brack, W.; Kammann, U.; Kase, R. (2015): The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. In: *Environmental Sciences Europe*, 27, 1, 7. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0039-4>
- Wood, RJ.; Mitrovic, SM.; Lim, RP.; Warne, MSt J.; Dunlop, J.; Kefford, BJ. (2019): Benthic diatoms as indicators of herbicide toxicity in rivers – A new SPECies At Risk (SPEARherbicides) index. In: *Ecological Indicators*, 99, 203–213. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.12.035>

## A Anhang: Einsatz von Makrophyten zur Detektion phytotoxischer Effekte

### A.1 Hintergrund und Überblick

Die Makrophyten wurden zur Komplementierung als zusätzliche Qualitätskomponente in das effektbasierte Monitoring eingebunden. Dies war insbesondere interessant, um so mögliche phytotoxische Effekte detektieren zu können. Als Versuchspflanzen wurden die einheimischen Arten *Myriophyllum spicatum* als Vertreter der submersen Wasserpflanzen und *Lemna* sp. als Vertreter der „schwimmenden Pflanzen“ verwendet. Die Tests im Labor wurden in Anlehnung an die entsprechenden OECD-Guidelines durchgeführt. Für das aktive Monitoring wurde pro Probestelle das Wachstum von voll-exponierte *Lemna* und *Myriophyllum*-Pflanzen und zusätzlich das Periphyton auf Substrat-PE-Scheiben in herkömmlichen Pflanzkörben mit Aktivkohle (im Folgenden als „Aktivkohle-Methode“ genannt) und damit schadstoff-geschützten *Lemna* und *Myriophyllum*-Pflanzen und Periphyton verglichen. Die Entwicklung der „Aktivkohle-Methode“ sollte den Einfluss der Umweltfaktoren minimieren.

Durchgeführt wurden die Untersuchungen an den, in den Jahren 2022 und 2023, untersuchten Probestellen (Tabelle 3). Aufgrund geringer Effekte und relativ geringer Schadstoffkonzentrationen wurden für 2023 auf konzentrierte Lösungen (bis zu 5xfach umweltäquivalent) jeder Probestelle mit *Lemna* getestet, um eine Effektkonzentration zu ermitteln. Die Probestellen in der ersten Probenahme-Kampagne in 2022 wurden sowohl im aktiven Monitoring, als auch durch Labortests untersucht. Die Probestellen der zweiten Probenahme-Kampagne in 2023 wurden ausschließlich durch Labortests untersucht.

Für 2022 hatten die renaturierten Stellen schlechter abgeschnitten als die nicht renaturierten Stellen. Insbesondere die Würf (renaturiert) hatte den schlechtesten Zustand (Zustandsklasse 5). Eine „unbefriedigende“ Zustandsklasse (4) hatten der Fohnbach (renaturiert und Kontrollabschnitt), der Josbach (renaturiert) und die Bieber (Kontrollabschnitt). Die Ergebnisse aus dem Labor waren oft nicht deckungsgleich mit den Freilandergebnissen. Es gab jedoch einen plausiblen Zusammenhang mit erhöhter Phytotoxizität bei erhöhten DOC und Schwermetallkonzentrationen, andererseits war der Zusammenhang zu Pestiziden und Pharmaka eher widersprüchlich. Das schlechtere Abschneiden der renaturierten Stellen zeigte sich auch beim Vergleich der einzelnen Parameter innerhalb einzelner Bäche und beim Vergleich aller renaturierten Probestellen gegen alle nicht renaturierten Stellen.

Für 2023 gab es kein eindeutiges Bild beim phytotoxischen Zustand, sowohl die nicht renaturierten Stellen von Gilsa und Emsbach, als auch die renaturierten Stellen von Emsbach und Wern hatten einen moderaten bis ungenügenden phytotoxischen Zustand. Alle weiteren Stellen waren mit „sehr gut“ und nur der Westerbach (Kontrollabschnitt) mit „gut“ bewertet worden. Die 5fach auf konzentrierten Proben im *Lemna*-Test hatten nur tendenziell ein geringeres Wachstum für Gilsa (Kontrollabschnitt), Emsbach (renaturiert und Kontrollabschnitt) und Wern (renaturiert) im Vergleich zur Kontrolle. Allerdings war das schlechtere Abschneiden der renaturierten Stellen beim Vergleich einzelner Parameter innerhalb einzelner Bäche und beim Vergleich aller renaturierten Probestellen gegen alle nicht renaturierten Stellen ebenfalls sichtbar.

Die „Aktivkohle-Methode“, die für das aktive Monitoring als Pionierarbeit entwickelt wurde, bleibt vielversprechend, benötigt aber noch eine Weiterentwicklung hinsichtlich der Durchströmung und Untersuchung der Schadstoffrückhaltung. Die Labortests, auch in miniaturisierter Form, haben gut funktioniert. Eine Effektmaskierung über Nährstoffe, die durch die SPE-Extraktion in die Eluate und damit ins Medium gelangen könnten, konnte durch Messungen der Makronährstoffe weitestgehend ausgeschlossen werden. Hier bleibt allerdings

die Empfehlung diese Messung, u.a. auch von Mikronährstoffen für jeden Versuch zu wiederholen, um einen Nährstoffeffekt ausschließen zu können. Höheres Wachstum verglichen zur Kontrolle könnte ggf. auf einen Hormesiseffekt (Wachstumsförderung bei niedrigen Schadstoffkonzentrationen z.B. Cedergreen et. al. 2007) zurückzuführen sein. Die Aufkonzentrierung von Proben und damit ein Dosis-Wirkungs-Test-Design könnten den Hormesiseffekt aufdecken und beitragen eine Schadstoffkonzentration gemessen in Umweltäquivalent-Konzentration zu ermitteln. Um diese Lücke zu schließen, könnte der bereits entwickelte Algentest (z.B. Glauch und Escher 2020) in miniaturisierter Form auf Well-Plates helfen.

Diverse räumliche, zeitliche und strukturelle Faktoren, beispielsweise saisonale PSM-Ausbringungen durch die Landwirtschaft, Wetter, lokale Besonderheiten, um nur ein paar zu nennen, beeinflussen das Vorkommen möglicher Schadstoffe. Da unsere Laborergebnisse nur auf eine einzelne Stichprobe pro Probestelle beruhen ist die Repräsentativität und damit die Beurteilung eingeschränkt.

Gerade für Wasserpflanzen bleiben die Vorteile des aktiven Monitorings bestehen. Auf Pflanzen wirken das Mikroklima der Probenentnahmestelle und die Nährstoffsituation als Co-Faktoren in der Effektbewertung und können Effekte überlagern. Hier sind die Kontroll- bzw. Referenzwerte an anderen Probeentnahmestellen (z.B. Referenzgewässer) mit unterschiedlichem Klima und Nährstoffbasis schwer vergleichbar. Eine Referenzsituation durch ein mit Aktivkohle von Schadstoffen befreites Medium unter ansonsten gleichen Standortbedingungen stellt hier eine gute Option in Aussicht. Weiterhin stellen die längeren Expositions-Phasen (2 bis 4 Wochen) eine deutliche Erhöhung der Repräsentativität dar.

## A.2 Methodik

Es wurden in 2022 an fünf Gewässern (Fohnbach, Würf, Josbach, Asphe und Bieber, siehe Tabelle 3) ein aktives Monitoring und Laborversuche mit DMSO-Extrakten mit Makrophyten durchgeführt. In 2023 wurden lediglich Laborversuche mit Makrophyten durchgeführt, dies in den Gewässern Emsbach, Gilsa, Walluf, Wern und Westerbach (Tabelle 3).

### A.2.1 Aktives Monitoring (2022)

Es wurden die submerse Art *Myriophyllum spicatum*, die schwimmende Art *Lemna* sp. und Periphyton (*in situ*) eingesetzt. *M. spicatum* hat eine große ökologische Nischenbreite und ist wie *Lemna* sp. ein Standardtestorganismus in der Ökotoxikologie (z.B. OECD 2014).

Die Expositionsgefäße waren handelsübliche Wasserpflanzengefäße aus Plastik (LxBxH: ca. 19x19x9 cm) für Periphyton und *Lemna* sp. und ca. 60 cm lange Acryl-Röhren für *M. spicatum*. Um Umweltfaktoren besser auszuschließen, wurden als Parallel-Kontrollen, die gleichen, oben beschriebenen Expositionsgefäße verwendet, aber mit einer Aktivkohlefiltermatte (Dicke ca. 12 mm, Aktivkohleauflage 500 g/m<sup>2</sup>, Benzoladsorption ca. 10 mg/cm<sup>2</sup>) ummantelt bzw. verschlossen. Die Aktivkohle sollte Schadstoffe rausfiltern, wohingegen die Pflanzen in den „nicht Aktivkohle-gefilterten“ Körben möglichen Schadstoffen unmittelbar ausgesetzt waren. Insgesamt wurden pro Probenahmestelle (U1, L1 und S1-5) folgende Wasserpflanzen und Substrate für 28 Tage vom 12.04. bis 10.5.2022 exponiert (s. Abbildung A 1 und Abbildung A 2):

- ▶ *Myriophyllum spicatum* (2 Röhren a 4 Sprosse a 10 cm, 4 Replikate)
- ▶ *Lemna* sp. (2 Expositionsgefäße mit 4 Kammern a 10 Fronds, 4 Replikate)
- ▶ Periphytonscheiben (2 Expositionsgefäße a 3 PE-Platten, 3 Replikate)

Für *Myriophyllum* wurde zu Beginn an Tag 0 und an Tag 28 das Wachstum der Haupt- und Seitensprosse gemessen. An Tag 28 wurde die Biomasse (Frisch- und Trockengewicht) für jeden Spross erfasst. Bei *Lemna* sp. wurden die Fronds zu Beginn (Tag 0) und an Tag 28 gezählt, ebenso wurde die Biomasse erfasst (Frisch- und Trockengewicht). *Myriophyllum* Sprosse entstammen aus einer Teichhälterung aus dem Forschungszentrum Neu-Ulrichstein (FNU). Die Periphyton-Proben wurden mit Hilfe eines DF-Spektrometers (DF: Delayed Fluorescence) analysiert.

Die Periphyton-Scheiben wurden in dem Wasser der entsprechenden Probenahmestellen via PKW zum Labor in Homberg (Ohm) gefahren und dort abgekratzt und mit 350 mL Leitungswasser in eine lichtundurchlässige 500 mL PE-Flasche gespült. Die Proben wurden mit Hilfe eines DF-Spektrometers (DF: Delayed Fluorescence) analysiert. Durch das DF-Spektrometer können anhand der Pigmentzusammensetzung und photosynthetischen Eigenschaften 4 verschiedene Algengruppen in den Proben gemessen werden (in  $\mu\text{g}$  Chlorophyll a/L): Blaualgen, Grünalgen, Kieselalgen und Kryptomonaden und daraus resultierend der Gesamtchlorophyll-a-Gehalt.

