

# Reaktion von Mikroorganismen auf Bodenkontaminationen

Ellen Kandeler \*, Dagmar Tscherko\*, Gerd Wessolek\*\*

**Zusammenfassung** Die Wirkung von Bodenkontaminationen auf die mikrobielle Biomasse und auf einige bodenmikrobiologische Prozesse wurde in einem Gefäßversuch und in zwei Freilandexperimenten untersucht. Es zeigte sich, daß die Arylsulfatase- und Ureaseaktivität bei künstlicher Beaufschlagung im Gefäßversuch, bei langjährigem Eintrag durch eine Kupferhütte und bei langjähriger Kontamination durch Verrieselung von Abwässern stark reduziert wurden. Der Biomasse-N von Rieselfeldproben (ungestörte Stechzylinderproben) war stärker vom Wassergehalt als von der Belastung abhängig. Eine Wechselwirkung von Bodenfeuchte und Bodenbelastung konnte für Enzymaktivitäten nicht nachgewiesen werden. Zur Beurteilung dieser Belastungen kann das  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$ -Verhältnis der Böden herangezogen werden. Bei sehr hohen  $C_{\text{org}}$  Gehalten wird die toxische Wirkung der Schwermetalle überdeckt.

**Summary** The response of microbial biomass and soil microbial processes were investigated in a pot experiment and in two field experiments. Arylsulfatase and urease activity decreased due to artificial heavy metal contamination in a pot experiment, due to long-term pollution of a copper mine and due to long-term contamination of soils with waste water. The  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$  ratio can be postulated as a criteria for heavy metal pollutions. The toxic effect of heavy metals on soil microbial biomass can be masked by the addition of high amendment rates of organic materials.

## 1. Einleitung

Organische und anorganische Schadstoffe können sehr unterschiedlich auf Bodenmikroorganismen wirken. In zahlreichen Modellversuchen können folgende Grundreaktionstypen beobachtet werden: (1) überwiegend depressiver Effekt, (2) überwiegend stimulierender Effekt und (3) keine wesentlichen Nebeneffekte. Hemmung der biologischen Aktivität wird hauptsächlich durch das Absterben von Mikroorganismen und durch die direkte Wirkung der Kontamination auf bodenmikrobiologische Prozesse verursacht. Die stimulierende Wirkung von Kontaminationen ist sehr viel schwieriger zu erklären: Als Erklärungsmodell wird zur Zeit angenommen, daß auch unter diesen Bedingungen ein Teil der Mikroorganismen abstirbt, daß jedoch dadurch ein höheres Substratangebot für die verbleibenden Mikroorganismen zur Verfügung steht. Im

Rahmen dieses Beitrages sollen hauptsächlich Versuche zur Wirkung von anorganischen Kontaminationen vorgestellt werden.

Diese Hemmung oder Förderung der biologischen Aktivität ist u.a. von der zugesetzten Schwermetallkonzentration, der Einwirkungsdauer, der Bodenart, dem Humusgehalt und dem pH-Wert des Bodens abhängig. Für die Beurteilung der Toxizität von Schwermetallen müssen deswegen chemische, physikalische und biologische Eigenschaften von Böden berücksichtigt werden.

**Tab. 1:** Einfluß von Bodentyp, Landnutzung und Schwermetallbelastung auf das  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$  Verhältnis

Bodentyp	Landnutzung	Schwermetallbelastung	mg $C_{\text{mik}}$ g <sup>-1</sup> $C_{\text{org}}$	Autoren
Calc. Cambisol	Ackerboden	unbelastet	40	TSCHERKO 1994
Eutric Fluvisol	Ackerboden	unbelastet	50	TSCHERKO 1994
Calc. Luvisol	Ackerboden	unbelastet	30	TSCHERKO 1994
n*	Ackerboden	unbelastet	33	JENKINSON & LADD 1981
Phaeozem	Großgefäßversuch	unbelastet	15	KANDELER et al. 1996
Cambisol	Großgefäßversuch	unbelastet	15-20	KANDELER et al. 1996
Phaeozem	Großgefäßversuch	belastet	5-6	KANDELER et al. 1996
Cambisol	Großgefäßversuch	belastet	3-5	KANDELER et al. 1996
N	Ackerboden	belastet (Klärschlamm)	40-60	BROOKES 1995
N	Ackerboden	belastet (Klärschlamm)	12	DAHLIN et al. 1997
N	Ackerboden	belastet (Klärschlamm)	15-20	FLIEßBACH et al. 1994
N	Ackerboden (früherer Waldstandort)	belastet (Klärschlamm)	5-10	Fließbach et al. 1994
N	Fichtenforst	belastet	3-5	BAATH et al. 1991
Pararendsina	Stadtpark	belastet	20	BEYER 1997
Reduktosol	Ödland	belastet	28	BEYER 1997
Reduktosol	Ödland	belastet	41	BEYER 1997
Pararendsina	Stadtforst	belastet	13	BEYER 1997
Hortisol	Privatgarten	belastet	14	BEYER 1997
Pararendsina	Gleisanlage	belastet	50	BEYER 1997
Auftragsregosol	Rieselfelder	belastet	12-26	in dieser Arbeit

