

Interaktionen ausgewählter Pflanzen-Mikroorganismen-Gesellschaften in schwermetallbelasteten Rieselfeldböden

G. Höflich und R. Metz

Interactions of plant-microorganism-associations in heavy metal containing soils from sewage farms

1. Einleitung

Rhizosphärenmikroorganismen können mit Hilfe ihrer Enzyme einen wichtigen Beitrag für das Pflanzenwachstum durch Nährstoffbereitstellung, Schutz der Pflanzen vor bodenbürtigen Schaderregern, Bereitstellung wachstumsfördernder Wirkstoffe (Phytohormone, Vitamine u. a.) und Abbau toxischer organischer Schadstoffe leisten. In Feldversuchen auf unbelasteten Ackerflächen gelang es wiederholt das Wachstum von Leguminosen, Getreide, Mais und Raps mit Hilfe inokulierter nährstofferschließender Rhi-

zosphärenbakterien (*Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Pantoea* sp., *Arthrobacter* sp., *Agrobacter* sp., *Rhizobium* sp., *Rhodobacter* sp.) und arbuskulären Mykorrhizapilzen zu fördern (RUPPEL, 1987; HÖFLICH und GLANTE, 1991; HÖFLICH et al., 1994; BELIMOV et al., 1995; KOZHEMYAKOV und BELIMOV, 1994).

Auf schwermetallbelasteten Böden können Mykorrhizapilze in Abhängigkeit von der Schwermetallkonzentration die Aufnahme von Kupfer, Zink, Mangan und Eisen erhöhen (HASELWANDTER et al., 1994).

Summary

In soils from sewage farms around Berlin the microbial biomass and the colonization by bacteria are more influenced by the crops species than by the content of heavy metals in soils. Pea shows the highest microbial biomass on unpolluted arable land whereas maize shows the highest effect on highly polluted sewage farms.

The colonization of mycorrhiza on high polluted soils was to a great extent reduced.

Inoculated phytoeffective bacteria (*Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp., *Rhizobium* sp., *Stenotrophomonas* sp.) with the ability to survive in the rhizosphere, were able to stimulate the growth of maize and the uptake of heavy metals (Cd, Cu, Pb, Ni, Cr, Zn) on weakly polluted soils more than on highly polluted soils. The growth of rye and legumes (lupin, pea) was not stimulated. In combination with organic fertilization it was possible to improve the effects of the bacteria on high polluted soils.

Key words: Sewage farms, heavy metals, plants, rhizosphere microorganisms.

Zusammenfassung

Auf Rieselfeldern des Berliner Raumes wurden die mikrobiellen Biomassen und Bakterienbesiedlung im Rhizosphärenraum stärker von den Pflanzenarten als von den Schwermetallgehalten im Boden beeinflusst. Auf unbelastetem Boden bewirkt Erbse und auf hoch belasteten Böden Mais die größte mikrobielle Biomasse. Die Mykorrhizabesiedlung war bei hohen Schwermetallbelastungen gehemmt.

Inokulierte phytoeffektive Bakterien (*Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp., *Rhizobium* sp., *Stenotrophomonas* sp.), die in der Rhizosphäre überleben, förderten das Maiswachstum und die Schwermetallaufnahme (Cd, Cu, Pb, Ni, Cr, Zn) auf schwach belasteten Böden stärker als auf hochbelasteten. Bei Roggen und Leguminosen (Lupine, Erbse) wurden keine Wachstumsstimulierungen erzielt.

Schlagworte: Rieselfelder, Schwermetalle, Pflanzen, Rhizosphärenmikroorganismen.

Obwohl im Rhizosphärenraum entscheidende pflanzenwirksame mikrobielle Aktivitäten stattfinden, ist über die Anpassung phytoeffektiver Rhizosphärenmikroorganismen an hohe Schwermetallkonzentrationen im Rhizosphärenraum und deren Interaktionen mit Pflanzen bei der Erschließung von Schwermetallen in heterogenen Ökosystemen wenig bekannt (LEYVAL et al., 1993).

Der langjährige, zeitweise unkontrollierte Einsatz von kommunalem bzw. industriellem Abwasser und Klärschlamm hat auf Rieselfeldböden zu einer starken Belastung mit unterschiedlichen organischen und anorganischen Schadstoffen geführt. Die schadstoffbelasteten Flächen nehmen in der Umgebung von Großstädten einen großen Umfang ein (z. B. im Raum Berlin 12.000 ha). Das erfordert eine vertiefte Untersuchung zum Einfluß dieser Schadstoffbelastungen auf mikrobielle Prozesse im Rhizosphärenraum.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mit Rieselfeldböden des Berliner Raums folgende Fragen untersucht:

- Einfluß einer differenzierten Schwermetallbelastung auf die mikrobielle Biomasse und Rhizosphärenmikroorganismen bei verschiedenen Pflanzenarten,
- Möglichkeiten einer gezielten Ansiedlung von Mikroorganismen im Rhizosphärenraum,
- Einfluß inokulierter Mikroorganismen bzw. stimulierter mikrobieller Aktivitäten im Rhizosphärenraum auf das Pflanzenwachstum und die Schwermetallaufnahme.

2. Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten mit schwach und hochbelasteten Rieselfeldböden des Berliner Raumes (Tab. 1) im Vergleich zu unbelasteten Ackerböden in Gefäßversuchen (6 l Mitscherlichgefäße). Die Textur der Versuchsböden (Korngröße < 0,02 mm = 13 %, 0,2–0,02 = 79 %) differierte nicht zwischen den Belastungsstufen. Die Versuchsbedingungen im Gewächshaus waren 50–60 % WK, Tagstemperaturen 15–25° C, Nachttemperaturen 8–12° C, 6 Wiederholungen. Als Versuchspflanzen dienten Mais, W.-Weizen, W.-Roggen, Lupine, Erbse, Chinaschilf. Erfasst wurden die Sproß- und Wurzeltrockenmasse sowie die Schwermetallaufnahme in Sproß und Wurzel (Königswasseraufschluß und Messung mit Atomabsorptionsspektrometer).

Die Rhizosphärenbakterienbesiedlung wurde auf Glycerin-Pepton-Agar ermittelt. Die Bakterien wurden in Anlehnung an HIRTE (1969a, b) aufgrund makro- und mikromorphologischer Merkmale zunächst in Typen eingeteilt

Tabelle 1: Chemische Eigenschaften der Versuchsböden
Table 1: Characteristic of the soils

Parameter	unbelastet	schwach belastet	hoch belastet
pH (0,01 M CaCl ₂)	5,6	5,3	4,9
C _{org} (Gew. %)	2,8	3,6	7,1
N _t (Gew. %)	0,2	0,3	0,7
Cd ¹⁾ (mg/kg TS)	0,3	4,9	51,5
Pb (mg/kg TS)	22,2	108,0	722,0
Cu ¹⁾ (mg/kg TS)	13,0	67,6	466,0
Zn ¹⁾ (mg/kg TS)	46,0	174,0	1285,0
Ni ¹⁾ (mg/kg TS)	5,1	10,9	54,0
Cr ¹⁾ (mg/kg TS)	9,0	78,0	361,0

1) Gesamtgehalte Königswasseraufschluß

und anschließend der Anteil der Typen an der Gesamtzahl ermittelt. Die Identifizierung typenspezifischer Isolate erfolgte durch Analyse der zellulären Fettsäuremethylesterprofile mit dem „Microbial Identification System“ (MIS, Microbial ID Inc., Newark, Del) nach der Methode von MILLER (1982) bzw. SASSER und MILLER (1984). Die Bestimmung der Mykorrhizabesiedlung der Wurzeln erfolgte nach PHILLIPS und HAYMAN (1970).

Die mikrobielle Biomasse wurde nach der DMSO-Reduktionsmethode in Anlehnung an ALEF (1991) bestimmt. Das Prinzip beruht auf der Reduktion von Dimethylsulfatoxid (DMSO) zu Dimethylsulfat (DMS) durch mikrobielle Aktivitäten im Boden während der Inkubation.

Für Inokulationsversuche kamen in Vorversuchen (HÖFLICH et al., 1992; 1994) getestete Mykorrhizapilze (*Glomus mosseae*, [VAM3] und wachstumsstimulierend wirkende Bakterien (*Pseudomonas fluorescens* [PsIA12], *Agrobacterium rhizogenes* [A1A4], *Rhizobium trifolii* [R39], *Stenotrophomonas maltophilia* [PsIB2] und *Pseudomonas putida* [A1A2]) zum Einsatz. Die Bakterien wurden als Torfpräparate an das Saatgut mit einem Titer entsprechend 10⁶ cfu je Pflanze inokuliert.

Zusätzlich wurden die Mykorrhiza-Präparate von VESTBERG (Finnland) (*Glomus fistulosum*, V128; *G. hoi*, V98; *G. mosseae*, V57, V147) getestet.

Die Analyse des Besiedlungsverhaltens erfolgt mit antibiotikaresistenten Mutanten (HÖFLICH et al., 1995). Die Identität der Rückisolate wurde serologisch nachgewiesen (WIEHE et al., 1996).

Die Interaktionen der durch organische Düngung stimulierten allgemeinen mikrobiellen Aktivität und Schwermetallaufnahme wurden nach Zusatz von leicht umsetzbaren Pflanzenrückständen (0,5 % Luzernemehl) zum Boden vor der Aussaat untersucht.

Die Versuchsergebnisse wurden über ANOVA bei $\alpha = 0,05$ statistisch ausgewertet.

3. Ergebnisse

3.1 Einfluß einer differenzierten Belastung mit Schwermetallen auf die mikrobielle Biomasse und Rhizosphärenmikroorganismenbesiedlung bei unterschiedlichen Pflanzenarten

3.1.1 Mikrobielle Biomasse

Die mikrobielle Biomasse war in Rieselfeldböden (ohne Pflanzen) im Vergleich zu unbelasteten Ackerböden nicht signifikant reduziert (Tab. 2). Durch den Anbau von Pflanzen wurde sie in allen Böden erhöht. Die stimulierende Wirkung einzelner Pflanzenarten kann auf verschiedenen Böden unterschiedlich sein. Auf unbelasteten Ackerböden hatte Erbse den größten Effekt. Auf schwermetallbelasteten Böden wirkte Mais als C4-Pflanze besonders stimulierend. Bei Erbsen wirkte sich ein gehemmtes Pflanzenwachstum auch auf die mikrobielle Biomasse im Rhizosphärenraum negativ aus (Tab. 3).

