

Wirkung von ausgewählten PAK, PCB und Schwermetallen auf Bodenmikroorganismen und Wildpflanzen

Claudia Koch und Berndt-Michael Wilke *

Zusammenfassung Die Rieselfeldflächen Berlin-Buch sind mit zahlreichen Umweltchemikalien im Gemisch belastet. Zur Beurteilung der Einflüsse auf Bodenmikroorganismen und deren Umsetzungsprozesse sowie die Aufnahme in Pflanzen sind deshalb neben Einzel- auch Kombinationswirkungen gemeinsam auftretender Schadstoffe von Bedeutung. Es wurden daher Einflüsse ausgewählter PAK und PCB einzeln und in Kombination mit den Schwermetallen Kupfer und Zink auf Bodenmikroorganismen im Laborbrutversuch und Wildpflanzen im Gefäßversuch geprüft. Da die biologische Verfügbarkeit der Chemikalien von deren Wasserlöslichkeit und der Adsorption im Boden abhängt, wurden Schadstoffwirkungen auf Bakterien im Agartestsystem geprüft. Die organischen Schadstoffe beeinflussten Mikroorganismen und Pflanzen kaum. Synergistische Effekte auf die Mikroflora wurden durch Benzo(a)pyren bzw. Fluoranthen und Kupfer hervorgerufen. Die Erträge von *Matricaria chamomilla* und *Poa annua* wurden nur durch hohe Zink-Gehalte vermindert.

Summary The soils of the former sewage farms at Berlin-Buch were simultaneously contaminated with PAH, PCB, heavy metals and other pollutants. Interpreting their influences on soil microorganisms or decomposition processes as well as soil-plant transfer are not caused by single but by combination effects of simultaneously occurring contaminants. Combination effects of selected PAH, PCB and heavy metals (copper, zinc) on soil microorganisms and wild flowers were examined. The bioavailability of chemicals depends on their water solubility and adsorption in the soil. For this reason, effects of pollutants on soil bacteria were tested in agar test systems. Effects of benzo(a)pyrene and PCB 52 on plant assimilation and growth of wild flowers (*Matricaria chamomilla*, *Poa annua*, *Agropyron repens*) were studied in pot experiments. Soil microorganisms and plants were not really affected by organic chemicals. Synergistic effects on microorganisms were caused by combination of benzo(a)pyrene or fluoranthene and copper. Only high concentrations of zinc reduced the productivity of *Matricaria chamomilla* und *Poa annua*.

* Technische Universität Berlin, Institut für Landschaftsentwicklung, FG Abfallbelastung der Landschaft, Albrecht-Thaer-Weg 4, 14195 Berlin

1. Einleitung

Die Böden der ehemaligen Rieselfeldflächen in Berlin-Buch sind nach jahrzehntelanger Abwasserverrieselung mit Gemischen organischer und anorganischer Umweltchemikalien belastet. Diese können sehr unterschiedliche Auswirkungen auf Mikroorganismen und Pflanzen haben. Bei der Beurteilung ihrer Einflüsse auf Bodenmikroorganismen und deren Umsetzungsprozesse sowie den Stofftransfer Boden-Pflanze sind neben den Einzelwirkungen auch Kombinationseffekte gemeinsam auftretender Schadstoffe von Bedeutung. Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden daher Versuche zur Wirkung von ausgewählten PAK bzw. PCB einzeln und in Kombination mit den Schwermetallen Kupfer (Cu) und Zink (Zn) auf Bodenmikroorganismen und Wildpflanzen durchgeführt. Hydrophobe organische Schadstoffe (z.B. PAK und PCB) können die Permeabilität der Cytoplasmamembranen von Mikroorganismen verändern und dadurch sowohl die Nähr- als auch die Schadstoffaufnahme in die Zelle erhöhen (SIKKEMA et al. 1995). Stärkere Hemmwirkungen der Mikroflora durch die Kombination von PAK bzw. PCB mit Schwermetallen waren daher zu erwarten.