n\* nicht angegeben

Bisher wurden erst relativ wenige bodenmikrobiologische Konzepte ausgearbeitet, um die bodenmikrobiologische Wirksamkeit von unterschiedlichen Kontaminationen zu beurteilen. Nach einem Vorschlag von MALKOLMES (1985) kann die prozentuelle Abweichung einer bodenmikrobiologischen Eigenschaft in einen vernachlässigbaren, einen tolerierbaren und in einen kritischen Bereich in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit und der Kontamination angegeben werden. Dieser Versuchsansatz hat sich zur Prüfung von Nebenwirkung von Pflanzenschutzmitteln bereits sehr gut bewährt und wurde in das Testprogramm der OECD bereits aufgenommen. In den letzten Jahren wurde versucht, Schwellenwerte für bodenmikrobiologische Parameter zu entwickeln. Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, daß der Anteil der mikrobiellen Biomasse am gesamten gebundenen Kohlenstoff im Boden für verschiedene Landnutzungssysteme in der Regel zwischen 20 und 40 mg  $C_{\text{mik}} \text{ g}^{-1} C_{\text{org}}$  beträgt. Dieses  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$ -Verhältnis gilt als annähernd konstant (HAIDER 1996). Eine starke Abweichung des  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$ -Verhältnisses weist auf eine Schädigung der mikrobiellen Biomasse hin. Eine Zusammenstellung der unterschiedlichen  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$ -Verhältnisse kann aus Tabelle 1 entnommen werden. In der Folge sollen drei unterschiedliche Beispiele bzw. Experimente zur biologischen Wirksamkeit von Schwermetallen dargestellt werden. In einem Fall (Rieselfeldboden) wird zusätzlich untersucht, ob die Reaktion der Mikroorganismen auch vom Wassergehalt in der Bodenprobe beeinflusst wird.

## **2. Material und Methodik**

### ***2.1 Beschreibung der Standorte und der Versuche***

#### **2.1.1. Gefäßversuch Seibersdorf**

1987 wurde in Seibersdorf ein Großgefäßversuch unter Freilandbedingungen angelegt. Die drei ausgewählten Böden unterscheiden sich in ihrem pH,  $C_{\text{org}}$ -Gehalt, Ton- und Carbonatgehalt. Der natürliche Schwermetallgehalt der Böden wurde durch den Zusatz von 300 ppm Zn, 100 ppm Cu, 3 ppm Cd, 50 ppm Ni und 50 ppm V erhöht. Diese Schwermetallgehalte entsprechen den Grenzwerten nach KLOKE (1989). Die weiteren Steigerungsstufen wurden mit der zwei- bzw. dreifachen Konzentration der ersten Stufe versetzt. Chemische und physikalische Eigenschaften der Versuchsböden wurden von KANDELER et al. (1990) und KANDELER et al. (1996) publiziert.

#### **2.1.2. Hütten-Alt-Standort mit Arsenbelastung**

Der durch Arsen und Schwermetalle belastete Standort liegt in unmittelbarer Nähe eines ehemaligen Kupferbergbau- und Verhüttungsbetriebes im Bundesland Salzburg. Die Verhüttung wurde im Jahr 1931 eingestellt, der Bergbaubetrieb um 1972. Die aus den Quergängen der Esse anfallenden stark arsenhaltigen Verhüttungsstäube wurden auf einer freiliegenden Halde gelagert, von der es durch Flugstaub zur Kontamination der angrenzenden Flächen kam. Für die Untersuchung wurden drei unterschiedlich belastete

Grünlandstandorte (Braunerden) ausgewählt. (1) Extensive Weidefläche, angrenzend an die Altlast "Essenhalde Mitterberghütten", im Beprobungsjahr nicht genutzt. Sehr stark belastete Fläche (MH1). (2) Extensive Weidefläche, ca. 100 m südlich der Essenhalde, stark belastete Fläche (MH4). (3) Vergleichsfläche mit geringer Belastung (MH2); extensive Wiesenfläche, ca. 700 m westlich der ehemaligen Esse, zur Zeit der Probenahme beweidet. Die Probenahme erfolgte im Oktober 1995 bei mildem Herbstwetter. Die Probeziehung erfolgte in einer Tiefenstufe von 0-10 cm mit vierfacher Wiederholung.