Der Zusatz einer leicht umsetzbaren organischen Substanz (z. B. Gründüngung in Form von 0,5 % Luzerne-mehl) förderte die mikrobielle Biomasse im Boden ohne Pflanzen bei geringer, aber nicht bei hoher Schwermetallbelastung (Tab. 3).

Im Rhizosphärenraum von Mais, Roggen und Erbsen wirkte sich die organische Düngung auf schwach belasteten Böden zusätzlich stimulierend aus. Bei hoher Belastung kam es nur mit Mais zu positiven Kombinationswirkungen

Tabelle 2: Mikrobielle Biomasse ($\text{ng DMS} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) im Boden und in der Rhizosphäre unterschiedlicher Pflanzen bei differenzierter Schwermetallbelastung (Gefäßversuch, 4 Wochen)

Table 2: Microbial biomass ($\text{ng DMS} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) in the soil and rhizosphere of different crops by different heavy metal pollution (pot experiments, 4 weeks)

Pflanzen	Schwermetallbelastung		
	ohne	schwach	hoch
ohne	212 a	244 a	131 a
Roggen	390 b	494 c	301 b
Mais	382 b	782 d	808 d
Erbse	484 c	568 c	177 a

Bei gleichen Buchstaben keine signifikanten Differenzen

(Tab. 3). Eine durch organische Düngung stimulierte mikrobielle Biomasse im Rhizosphärenraum, korrelierte nicht mit erhöhter Sproßtrockenmasse der Pflanzen. Ohne organische Düngung zeichneten sich nur bei Mais auf hoch belasteten Böden positive Trends zwischen erhöhter mikrobieller Biomasse im Rhizosphärenraum und Sproßtrockenmasse ab (Tab. 3).

3.1.2 Bakterien und Mykorrhizapilze

Die Bakterienzahlen, insbesondere *Pseudomonas* spp., waren in schwach belasteten Böden sowohl im Boden als auch in der Rhizosphäre von Mais im Trend höher als in den Vergleichsböden (Tab. 4). Hohe Schwermetallbelastung hatte z. T. einen negativen Effekt auf die ermittelten Rhizosphärenbakterienpopulationen.

Die Mykorrhizabesiedlung war in hochbelasteten Böden bei Mais und Chinaschilf reduziert bzw. gehemmt (Tab. 5).

Tabelle 3: Mikrobielle Biomasse und Pflanzenwachstum in schwermetallbelasteten Böden mit und ohne organischem Dünger (Gefäßversuch, 6 Wochen)

Table 3: Microbial biomass and plant growth on heavy metal polluted soils with and without organic fertilizer (pot experiments, 6 weeks)

Schwermetallbelastung	Pflanzen	Mikrobielle Biomasse ($\text{ng DMS} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)		Sproßtrockenmasse (g/pot)	
		Organische Düngung		Organische Düngung	
		ohne	mit	ohne	mit
schwach	ohne	244 a	750 c	-	-
	Mais	782 c	1172 d	1,48 b	1,51 b
	Roggen	494 b	1444 e	1,51 b	1,36 b
	Erbse	568 b	1415 e	1,96 c	1,86 c
hoch	ohne	131 a	264 a	-	-
	Mais	808 c	1655 d	1,03 b	1,20 b
	Roggen	301 b	388 b	0,34 a	0,19 a
	Erbse	177 a	310 a	0,16 a	0,23 a

Bei gleichen Buchstaben keine signifikanten Differenzen

Tabelle 4: Bakterien species in der Rhizosphäre von Mais in schwermetallbelasteten Böden (Mill. cfu/g Boden bzw. Wurzeln)

Table 4: Bacteria species in the rhizosphere of maize crops in heavy metal polluted soils (Mill. cfu/g soil or roots)

Pflanzen	Schwermetallbelastung	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Agrobacterium</i> spp.	<i>Streptomyces</i> spp.
ohne	ohne	1,7	2,4	0,0	2,7
	schwach	2,6	2,0	0,6	3,7
	hoch	0,1	0,0	0,0	0,0
Mais	ohne	3,6	0,2	0,6	0,6
	schwach	6,2	0,3	0,5	0,5
	hoch	1,7	0,2	0,0	0,0

Tabelle 5: Mykorrhizabesiedlung (%) an unterschiedlichen Pflanzen in schwermetallbelasteten Böden

Table 5: Colonization of mycorrhiza (%) on different plants in heavy metal polluted soils

Pflanzen	Schwermetallbelastung	Feldversuch	Gefäßexperiment
Mais	ohne	25 a	30 a
	schwach	-	10 b
	hoch	5 b	5 b
Chinaschilf	ohne	50 a	-
	hoch	0 b	-

3.2 Möglichkeiten einer gezielten Anreicherung von Mikroorganismen im Rhizosphärenraum

Inokulierte Mykorrhizapilze (*G. mosseae*: VAM3, V57, V147; *G. fistulosum*: V128; *G. boi*: V98) siedelten sich bei hoher Schwermetallbelastung nicht an. In schwach belasteten Böden wurden durch VAM3 maximal 20 % der Maiswurzeln besiedelt.

Inokulierte antibiotikaresistente Mutanten von *Pseudomonas fluorescens* (PsIA12), *Rhizobium trifolii* (R39) und *Agrobacterium rhizogenes* (A1A4) überlebten an Maiswurzeln in hochbelasteten Böden in geringeren Zahlen (Tab. 6) als auf unbelasteten Böden.