Da die biologische Verfügbarkeit der Chemikalien von deren Wasserlöslichkeit und der Adsorption im Boden abhängt, wurden die Schadstoffwirkungen sowohl in Bodenbelastungsversuchen als auch im Agartestsystem geprüft. Einflüsse von Stoffkombinationen auf die Aufnahme der Substanzen in Wildpflanzen sowie auf deren Wachstum und Ertrag wurden in Gefäßversuchen mit Kamille (*Matricaria chamomilla*), einjähriger Rispel (*Poa annua*) und Quecke (*Agropyron repens*) untersucht.

2. Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an den A_h-Horizonten von zwei sandigen Böden der Rieselfeldflächen Berlin-Buch durchgeführt. Es handelte sich um einen durchschnittlich belasteten Rieselfeldboden (RefB) und einen unbelasteten Boden (gbB) vom Rand des Untersuchungsstandortes. Die charakteristische Kennwerte beider Böden und die für die Versuche relevanten Schadstoffgehalte sind in Tab. 1 dargestellt.

Tab.1: Bodenkennwerte und relevante Schadstoffgehalte der Versuchsböden (mg kg⁻¹ TS)

	RefB	gbB
S	92,6	93,7
U (%)	4,3	4,2
T	3,1	2,1
C _{org} (%)	1,7	0,6
N _t (%)	0,17	0,07
pH (CaCl ₂)	5,8	4,9
Schwermetalle		
Cu	60	21
Zn	200	44
PAK		
BaP	0,12	<0,01
Fla	0,18	0,02
Ant	<0,05	<0,05
PCB		
PCB 52	0,02	<0,01

Die Böden RefB und gbB unterscheiden sich sowohl in C_{org}-Gehalt und pH-Wert als auch im Schadstoffgehalt, so daß unterschiedliche Wirkungen der Chemikalienzugaben erwartet werden konnten. Die C_{org}-Gehalte der Versuchsböden betragen 1,7 % (RefB) sowie 0,6 % (gbB), die pH-Werte (CaCl₂) liegen bei 5,8 (RefB) und 4,9 (gbB). RefB erreicht mit 60 mg Cu kg⁻¹ den Grenzwert der Klärschlammverordnung (ABFKLÄRV 1992), während mit 200 mg Zn kg⁻¹ der Grenzwert überschritten wird. Die Gehalte an Benzo(a)pyren (BaP), Fluoranthen (Fla), Anthracen (Ant) und PCB 52 sind dagegen für Rieselfeldstandorte gering.

Für die Bodenbelastungsversuche wurden die in Aceton gelösten organischen Schadstoffe zunächst auf Seesand aufgezogen und das Aceton abgedampft. Anschließend wurde der belastete Seesand in die Böden eingemischt. Für jede Konzentrationsstufe wurden vier Parallelen angesetzt und die mikrobielle Aktivität der Böden nach sieben Tagen mit der INT-Dehydrogenaseaktivitätsbestimmung (DHA) nach FUCHS et al. (1994) gemessen. Als Kontrolle wurde der unbelastete Boden (= 100 %) verwendet. Zur Auswertung der Ergebnisse setzten wir bei den Kombinationsvarianten die Kombinationswirkung in Beziehung zur Wirkung des organischen Schadstoffes, d.h. die

BaP+Cu-Varianten wurden in % zu den BaP-Einzelbelastungen (= 100 %) dargestellt. Bei diesem Vorgehen zeigen additive Wirkungen keinen Unterschied zwischen den zu vergleichenden Varianten, während synergistische Wirkungen zu stärkeren Hemmungen durch die Kombinationsbelastung führen.

Die Versuche im Agartestsystem wurden in Anlehnung an das Plattengußverfahren von TROLLDENIER (1993) mit Bodenbakterien durchgeführt. Die in Aceton gelösten Stoffe wurden direkt in den Agar gegeben und das Aceton bei ca. 60 °C aus dem flüssigen Agar abgedampft. Die Versuche wurden fünf parallelen Ansätzen durchgeführt und nach vier Tagen ausgewertet. Als Kontrolle wurden unbelastete und zur Prüfung des sterilen Arbeitens unbeimpfte Agarplatten verwendet. Für die Versuche wurde ein Standard(II)-Nährbouillon-Agar von Merck eingesetzt.