### Abbildung A 1: Expositionsgefäße im Aktiven Monitoring

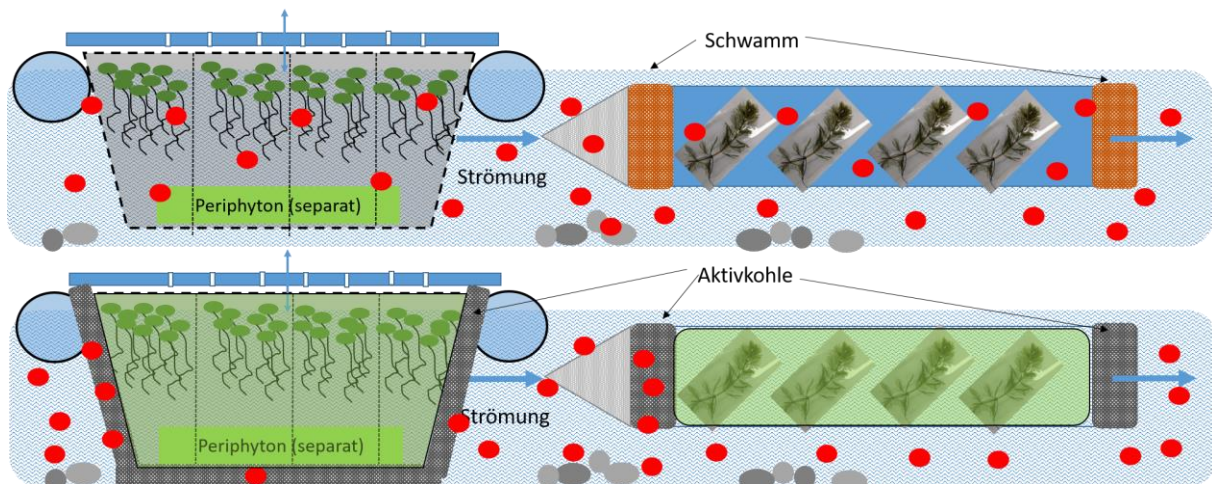


Expositionssystem für Periphyton und Makrophyten (links).

*Lemna* sp. wurde in den Kästen mit Plexiglasdeckel jeweils in 4 Kammern (4 Replikate) exponiert. *Myriophyllum* wurde in den Plexiglas-Röhren exponiert. Bild (leicht abgeändert) von Tobias Weidner zur Verfügung gestellt. Rechts oben (Mesocosm GmbH): Beispiel für einen mit Aktivkohle-Matte ummantelten Expositionskorb (hier noch ohne Schwimmring). Rechts unten (Mesocosm GmbH): Nahansicht der Plexiglasröhre mit *Myriophyllum*-Spross und Schwimmring. Beide Enden sind entweder mit 30 ppi-Schwamm oder für die Aktivkohlekontrolle mit Aktivkohlematte verschlossen (aber wasserdurchlässig).

Quelle: eigene Darstellung, Mesocosm GmbH und von Tobias Weidner, Masterstudent bei Mesocosm GmbH

## Abbildung A 2: Prinzip der Expositionssysteme mit Aktivkohle



Oben: „Ohne Ummantelung“, durchlässig für Schadstoffe: Links: Korb für *Lemna* und Periphyton ohne Ummantelung. Rechts: mit „Schwamm“ verschlossen. Unten: „Mit Aktivkohlemantel“, undurchlässig für Schadstoffe: Links: Korb für *Lemna* und Periphyton mit Aktivkohlemantel. Rechts: mit „Aktivkohle“ verschlossen. Alle Systeme waren wasserdurchlässig. Die roten Punkte symbolisieren mögliche Schadstoffe.

Quelle: eigene Darstellung, Mesocosm GmbH

### A.2.2 Laborversuche

Die Laborversuche wurden mit SPE-Extrakten von allen Probestellen der Jahre 2022 und 2023 durchgeführt. In 2023 wurde der *Lemna*-Test in Miniaturform (20 mL) mit 1xfach und 5xfach umweltäquivalenter Aufkonzentrierung durchgeführt.

Der *Lemna*-Test wurde in 2022 angelehnt an die OECD Test Guideline 221 (OECD 2006) durchgeführt. Für jede Probestelle wurden 300 mL Steinberg-Medium mit 60 µL des jeweiligen Extraktes (in DMSO, nach Solid Phase Extraktion SPE) angesetzt. In 3 Bechergläsern (3 Replikate) wurden jeweils 100 mL Steinberg-Medium inklusive Wasserextrakt in umweltäquivalenter Konzentration der jeweiligen Probenahmestelle 10 *Lemna*-Fronds eingesetzt. Als Endpunkte diente die Anzahl der Fronds und des Trockengewichts von Tag 7. Es wurden 3 unbehandelte Kontrollen und 3 Lösemittelkontrollen mit der gleichen Extrakt-Konzentration DMSO eingesetzt. Die Klimabedingungen und sonstige Bedingungen wurden wie für OECD 221 eingestellt.

Der *Lemna*-Test mit den im Jahr 2023 genommenen Proben wurde hingegen in aufkonzentrierter Form durchgeführt. Die Beweggründe hierfür hängen unter anderem damit zusammen, dass die Umweltkonzentrationen im Allgemeinen verhältnismäßig niedrig sein können. Die reale Belastung aufgrund punktueller, diffuser Einleitung wird bei Stichprobenahmen möglicherweise unzureichend erfasst. Die Beurteilung der Ergebnisse einer Probestelle in der Umwelt ist daher von der Qualität und Repräsentativität der Probe abhängig. Gerade die Repräsentativität ist oft schwierig zu erreichen, da Belastungen zeitlich, räumlich und strukturell sehr heterogen in Fließgewässer auftreten können. Die Wiederfindung ist als Positivbefund in Form des effektbasierten Monitorings im Labor zusätzlich bedingt durch Lagerung, Weiterbehandlung usw. und auch zusätzlich in Abhängigkeit der jeweiligen, unbekanntem Stoffeigenschaften, möglicherweise geringer, so dass die Bewertung die Belastung einer Probestelle unterschätzen kann. Allerdings ist natürlich ein Überschätzen ebenfalls

möglich. Diese Problematik ist insbesondere für die länger andauernden Labortests mit Makrophyten von Bedeutung. Makrophyten zeigen oft bei niedrigeren Konzentrationen eines Schadstoffes einen Hormesiseffekt (siehe Cedergreen et al. 2007), d.h. sie wachsen besser als die Kontrolle. Nichtsdestotrotz sind Makrophyten wichtig, um Herbizide, phytotoxische Wirkungen zu detektieren. Eine Auf-Konzentrierung sollte daher das Detektieren von möglichen phytotoxischen Stoffen verbessern.

Vor diesem Hintergrund wurden Laborversuche mit *Lemna gibba* 1-fach umweltäquivalent und 5-fach umweltäquivalent aufkonzentrierten Proben durchgeführt. Der MTBE-Ether (1. Eluat nach SPE) wurde im entsprechenden Volumen direkt in die entsprechende Testeinheit (50 mL Bechergläser) gegeben und restlos verdunstet. Nach der Verdunstung wurde mit 20 mL Steinbergmedium (*Lemna*-Test) aufgefüllt und gemischt. Das Design war wie folgt: 6 Kontrollen à 20 mL unbehandeltes Steinbergmedium, 6 Lösemittelkontrollen (purer MTBE-Ether verdunstet, wie für 5-fach umweltäquivalent), 4 Replikate für die jeweilige Probenahmestelle 5-fach umweltäquivalent und 1-fach umweltäquivalent. Die Testdauer war 7 Tage. Der Test wurde unter den Bedingungen (Lichtstärke, Temperatur usw.) wie für OECD 202 angegeben durchgeführt.

Der *Myriophyllum*-Labortest wurde in Anlehnung an die Test Guideline OECD 239 (OECD 2014) in etwas verkleinerter Form durchgeführt, da die Menge des vorhandenen Wasserextrakts in DMSO nicht für den Test in größeren Gefäßen ausreichend war. Daher wurden stattdessen hohe 200 mL Gläser verwendet. Zum Medium (Smart und Barko) wurden 120 µL Extrakt pro 600 mL gegeben, so dass pro Probestelle umweltäquivalente Konzentrationen erreicht wurden. Dieses Medium wurde auf 3-4 Testeinheiten mit jeweils 200 mL aufgeteilt. Für jede Probenahmestelle, Lösemittelkontrolle und unbehandelte Kontrolle wurden jeweils 6 Testeinheiten à 1 Spross in 200 mL Medium verwendet (s. Abbildung A 3). Für den Test wurden im Labor vorkultivierte 6 cm lange Sprosse von *M. spicatum* eingesetzt. Diese wurden in mit OECD-Sediment befüllte Plastik Schnapsgläser gepflanzt (3 cm im Sediment und 3 cm oberhalb des Sediments) und dann in die mit 200 mL Smart und Barko-Medium (inkl. DMSO-Extrakt) befüllten Gläser gesetzt. Als Endpunkte dienten die Länge des Sprosses (Haupt- und Seitensprosse) und das Trockengewicht. Die Klimabedingungen wurden, wie in OECD 239 angegeben, eingestellt.

### Abbildung A 3: Myriophyllum Labortest



Testeinheit links: *Myriophyllum* Spross an Tag 7 verwurzelt im Sediment (im Schnapsgläschen aus Plastik). Rechts: *Myriophyllum* nach der Ernte, oben Wurzelwerk und unten der Spross.

Quelle: eigene Darstellung, Mesocosm GmbH

#### A.2.3 Nährstoffmessungen in DMSO Extrakten

Um den Effekt von Nährstoffen in den DMSO-Extrakten nach SPE-Extraktion auszuschließen, wurden die Extrakte mit photometrischem Test auf Nährstoffe ( $\text{PO}_4$ ,  $\text{NO}_3$  und  $\text{NH}_4$ ) und Leitfähigkeit untersucht. Dazu wurden die DMSO Proben 4-fach umweltäquivalent in entionisiertem Wasser aufkonzentriert. Jede Probe (dazu eine Lösemittelkontrolle und eine Kontrolle mit nur entionisiertem Wasser) wurde daraufhin getestet. Bei allen Probestellen waren die Nährstoffwerte für die DMSO-Eluate (4-fach-konzentriert) unterhalb der Bestimmungsgrenzen. Die Leitfähigkeit war im Vergleich zur DMSO-Kontrolle z.T. geringfügig höher (ca. plus 5-10  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Es konnte ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen hoher in-situ Leitfähigkeit und Leitfähigkeit in den Eluaten festgestellt werden ( $r^2=0.525$ ,  $p<0.05$ ). Ein Nährstoffeinfluss dürfte demnach als gering angesehen werden. Jedoch könnte ein sehr geringer Anteil Salze und Nährstoffe mit in die Extrakte gelangen. Es wird daher empfohlen eine Messung der Nährstoffe und der Leitfähigkeit der Proben zusammen mit dem Ansatz von Makrophyten Tests durchzuführen, um Nährstoffeffekte ausschließen zu können.

#### A.2.4 Statistik und Darstellung

Die statistische Auswertung und die graphische Darstellung wurden mit Hilfe der Programme Microsoft Excel 2016, ToxRatPro (Version 3.3.0) und R (Version 4.1.1) erstellt. Für die Datenauswertung wurde zunächst die Normalverteilung und Varianzhomogenität überprüft. Je

nach Vor-Test Ergebnis wurde ein entsprechender Test ausgeführt. Bei Normalverteilung und Varianzhomogenität wurde der Student-t-test (homogene Varianzen) durchgeführt. Bei Normalverteilung und Varianzheterogenität wurde entsprechend der Welch-t-test (heterogene Varianzen) herangezogen. Lag keine Normalverteilung und Varianzheterogenität vor, wurde der Wilcoxon-Test (nicht parametrischer Test) verwendet.

Bei den im Labor durchgeführten Tests aus 2023 wurden die statistischen Vergleiche jeweils gegen die Lösemittelkontrolle durchgeführt. Die Lösemittelkontrolle war bei Frischgewicht und Trockengewicht an Tag 7 (7 Tage nach Applikation) signifikant größer verglichen zur unbehandelten Kontrolle. Da im Allgemeinen der statistische Vergleich zur Lösemittelkontrolle empfohlen wird, wurde daher die unbehandelte Kontrolle ausgeschlossen.