Tabelle 6: Überleben inokulierter Bakterien in der Rhizosphäre von Mais bei unterschiedlicher Schwermetallbelastung (Gefäßversuch, 4 Wochen)

Table 6: Survival of inoculated bacteria in the rhizosphere of maize by different heavy metal pollution (pot experiment, 4 weeks)

Bakterien	Schwermetallbelastung (Tausend cfu/g Wurzeln)	
	ohne	hoch
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (PsIA12)	60	30
<i>Rhizobium trifolii</i> (R39)	220	110
<i>Agrobacterium rhizogenes</i> (A1A4)	920	10

3.3 Einfluß stimulierter mikrobieller Aktivitäten im Rhizosphärenraum auf das Pflanzenwachstum und die Aufnahme von Schwermetallen

3.3.1 Pflanzenwachstum

Das Wachstum von Weizen, Roggen, Lupinen und Erbsen wurde durch inokulierte Bakterien- und Mykorrhiza-Isolate auf schwach und stark mit Schwermetallen belasteten Böden nicht gefördert (Versuchsunterlagen). Positive Ergebnisse zeichneten sich bei Mais ab (Tab. 7).

Tabelle 7: Einfluß inokulierter Mikroorganismen auf das Wachstum von Mais in schwach mit Schwermetallen belasteten Böden (Kontrolle = 100)

Table 7: Effect of inoculated microorganisms on the growth of maize in weakly polluted soils (control = 100)

Mikroorganismen	Sproß	Wurzeln
Kontrolle	100	100
	(0,29) ¹	(0,26) ¹
VAM3 (Mykorrhiza)	132 ⁺	115
PsIA12 (<i>P. fluorescens</i>)	141 ⁺	129 ⁺
A1A4 (<i>A. rhizogenes</i>)	148 ⁺	136 ⁺
A1A2 (<i>P. putida</i>)	145 ⁺	129 ⁺
PsIB2 (<i>S. maltophilia</i>)	113	125
VAM3 + PsIA12	130 ⁺	115
VAM3 + A1A4	124 ⁺	116
LSD a = 0,05	24	28

¹ g Trockenmasse je Pflanze

Auf schwach belasteten Böden wurde das Maiswachstum (Sproß und Wurzeln) sowohl von Bakterien (PsIA12, A1A4, A1A2, PsIB2) als auch von Mykorrhizapilzen (VAM3) stimuliert (Tab. 7). Koinokulationen von Bakterien mit Mykorrhizapilzen wirkten nicht besser als Einzelinokulationen.

Auf hoch belasteten Böden wurde das Maiswachstum zu unterschiedlichen Entwicklungsstadien durch Bakterien (PsIA12, A1A4, A1A2, R39) insbesondere in Kombination

mit organischer Düngung gefördert (Tab. 8). Der positive Effekt der Düngung konnte durch einige Bakterien verstärkt werden. Ohne organische Düngung waren die Bakterien meist ineffektiv. Kombinationen von Mykorrhiza plus Bakterien verbesserten den Bakterieneffekt nicht.

infolge höherer Pflanzentrockenmassen mehr Cd, Cu, Zn und Ni aufgenommen als auf hoch belasteten Böden. Das gilt nicht für Pb und Cr. In den Wurzeln waren die Gehalte und Gesamtaufnahmen bei unterschiedlichen Belastungsstufen meist höher als im Sproß.

3.3.2 Schwermetallaufnahme der Pflanzen

Die Schwermetallaufnahme der Pflanzen korrelierte mit ihrer Trockenmasse (Tab. 9). Auf schwach belasteten Böden wurde von Mais, trotz geringerer Schwermetallgehalte,

Wachstumsfördernde Mikroorganismen können auch die Aufnahme von Schwermetallen stimulieren. Auf schwach belasteten Böden zeichneten sich bei Mais (Sproß und Wurzeln) erhöhte Schwermetallaufnahmen (insbesondere bei Cd, Cu, Pb) nach Inokulation mit Mykorrhiza (VAM3), *Pseudomonas fluorescens* (PsIA12), *P. putida* (A1A2), *Agrobac-*

Tabelle 8: Einfluß inokulierter Mikroorganismen in Kombination mit organischer Düngung (Luzernemehl) auf das Maiswachstum in hoch mit Schwermetallen belasteten Böden (Kontrolle = 100)

Table 8: Effect of inoculated microorganisms in combination with organic fertilizer (alfalfa) on the growth of maize in high polluted soils

Mikroorganismen	Sproß				Wurzeln	
	2 Wochen		4 Wochen		4 Wochen	
	organischer Dünger ohne	mit	organischer Dünger ohne	mit	organischer Dünger ohne	mit
Kontrolle	100	104	100	120 ⁺	100	115
	(0,16) ¹		(0,50) ¹		(0,26) ¹	
PsIA12	106	114 ⁺	80 ⁺	152 ⁺	108	161 ⁺
A1A4	98	149 ⁺	90	114 ⁺	119 ⁺	177 ⁺
A1A2	96	161 ⁺	82 ⁺	134 ⁺	108	150 ⁺
R39	98	143 ⁺	110	114 ⁺	135 ⁺	119 ⁺
VAM3 + PsIA12	81 ⁺	134 ⁺	70 ⁺	122 ⁺	92	122 ⁺
VAM3 + A1A4	81 ⁺	140 ⁺	76 ⁺	144 ⁺	108	144 ⁺
LSD $\alpha = 0,05$	14		14		19	