Die Schwermetalle wurden bei den bodenmikrobiologischen Untersuchungen als Chloride zugegeben, da diese Metallverbindungen gut wasserlöslich und damit im Boden sofort verfügbar sind. Durch die mikrobielle Verträglichkeit der Chloride wurde gewährleistet, daß toxische Wirkungen nur durch die jeweiligen Schwermetalle und nicht deren Begleit-Anionen hervorgerufen wurden.

Die Wildpflanzenversuche wurden mit dem Boden RefB und mindestens drei Monate gealterten BaP- bzw. PCB 52- Belastungen durchgeführt. Die Schwermetalle wurden in Anlehnung an die Kulturpflanzenversuche der Projektpartner als Acetate zugesetzt. Als Versuchspflanzen wurden Kamille (*Matricaria chamomilla*), einjährige Risppe (*Poa annua*) und Quecke (*Agropyron repens*) eingesetzt. Bei Versuchsbeginn wurden dem Boden 0,5 g N (NH_4NO_3), 0,5 g P (KH_2PO_4) und 1,0 g K (K_2SO_4) pro Gefäß als Mineraldüngung zugeführt, um Wachstumshemmungen aufgrund mangelhafter Nährstoffversorgung auszuschließen. Die Versuche wurden in vier Parallelen und bei konstanter Feuchteversorgung (ca. 60 % der maximalen Wasserkapazität) durchgeführt.

Die Gesamtgehalte der Schwermetalle wurden in Anlehnung an VDLUFA (1991) und die mobile und leicht nachlieferbare Schwermetallfraktion nach ZEIEN & BRÜMMER (1989) bestimmt. Die Schwermetalle wurden im Flammen-Atomabsorptionsspektrophotometer (AAS) gemessen.

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit SPSS. Zur Absicherung der Mittelwertsunterschiede zwischen den Varianten wurden die einfaktorische Varianzanalyse und der LSD-Test verwendet.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Wirkung der Schadstoffe auf die mikrobielle Aktivität

Die mikrobielle Aktivität von gbB und RefB wurde auch durch hohe BaP-Zugaben (70 mg kg⁻¹) nur um 7 bzw. 10 % gehemmt (Abb. 1a). Fla führte bei gbB zu einer Verminderung der DHA um max. 9 %, während bei RefB nicht signifikante Förderungen in den untersuchten Konzentrationsstufen auftraten (Abb. 1b). Die Mikroflora beider Böden wurde durch die gewählten Ant-Zugaben weder signifikant gehemmt noch gefördert

(Abb. 1c). PCB 52 verringerte die DHA von RefB signifikant um 20 % und von gbB nicht signifikant um 14 % (Abb. 1d).