### 2.1.3. Rieselfelder im Raum Berlin

Das bis 1984 mit Abwässern (bis 10.000 mm/a) beschickte Rieselfeldbecken befindet sich im Nordosten Berlins. Das sandige Substrat ist schwach sauer (pH 5.3) und hat einen stark schwankenden Corg-Gehalt von im Mittel 6.1% mit einem mittleren C/N-Verhältnis von 10. Der unterschiedlich mit Gräsern (*Agropyron repens*) bedeckte Boden zeigt große Streuungen bei den Gesamtschwermetallgehalten; im Einlaßbereich werden die höchsten Gehalte gefunden (Cd: 44 mg/kg; Cu: 850 mg/kg; Zn: 3500 mg/kg und Pb: 190 mg/kg), die in Richtung Auslaß um ca. eine Zehnerpotenz abnehmen (Hoffmann et al. 1998). Neben Schwermetallen liegen außerdem PAK-Belastungen (nach EPA) in Höhe von rund 1,2 mg/kg sowie PCB-Gehalte von ca. 0,13 mg/kg vor (Marschner 1996). Die Probenahme von jeweils 12 Stechzylinder erfolgte Mitte Dezember 1996 an den Positionen Einlaß, Feldmitte und Auslaß, um einen entsprechenden Belastungsgradient zu realisieren. Zusätzlich sollte bei den Rieselfeldproben geklärt werden, ob sich unterschiedliche Wassergehalte bzw. pF-Stufen auf die Reaktion der Mikroorganismen auswirken. Zur Untersuchung der Wechselwirkung von Bodenbelastung und -feuchte wurden je 4 Stechzylinder zunächst mit Aqua dest. gesättigt und anschließend auf drei Druckstufen (pF 1,8; pF 2,5 und pF 3) entwässert. Die ungestörten Proben wurden bis zur Analyse bei 4°C gelagert.

## **2.2 Probenahme und Durchführung der bodenmikrobiologischen Untersuchungen**

Die Probenahme der Böden erfolgte - falls nicht anders angegeben - aus einer Tiefe von 0-20 cm. Die Bodenproben wurden gekühlt transportiert, bei -20°C gelagert und vor der Siebung (< 2mm) 3 Tage bei 4°C aufgetaut. Die bodenmikrobiologischen Untersuchungen wurden an den feldfrischen Proben durchgeführt und sind dem Methodenbuch von SCHINNER et al. (1996) zu entnehmen.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Gefäßversuch Seibersdorf

Beim Vergleich bodenmikrobiologischer Enzymaktivitäten zeigte die Arylsulfataseaktivität die höchste Empfindlichkeit gegenüber der Schwermetallbelastung eines Bodens mit Zn, Cu, Ni, V und Cd (KANDELER et al. 1996). Die Schwermetallkonzentrationen entsprachen den ein-, zwei und dreifachen Klope-Werten. Die Arylsulfatase wurde bereits während der ersten Belastungsstufe bis zu 80% gehemmt. Die tonreiche, schwach alkalische Lockersedimentbraunerde reagierte weniger empfindlich als die schwach saure, tonarme Felsbraunerde. Neben der reduzierten Enzymsynthese infolge der geringeren mikrobiellen Biomasse kann diese Hemmung auch durch Inaktivierung der bereits gebildeten Enzyme verursacht werden. Vergleicht man diese Ergebnisse mit ED 50-Werten aus der Literatur, so sieht man, daß die Empfindlichkeit von Mikroorganismen bei gleichzeitiger Zugabe mehrerer Schwermetalle zunimmt. Diese Kombinationswirkung kann auf additive und synergistische Effekte zurückgeführt werden.