¹ g Trockenmasse je Pflanze

Tabelle 9: Schwermetallgehalte, Pflanzentrockenmasse und Schwermetallaufnahme von Mais auf unterschiedlich belasteten Rieselfeldböden (Gefäßversuch, 6 Wochen, unbeimpfte Kontrolle)

Table 9: Heavy metal content, plant dry matter and heavy metal uptake of maize on different polluted soils from sewage farms (pot experiment, 6 weeks, not inoculated)

	Sproß		Wurzel	
	schwach belastet	hoch belastet	schwach belastet	hoch belastet
Schwermetallgehalte (ppm)				
Cd	9,6	45,4 ⁺	50,0	172,0 ⁺
Cu	12,3	17,8 ⁺	109,7	463,0 ⁺
Zn	515,3	1.131,0 ⁺	990,2	3.999,0 ⁺
Pb	4,0	22,5 ⁺	46,3	243,0 ⁺
Ni	11,2	27,0 ⁺	92,1	228,0 ⁺
Cr	3,4	4,3	14,4	129,0 ⁺
Pflanzentrockenmasse (g/Gefäß)	28,1	1,17 ⁺	6,3	0,90 ⁺
Schwermetallaufnahme (mg/Gefäß)				
Cd	0,27	0,05 ⁺	0,31	0,16 ⁺
Cu	0,34	0,02 ⁺	0,69	0,42 ⁺
Zn	14,50	1,32 ⁺	6,23	3,60 ⁺
Pb	0,01	0,03	0,29	0,22
Ni	0,32	0,03 ⁺	0,58	0,20 ⁺
Cr	0,01	0,01	0,09	0,12

terium rhizogenes (A1A4) und *Stenotrophomonas maltophilia* (PsIB2) ab (Tab. 10). Durch Koinokulationen von Bakterien und Mykorrhizapilzen wurden die Wirkungen der Einzelnokulationen nicht verbessert.

Auf hoch belasteten Böden wurde durch die Zufuhr leicht zersetzbarer organischer Substanz die Cd-Aufnahme in den Wurzeln stark erhöht (127 %). Die Aufnahme von Cu, Pb, Ni und Cr wurde nicht beeinflusst. Bei den Bakterieninokulationen (A1A4, A1A2, R39) korrelierten die Schwermetall-

aufnahmen z.T. mit der Pflanzentrockenmasse (Tab. 8).

Einige *Pseudomonas fluorescens*-Isolate (PsIA12, 115, 96) reduzierten bei hoher Belastung z. T. die Aufnahme von Pb, Cr, Cd, Ni, Cu und Zn in den Wurzeln (Tab. 11). Im Sproß wurde die Aufnahme von Cr z. T. stimuliert. Die Schwermetallgehalte konnten nur durch die standortspezifischen *Pseudomonas fluorescens*-Isolate von Rieselfeldern (115, 96) reduziert werden (Tab. 12). Diese Bakterien wirkten jedoch nicht wachstumsfördernd.

Tabelle 10: Einfluß von Mykorrhiza (VAM3), *Pseudomonas* (PsIA12, A1A4) und *Agrobacterium* (A1A4) Inokulation auf den Trockenmasseertrag und die Schwermetallaufnahme von Mais in schwach belasteten Böden (Gefäßversuch, 6 Wochen, Kontrolle = 100)

Table 10: Influence of AM-fungi (VAM3), *Pseudomonas* (PsIA12, A1A2) and *Agrobacterium* (A1A4) inoculation on dry matter yield and heavy metal uptake of maize (sewage farm soil weakly polluted, pot experiments, 6 weeks, controll = 100)

	Mikroorganismen	Trockenmasse	Schwermetallbelastung					
			Cd	Cu	Pb	Ni	Cr	Zn
Sproß	Kontrolle	100 (0,29) ¹	100 (0,76) ²	100 (3,03) ²	100 (1,57) ²			
	VAM3	132*	142*	142*	111			
	PsIA12	141*	171*	156*	93			
	A1A4	148*	145*	154*	140			
	A1A2	145*	127	149*	122			
	PsIB2	125	104	126	127			
	VAM3 + PsIA12	130*	158*	136	127			
	VAM3 + A1A4	124	163*	133	114			
Wurzel	Kontrolle	100 (0,26) ¹	100 (2,85) ²	100 (11,9) ²	100 (9,33) ²	100 (3,03) ²	100 (7,23) ²	100 (55,8) ²
	VAM3	115	118	126	132*	115	167*	110
	PsIA12	129*	164*	157*	180*	113	125	141
	A1A4	136*	183*	146*	140*	127	133	134
	A1A2	129*	132	135*	141*	124	137	116
	PsIB2	113	84	135	110	118	132	134
	VAM3 + PsIA12	115	147*	134*	125	90	139	127
	VAM3 + A1A4	116	175*	160*	153*	113	131	142

¹⁾ g/Pflanze

²⁾ µg/Pflanze

Tabelle 11: Schwermetallaufnahme von Mais auf hochbelasteten Böden nach Inokulation mit *Pseudomonas fluorescens*-Isolaten (Kontrolle = 100)

Table 11: Heavy metal uptake of maize on high polluted soil after inoculation of isolates from *Pseudomonas fluorescens* (control = 100)