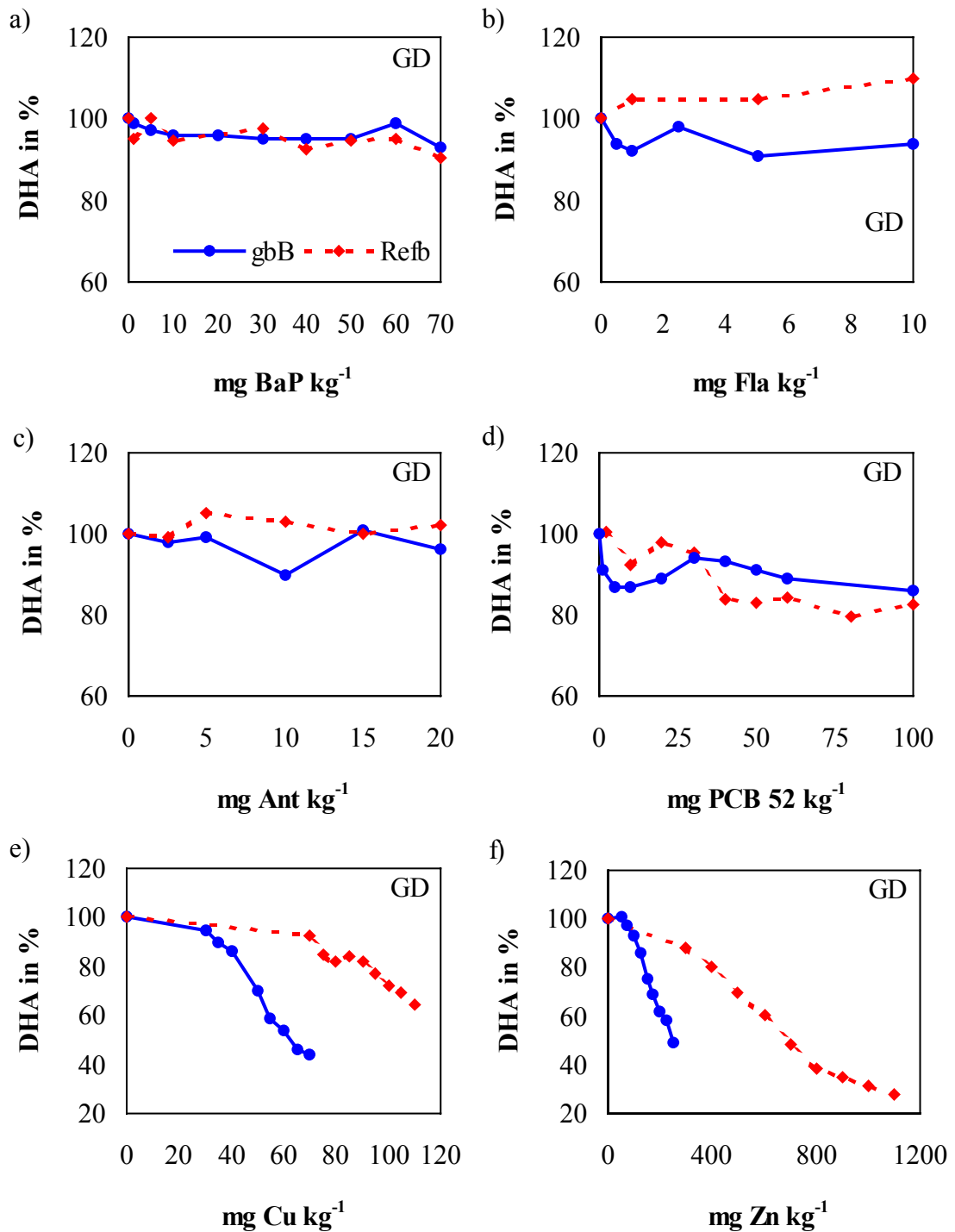


Abb. 1: Wirkungen von Benzo(a)pyren (a), Fluoranthen (b), Anthracen (c), PCB 52 (d), Kupfer (e) und Zink (f) auf die mikrobielle Aktivität der Versuchsböden (GD: Grenzdifferenz)

Steigende Schwermetallzugaben führten dagegen zu stärkeren Hemmungen der mikrobiellen Aktivität. 70 mg Cu kg⁻¹ hemmten die DHA von gbB um 60 %, während die DHA von RefB durch diese Cu-Konzentration nicht signifikant beeinflusst wurde. Die höchste getestete Cu-Konzentrationsstufe (110 mg kg⁻¹) senkte die mikrobielle Aktivität

von RefB um 36 % (Abb. 1e). Signifikante Aktivitätsminderungen durch Zn traten bei gbB ab 100 mg kg^{-1} und bei RefB ab 300 mg kg^{-1} auf (Abb. 1f).

Die organischen Schadstoffe allein hemmten die DHA der Versuchsböden kaum, da die eingesetzten Stoffe wenig wasserlöslich sind und stark an die Humusfraktion der Böden gebunden werden. Sie sind daher selbst in hohen Konzentrationen im Boden kaum bioverfügbar. Cu und Zn dagegen bewirkten deutliche Aktivitätsverluste. Erwartungsgemäß reagierten die Versuchsböden unterschiedlich auf die Schwermetallzugabe, weil deren toxische Wirkung auf die Mikroflora von der Bodenreaktion und der Adsorption der Metalle an organische Bodenbestandteile abhängt (HERMS & BRÜMMER 1984, WELP 1987). Die unterschiedliche Vorbelastung der Böden ist ebenfalls ein wichtiger Aspekt, da sich in kontaminierten Böden resistente Arten entwickeln können (DOELMANN 1986). 5 mg kg^{-1} der organischen Schadstoffe wurden mit Schwermetallkonzentrationen, deren Einzelwirkungen zwischen 10 und max. 50 % Aktivitätsverlust hervorriefen, gemischt. Dadurch sollten auch starke Kombinationseffekte noch nachweisbar sein. Im Folgenden werden Ergebnisse der Versuche mit BaP, Fla und Cu am Boden gbB vorgestellt. $5 \text{ mg BaP kg}^{-1} + 35$ bzw. 60 mg Cu kg^{-1} hemmten die DHA von gbB signifikant stärker als Cu allein (Abb. 2a). Auch Fla führte in der Kombination mit 60 mg Cu kg^{-1} zu einem signifikant stärkeren Aktivitätsverlust (Abb. 2b).