## A.2.5 Einteilung in Zustandsklassen

Für die Effektklassifizierung wurde der Unterschied zu Kontrolle/Referenzstelle aus den statistischen Tests aus den t-Werten bzw. Signifikanzniveaus verwendet. Der t-wert bzw. das Signifikanzniveau sind ein Maß der Abweichung der Mittelwerte von Behandlungsgruppe/Probestelle im Vergleich zur Kontrolle/Referenzstelle. Ein hoher t-Wert bzw. ein niedriges Signifikanzniveau zeigen daher einen größeren Unterschied an. Mit Hilfe einer t-Wert Tabelle und entsprechenden Freiheitsgraden kann der p-Wert (Signifikanzniveau) abgelesen werden. Durch die richtige Wahl des statistischen Tests wird damit die Gefahr des Über- oder Unterschätzen des Effekts verringert. Eine Klassifizierung nach Signifikanz-Niveau für den speziellen Fall der pflanzlichen Wachstumsparameter (s. Tabelle A 1) dürfte verlässlicher sein, als eine Einteilung in Prozent (s. z.B. Brettschneider et al. 2019), v.a. bei Ergebnissen mit größerer Varianz. Gerade für Wachstumstests mit Makrophyten im Labor und im Freiland (*in situ*) sind relativ hohe Varianzen zu erwarten. Die Einteilung in Zustandsklassen für Makrophyten wurde bereits im Projekt „DECIDE“ (Oetken et al. 2025) von Mesocosm GmbH entwickelt und hier angewandt. Da es für jeden Makrophyten-Labortest unterschiedliche Parameter gibt, ist für die Einstufung in die Zustandsklasse der höchste Effekt ausschlaggebend.

**Tabelle A 1: Phytotoxikologische Zustandsklassen**

Zustandsklasse	t-Wert (Beträge) bei df=7	Signifikanz-Niveau (einseitig)	Bewertung
I	$x < 1,119$	$0,15 > p$	Sehr gut
II	$1,119 < x < 1,415$	$0,15 > p > 0,1$	Gut
III	$1,415 < x < 1,895$	$0,1 > p > 0,05$	Mäßig
IV	$1,895 < x < 3,499$	$0,05 > p > 0,005$	Unbefriedigend
V	$3,499 < x$	$p < 0,005$	Schlecht

t-Werte Bereiche bei entsprechenden Signifikanz-Niveau als Grenzen/Klassen. Negative t-Werte: erhöhtes Wachstum -> Hormesis? Positive t-Werte: vermindertes Wachstum -> Phytotoxisch

## A.3 Ergebnisse und Diskussion der Untersuchungen

### A.3.1 Aktives Monitoring im Freiland

Für die Erhebung der Freilanddaten wurden folgende Fragestellungen untersucht:

- A) Gibt es einen Unterschied im Wachstum bei *Lemna*, *Myriophyllum* und Periphyton beim Vergleich der Kontroll- und renaturierten Abschnitte?
- B) Gibt es einen Unterschied im Wachstum bei *Lemna*, *Myriophyllum* und Periphyton beim Vergleich „Aktivkohle“ (Schadstoff reduziert) vs. „voll exponiert“?

Die Unterschiede im Wachstum der pflanzlichen Organismen können unterschiedliche Belastungen phytotoxischer Spurenstoffe anzeigen. Fragestellung A sollte insbesondere den Erfolg oder Nicht-Erfolg der Renaturierungsmaßnahmen im Hinblick auf phytotoxische Belastungen beleuchten. Aufgrund der Schwierigkeit von verschiedensten Umweltfaktoren im Freiland, die das pflanzliche Wachstum beeinflussen und so phytotoxische Effekte maskieren können, sollte Fragestellung B mittels Aktivkohlemethodik dazu beitragen, den Einfluss der Umweltfaktoren zu minimieren.

Insgesamt konnten sich für *Myriophyllum spicatum* im aktiven Monitoring phytotoxischen Effekte beim Vergleich der voll-exponierten mit den „Aktivkohle geschützten“ Pflanzen vor allem für die Würf (renaturiert, Zustandsklasse 5 „schlecht“) und für den Fohnbach (nicht renaturiert, Zustandsklasse 4 „unbefriedigend“) festgestellt werden. Alle weiteren Stellen hatten entweder die Zustandsklasse 1 („sehr gut“) oder 2 („gut“) (Abbildung A 4).

**Abbildung A 4: Eingruppierung in phytotoxikologische Zustandsklassen auf der Basis der Freilanduntersuchungen für *Myriophyllum* und *Lemna***

	Gewässer	Ertrag Frischgewicht		Ertrag Trockengewicht		Ertrag Gesamtsprosslänge bzw. Fronds		Gesamt	
		K	R	K	R	K	R	K	R
Myriophyllum	Asphe	1	1	1	1	1	1	1	1
	Bieber	2	1	1	1	1	1	2	1
	Fohnbach	1	1	1	1	4	2	4	2
	Josbach	1	1	1	1	1	1	1	1
	Würf	1	4	1	5	1	5	1	5
Lemna	Asphe	1	1	1	1	1	1	1	1
	Bieber	4	2	4	2	4	2	4	2
	Fohnbach	1	1	1	4	1	2	1	4
	Josbach	1		1		1		1	
	Würf	2	1	3	1	3	1	3	1

K: Kontrollabschnitte, R: renaturierte Abschnitte

Quelle: eigene Darstellung, Mesocosm GmbH

Für *Lemna* ergeben sich beim Vergleich der „voll exponierten“ und der „Aktivkohle-geschützten“ *Lemna* signifikante phytotoxische Effekte bei Fohnbach (renaturiert) und Bieber (Kontrollabschnitt), daher wurden beide Probestellen der Zustandsklasse 4 („unbefriedigend“) zugeordnet (Abbildung A 4). Die Würf (Kontrolle) konnte der Zustandsklasse 3 („mäßig“) zugeordnet werden, da es hier ein tendenziell verringertes Wachstum von *Lemna* gab. Beim Josbach (renaturiert) konnte keine Zuordnung erfolgen, da nach der Exposition weder für die „voll-exponierte“, noch für die „Aktivkohle-geschützten“ Körbe *Lemna* Fronds vorgefunden werden konnten.

Bei der Gesamtbetrachtung der phytotoxischen Effekte zeigte sich, dass die Testergebnisse von *Lemna* und *Myriophyllum* nicht deckungsgleich angezeigt haben. Die schlechteste Zustandsklasse

hatte die Würf (renaturiert) (5 = „schlecht“), gefolgt von Fohnbach (renaturiert und Kontrollabschnitt) und Bieber (Kontrollabschnitt) (jeweils, 4 = „unbefriedigend“). Eine „mäßige“ und „gute“ Zustandsklasse wurde für die Würf (nicht renaturiert) und für die Bieber (renaturiert) festgestellt. Die übrigen Probestellen wurden mit „sehr gut“ (1) bewertet.

Das Periphyton wurde gemessen, allerdings werden die Ergebnisse aufgrund eines methodischen Fehlers nicht dargestellt. Es wurde bei den Expositionskörben nicht bedacht, dass die Aktivkohle Grazer abhält und somit in den „dichten“ Aktivkohlekörben ohne „Fraßdruck“ ein erhöhtes Wachstum stattfinden konnte. In den anderen Körben waren die Periphyton-Wuchsscheiben nicht derart abgeschirmt, so dass hier auf jeden Fall eine bessere Zugänglichkeit für Grazer bestand. Eine Auswertung und Beurteilung der Stellen auf Phytotoxizität war daher leider nicht möglich. Eine Auswertung der „Fraßleistung“ durch Subtraktion der Periphytondichte der nicht zugänglichen Flächen, mit den nicht zugänglichen Flächen, erbrachte ein indifferentes, nicht plausibles Ergebnis, auf eine weitere Darstellung wird darauf verzichtet. Nichtsdestotrotz, könnte ein verfeinerter Ansatz eine vielversprechende Methode sein, um verschiedene Parameter der Produktion und Konsumption gleichzeitig zu messen: die Fraßleistung und damit Grazerdichte und Aktivität und die Produktivität des Periphytons an einer Probestelle.

### A.3.2 Passives Monitoring im Labor

In der Gesamtbetrachtung aller renaturierten Stellen im Vergleich zu den Kontrollabschnitten ergibt sich Folgendes für *Myriophyllum spicatum* im Laborversuch am Testende an Tag 7: Im Laborversuch mit *Myriophyllum* gab es beim direkten Vergleich zwischen Kontrolle und den Probestellen signifikant niedrigere Erträge beim Frischgewicht und der Hauptsprosslänge nur beim renaturierten Abschnitt am Josbach. Der Josbach wurde daher mit der Zustandsklasse 4 („unbefriedigend“) bewertet. Die Bieber (Kontrollabschnitt) und der Fohnbach (Kontrollabschnitt) wurden mit der Zustandsklasse 3 („mäßig“) und 2 („gut“) bewertet (Abbildung A 5). Für den renaturierten Abschnitt am Emsbach wurden signifikant niedrigere Werte für den Ertrag von Frisch- und Trockengewicht festgestellt. Daher wurde nur die renaturierte Stelle des Emsbachs in eine phytotoxikologische „unbefriedigende“ Zustandsklasse eingeteilt. Beim Kontrollabschnitt am Westerbach wurde beim Ertrag Trockengewicht tendenziell geringere Werte im Vergleich zur Kontrolle festgestellt ( $p=0.135$ ), daher wurde diese Stelle in die Zustandsklasse 2 („gut“) eingeteilt. Die Wachstumsparameter aller anderen Stellen waren zwar stellenweise höher, aber nie kleiner im Vergleich zur Kontrolle und wurden daher mit der Zustandsklasse 1 („sehr gut“) beurteilt. Signifikant höhere Erträge waren zu verzeichnen am renaturierten Abschnitt am Westerbach und am Kontrollabschnitt der Walluf beim Frischgewicht und bei der Gesamtsprosslänge. Für die Effekt-Klassifizierung werden nur die Abnahmen im Vergleich zur Kontrolle als phytotoxische Effekte berücksichtigt. Höheres Wachstum aufgrund von Nährstoffanreicherungen im DMSO-Extrakt konnte weitestgehend ausgeschlossen werden (s. Kapitel A.2.3).

**Abbildung A 5: Eingruppierung in phytotoxikologische Zustandsklassen auf der Basis der Freilanduntersuchungen für *Myriophyllum* und *Lemna***

	Gewässer	Ertrag Frischgewicht		Ertrag Trockengewicht		Ertrag Gesamtsprosslänge bzw. Fronds		Gesamt	
		K	R	K	R	K	R	K	R
<b>Myriophyllum</b>	Asphe	1	1	1	1	1	1	1	1
	Bieber	3	1	1	1	2	1	3	1
	Fohnbach	1	1	1	1	2	1	2	1
	Josbach	1	4	1	1	1	4	1	4
	Würf	1	1	1	1	1	1	1	1
	Emsbach	1	4	1	4	1	1	1	4
	Gilsa	1	1	1	1	1	1	1	1
	Walluf	1	1	1	1	1	1	1	1
	Wern	1	1	1	1	1	1	1	1
	Westerbach	1	1	2	1	1	1	2	2
<b>Lemna</b>	Asphe	1	1	1	1	1	1	1	1
	Bieber	1	3	1	1	1	1	1	3
	Fohnbach	1	2	1	1	1	1	1	2
	Josbach	1	4	1	1	1	1	1	4
	Würf	1	1	1	1	1	1	1	1
	Emsbach	1	1	1	1	3	2	3	2
	Gilsa	1	1	1	1	1	1	1	1
	Walluf	1	1	1	1	1	1	1	1
	Wern	1	1	1	1	1	3	1	3
	Westerbach	1	1	1	1	1	1	1	1

K: Kontrollabschnitte, R: renaturierte Abschnitte

Quelle: eigene Darstellung, Mesocosm GmbH

Im Laborversuch mit *Lemna* gab es für den Josbach (renaturiert) im Vergleich zur Kontrolle signifikant geringere Erträge beim Trockengewicht. Der Josbach wurde daher in die phytotoxische Zustandsklasse 4 („unbefriedigend“) eingeteilt. Bieber (renaturiert) und Fohnbach (renaturiert) hatten ein tendenziell geringeres Wachstum im Vergleich zur Kontrolle und wurden daher in die Zustandsklasse 3 („mäßig“) und 2 („gut“) eingeteilt. Alle weiteren Probestellen wurden mit 1 („sehr gut“) bewertet (Abbildung A 4).