	Pseudomonas-Stamm	Schwermetalle:					
		Cd	Cu	Pb	Ni	Cr	Zn
Sproß	Kontrolle	100 (0,05) ¹	100 (0,02) ¹	100 (0,03) ¹	100 (0,03) ¹	100 (0,01) ¹	100 (1,32) ¹
	PsIA12	98	123	65	84	160*	117
	115	100	113	42*	84	120	114
	96	79	95	31*	62*	120	83
Wurzel	Kontrolle	100 (0,16) ¹	100 (0,42) ¹	100 (0,22) ¹	100 (0,20) ¹	100 (0,12) ¹	100 (3,60)
	PsIA12	99	100	99	96	134*	105
	115	78	79	44*	89	48**	89
	96	70*	69	38*	71	28*	72

¹ mg/Gefäß

Tabelle 12: Einfluß standortspezifischer *Pseudomonas fluorescens*-Isolate (115, 96) auf die Schwermetallgehalte (ppm) in Mais (hochbelastete Böden, 6 Wochen)

 Table 12: Effect of soil specific isolates from *Pseudomonas fluorescens* (115, 96) on the heavy metal content (ppm) in maize (high polluted soil, 6 weeks)

Schwermetalle	Sproß			Wurzel		
	Kontrolle	115	96	Kontrolle	115	96
Cd	45,4	36,5*	37,6*	172,0	161,0*	151,0
Cu	17,8	18,4*	18,0*	463,0	437,0*	398,0
Zn	1.131,0	992,5*	988,0*	3.999,0	3.263,0*	3.584,0
Pb	22,5	7,5*	7,5*	243,0	129,0*	115,0
Ni	27,0	18,0*	18,0*	228,0	242,0*	203,0
Cr	4,3	3,75*	4,2*	129,0	75,0*	45,0

4. Diskussion

Eine traditionelle landwirtschaftliche Nutzung von mit Schwermetallen belasteten Rieselfeldflächen ist wegen der Gefahr des unkontrollierten Transfers der Schwermetalle z. T. eingeschränkt (METZ und WILKE, 1993). Es ergibt sich deshalb die Frage, ob es möglich ist, mit Hilfe von Rhizosphärenmikroorganismen

- das Pflanzenwachstum bei verringerter Schwermetallaufnahme zu fördern bzw.
- die Aufnahme der Schwermetalle durch Industriepflanzen im Interesse einer beschleunigten Entsorgung des Bodens zu stimulieren.

Untersuchungen zu den Interaktionen ausgewählter Pflanzenmikroorganismengesellschaften auf Rieselfeldböden zeigten, daß eine effektive Nutzung von Rhizosphärenmikroorganismen nur mit geeigneten, an die Standorte angepaßten Wirtspflanzen möglich ist. Positive Wirkungen konnten mit der C4-Pflanze Mais erzielt werden. Die absolute Schwermetallaufnahme von Mais war in schwach belasteten Böden infolge höherer Pflanzentrockenmasse höher als auf stark belasteten Böden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen SAUERBECK und LÜBBEN (1991), METZ und WILKE (1992; 1993) sowie LÜBBEN (1993) mit unterschiedlichen Pflanzenarten.

Mikroorganismen mit hoher Pflanzenaffinität und phytohormonellen Aktivitäten, die das Pflanzenwachstum auf unbelasteten Ackerböden förderten, z. B. *Pseudomonas fluorescens* (PsIA12), *P. putida* (A1A2), *Agrobacterium rhizogenes* (A1A4), *Stenotrophomonas maltophilia* (PsIB2) und Mykorrhizapilze (VAM3) (HÖFLICH et al., 1994; 1996; 1997; WIEHE et al., 1996) stimulierten auch auf schwach belasteten Schwermetallböden das Sproß- und Wurzelwachstum und die Schwermetallaufnahme von Mais. Dabei zeichneten sich unabhängig von den Mikroorganis-

men species positive Beziehungen zwischen stimulierter Aufnahme von Bodennährstoffen (N, P, K) (HÖFLICH et al., 1997) und unterschiedlichen Schwermetallen (Cd, Cu, Pb, Ni, Cr, Ni) ab.

Die Mechanismen für die Schwermetallaufnahme können sehr unterschiedlich sein. So können *Pseudomonas sp.* Cd⁺⁺, Ni⁺⁺, Zn⁺⁺, Cu⁺⁺ mobilisieren und durch Chelatbildung binden (CABRAL, 1992a, b, c). Die Metalle Al⁺⁺, Cr⁺⁺⁺, Cu⁺⁺, Mn⁺⁺ und Zn⁺⁺ können auch über die Siderophore von *Pseudomonas sp.* gebunden werden (BUYER et al., 1993). Siderophoren werden mit gebundenen Metallkationen nicht nur von den speziellen Bakterien, sondern auch von Pflanzen aufgenommen (BAR-NESS et al., 1992).

Die erhöhte Nährstoff- und Schwermetallaufnahme kann auch auf eine durch mikrobielle Phytohormone (Auxin, Cytokinin) stimulierte Wurzelentwicklung zurückzuführen sein (HÖFLICH et al., 1994; 1997).