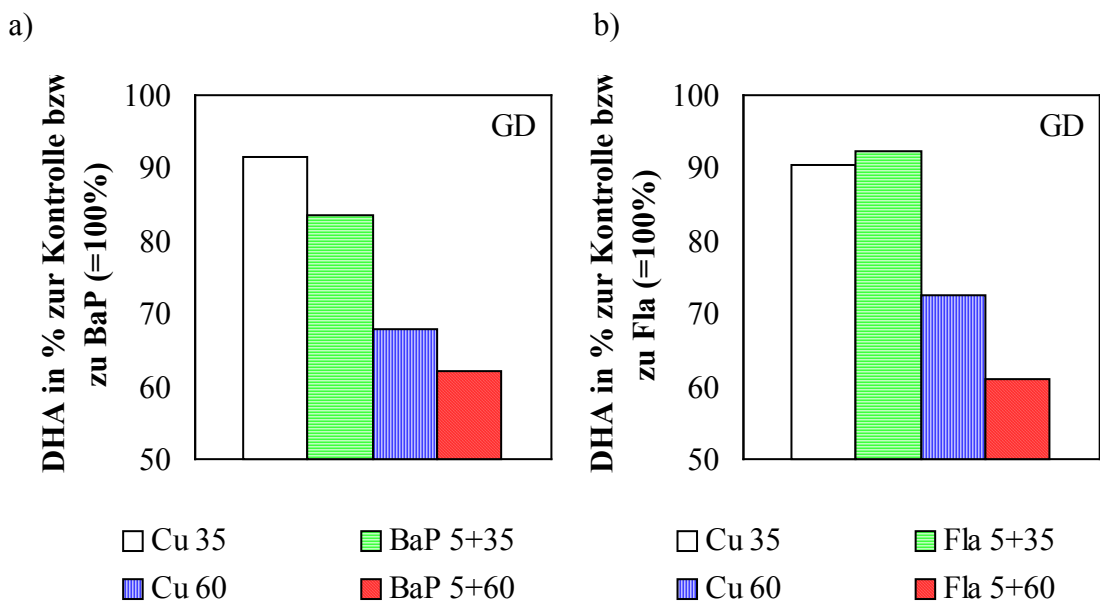


Abb. 2: Wirkung von 35 bzw. 60 mg Kupfer kg^{-1} allein und in Kombination mit 5 mg kg^{-1} Benzo(a)pyren (a) und Fluoranthen (b) auf die DHA von gbB (GD: Grenzdifferenz)

Weitere synergistische Hemmungen der DHA (hier nicht dargestellt) wurden bei gbB durch die Kombinationsvarianten BaP+ $175 \text{ mg Zn kg}^{-1}$, Fla+35 bzw. 60 mg Cu kg^{-1} und Fla+ $175 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ hervorgerufen. Im RefB wirkte nur die Kombination $5 \text{ mg BaP kg}^{-1} + 100 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ stärker schädigend als die Summe der einzelnen Schadstoffe. Anthracen sowie PCB 52 bewirkten im Gemisch mit Schwermetallen dagegen bei beiden Böden keine stärkeren Schädigungen. Um die Ursachen für die geringe Wirkung von Ant bzw. PCB 52 zu klären sowie um festzustellen, warum stärkere Effekte in Kombination mit

Schwermetallen fast ausschließlich bei dem Boden gbB auftraten, wurden Versuche im Agartestsystem angelegt.