Der Laborversuch mit *Lemna* wurde im Jahr 2023 mit 1-facher und 5-facher umweltäquivalent Konzentration durchgeführt (vergleiche Kapitel A.2.2). Hiervon betroffen sind die Ergebnisse für die Bäche Emsbach, Gilsa, Walluf, Wern und Westerbach. Bei diesen Gewässern konnten sowohl in den Kontroll- als auch in den renaturierten Abschnitten keine signifikant geringeren Wachstumsparameter im Vergleich zur Kontrolle für 1-fach und 5-fach umweltäquivalente Konzentrationen festgestellt werden. In der Tendenz waren allerdings geringe Effekte mit kleineren Werten für den Ertrag der Fronds für Emsbach (Kontrollabschnitt) und für Wern (renaturiert) zu beobachten. Dagegen gab es statistisch höheres Wachstum beim Ertrag und der Wachstumsrate des Trockengewichts für Gilsa (Kontroll- und renaturierter Abschnitt), Westerbach (Kontrollabschnitt) und Walluf (Kontroll- und renaturierter Abschnitt). Die Ursache für die erhöhten Werte bleibt unklar. In der Effektbeurteilung wurden dementsprechend folgende Probenahmestellen in die phytotoxikologische Zustandsklasse 3 („mäßig“) eingeteilt: Der Kontrollabschnitt an der Gilsa und der renaturierte Abschnitt der Wern. Die Eingruppierung in die Zustandsklasse erfolgte hierbei auf der Basis der Ergebnisse für die 1-fache und 5-fache umweltäquivalent Konzentration.

### A.3.3 Zusammenfassung der Untersuchungen aus aktivem und passivem Monitoring

Nach der Einstufung in phytotoxische Zustandsklassen durch die Freiland- und Laborergebnisse wird deutlich, dass die renaturierten Stellen schlechter abgeschnitten haben als die Kontrollabschnitte (s. Tabelle A 2). Insbesondere die Würf wurde im renaturierten Abschnitt als „schlecht“ bewertet (Zustandsklasse 5). Eine „unbefriedigende“ Zustandsklasse (4) hatten der Fohnbach (renaturierter und Kontrollabschnitt), der Josbach (renaturiert) und die Bieber (Kontrollabschnitt). Die Ergebnisse aus dem Labor waren oft nicht deckungsgleich mit den Freilandergebnissen.

**Tabelle A 2: Phytotoxikologische Zustandsklasse für Lemna und Myriophyllum aus Labor- und Freilanduntersuchungen**

Gewässer	Lemna - Labor	Lemna - Freiland	Myriophyllum - Labor	Myriophyllum - Freiland	Gesamt	Mittel
Asphe renaturiert	1	1	1	1	1	3,4
Bieber renaturiert	3	2	1	1	3	
Fohnbach renaturiert	2	4	1	2	4	
Josbach renaturiert	4	NA	4	1	4	
Würf renaturiert	1	1	1	5	5	
Asphe Kontrolle	1	1	1	1	1	2,6
Bieber Kontrolle	1	4	3	2	4	
Fohnbach Kontrolle	1	1	2	4	4	
Josbach Kontrolle	1	1	1	1	1	
Würf Kontrolle	1	3	1	1	3	

### A.3.4 Zusammenfassung und Ausblick

Die 2022 beprobten Gewässer fielen durch die erhöhten phytotoxischen Zustandsklassen der renaturierten Stellen auf. Für die in 2023 beprobten Gewässer konnte dies nicht gezeigt werden. Allerdings konnte v.a. im *Lemna*-Test ein geringeres Wachstum bei den renaturierten Stellen festgestellt werden.

Die „Aktivkohle-Methode“, die für das aktive Monitoring als Pionierarbeit entwickelt wurde, bleibt vielversprechend, benötigt aber noch eine Weiterentwicklung hinsichtlich der Durchströmung und Untersuchung der Schadstoffrückhaltung. Sie ist im gewissen Sinne eine Miniaturform der 4. Reinigungsstufe von Kläranlagen. Wenn auch nicht eins zu eins vergleichbar, ist das Prinzip und dessen Wirksamkeit durch diverse Studien belegt worden (z.B. Triebkorn 2017). Die Labortests, auch in miniaturisierter Form, haben gut funktioniert. Ein erhöhtes Wachstum in den Labortests über Nährstoffe, die durch die SPE-Extraktion in die Eluate und damit ins Medium gelangen könnten, konnte durch Messungen der Makronährstoffe in den Eluaten weitestgehend ausgeschlossen werden. Hier bleibt allerdings die Empfehlung diese Messung, u.a. auch von Mikronährstoffen für jeden Versuch zu wiederholen, um einen Nährstoffeffekt ausschließen zu können. Das höhere Wachstum einzelner Stellen verglichen zur Kontrolle könnte ggf. auf einen Hormesiseffekt (Wachstumsförderung bei niedrigen

Schadstoffkonzentrationen (z.B. Cedergreen et al. 2007) zurückzuführen sein. Die Aufkonzentrierung von Proben und damit ein Dosis-Wirkungs-Test-Design könnten den Hormesiseffekt aufdecken und beitragen eine Schadstoffkonzentration gemessen in Umweltäquivalent-Konzentration zu ermitteln. Um diese Lücke zu schließen, könnte der bereits entwickelte Algentest (Glauch und Escher 2020) in miniaturisierter Form auf Well-Plates helfen.

Insgesamt bleibt für die Aussagekräftigkeit der Labordaten zu berücksichtigen, dass die Ergebnisse pro Probestelle nur auf einer Stichprobe basierten. Die Repräsentativität einer Stichprobe in Fließgewässer ist aufgrund saisonaler, räumlicher und struktureller Faktoren sicherlich eingeschränkt. Pflanzenschutzmittel, Dünger und andere Stoffe werden insbesondere von der Landwirtschaft jahreszeitlich abhängig ausgebracht. Peak-Situationen von Pflanzenschutzmitteln sind häufig im Frühjahr und Herbst anzutreffen (Mayer et al. 2020). Darüber hinaus ist der Eintrag dieser Stoffe auch vom Wetter abhängig, so wurde bereits im Kleinstgewässermonitoring (Liess et al. 2022) festgestellt, dass v.a. bei Regenereignissen (ca. 10mm) erhöhte ökotoxikologische Effekte auftreten können. Das Vorkommen bekannter und unbekannter Einleiter, Fließgeschwindigkeiten und Sedimentation beeinflussen ebenso die Verteilung räumlich als auch strukturell. Um die Aussagekraft der Ergebnisse zu verbessern, müsste die Repräsentativität der Probe verbessert werden.

#### A.4 Quellenverzeichnis

- Brettschneider, DJ.; Misovic, A.; Schulte-Oehlmann, U.; Oetken, M.; Oehlmann, J. (2019): Detection of chemically induced ecotoxicological effects in rivers of the Nidda catchment (Hessen, Germany) and development of an ecotoxicological, Water Framework Directive-compliant assessment system. In: *Environmental Sciences Europe*, 31, 1, 7. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0190-4>
- Cedergreen, N.; Streibig, JC.; Kudsk, P.; Mathiassen, SK.; Duke, SO. (2007): The Occurrence of Hormesis in Plants and Algae. In: *Dose-Response* 5, 2, 06-008. <https://doi.org/10.2203/dose-response.06-008.Cedergreen>
- CRC Press [Hrsg.] (2018): *Activated Carbon Adsorption for Wastewater Treatment*, 20018, CRC Press, Boca Raton.
- Glauch, L.; Escher, BI. (2020): The Combined Algae Test for the Evaluation of Mixture Toxicity in Environmental Samples. In: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39, 2496-2508. <https://doi.org/10.1002/etc.4873>
- Liess, M.; Liebmann, L.; Lück, M.; Vormeier, P.; Weisner, O.; Foit, K.; Knillmann, S.; Schäfer, R.B.; Schulze, T.; Krauss, M.; Brack, W.; Reemtsma, T.; Halbach, K.; Link, M.; Schreiner, V.C.; Schneeweiss, A.; Möder, M.; Weitere, M.; Kaske, O.; von Tümpling, W.; Gunold, R.; Ulrich, N.; Paschke, A.; Schürmann, G.; Schmitt Jansen, M.; Küster, E.; Borchardt, D. (2022): Umsetzung des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (NAP) – Pilotstudie zur Ermittlung der Belastung von Kleingewässern in der Agrarlandschaft mit Pflanzenschutzmittel-Rückständen. *Texte 07/2022*, Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau. [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/479/publikationen/texte\\_07-2022\\_umsetzung\\_des\\_nationalen\\_aktionsplans\\_zur\\_nachhaltigen\\_anwendung\\_von\\_pflanzenschutzmitteln.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/479/publikationen/texte_07-2022_umsetzung_des_nationalen_aktionsplans_zur_nachhaltigen_anwendung_von_pflanzenschutzmitteln.pdf)
- Mayer, J.; Bergmann, T.; Martin, H. (2020): Organische Spurenstoffe in hessischen Fließgewässern – Jahresbericht 2019. Hessisches Landesamt für Naturschutz, Umwelt und Geologie, Wiesbaden, 43-50. [https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/das\\_hlnug/jahresberichte/2019/Seiten\\_aus\\_Jahresbericht\\_2019\\_W2\\_Organische\\_Spurenstoffe.pdf](https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/das_hlnug/jahresberichte/2019/Seiten_aus_Jahresbericht_2019_W2_Organische_Spurenstoffe.pdf)
- OECD (2006): Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264016194-en>
- OECD (2014): Test No. 239: Water-Sediment Myriophyllum Spicatum Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264224155-en>

Oetken, M.; Bing, T.; Dombrowski, A.; Ebke, P.; Heß, S.; Hof, D.; Sundermann, A. (2025): DECIDE - Entwicklung und Evaluierung eines ökotoxikologischen, wasserrahmenrichtlinienkonformen Bewertungssystems für Fließgewässer (Endbericht). <https://www.dbu.de/projektdatenbank/35663-01/> (20.02.2025)

Triebskorn, R. [Hrsg.] (2017): Das Projekt SchussenAktivplus: Hintergrund, Ziele, Inhalt und Projektteam. Weitergehende Abwasserreinigung: Ein wirksames und bezahlbares Instrument zur Verminderung von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf. Eberhard Karls Universität Universitätsbibliothek. Auflage: 1 (29. März 2017). <https://publikationen.uni-tuebingen.de/xmlui/handle/10900/74316>

## A.5 Rohdaten der Untersuchungen zum Einsatz von Makrophyten

### A.5.1 Myriophyllum Freiland 2022

Probestelle	vor Ausbringung (23.05.22)		nach 4 Wochen (24.06.22)							
	TSL_0 [cm]	FG [g]	Haupt-SL [cm]	LS [cm]	LS [cm]	LS [cm]	LS [cm]	FG [g]	TG [g]	TSL [cm]
AN_A_o	10	0,506	8					0,1023	0,0074	8
AN_A_r	10	0,925	11,5					0,5458	0,029	11,5
AN_A_w	10	0,7705	9,4	3				0,3556	0,0223	12,4
AN_A_s	10	0,695	12					0,4566	0,0224	12
AN_S_o	10	0,706	6					0,0899	0,0102	6
AN_S_r	10	0,771	13,5					0,3813	0,0281	13,5
AN_S_w	10	0,478	13					0,2826	0,0218	13
AN_S_s	10	1,092	20					1,145	0,0644	20,3
AR_A_o	10	0,383	12,8					0,3766	0,0402	12,8
AR_A_r	10	0,474	12					0,2643	0,0246	12
AR_A_w	10	0,519	NA					NA	0	0
AR_A_s	10	0,589	NA					NA	0	0
AR_S_o	10	0,353	18					0,4408	0,0379	18
AR_S_r	10	0,402	10,5					0,4074	0,0281	10,5
AR_S_w	10	0,329	14,3					0,294	0,0218	14,3
AR_S_s	10	0,406	11,4					0,2215	0,0644	11,4
BN_A_o	10	0,559	14,1	1,5				0,77	0,1103	15,6
BN_A_r	10	0,366	21,2					0,411	0,0391	21,2
BN_A_w	10	0,38	12,5	1,7				0,3757	0,0313	14,2