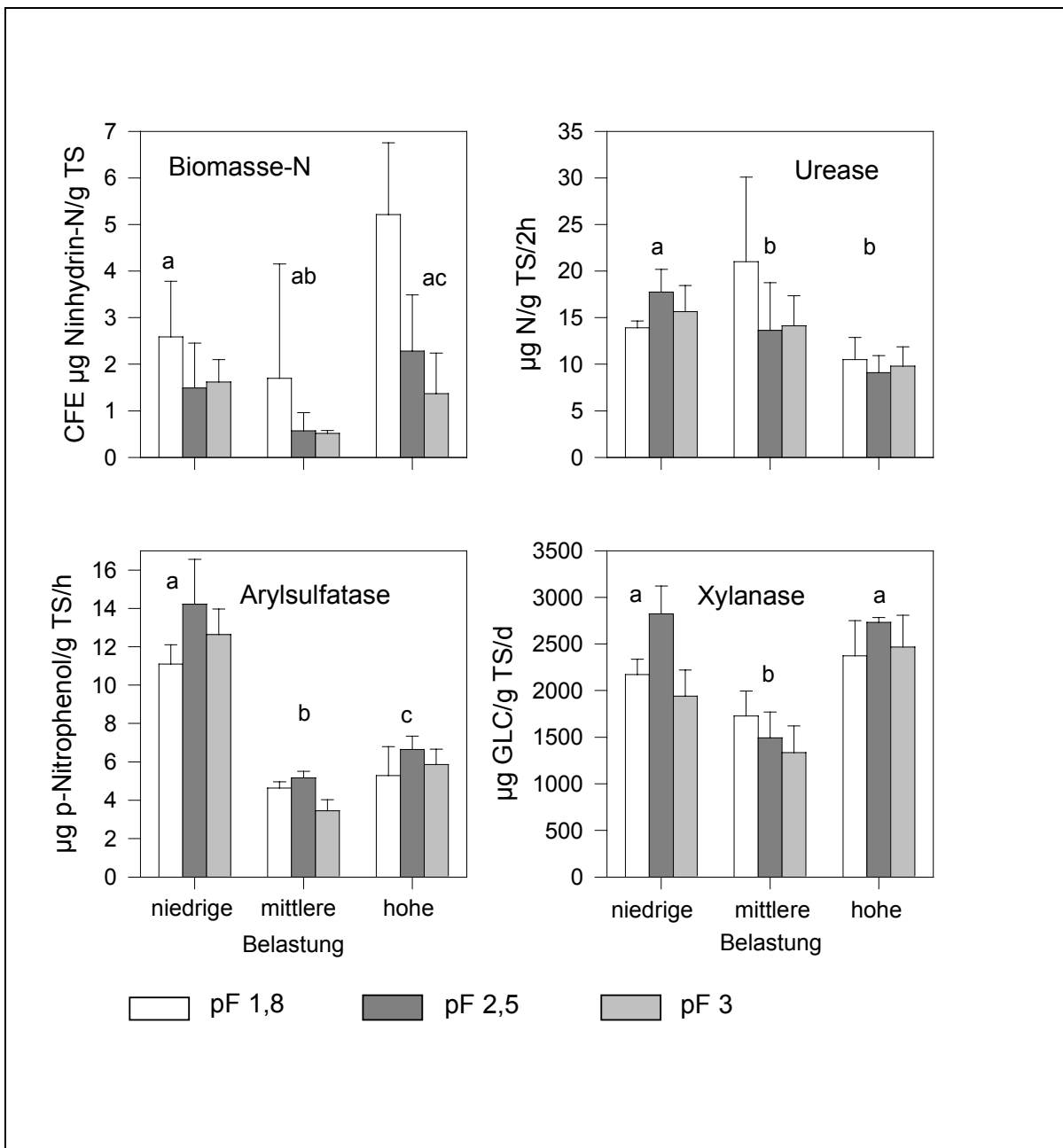
Berechnet man das  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$ -Verhältnis der unterschiedlich belasteten Böden, so kann folgender Trend beobachtet werden: Unabhängig vom Bodentyp betrug das  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$ -Verhältnis zwischen 15-20  $\text{mg } C_{\text{mik}} \text{ g}^{-1} C_{\text{org}}$ , belastete Böden wiesen dagegen Werte auf, die im Bereich von 3-10  $\text{mg } C_{\text{mik}} \text{ g}^{-1} C_{\text{org}}$  lagen (Tab.1). In einem Gefäßversuch ohne zusätzlichen Input von organischem Material ist also der Schwellenwert von 10  $\text{mg } C_{\text{mik}} \text{ g}^{-1} C_{\text{org}}$  als minimaler Werte für den Pool der aktiven mikrobiellen Biomasse akzeptierbar.