3. 2 Wirkung von Stoffkombinationen auf Bodenbakterien

Bei den Kombinationsversuchen wurden die organischen Schadstoffe in Konzentrationen zugegeben, die selbst keine Effekte auf die Bakterien hervorrufen sollten. In Vorversuchen hatten sich $0,2 \text{ mg Organika l}^{-1}$ als geeignet erwiesen.

$0,2 \text{ mg Fla l}^{-1}$ verstärkten bei gbB signifikant die Wirkung von $0,5$ und 1 mg Cu l^{-1} auf das Bakterienwachstum (Abb. 3a). Bei höheren Cu-Konzentrationen war dieser Effekt nicht mehr signifikant. Das Bakterienwachstum von RefB wurde signifikant stärker durch die Kombinationen von $0,2 \text{ mg Fla l}^{-1} + 1,0$ bzw. $2,5 \text{ mg Cu l}^{-1}$ gehemmt als durch Cu alleine (Abb. 3b).

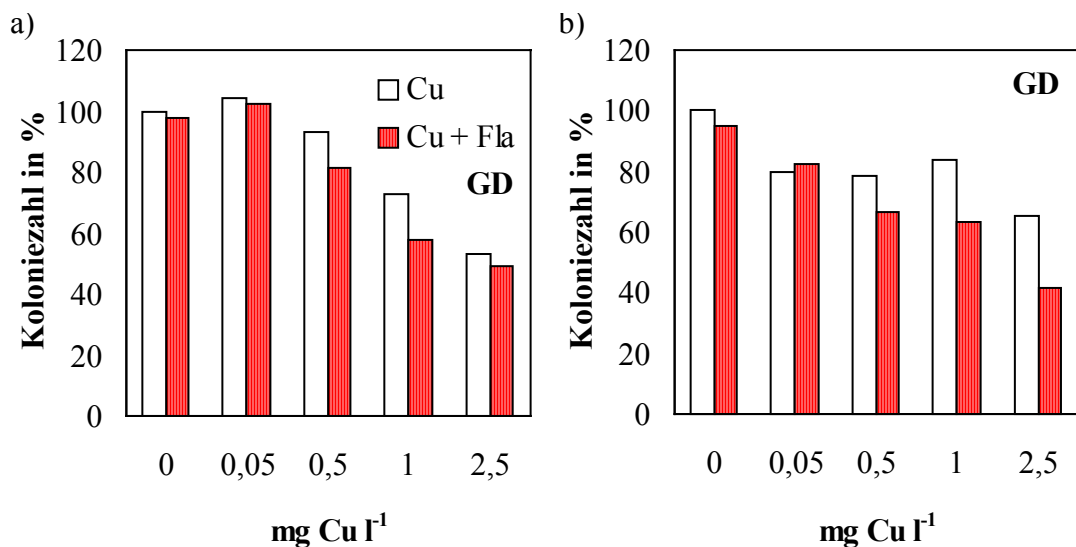


Abb. 3: Wirkung von Kupfer sowie Kupfer und $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ Fluoranthen auf die Koloniebildung der Bakterien von gbB (a) und RefB (b) (GD: Grenzdifferenz)

Hemmeffekte auf die Bakterienkeimung der Böden traten bei Fla+Zn und BaP+Cu bzw. Zn auf, während Ant sowie PCB 52 in Kombination mit Schwermetallen keine stärkeren Hemmungen hervorriefen (hier nicht dargestellt).

Im Agar wirkten die Schwermetalle bereits in sehr geringen Konzentrationen toxisch, da die Metalle nicht den Adsorptionsprozessen des Bodens unterliegen und daher verfügbarer sind (GOGOLEV & WILKE 1997). Durch die Versuche wurden die Ergebnisse der Bodenbelastungstests mit Boden gbB bestätigt. Synergistische Hemmungen des Bakterienwachstums von RefB durch Fla bzw. BaP und Schwermetalle konnten ebenfalls nachgewiesen werden. Da die mikrobielle Aktivität im Boden RefB nicht stärker durch die Kombination dieser Schadstoffe gehemmt wurde, ist davon auszugehen, daß die Stoffe in diesem Boden aufgrund von Adsorptionsprozessen weniger bioverfügbar sind.

Kombinationseffekte durch Ant bzw. PCB 52 konnten weder in Bodenbelastungsversuchen noch im Agartestsystem festgestellt werden, so daß hier substanzspezifische Ursachen angenommen werden müssen.