Probestelle	vor Ausbringung (23.05.22)		nach 4 Wochen (24.06.22)							
BN_A_s	10	0,521	21,4					0,6628	0,0707	21,4
BN_S_o	10	0,586	12					0,441	0,0246	12
BN_S_r	10	0,546	12,6	1	1,5			0,6505	0,0607	15,1
BN_S_w	10	0,584	12,2					0,713	0,0703	12,2
BN_S_s	10	0,943	17,7	2,5				0,8264	0,0527	20,2
BR_A_o	10	0,208	5,5					0,2184	0,0135	5,5
BR_A_r	10	0,85	12					0,6481	0,0634	12
BR_A_w	10	0,786	10					0,1556	0,0155	10
BR_A_s	10	0,512	8,5					0,1775	0,0103	8,5
BR_S_o	10	0,669	8					0,1597	0,0117	8
BR_S_r	10	0,669	12,3	2	1	2	0,5	0,3016	0,0248	17,8
BR_S_w	10	0,86	7,8					0,185	0,0109	7,8
BR_S_s	10	0,789	5					0,171	0,0126	5
WN_A_o	10	0,334	13,7					0,4169	0,0423	13,7
WN_A_r	10	0,692	8	0,5				0,2071	0,0295	8,5
WN_A_w	10	0,708	16,4	1				0,769	0,1034	17,4
WN_A_s	10	0,631	NA					NA	0	0
WN_S_o	10	1	32	4,5	5,3	4,5		27	0,5512	46,3
WN_S_r	10	0,775	15,3	2				0,5483	0,0533	17,3
WN_S_w	10	0,591	14,5	2	1,5	1,5		0,7333	0,146	19,5
WN_S_s	10	0,822	17,1	2,5				11	0,1739	19,6
WR_A_o	10	0,743	8,5					0,1741	0,013	8,5
WR_A_r	10	0,642	10,5					0,6288	0,0643	10,5
WR_A_w	10	0,502	10,5					0,349	0,0345	10,5
WR_A_s	10	0,555	8,5					0,1746	0,0155	8,5
WR_S_o	10	0,435	NA					NA	0	0
WR_S_r	10	0,405	NA					NA	0	0
WR_S_w	10	0,699	7					0,0504	0,0035	7

Probestelle	vor Ausbringung (23.05.22)		nach 4 Wochen (24.06.22)							
WR_S_s	10	0,448	4					0,1372	0,0098	4
FN_A_o	10	0,399	NA					NA	0	0
FN_A_r	10	0,876	16,4	2,5				0,9045	0,0644	18,9
FN_A_w	10	1	20,7	8	6,5			12	0,0918	35,2
FN_A_s	10	0,998	26,8	6				14	0,0942	32,8
FN_S_o	10	0,542	14	4,5	0,5			0,6468	0,0491	19
FN_S_r	10	0,901	24	7				10,559	0,0643	31
FN_S_w	10	0,823	16,2					0,8321	0,0537	16,2
FN_S_s	10	0,815	17,4	1				0,8355	0,0568	18,4
FR_A_o	10	0,415	9,2					0,1558	0,0102	9,2
FR_A_r	10	0,493	10,9					0,2804	0,0228	10,9
FR_A_w	10	0,385	11					0,203	0,0169	11
FR_A_s	10	0,308	NA					NA	0	0
FR_S_o	10	1	NA					NA	0	0
FR_S_r	10	0,85	11					0,1376	0,0068	11
FR_S_w	10	0,267	10,5					0,2431	0,0265	10,5
FR_S_s	10	0,753	8,5					0,0865	0,005	8,5
JN_A_o	10	0,517	11,2	4,4				0,4399	0,0326	15,6
JN_A_r	10	0,584	19,6					0,3715	0,0248	19,6
JN_A_w	10	0,434	14,1	3,5	1			0,4478	0,0477	18,6
JN_A_s	10	0,236	11,5					0,1935	0,0119	11,5
JN_S_o	10	0,48	14,5	1				0,5333	0,0503	15,5
JN_S_r	10	0,341	14					0,401	0,0436	14
JN_S_w	10	0,672	17,2					0,6911	0,0591	17,2
JN_S_s	10	0,286	10,4	3,1				0,3101	0,0339	13,5
JR_A_o	10	0,471	22					0,4981	0,0358	22
JR_A_r	10	0,298	10,4					0,2408	0,0269	10,4
JR_A_w	10	0,198	15,2					0,1571	0,0112	15,2

Probestelle	vor Ausbringung (23.05.22)		nach 4 Wochen (24.06.22)								
	10	0,932	8,4								
JR_A_s	10	0,932	8,4						0,2207	0,0222	8,4
JR_S_o	10	0,7	13,1	4					0,746	0,0545	17,1
JR_S_r	10	0,892	19,5						0,5523	0,0261	19,5
JR_S_w	10	0,312	14,5						0,3105	0,0177	14,5
JR_S_s	10	0,42	14,4						0,3875	0,0226	14,4

Benennung Probestelle/Pflanzen:

Beispiel: AN\_A\_o: Asphe, Nicht Renaturiert, Aktivkohle, ohne Bindfaden

Position 1: A: Asphe, B: Bieber, F: Fohnbach, J: Josbach, W: Würf

Position 2: A: Aktivkohle, S: ohne Aktivkohle

Position 3: Benennung der Replikatpflanze mit o: ohne Bindfaden, r: rot; w: weiß; s: schwarz

Referenz Trockengewicht: 0,0507 g

TSL: Gesamtsprosslänge; FG: Frischgewicht; Haupt-SL: Hauptspross; LS: Seitenspross; TG: Trockengewicht; NA: Nicht ermittelbar.

## A.5.2 Lemna Freiland 2022

Fronzahl nach 4 Wochen Exposition, Beginn: 10 Fronds

	Mit Aktivkohle				Ohne Aktivkohle			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Replikat	1	2	3	4	1	2	3	4
Josbach R	0	0	0	0	0	0	0	0
Josbach N	5	0	0	0	6	40	35	6
Asphe R	67	27	1	26	50	40	30	29
Apshe N	45	5	0	0	8	2	27	59
Biber R	12	57	85	60	34	31	44	20
Biber N	119	96	55	139	47	40	83	44
Würf R	0	0	0	0	27	48	7	16
Würf N	6	55	0	90	17	0	0	8
Frohnbach R	7	10	2	13	5	9	0	0
Frohnbach N	40	47	53	50	52	63	29	33

Frischgewicht in Gramm, Referenz 8,02 m

	Mit Aktivkohle				Ohne Aktivkohle			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Replikat	1	2	3	4	1	2	3	4
Josbach R	0	0	0	0	0	0	0	0
Josbach N	0,01097	0	0	0	0,0648	0,0562	0,04055	0,00471
Asphe R	0,07222	0,04103	0,00126	0,03126	0,05773	0,05593	0,03019	0,0431
Apshe N	0,07352	0,00271	0	0	0,01097	0,0027	0,03688	0,0931
Biber R	0,0158	0,09073	0,12055	0,09753	0,05324	0,0413	0,06472	0,02906
Biber N	0,22323	0,19324	0,09087	0,25173	0,08158	0,02819	0,12318	0,07055
Würf R	0	0	0	0	0,01894	0,0354	0,00441	0,089
Würf N	0,01404	0,06784	0	0,11721	0,03129	0	0	0,00863
Frohnbach R	0,00734	0,00419	0,00183	0,00973	0,00381	0,00892	0	0
Frohnbach N	0,04483	0,06911	0,06857	0,07214	0,0803	0,09842	0,03884	0,04128

Trockengewicht [g], Referenz 1,075 mg

	Mit Aktivkohle				Ohne Aktivkohle			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Replikat	1	2	3	4	1	2	3	4
Josbach R								
Josbach N	0,00099				0,00085	0,00484	0,00349	0,00086

	Mit Aktivkohle				Ohne Aktivkohle			
Asphe R	0,00544	0,0033	0,00011	0,00313	0,0041	0,00406	0,00228	0,00357
Apshe N	0,00519	0,00046			0,00141	0,00098	0,00276	0,00564
Biber R	0,00144	0,0062	0,0074	0,00673	0,00412	0,00307	0,00438	0,00238
Biber N	0,01461	0,01304	0,00844	0,01708	0,0066	0,0064	0,00958	0,00624
Würf R					0,00253	0,0034	0,00117	0,00107
Würf N	0,00223	0,01058		0,01519	0,00382			0,00052
Frohnbach R	0,0003	0,00082	0,00093	0,00061	0,00008	0,00061		
Frohnbach N	0,00362	0,00554	0,00461	0,00559	0,00579	0,00691	0,00306	0,00287

R: renaturiert, N: nicht renaturiert

Daten nach 4 Wochen Exposition in situ.

### A.5.3 Periphyton Freiland 2022

Probestelle	Total [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Blue [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Green [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Diatoms [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Crypto [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]
AR(A)1	0,02505	0,00189	0,01267	0,00999	0,00051
AR(A)2	0,01746	0,00116	0,00886	0,00677	0,00071
AR(A)3	0,02406	0,00166	0,01269	0,00970	0,00003
AR(S)1	0,00223	0,00011	0,00065	0,00104	0,00042
AR(S)2	0,00291	0,00000	0,00099	0,00138	0,00054
AR(S)3	0,00209	0,00017	0,00059	0,00093	0,00039
AN(A)1	0,35110	0,06426	0,15475	0,11751	0,01461
AN(A)2	0,23257	0,03156	0,11743	0,08358	0,00000
AN(A)3	0,26273	0,03839	0,13610	0,08823	0,00000
AN(S)1	0,01162	0,00025	0,00333	0,00587	0,00217
AN(S)2	0,01385	0,00048	0,00477	0,00691	0,00169
AN(S)3	0,00841	0,00054	0,00395	0,00355	0,00039
BR(A)1	0,00141	0,00020	0,00017	0,00056	0,00045
BR(A)2	0,00164	0,00014	0,00028	0,00073	0,00051
BR(A)3	0,00141	0,00034	0,00014	0,00051	0,00042
BR(S)1	0,05306	0,00000	0,01052	0,03876	0,00378
BR(S)2	0,01901	0,00000	0,00553	0,01238	0,00110
BR(S)3	0,04155	0,00000	0,01120	0,02852	0,00183
BN(A)1	0,04228	0,00268	0,02547	0,01413	0,00000
BN(A)2	0,02310	0,00254	0,01140	0,00787	0,00130
BN(A)3	0,04863	0,00519	0,02542	0,01645	0,00158
BN(S)1	0,01506	0,00020	0,00815	0,00643	0,00028
BN(S)2	0,04567	0,00133	0,02237	0,02048	0,00152
BN(S)3	0,03904	0,00217	0,01884	0,01574	0,00228
FR(A)1	0,00169	0,00023	0,00045	0,00065	0,00034
FR(A)2	0,00166	0,00025	0,00042	0,00059	0,00039
FR(A)3	0,00130	0,00014	0,00031	0,00045	0,00037
FR(S)1	0,00158	0,00011	0,00056	0,00062	0,00028
FR(S)2	0,00135	0,00025	0,00020	0,00045	0,00045
FR(S)3	0,00121	0,00017	0,00023	0,00048	0,00034