Die Nitrogenaseaktivität von *Rhizobium sp.* und *Nitrobacter sp.* reagiert meist empfindlich auf Schwermetalle (CHAUDRI et al., 1993; GILLER et al., 1993; MÄRTENSSON, 1995; KIKOVIC and BOGDANOVIC, 1995). Das ist vermutlich auch eine Ursache für das gehemmte Wachstum der Leguminosen in unseren Versuchen.

Auf stark belasteten Böden wurden die hier relativ schwachen Wachstumsstimulierungseffekte der Bakterien durch kombinierten Einsatz mit organischen Düngemitteln (Gründüngung) stimuliert. Mykorrhizapilze siedelten sich bei hohen Schwermetallkonzentrationen im Boden nicht an. Eine verminderte Schwermetallaufnahme bei hoher Bodenbelastung zeichnete sich z. T. mit standortspezifischen siderophorenbildenden *Pseudomonas fluorescens*-Isolaten (115, 96) ab. Sie hemmten aber auch z. T. das Wurzelwachstum.

Eine eindeutige Kombination von Wachstumsstimulierung mit reduzierter Schwermetallaufnahme, wie sie z. B.

KOZHEMYAKOV et al. (1995) und VOROBEIKOV et al. (1995) bei geringerer Schwermetallbelastung mit *Azospirillum* sp., *Agrobacterium* sp., *Arthrobacter* sp. und *Flavobacterium* sp. erzielten, konnte in den vorliegenden Versuchen nicht nachgewiesen werden.

Ob die mikrobielle Stimulierung des Pflanzenwachstums in Verbindung mit erhöhter Schwermetallaufnahme für einen beschleunigten Schwermetallentzug aus dem Boden und damit für die Bodensanierung genutzt werden kann, muß in weiteren standortspezifischen Untersuchungen geprüft werden.

Literatur

- ALEF, K. (1991): Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie. ecomed Landsberg/Lech.
- BAR-NESS, E., Y. HADAR, Y. CHEN, A. SHANZER and J. LIBMAN (1992): Iron uptake by plants from microbial siderophores 1. *Plant Physiol.*, 99, 1329–1335.
- BELIMOV, A. A., M. KUNAKOVA, N. D. VASILYEVA, E. V. GRUZDEVA, N. I. VOROBIEV, A. P. KOSHEMYAKOV, O. F. KHAMOVA, S. M. POSTAVSKAYA and S. A. SOKOVA (1995): Relationship between survival rates of associative nitrogen-fixers on roots and yield response of plants to inoculation. *FEMS Microbiology Ecology*, 17, 197–196.
- BUYER, J. S., M. G. KRATZKE and L. J. SKORA (1993): A method for detection of pseudobactin, the siderophore produced by plant-growth-promoting *Pseudomonas* strain in the Barley rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 677–681.
- CABRAL, J. P. S. (1992a): Starved *Pseudomonas syringae* cells release strong Cu^{2+} -complexing compounds. *Chemical Speciation Biovariability*, 4, 105–107.
- CABRAL, J. P. S. (1992b): Limitations of the use of an ion-selective electrode in the study of the uptake of Cu^{2+} by *Pseudomonas syringae* cells. *J. Microbiol. Methods*, 16, 149–156.
- CABRAL, J. P. S. (1992c): Selective binding of metal ions to *Pseudomonas syringae* cells. *Microbios.*, 71, 149–156.
- CHAUDRI, A. M., S. P. MCGRATH, K. E. GILLER, E. RIETZ and D. R. SAUERBECK (1993): Accelerated Paper, Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previously treated with metal-contaminated sewage sludge. *Soil. Biol. Biochem.*, 25 (3), 301–309.
- GILLER, K. E., R. NUSSBAUM, A. M. CHAUDRI and S. P. MCGRATH (1993): *Rhizobium meliloti* is less sensitive to heavy-metal contamination in soil than *R. leguminosarum*.
- HASELWANDTER, K., C. LEYRAL and F. W. SANDERS (1994): Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on plant uptake of heavy metals and radionuclid from soil. In: S. GIANNINAZZI and H. SCHÜEPP (eds.): *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhäuser Verlag Basel, 179–189.
- HÖFLICH, G. und F. GLANTE (1991): Inokulumanzucht und Inokulation ertragswirksamer VA-Mykorrhizapilze. *Zbl. Mikrobiol.*, 146, 247–252.
- HÖFLICH, G., F. GLANTE, H.-H. LISTE, I. WEISE, S. RUPPEL and C. SCHOLZ-SEIDEL (1992): Phytoeffective combination effects of symbiotic and associative microorganisms on legumes. *Symbiosis*, 14, 427–438.
- HÖFLICH, G., W. WIEHE and G. KÜHN (1994): Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and assoziative rhizosphere microorganisms. *Experientia*, 50, 897–905.
- HÖFLICH, G., W. WIEHE and CH. HECHT-BUCHHOLZ (1995): Rhizosphere colonization of different crop with growth promoting *Pseudomonas* and *Rhizobium* bacteria. *Microbiol. Res.*, 150, 139–147.
- HÖFLICH, G. und G. KÜHN (1996): Förderung des Wachstums und der Nährstoffaufnahme bei kruziferen Öl- und Zwischenfrüchten durch inokulierte Rhizosphärenmikroorganismen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 159, 575–581.
- HÖFLICH, G., E. TAPPE, G. KÜHN und W. WIEHE (1997): Einfluß assoziativer Rhizosphärenbakterien auf die Nährstoffaufnahme und den Ertrag von Mais. *Arch. Acker-Pfl. Boden.*, im Druck.
- HIRTE, W. F. (1969a): Die Anwendung der Verdünnungsplattenmethode zur Erfassung der Bodenmikroflora. 2. Mitt.: Der qualitative Nachweis der Bakterien und Aktinomyzeten. *Zbl. Bakt. II*, 123, 167–178.
- HIRTE, W. F. (1969b): Die Anwendung der Verdünnungsplattenmethode zur Erfassung der Bodenmikroflora. 3. Mitt.: Die Hauptgruppen der heterotrophen Bodenbakterien und ihre systematische Einordnung. *Zbl. Bakt. II*, 123, 403–412.
- KIKOVIC, D. and V. BOGDANOVIC (1995): Effect of heavy metals on *Nitrobacter* presence in clayish soil and aluminum of Kosovo and Metohia Nosthorn Part. 10th International Congress on Nitrogen Fixation in St. Petersburg. Abstract 469.
- KOSHEMYAKOV, A. P. und A. A. BELIMOV (1994): Effektivität von Wurzeldiazotrophen-Präparaten bei der Impfung von Sommererbsen (russ.). *Agrochimia*, 7/8, 62–67.