3.3 Pflanzenversuche

Die Wildpflanzenversuche wurden mit den Belastungsstufen $100 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ (Cu), $500 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ (Zn), 1 mg BaP kg^{-1} (1BaP) sowie $2 \text{ mg PCB 52 kg}^{-1}$ (2P52) einzeln und in Kombination angelegt. Die Ergebnisse werden am Beispiel der Kamille (*Matricaria chamomilla*) vorgestellt.

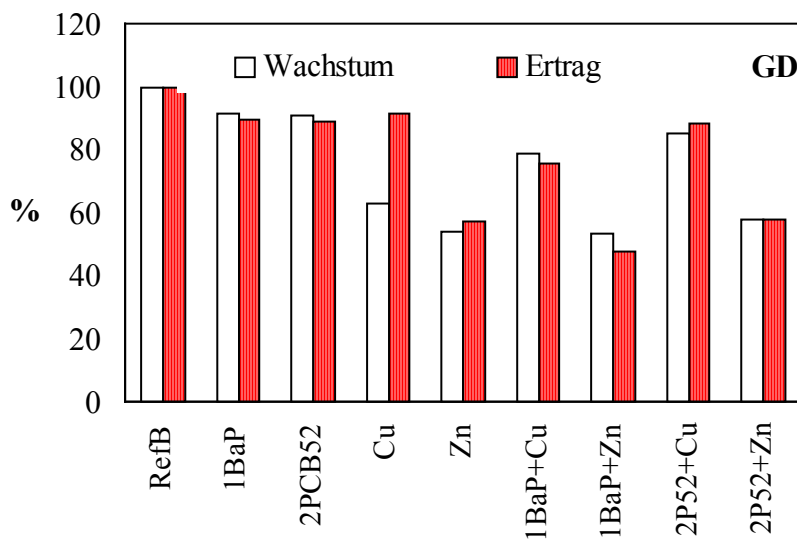


Abb. 4: Wirkung von $100 \text{ mg Cu kg}^{-1}$, $500 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ allein und in Kombination mit 1 mg BaP kg^{-1} bzw. $2 \text{ mg PCB 52 kg}^{-1}$ auf Wachstum und Ertrag von Kamille (*Matricaria chamomilla*) (GD: Grenzdifferenz)

Wachstum und Ertrag der Kamille wurden auf den Varianten 1BaP bzw. PCB 52 im Vergleich zur Kontrollvariante (RefB) nicht signifikant reduziert (Abb. 4). Belastungen mit $500 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ führten dagegen zu geringerer Wuchshöhe und deutlichen Ertragsverlusten auf allen Varianten. $100 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ allein hemmten das Wachstum zwar zunächst signifikant, aber der Ernteertrag blieb unbeeinflusst. Bei den Kombinationsvarianten 1BaP bzw. 2P52+Cu wurde die durch Cu-Zusatz hervorgerufene Wachstumshemmung abgeschwächt. Die Biomasseproduktion wurde durch den Zugabe von Cu sowie Cu+Organika auf keiner Versuchsvariante signifikant beeinflusst.

Die Analyse von Zn in Boden und Pflanzenteilen bestätigt, daß die Verringerung von Wuchshöhe und Ertrag auf die Zugabe von Zn in den Boden zurückzuführen ist (Tab. 2).

Tab. 2: Zink-Gehalte im Boden RefB und in der Kamille (mg kg^{-1} TS)

Varianten	Boden		Kraut
	A	B	
RefB (Kontrolle)	236	30	222
1BaP	210	29	265
2P52	222	31	266
Cu	218	29	240
Zn	480	119	654
Cu+Zn	453	115	703
1BaP+Cu	251	29	332
1BaP+Zn	479	112	761
1BaP+Cu+Zn	508	122	702
2P52+Cu	200	30	230
2P52+Zn	459	107	717
2P52+Cu+Zn	453	120	697