Probestelle	Total [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Blue [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Green [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Diatoms [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]	Crypto [ $\mu\text{g chla}/\text{cm}^2$ ]
FN(A)1	0,00192	0,00031	0,00045	0,00065	0,00054
FN(A)2	0,00265	0,00028	0,00079	0,00096	0,00062
FN(A)3	0,00203	0,00020	0,00062	0,00082	0,00037
FN(S)1	0,01458	0,00017	0,00491	0,00750	0,00203
FN(S)2	0,02866	0,00017	0,00860	0,01518	0,00474
FN(S)3	0,00468	0,00020	0,00155	0,00220	0,00073
JR(A)1	0,01464	0,00090	0,00897	0,00477	0,00000
JR(A)2	0,01439	0,00164	0,00762	0,00491	0,00023
JR(A)3	0,01207	0,00183	0,00598	0,00395	0,00031
JR(S)1	0,00874	0,00000	0,00265	0,00457	0,00155
JR(S)2	0,00581	0,00000	0,00164	0,00299	0,00116
JR(S)3	0,00480	0,00017	0,00212	0,00206	0,00045
JN(A)1	0,00604	0,00020	0,00327	0,00234	0,00020
JN(A)2	0,00525	0,00045	0,00288	0,00189	0,00000
JN(A)3	0,00386	0,00028	0,00186	0,00138	0,00034
JN(S)1	0,00426	0,00042	0,00189	0,00164	0,00031
JN(S)2	0,00505	0,00014	0,00293	0,00197	0,00003
JN(S)3	0,00883	0,00023	0,00539	0,00322	0,00000
WR(A)1	0,00183	0,00006	0,00037	0,00085	0,00056
WR(A)2	0,00166	0,00020	0,00045	0,00062	0,00039
WR(A)3	0,00231	0,00025	0,00056	0,00099	0,00051
WR(S)1	0,00570	0,00000	0,00226	0,00293	0,00051
WR(S)2	0,00460	0,00000	0,00169	0,00220	0,00071
WR(S)3	0,00601	0,00000	0,00200	0,00313	0,00087
WN(A)1	0,00781	0,00045	0,00446	0,00274	0,00014
WN(A)2	0,01980	0,00130	0,01357	0,00496	0,00000
WN(A)3	0,05314	0,00381	0,03766	0,01168	0,00000
WN(S)1	0,03791	0,00172	0,02107	0,01512	0,00000
WN(S)2	0,03616	0,00251	0,02197	0,01168	0,00000
WN(S)3	0,03935	0,00322	0,02180	0,01433	0,00000

Benennung Probestelle:

Beispiel: AN(A): Asphe, Nicht Renaturiert, Aktivkohle

Position 1: A: Asphe, B: Bieber, F: Fohnbach, J: Josbach, W: Würf

Position 2: N: nicht renaturiert R: renaturiert

Position 3: Behandlung: A: Aktivkohle, S: keine Aktivkohle

Chla: Chlorophyll

Blue: Blaualgen, Green: Grünalgen, Diatoms: Diatomeen/Kieselalgen, Crypto: Cryptophyceae

Messung der Gruppen anhand derer photosynthetischen Eigenschaften /Pigmentzusammensetzung mittel Verzögerter Fluoreszenz

Daten nach 4 Wochen Exposition in situ

#### A.5.4 Myriophyllum Labor 2022

Probe/Probe- stelle	TSL [cm]	Länge Wurzel [cm]	FG Spross [g]	FG Spross [mg]	TG Spross [mg]
AR-1	7	5,5	0,2297	229,7	28,19
AR-2	6,5	3,5	0,1495	149,5	17,83
AR-3	4	5,5	0,1101	110,1	17,76
AN-1	4,5	3	0,0806	80,6	16,79
AN-2	6,5	6	0,18	180	23,53
AN-3	6	6	0,2266	226,6	31,58
BR-1	4,5	3	0,1148	114,8	22,18
BR-2	7	6,5	0,2528	252,8	28,26
BR-3	4,5	4	0,1019	101,9	16,44
BN-1	5	4	0,118	118	20,05
BN-2	5	3	0,1409	140,9	24,99
BN-3	5,5	3	0,1907	190,7	23,7
FN-1	5,5	7	0,1111	111,1	27,27
FN-2	4,5	2	0,0979	97,9	22,8
FN-3	7	5,5	0,2218	221,8	16,09
FR-1	6,5	5	0,2077	207,7	13,97
FR-2	5	5	0,1953	195,3	16,46
FR-3	5	3	0,1016	101,6	26,42
JR-1	5,5	4	0,1794	179,4	23,43
JR-2	4,5	3	0,1161	116,1	18,07
JR-3	4,5	3,5	0,1071	107,1	17,05
JN-1	6,5	4	0,1565	156,5	22,06
JN-2	6,5	5,5	0,2746	274,6	33,08
JN-3	5,5	5	0,1637	163,7	18,88
WR-1	7,5	6	0,2637	263,7	29,68
WR-2	5,5	3,5	0,1144	114,4	18,11
WR-3	5,5	4	0,1384	138,4	16,95
WN-1	3,5	3	0,1113	111,3	21,24
WN-2	6,5	5	0,2322	232,2	30,68
WN-3	8,5	5	0,3781	378,1	41,56

Probe/Probestelle	TSL [cm]	Länge Wurzel [cm]	FG Spross [g]	FG Spross [mg]	TG Spross [mg]
EM-TKA-1	5	4	0,1652	165,2	22,7
EM-TKA-2	6,5	5	0,2012	201,2	27
EM-TKA-3	5	4,5	0,1515	151,5	19,7
K1	5,5	5	0,1846	184,6	21,86
K2	6,5	5,5	0,2268	226,8	30,22
K3	5	3	0,1317	131,7	14,7
K4	5,5	4,5	0,1933	193,3	21,89
K5	5,5	3	0,164	164	24,3
K6	5,5	4,5	0,179	179	18,2
KL1	6,5	5	0,2372	237,2	24,9
KL2	6	7	0,2054	205,4	21,8
KL3	5,5	3,5	0,156	156	29,1
KL4	4,5	5	0,0945	94,5	12,6
KL5	4,5	4,5	0,0945	94,5	17,4
KL6	4	3	0,1008	100,8	15,5

Benennung Probestelle: Beispiel: AR-1: Asphe renaturiert, Replikat 1,

Position 1: A: Asphe, B: Bieber, F: Fohnbach, J: Josbach, W: Würf

Position 2: R: renaturiert, N: nicht renaturiert

K: unbehandelte Kontrolle, KL: Lösemittelkontrolle, EM-TKA: Prozesskontrolle, Referenz Trockengewicht: 24,8626667 mg, Referenz Frischgewicht: 118,1 mg, TSL: Gesamtsprosslänge; FG: Frischgewicht; TG: Trockengewicht, Daten nach 7 Tage Exposition

### A.5.5 Lemna Labor 2022

Probe/Probestelle	Anzahl Fronds	Frischgewicht [mg]	Trockengewicht [mg]
AR-1	55	36,24	4,82
AR-2	22	7,88	0,94
AR-3	56	32,58	3,52
AN-1	41	25,92	2,69
AN-2	43	27,04	3,02
AN-3	49	24,8	2,51
BR-1	46	15,42	2,77
BR-2	34	14,82	1,84

Probe/Probestelle	Anzahl Fronds	Frischgewicht [mg]	Trockengewicht [mg]
BR-3	41	22,36	3,05
BN-1	69	32,84	4,48
BN-2	62	28,05	3,59
BN-3	49	26,93	2,93
FN-1	44	18,87	3,06
FN-2	28	17,56	2,07
FN-3	53	28,51	4,03
FR-1	43	14,95	2,71
FR-2	48	26,28	2,93
FR-3	42	17,84	2,74
JR-1	42	19,13	3,53
JR-2	37	19,79	3,52
JR-3	28	16,07	2,42
JN-1	40	26,35	4,41
JN-2	48	20,93	3,17
JN-3	57	26,35	4,06
WR-1	47	22,39	4,51
WR-2	70	28,24	3,96
WR-3	53	21,74	3,88
WN-1	37	8,34	2,18
WN-2	41	20,21	3,25
WN-3	67	54,7	4,79
EM-TKA-1	38	21,6	2,17
EM-TKA-2	41	30,8	2,96
EM-TKA-3	58	39,6	3,79
K1	29	14,3	1,77
K2	42	32,6	3,65
K3	38	23,6	2,83
K4	26	17,4	1,75
K5	52	33,9	3,64
K6	53	40,5	4,28

Probe/Probestelle	Anzahl Fronds	Frischgewicht [mg]	Trockengewicht [mg]
KL1	48	405	3,83
KL2	44	37,7	3,82
KL3	57	536	5,63
KL4	31	36,3	3,63
KL5	30	34,9	3,75
KL6	36	34,1	2,79

Benennung Probestelle: Beispiel: AR-1: Asphe renaturiert, Replikat 1

Position 1: A: Asphe, B: Bieber, F: Fohnbach, J: Josbach, W: Würf

Position 2: R: renaturiert, N: nicht renaturiert

K: unbehandelte Kontrolle, KL: Lösemittelkontrolle, EM-TKA: Prozesskontrolle, Referenz Trockengewicht: 1,075 mg, Referenz Frischgewicht 8,02 mg, Anzahl zu Beginn eingesetzter Lemna: 10, Daten nach 7 Tage Exposition

### A.5.6 Lemna Labor 2023

Probestelle	Replik	Anzahl Fronds umwelt-äquivalent	Anzahl Fronds 5-fach	FG umwelt-äquivalent [g]	FG 5-fach [g]	TG umwelt-äquivalent [g]	TG 5-fach [g]
Control	1	25	25	0,03770	0,03770	0,00367	0,00367
Control	2	17	17	0,02257	0,02257	0,00216	0,00216
Control	3	24	24	0,02267	0,02267	0,00213	0,00213
Control	4	17	17	0,01617	0,01617	0,00155	0,00155
Control	5	20	20	0,02936	0,02936	0,00252	0,00252
Control	6	18	18	0,02290	0,02290	0,00179	0,00179
LMK	1	11	11	0,01790	0,01790	0,00216	0,00216
LMK	2	23	23	0,03791	0,03791	0,00357	0,00357
LMK	3	16	16	0,02244	0,02244	0,00254	0,00254
LMK	4	19	19	0,03420	0,03420	0,00350	0,0035
LMK	5	16	16	0,02723	0,02723	0,00277	0,00277
LMK	6	15	15	0,02300	0,02300	0,00259	0,00259
Gilsa renat	1	20	19	0,03893	0,03570	0,00338	0,00371
Gilsa renat	2	24	15	0,04306	0,02954	0,00384	0,00301
Gilsa renat	3	18	18	0,02908	0,03040	0,00249	0,00345
Gilsa renat	4	28	17	0,05312	0,03211	0,00438	0,00282
Gilsa Non	1	28	17	0,05375	0,03540	0,00477	0,00377
Gilsa Non	2	19	16	0,03223	0,03038	0,00357	0,00374
Gilsa Non	3	18	18	0,03544	0,03706	0,00316	0,00374
Gilsa Non	4	20	15	0,02840	0,02757	0,00316	0,00286
Emsbach renat	1	14	20	0,02222	0,04228	0,00231	0,00389
Emsbach renat	2	14	18	0,02437	0,03159	0,00218	0,00309
Emsbach renat	3	15	14	0,02571	0,02715	0,00243	0,00253
Emsbach renat	4	21	14	0,03365	0,02526	0,00307	0,00270
Emsbach Non	1	20	13	0,03498	0,02513	0,00354	0,00253
Emsbach Non	2	16	18	0,03079	0,03465	0,00314	0,00303
Emsbach Non	3	24	NA	0,04194	NA	0,00406	NA
Emsbach Non	4	20	NA	0,03186	NA	0,00303	NA