- KOZHEMYAKOV, A. P., A. V. KHOTYANOVICH, L. F. VASSYUK and V. K. TSCHEBOTAR (1995): Biopreparations on the base of associative nitrogenfixing bacteria: Perspectives in agriculture. 10th International Congress on Nitrogen Fixation in St. Petersburg. Abstract 633.
- LÜBBEN, S. (1993): Abhängigkeit der Schwermetall-Transferfaktoren Boden/Pflanze vom Kontaminationsgrad des Bodens. Arbeitsmaterial (4 S.) und Poster VDLUFA-Kongreß Hamburg.
- LEYVAL, C., I. WEISSENHORN, A. GLASHOFF and J. BERTHELIN (1993): Endomycorrhizal fungi in heavy metal polluted soils: abundance, metal tolerance and transfer of metals to plants. Conference of COST-Action 810, in Einsiedeln, Switzerland.
- METZ, R. und B.-M. WILKE (1992): Einfluß der Bodenbelastung von Rieselfeldern auf Wachstum, Ertrag und Schwermetallentzug und gärtnerische Landnutzung. Wiss. Zeitschr. der Humboldt-Universität zu Berlin, R. Agrarwiss., 41(3), 29–33.
- METZ, R. und B.-M. WILKE (1993): Anbau verschiedener Nutzpflanzen zur Dekontamination schadstoffbelasteter Rieselfeldböden. In: ARENDT et al. (Hrsg.): Altlastsanierung. Kluwer Academic Publishers, Printes in the Netherlands, 573–574.
- MÄRTENSON, A. M. (1995): Nitrogenfixation in soils amended with sewage sludges. 10th International Congress on Nitrogen Fixation in St. Petersburg. Abstract 670.
- MILLER, L. T. (1982): Simple derivatization method for routine analysis of bacterial whole cell fatty acid methyl esters, including hydroxy acids. J. Clin. Microbiol., 16, 584–586.
- PHILLIPS, J. M. and D. S. HAYMAN (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and VAM fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. Cambridge, 55, 158–160.
- RUPPEL, S. (1987): Isolation diazotropher Bakterien aus der Rhizosphäre vor Winterweizen und Charakterisierung ihrer Leistungsfähigkeit. Dissertation, Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Müncheberg.
- SASSER, M. and L. T. MILLER (1984): Identification of pseudomonas by fatty acid profiling. In: P. G. PSALLIDAS and A. S. ALIVAZATOS (eds): Proceedings of the Second Working Group on Pseudomonas syringae Pathovars. Hellenic Phytopathological Society Publishers, Athens, 45–46.
- SAUERBECK, D. und S. LÜBBEN (1991): Auswirkungen von Siedlungsabfällen auf Böden, Bodenorganismen und Pflanzen. Berichte aus der Ökologischen Forschung. Forschungszentrum Jülich GmbH, Bd. 6.
- VOROBEEKOV, G. A., V. F. DRICHKO and A. V. KHOTYANOVICH (1995): Effect of Inoculation by nitrogenfixing Bacteria on the decrease update of ¹³⁴Cs by agricultural crops. 10th International Congress on Nitrogen Fixation in St. Petersburg. Abstract 686.
- WIEHE, W., M. SCHLOTTER, A. HARTMANN and G. HÖFLICH (1996): Detection of Colonization by Pseudomonas PsIA12 of Inoculated Roots of *Lupinus albus* and *Pisum sativum* in Greenhouse Experiments with Immunological Techniques. Symbiosis, 20, 129–145.

Danksagung

Wir danken B. Leske, M. Roth, I. Bär und L. Weinert für die technische Absicherung der Versuche.

Anschrift der Verfasser

Prof. Dr. Gisela Höflich, Zentrum für Agrarlandschafts- und Landnutzungsforschung e.V., Institut für Mikrobielle Ökologie und Bodenbiologie, Eberswalder Str. 84, D-15374 Müncheberg, Germany.

Prof. Dr. Reinhard Metz, Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Pflanzenbauwissenschaften, Dorfstraße 9, D-13051 Berlin-Malchow, Germany.

Eingelangt am 18. September 1997

Angenommen am 18. November 1997