A: Gesamtgehalt B: lösliche und leicht nachlieferbare Fraktion

Die Zn-Zugabe zum Boden erhöhte natürlich den Zn-Gesamtgehalt sowie die lösliche und leicht nachlieferbare Fraktion. Bei den anderen Belastungsvarianten unterschieden sich die Bodengehalte nicht von der Kontrolle. Das Kraut auf den Zn-Varianten enthielt starke Zn-Anreicherungen, die sich in Gegenwart von BaP bzw. PCB 52 noch erhöhten. Diese erhöhten Zn-Gehalte deuten auf Interaktionen der organischen Stoffe mit Biomembranen der Wurzeln hin. Die Wurzelbildung der Kamille wurde jedoch durch die Schwermetalle so stark gehemmt, daß nicht ausreichend Wurzelmasse zur Verfügung stand um die Zn-Aufnahme in die Wurzel zu untersuchen. Eine erhöhte Aufnahme von Zn in die Pflanze, ohne daß sich die Lösungsgehalte im Boden veränderten, wurde auch von METZ & WILKE (1993) bei Versuchen mit *Zea mays*, *Miscanthus sinensis*, *Secale cereale*, und *Polygonum sachalinense* beobachtet.

Bei der einjährigen Rispe traten ebenfalls Ertragsverluste auf den Varianten mit Zn-Zugabe auf, während sich die Quecke als unempfindlich gegenüber den getesteten Stoffkonzentrationen erwies.

4. Schlußfolgerungen

Die Untersuchungen zeigten, daß Bodenmikroorganismen und Pflanzen durch die organischen Schadstoffe kaum beeinträchtigt wurden, obwohl die Organika in weit höheren Konzentrationen ($1\text{-}100 \text{ mg kg}^{-1}$ bzw. 1 und 2 mg kg^{-1}) getestet wurden als auf den Rieselfeldern Berlin-Buch vorkommen. Toxische Wirkungen auf Mikroorganismen bzw. Beeinträchtigung mikrobieller Umsetzungsprozesse sowie Schädigungen von Pflanzen - vor allem auf sorptionsschwachen Böden- sind daher eher auf die hohen Schwermetallgehalte der Rieselfelder oder andere im Projekt bisher nicht untersuchte Stoffgruppen zurückzuführen.

Die erhöhte Aufnahme von Zink in die Pflanze bei Anwesenheit organischer Schadstoffe sollte Anlaß zu weiterer Forschung sein.

Danksagung

Wir danken dem BMBF für die gewährte Unterstützung.

Literatur

- AbfKlärV, 1992: Klärschlammverordnung, Bundesgesetzblatt, Teil I, 912-934.
- Doelmann, P., 1986: Resistance of soil microbial communities to heavy metals. In: Jensen, V., A. Kjoller & L.H. Sorensen (Eds.), *Microbial communities in soil*. Elsevier., London, New York. 369-384.
- Gogolev A. & B.-M Wilke 1997: Combination effects of heavy metals and fluoranthene on soil bacteria. *Biol. Fertil. Soils* 25, 274-278
- Herms, U. & G. Brümmer, 1984: Einflußgrößen der Schwermetalllöslichkeit und -bindung in Böden. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 147: 400-424.
- Metz, R. & B.-M. Wilke 1993: Anbau verschiedener Nutzpflanzen zur Dekontamination schadstoffbelasteter Rieselfeldböden. In: Ahrend, F., G.J. Annoke, R. Bosmann & W.J. Van den Brink (Hrsg.), *Altlastensanierung '93*, 969-970.
- Sikkema, J., J.A.M. De Bont & B. Poolman 1995: Mechanisms of membrane toxicity of Hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 59, 201-222.
- Trolldenier, G 1993: Bakterienzählung im Plattengußverfahren. In: *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*, Schinner, F. Öhlinger, R. Kandeler, E. & R. (Hrsg.), 2. Auflage Berlin, Heidelberg, 22-29.
- VDLUFA, 1991: Die Untersuchung von Böden. *Methodenbuch I*, VDLUFA-Verlag Darmstadt.
- Welp, G., 1987: Einfluß des Stoffbestandes von Böden auf die mikrobielle Toxizität von Umweltchemikalien. *Diss.* 247 S. Univers. Kiel.
- Zeien, H. & G. Brümmer, 1989: Chemische Extraktion zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Böden. *Mitteilgn. Dt. Bodenkdl. Gesellsch.* 59, 505-509.