Probestelle	Replik	Anzahl Fronds umwelt-äquivalent	Anzahl Fronds 5-fach	FG umwelt-äquivalent [g]	FG 5-fach [g]	TG umwelt-äquivalent [g]	TG 5-fach [g]
Wern Renat.	1	18	13	0,02558	0,02236	0,00239	0,00201
Wern Renat.	2	16	18	0,02599	0,03221	0,00255	0,00317
Wern Renat.	3	17	NA	0,02471	NA	0,00251	NA
Wern Renat.	4	16	NA	0,02495	NA	0,00265	NA
Wern Non	1	18	22	0,03064	0,03076	0,00296	0,00259
Wern Non	2	16	20	0,02352	0,03870	0,00262	0,00356
Wern Non	3	20	16	0,02509	0,02964	0,00273	0,00279
Wern Non	4	16	20	0,01840	0,03273	0,00223	0,00261
Westerbach Renat.	1	17	20	0,02730	0,03425	0,00263	0,00339
Westerbach Renat.	2	16	22	0,02688	0,04050	0,00270	0,00371
Westerbach Renat.	3	17	18	0,02866	0,03603	0,00299	0,00346
Westerbach Renat.	4	16	14	0,02255	0,01911	0,00235	0,00179
Westerbach Non	1	24	18	0,03662	0,03807	0,00327	0,00331
Westerbach Non	2	18	23	0,02988	0,04280	0,00278	0,00409
Westerbach Non	3	17	16	0,02376	0,03110	0,00279	0,00298
Westerbach Non	4	21	19	0,03261	0,03835	0,00241	0,00384
Walluf Renat.	1	21	18	0,03670	0,03928	0,00306	0,00377
Walluf Renat.	2	16	19	0,02226	0,03460	0,00204	0,00326
Walluf Renat.	3	17	16	0,02564	0,03504	0,00231	0,00339
Walluf Renat.	4	25	20	0,04465	0,03330	0,00366	0,00322
Walluf Non	1	23	28	0,03950	0,05677	0,00319	0,00396
Walluf Non	2	23	18	0,03273	0,03273	0,00304	0,00373
Walluf Non	3	22	23	0,04233	0,04679	0,00327	0,00420
Walluf Non	4	17	18	0,03137	0,02637	0,00280	0,00265

LMK: Lösemittelkontrolle, Renat: Renaturierter Abschnitt, Non: Kontrollabschnitt, FG: Frischgewicht; TG: Trockengewicht, 5-fach: 5-faches umweltäquivalent; Anzahl Fronds Beginn: 5, Referenzgewicht TG: 0,345 mg, FG: 3,615 mg, Daten nach 7 Tage Exposition

### A.5.7 Myriophyllum Labor 2023

Probestelle	# Pflanze/ Replikat	FG TSL [mg]	TG TSL [mg]	TSL [cm]
Control	1	20,1	12,1	6,0
Control	2	32,3	16,4	6,5
Control	3	40,4	15,9	8,0
Control	4	40,1	16,5	8,5
Control	5	20,4	9,2	5,5
Control	6	44,6	17,2	9,5
LMK	1	51,1	17,2	8,0
LMK	2	47,1	18,6	6,5
LMK	3	34,9	14,8	8,5
LMK	4	29,7	17,7	6,0
LMK	5	65,8	23,7	7,0
LMK	6	47,0	15,7	8,0
Gilsa renat	1	49,2	17,9	7,5
Gilsa renat	2	41,1	22,3	7,5
Gilsa renat	3	44,2	17,6	7,5
Gilsa renat	4	49,3	20,7	9,5
Gilsa Non	1	57,6	21,3	10,0
Gilsa Non	2	61,9	26,8	6,5
Gilsa Non	3	17,8	11,8	7,5
Gilsa Non	4	76,9	27,3	7,0
Emsbach renat	1	27,0	16,3	8,0
Emsbach renat	2	38,1	14,4	5,5
Emsbach renat	3	19,9	12,0	6,0
Emsbach renat	4	24,7	9,7	7,5
Emsbach Non	1	88,6	23,0	8,5
Emsbach Non	2	21,9	11,0	7,5
Emsbach Non	3	43,8	16,3	13,5

Probestelle	# Pflanze/ Replik	FG TSL [mg]	TG TSL [mg]	TSL [cm]
Emsbach Non	4	35,7	15,6	7,5
Wern Renat.	1	26,2	11,3	7,5
Wern Renat.	2	111,9	25,3	13,0
Wern Renat.	3	28,7	14,4	5,0
Wern Renat.	4	51,3	18,0	6,5
Wern Non	1	68,4	20,5	12,5
Wern Non	2	34,2	16,7	7,0
Wern Non	3	54,3	17,5	9,0
Wern Non	4	92,3	23,9	12,0
Westerbach Renat.	1	52,4	17,1	10,0
Westerbach Renat.	2	72,5	20,3	9,5
Westerbach Renat.	3	96,4	18,2	9,0
Westerbach Renat.	4	112,0	19,4	10,5
Westerbach Non	1	38,2	12,1	8,0
Westerbach Non	2	61,3	18,6	9,5
Westerbach Non	3	35,8	13,2	6,5
Westerbach Non	4	61,6	18,1	9,5
Walluf Renat.	1	42,7	18,3	9,0
Walluf Renat.	2	53,2	23,8	7,0
Walluf Renat.	3	54,5	18,9	7,0
Walluf Renat.	4	115,4	19,2	9,5
Walluf Non	1	156,9	21,2	12,0
Walluf Non	2	197,7	23,9	13,0
Walluf Non	3	133,8	20,7	10,5
Walluf Non	4	115,9	26,0	11,0

FG: Frischgewicht, TG: Trockengewicht, TSL: Gesamtprosslänge, Länge TSL Beginn: 3 cm, Renat: Renaturierter Abschnitt, Non: Kontrollabschnitt, Referenzgewicht TG: 12,69 mg, FG: 18,52 mg, Daten nach 7 Tage Exposition

## B Anhang

### B.1 Ergebnisse des chemischen Monitorings an der Alb

Übersicht der im chemischen Monitoring gemessenen Substanzen, Bestimmungsgrenze (LOQ) in der Analytik sowie die akuten LC<sub>50</sub>-Werte (48 h) für *Daphnia magna*, die zur Berechnung der STU verwendet wurden. (-) sind Messwerte unterhalb der LOQ. Alle Angaben in µg/L.

CAS-Nr.	Substanz	Kategorie	Code PCA	LOQ	Regenwetter						Trockenwetter			LC <sub>50</sub> Crustacea Kramer et al. (2024)	
					2	3	4	7	8	9	2	3	4		
288-88-0	1,2,4-Triazol	Intermediat		0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98,1
65873	Bisphenol A	Intermediat	C_1	0,005	0,01	-	0,013	0,012	0,06	0,029	-	-	-	-	
7429-90-5	Aluminium	Metall	C_2	5	2000	100	2200	4400	3700	1700	190	310	350	-	
7440-38-2	Arsen	Metall	C_3	1	1,4	-	1,6	1,7	2,3	1,1	1,1	1,1	1,2	1,753	
7440-39-3	Banum	Metall	C_4	5	120	110	120	150	110	55	140	140	140	477,2	
7440-41-7	Beryllium	Metall		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,378	
7439-92-1	Blei	Metall	C_5	0,2	2,7	0,26	4,5	15	12	16	0,6	0,9	1	1,285	
7440-43-9	Cadmium	Metall	C_6	0,02	0,06	-	0,078	0,13	0,09	0,13	-	-	0,021	0,07388	
7440-47-3	Chrom	Metall	C_7	0,3	2,4	0,35	3,1	13	11	3,8	0,52	0,62	0,81	1,493	
7440-48-4	Cobalt	Metall	C_8	1	-	-	-	3,1	1,9	-	-	-	-	4,4	
7439-89-6	Eisen	Metall	C_9	5	1100	150	1400	3700	3200	1200	140	190	210	-	
7440-50-8	Kupfer	Metall	C_10	2	6,3	2,1	10	54	50	34	2,9	-	2,1	0,05291	
7439-98-7	Molybdän	Metall	C_11	1	-	-	-	1	1,1	1,3	-	-	-	200	
7440-02-0	Nickel	Metall	C_12	0,5	3	1,4	3,5	7,3	4,3	3,3	0,8	0,7	0,8	1,406	
7439-97-6	Quecksilber	Metall	C_13	0,002	0,008	0,002	0,01	0,026	0,019	0,022	0,003	0,004	0,003	0,01541	
7440-22-4	Silber	Metall	C_14	0,02	0,02	-	0,04	0,49	0,18	0,18	-	-	-	-	
7440-62-2	Vanadium	Metall	C_15	0,1	2,8	0,32	3,2	6,4	5,6	2,3	0,48	0,66	0,77	2,641	
7440-66-6	Zink	Metall	C_16	0,01	28	16	48	370	320	300	10	-	10	0,7411	
7782-49-2	Selen	Andere	C_17	1	-	-	-	-	1,6	-	-	-	-	1,076	
148-79-8	Thiabendazol	Andere	C_18	0,001	-	-	-	0,003	0,001	0,002	0,001	0,001	-	0,9059	
5466-77-3	2-Ethylhexyl-4-	KP & HH		0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,632	
55589-62-3	Acesulfam	KP & HH	C_19	0,01	1,4	0,62	1,4	0,12	0,099	8,1	0,046	0,05	0,049	72,81	
1000766	Methyltriclosan	KP & HH		0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6197-30-4	Octoclylen	KP & HH	C_20	0,05	-	-	-	0,14	0,089	0,74	-	-	-	0,05594	
131-57-7	Oxybenzon	KP & HH	C_21	0,01	0,012	-	-	0,011	-	0,14	-	-	-	1,691	
3380-34-5	Triclosan	KP & HH	C_22	0,005	-	-	-	-	-	0,007	-	-	-	0,1766	
2634-33-5	1,2-Benzisothiazolinon	KP & HH	C_23	0,01	-	0,013	0,014	-	-	-	-	-	-	2,519	
2682-20-4	2-Methyl-3-isothiazolinon	KP & HH		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,18	
26172-55-4	5-Chlor-2-methyl-3-isothiazolinon	KP & HH		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,117	
934-32-7	2-Aminobenzimidazol	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,206	
66753-07-9	2-Hydroxyterbutylazin	Pestizid	C_24	0,005	0,007	-	0,007	0,022	0,019	0,013	-	-	-	35,04	
26530-20-1	2-Octyl-3-isothiazolinon	Pestizid	C_25	0,001	-	-	-	-	-	0,003	-	-	-	0,1618	
15103-48-7	2-Pyridinsulfonsäure	Pestizid	C_26	0,02	-	-	-	0,081	0,064	0,24	-	-	-	-	
3739-38-6	3-Phenoxybenzoesäure	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	
82657-04-3	Bifenthrin	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00009595	
56073-10-0	Brodifacoum	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,98	
28772-56-7	Bromadiolon	Pestizid		0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6928	
10605-21-7	Carben dazim	Pestizid	C_27	0,001	0,004	0,002	0,004	0,011	0,012	0,02	0,002	0,002	0,001	0,1086	
122453-73-0	Chlorfenapyr	Pestizid		0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004246	
52315-07-8	Cypermethrin, gesamt	Pestizid		0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0004151	
52918-63-5	Deltamethrin	Pestizid		0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00007404	
56073-07-5	Difenacoum	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4781	
50563-36-5	Dimethachlor	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,671	
330-54-1	Diuron	Pestizid	C_28	0,001	0,02	0,005	0,016	0,018	0,012	0,018	0,003	0,003	0,001	2,778	
84030-86-4	Esbiothrin	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
66230-04-4	Esfenvalerat	Pestizid		0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0002226	
80844-07-1	Etofenprox	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004308	
120068-37-3	Fipronil	Pestizid	C_29	0,001	-	-	-	-	-	-	-	0,001	-	0,005337	
1071-83-6	Glyphosat	Pestizid	C_30	0,01	0,011	-	0,015	0,26	1,3	0,082	0,019	0,02	0,018	87,25	
138261-41-3	Imidacloprid	Pestizid	C_31	0,001	-	-	-	-	-	0,002	0,003	0,004	0,002	0,5886	
34123-59-6	Isoproturon	Pestizid	C_32	0,001	0,014	0,005	0,012	0,015	0,008	0,017	0,004	0,004	0,002	1	

TEXTE Nutzung von Effektbasierten Monitoringmethoden zur besseren Bewertung der Wirkung von Schadstoffen auf die Gewässerökologie – Endbericht