#### 3.2 Hütten-Alt-Standort mit Arsenbelastung

Die mittleren Aktivitätswerte, ihre Standardabweichungen, Minimum und Maximum sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Die Standorte konnten hinsichtlich ihrer mikrobiellen Eigenschaften signifikant von einander unterschieden werden. Die mikrobiellen Aktivitäten nahmen mit Zunahme der Schadstoffbelastung ab. Auf dem am stärksten belasteten Standort MH1 reagierte die Dehydrogenase im Vergleich zum Vergleichsstandort MH2 mit einer Aktivitätsabnahme von 89 % am empfindlichsten. Die N-Mineralisation wurde auf dieser Fläche mit 82 % inhibiert. Die Abnahme der Aktivitäten der Urease, Phosphatase, Arylsulfatase und substrat-induzierten Respiration (SIR) betrug zwischen 46 und 70 %, die Xylanaseaktivität hingegen wurde geringer beeinträchtigt (11 %ige Aktivitätsminderung). Auch auf dem Belastungsstandort MH4 reagierten die Dehydrogenase und N-Mineralisation im Vergleich zum Referenzstandort MH2 mit einer Aktivitätsabnahme von 76 und 63 % am empfindlichsten. Die Arylsulfatase, Urease, Phosphatase und SIR wiesen in dieser Belastungsstufe eine Minderung der Aktivitätsleistung von 39 bis 50 % auf, die Xylanase zeigte jedoch um eine 29 % höhere Aktivität verglichen mit dem Vergleichsstandort MH2.

Mit Ausnahme von Cr, Mo und V wurde eine starke negative Korrelation zwischen dem Schadstoffgehalt und der mikrobiellen Aktivitätsleistung festgestellt ( $r = -0,6$  bis  $-0,99$ ,

Tab. 3). Cr, Mo und V wiesen hingegen eine starke positive Korrelation mit den mikrobiologischen Parametern auf ( $r = 0,68$  bis  $0,99$ ). Die Xylanaseaktivität wird durch Schwermetalle nicht beeinflusst. Als Ursache dafür wird angenommen, daß Bodenmikroorganismen bei Schwermetallbelastung einen höheren Energie- oder C-Umsatz für Schutz- und Reparaturmechanismen benötigen (KANDELER et al. 1990). Der höhere metabolische Quotient (das Verhältnis von mikrobieller Respiration zur Biomasse) spricht ebenfalls für diese Hypothese. Die hohe negative Korrelation zwischen mikrobieller Aktivität und organischem Kohlenstoff kann auf die höheren  $C_{org}$  Gehalte in den stark belasteten Böden zurückgeführt werden. Die Akkumulation von Humus als Folge der Inhibierung der mikrobiellen Aktivitätsleistung durch Schadstoffe wurde in mehreren



**Abb. 1:** Wirkung unterschiedlicher Belastungsstufen und Bodenfeuchte auf die mikrobiellen Eigenschaften eines Rieselfeldbodens. Signifikante Unterschiede der einzelnen Belastungsstufen sind mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet

Studien nachgewiesen (RAO & PAL 1978, POLOMSKI 1985). Im Vergleich zu einer unbelasteten Bodendauerbeobachtungsfläche von Salzburg (St. Koloman, siehe TSCHERKO & KANDELER 1997) wiesen die belasteten Standorte sehr geringe Aktivitätswerte auf.

### **3.3 Rieselfelder in Berlin**

Die unterschiedlich hohe Bodenbelastung führte unabhängig vom Wassergehalt zu einer signifikanten Verringerung der Arylsulfatase- und der Ureaseaktivität in Rieselfeldern (Abb.1). Die Reaktion der Xylanaseaktivität war von der Dosis abhängig: Die mittlere Belastung reduzierte die Aktivität, die hohe Belastung übte keinen Einfluß auf die Xylanaseaktivität aus. Der Biomasse-N wurde durch den Wassergehalt der ungestörten Stechzylinderproben stärker beeinflußt als durch den Schwermetallgehalt. Die hohe Variabilität dieses Parameters erschwert jedoch die Interpretation dieser Daten. Das  $C_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$  Verhältnis der Rieselfelder liegt im Bereich von 12-26 mg  $C_{\text{mik}} \text{ g}^{-1} C_{\text{org}}$  (Tab.1). Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß der toxische Effekt der Schwermetalle in den Rieselfeldern teilweise durch den sehr hohen  $C_{\text{org}}$  Gehalt der Böden überdeckt wurde. Bodenmikroorganismen in Rieselfeldern haben vermutlich in Abhängigkeit von der Schwermetallbelastung Resistenzmechanismen entwickelt. Die direkte Wirkung der Schwermetalle auf Bodenenzyme scheint jedoch auch in Rieselfeldern nachweisbar zu sein.