CAS-Nr.	Substanz	Kategorie	Code PCA	LOQ	Regenwetter						Trockenwetter			LC <sub>50</sub> Crustacea Kramer et al. (2024)	
					2	3	4	7	8	9	2	3	4		
121-75-5	Malathion	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004648
139968-49-3	Metaflumizon	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6256
2032-65-7	Methiocarb	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1363
15299-99-7	Napropamid	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,98
111991-09-4	Nicosulfuron	Pestizid		0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1000
52645-53-1	Pemethrin	Pestizid	C 33	0,002	-	-	-	-	-	0,024	-	-	-	-	0,001432
55701-05-8	Permethrin-säure	Pestizid		0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
55218	Piperonylbutoxid	Pestizid	C 34	0,005	-	-	-	-	-	0,023	-	-	-	-	
60207-90-1	Propiconazol	Pestizid	C 35	0,001	0,002	0,001	0,002	0,013	0,011	0,009	-	-	-	-	2,383
107534-96-3	Tebuconazol	Pestizid	C 36	0,001	-	-	-	0,002	0,002	0,002	-	-	-	-	2,362
30125-65-6	Terbutryn-Desethyl	Pestizid	C 37	0,001	0,002	0,001	0,002	0,004	0,004	0,007	-	-	-	-	17,16
82985-33-9	Terbutryn-Sulfoxid	Pestizid	C 38	0,001	0,006	0,003	0,008	0,022	0,017	0,011	0,006	0,005	0,003	-	
111988-49-9	Thiacloprid	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6878
153719-23-4	Thiamethoxam	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17,86
118712-89-3	Transfluthrin	Pestizid		0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,689
135410-20-7	Acetamiprid	Pestizid	C 39	0,001	-	-	-	-	0,014	-	-	-	-	-	1,1
210880-92-5	Clothianidin	Pestizid		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4501
330-54-1	Desmethyldiuron	Pestizid	C 40	0,001	0,002	-	0,003	0,006	0,005	0,008	-	-	-	-	2,778
886-50-0	Terbutryn	Pestizid	C 41	0,001	0,008	0,003	0,011	0,015	0,011	0,043	0,011	0,01	0,005	14,35	
7696-12-0	Tetramethrin	Pestizid		0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
375-22-4	Perfluorbutanoat	PFAS	C 42	0,001	-	-	0,002	0,005	0,003	0,007	-	-	-	-	3801
375-73-5	Perfluorbutansulfonat	PFAS	C 43	0,001	-	-	-	-	0,001	-	-	-	-	-	0,771
335-76-2	Perfluordecanoat	PFAS	C 44	0,001	-	-	-	-	0,001	0,003	-	-	-	-	100
335-77-3	Perfluordecansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2033
307-55-1	Perfluordodecanoat	PFAS	C 45	0,001	-	-	-	-	0,001	-	-	-	-	-	0,1507
126105-34-8	Perfluordodecansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2033
375-85-9	Perfluorheptanoat	PFAS	C 46	0,001	-	-	-	0,001	0,001	0,002	-	-	-	-	0,2891
375-92-8	Perfluorheptansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,607
307-24-4	Perfluorhexanoat	PFAS	C 47	0,001	-	-	0,002	0,003	0,002	0,005	-	-	-	-	754,3
355-46-4	Perfluorhexansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6053
375-95-1	Perfluomonanoat	PFAS	C 48	0,001	-	-	-	0,001	0,001	0,001	-	-	-	-	59,28
474511-07-4	Perfluomonansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
335-67-1	Perfluoroctanoat	PFAS	C 49	0,001	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,004	-	-	-	-	241
1763-23-1	Perfluoroctansulfonat	PFAS	C 50	0,001	0,002	0,001	0,003	0,006	0,004	0,006	-	-	-	-	43,52
2706-90-3	Perfluorpentanoat	PFAS	C 51	0,001	-	-	0,001	-	-	0,002	-	-	-	-	112
-	Perfluorpentansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
72629-94-8	Perfluortridecanoat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1486
791563-89-8	Perfluortridecansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2058-94-8	Perfluorundecanoat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1483
441296-91-9	Perfluorundecansulfonat	PFAS		0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
57-63-6	17-alpha-Ethinylestradiol	Pharmazeutika		2E-04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,356
50-28-2	17-beta-Estradiol	Pharmazeutika	C 52	2E-04	7E-04	-	5E-04	5E-04	5E-04	0,003	-	-	-	-	1,583
26787-78-0	Amoxicillin	Pharmazeutika		0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1000
83905-01-5	Azithromycin	Pharmazeutika	C 53	0,01	0,022	-	0,014	-	-	0,091	0,02	0,013	-	148	
298-46-4	Carbamazepin	Pharmazeutika	C 54	0,01	0,033	0,025	0,033	-	-	0,25	0,092	0,086	0,088	53,2	
85721-33-1	Ciprofloxacin	Pharmazeutika		0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,456
81103-11-9	Clarithromycin	Pharmazeutika	C 55	0,01	0,021	-	0,02	-	-	0,025	0,01	-	-	-	15,76
23893-13-2	Dehydrato-Erythromycin A	Pharmazeutika	C 56	0,01	-	-	-	-	-	0,011	-	-	-	-	
15307-86-5	Diclofenac	Pharmazeutika	C 57	0,01	0,16	0,11	0,15	-	-	0,36	0,34	0,25	0,22	55,83	
114-07-8	Erythromycin A	Pharmazeutika	C 58	0,01	-	-	-	-	-	0,013	-	-	-	-	10,12
53-16-7	Estron	Pharmazeutika	C 59	2E-04	0,006	5E-04	0,004	0,005	0,007	0,046	3E-04	4E-04	4E-04	7,973	
60142-96-3	Gabapentin	Pharmazeutika	C 60	0,01	0,31	0,25	0,28	-	0,2	0,52	0,16	0,13	0,17	24,74	
58-93-5	Hydrochlorothiazid	Pharmazeutika	C 61	0,01	0,11	0,097	0,11	-	-	0,45	0,28	0,21	0,18	69,62	
15687-27-1	Ibuprofen	Pharmazeutika	C 62	0,01	0,071	-	0,066	0,031	0,019	3,5	-	-	-	36,05	
2465-59-0	Oxipurinol	Pharmazeutika	C 63	0,01	0,87	0,64	0,8	-	0,02	2,2	3,2	2,5	2,9	83,55	
723-46-6	Sulfamethoxazol	Pharmazeutika	C 64	0,01	0,017	0,011	0,017	-	-	0,13	0,08	0,077	0,078	89,27	
738-70-5	Trimethoprim	Pharmazeutika	C 65	0,005	0,013	-	0,012	-	-	0,047	0,026	0,016	0,02	116,1	
7440-61-1	Uran	Radioaktive Substanz	C_66	0,1	0,16	-	0,23	0,17	0,81	0,37	-	-	0,12	-	

## B.2 Gemessene Stoffkonzentrationen der 16 PAKs an Kontroll- und renaturierten Abschnitten

Naphthalin (NAP), Acenaphthylen (ACY), Acenaphthen (ACE), Fluoren (FLU), Phenanthren (PHE), Anthracen (ANT), Fluoranthen (FLT), Pyren (PYR), Benz(a)anthracen (BaA), Chrysen (CHR), Benzo(b)fluoranthen (BbF), Benzo(k)fluoranthen (BkF), Benzo(a)pyren (BaP), Indeno(1,2,3-c,d)pyren (IcdP), Dibenz(a,h)anthracen (DahA), Benzo(g,h,i)perylene (BghiP) in Sedimentproben für die Kontroll- (k) und renaturierten (r) Abschnitte (Abs.) der Probenahmestellen. Alle Angaben in µg/g. Die Bestimmungsgrenze lag bei 0,005 µg/g.

Gewässer	Abs.	NAP	ACY	ACE	FLU	PHE	ANT	FLT	PYR	BaA
Asphe	k	0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,017	<0,005	0,023	0,016	0,01
Asphe	r	0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,007	<0,005	0,014	0,01	0,007
Bieber	k	0,005	<0,005	<0,005	0,005	0,091	0,028	0,499	0,337	0,223
Bieber	r	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,036	0,009	0,144	0,101	0,075
Fohnbach	k	0,009	<0,005	0,029	0,04	0,46	0,081	0,908	0,654	0,45
Fohnbach	r	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,02	<0,005	0,022	0,016	0,009
Josbach	k	0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,024	<0,005	0,056	0,038	0,027
Josbach	r	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,007	<0,005	0,033	0,023	0,022
Würf	k	0,005	<0,005	0,006	0,008	0,081	0,019	0,231	0,158	0,102
Würf	r	0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,012	<0,005	0,043	0,032	0,021
Emsbach	k	<0,005	<0,005	0,008	0,019	0,187	0,188	0,43	0,272	0,172
Emsbach	r	<0,005	<0,005	0,012	0,012	0,221	0,023	0,49	0,319	0,161
Gilsa	k	0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,015	0,005	0,052	0,036	0,025
Gilsa	r	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,009	0,006	<0,005
Walluf	k	0,005	0,006	<0,005	0,006	0,051	0,015	0,161	0,116	0,094
Walluf	r	0,005	0,006	0,006	0,01	0,095	0,027	0,239	0,167	0,138
Wern	k	0,032	0,035	0,008	0,009	0,069	0,019	0,233	0,176	0,113
Wern	r	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,005	<0,005	0,009	0,007	0,005
Westerbach	k	<0,005	0,006	<0,005	0,008	0,105	0,033	0,547	0,373	0,287
Westerbach	r	0,024	0,01	<0,005	<0,005	0,037	0,007	0,106	0,071	0,037

Gewässer	Abs.	CHR	BbF	BkF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	ΣPAH
Asphe	k	0,011	0,015	<0,005	0,008	0,009	<0,005	0,008	0,122
Asphe	r	0,01	0,012	<0,005	0,007	0,006	<0,005	0,008	0,086
Bieber	k	0,199	0,224	0,078	0,176	0,128	0,03	0,123	2,146
Bieber	r	0,09	0,107	0,026	0,079	0,069	<0,005	0,064	0,800

Gewässer	Abs.	CHR	BbF	BkF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	Σ PAH
Fohnbach	k	0,432	0,572	0,193	0,443	0,377	0,086	0,435	5,169
Fohnbach	r	0,01	0,015	0,005	0,013	0,009	<0,005	0,012	0,131
Josbach	k	0,027	0,032	0,009	0,024	0,011	<0,005	0,016	0,269
Josbach	r	0,019	0,028	0,008	0,022	0,011	<0,005	0,015	0,188
Würf	k	0,106	0,12	0,044	0,09	0,06	0,009	0,065	1,104
Würf	r	0,026	0,041	0,015	0,022	0,029	<0,005	0,023	0,269
Emsbach	k	0,145	0,142	0,054	0,123	0,074	0,023	0,081	1,918
Emsbach	r	0,186	0,213	0,072	0,161	0,135	0,022	0,128	2,155
Gilsa	k	0,027	0,027	0,007	0,018	0,01	<0,005	0,012	0,239
Gilsa	r	0,005	0,009	<0,005	0,006	0,019	<0,005	0,006	0,060
Walluf	k	0,087	0,115	0,034	0,089	0,057	0,017	0,067	0,920
Walluf	r	0,136	0,155	0,06	0,129	0,098	0,018	0,096	1,385
Wern	k	0,116	0,202	0,052	0,147	0,107	<0,005	0,127	1,445
Wern	r	0,006	0,01	<0,005	0,006	0,026	<0,005	0,005	0,079
Westerbach	k	0,241	0,262	0,075	0,216	0,128	0,037	0,141	2,459
Westerbach	r	0,038	0,047	0,014	0,037	<0,005	<0,005	0,026	0,454

### B.3 Ergebnisse des multiplen linearen Modells zu DYS

Model: YDS ~ Glühverlust + Korngröße + PAK-Konzentration

R<sup>2</sup> = 0,38 und p < 0,05

Variable	Estimate	p-Wert
Intercept	10,94	0,066
Glühverlust	-0,07264	0,892
Korngröße	-18,25	0,043
PAK-Konzentration	7,854	0,019