### **Danksagung**

Für die große Unterstützung bei der Analyse der Bodenproben und bei der Auswertung der Daten möchten wir uns bei Frau E.Kohlmann, Frau A.Stockinger und Herrn Dipl. Ing. M. Facklam bedanken. Die Versuche wurden durch die finanzielle Unterstützung des Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, der Salzburger Landesregierung und der Österreichischen Gesellschaft für Bodenbiologie ermöglicht.

### **Literatur**

- Baath, E.; Arnebrant, K. & Nordgren, A. (1991): Microbial biomass and ATP in smelter-polluted forest humus. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **47**, pp. 278-282. Springer-Verlag New York Inc.
- Beyer, L. (1997) Die organische Bodensubstanz anthropogener Böden der Stadt Kiel. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* **84**, 123-126.
- Brookes, P. (1995): The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fertil. Soils* Vol. **19**, 269-279. Springer-Verlag
- Dahlin, S.; Witter, E.; Martensson, A.; Turner, A. & Baath, E. (1997): Where's the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal

- contamination. *Soil Biol. Biochem.* Vol. **29**, No. 9, pp. 1405-1415. Elsevier Science Ltd.
- Fließbach, A.; Martens, R. & Reber, H. (1994): Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.* Vol. **26**, No. 9, pp. 1201-1205. Elsevier Science Ltd.
- Haider, K. (1996) *Biochemie des Bodens*. Ferdinand Enke Stuttgart.
- Hoffmann, C., Marschner, B. & Reger, M. (1998): Influence of DOM-quality, DOM-quantity and water regime on the transport of selected heavy metals. *Physics and Chemistry of the Earth* (submitted).
- Jenkinson, D. S. & Ladd, D. N. (1981): Microbial biomass in soil: Measurement and turnover.-In: Paul, E. A. & Ladd, D. N. (eds.), *Soil Biochemistry* Vol **5**., Marcel Decker, New York pp. 415-471.
- Kandeler, E., Mentler, A., Pfeffer, M. & Horak, O. (1990) Bodenbiologische Beurteilung der Toxizität von Schwermetallen in künstlich belasteten Böden. *VDLFA-Schriftenreihe* **32**, 621-626.
- Kandeler, E.; Kampichler, C. & Horak, O. (1996) Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biol. Fertil. Soils* **23**: 299-306.
- Malkolmes, H.P. (1985) Einflüsse von Pflanzenschutzmitteln auf Bodenorganismen und ihre Leistungen. *Berichte über Landwirtschaft, Sonderheft* **198**, 134-147.
- Marschner, B. (1996): Bodenchemische und -biologische Einflußfaktoren der Freisetzung von PAK and PCB aus einem Rieselfeldboden. *Landschaftsentwicklung und Umweltforschung*, Technische Universität Berlin, Nr. **101**, pp.75-83.
- Polomski J. 1985: Fluorbedingte Veränderungen von chemischen und biologischen Gleichgewichten im Boden. *Landwirtschaftliche Forschung* **38**, 139-146.
- Rao D.N. & Pal D. 1978: Effect of fluoride treatment on the organic matter content of soil. *Pl. Soil* **49**, 653-656.
- Schinner, F.; Öhlinger, R.; Kandeler, E. & Margesin, R. (1996) *Methods in soil biology*. Springer, Heidelberg.
- Tscherko, D. (1994): Soil ecology of cultivated and uncultivated sites along the austrian-hungarian border („iron-curtain“). Part II: soil chemistry and soil biology. Diplomarbeit Universität für Bodenkultur.
- Tscherko, D. & Kandeler, E. (1997) Biomonitoring of Soils - Denitrification enzyme activity and soil microbial processes as indicators for environmental stress. In: K.H.Beck & P.Wiesen (eds) *Proceedings of the 7th International Workshop on Nitrous Oxide Emissions*, Bergische Universität Gesamthochschule Wuppertal, Köln, pp 373-381.