

# Einfluß von Pflanzen-Rhizosphärenmikroorganismen-Assoziationen auf den Abbau von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen im Boden

G. Höflich und Th. Günther

## Effect of plant-rhizosphere microorganism-associations on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil

### 1. Einleitung

Eine langjährig unkontrollierte Freisetzung kommunaler und industrieller Abwässer kann in einigen Landschaftsarealen (z.B. Rieselfeldern, Überflutungspoldern, Industriezentren) zur Anreicherung organischer Schadstoffe führen. Eine besondere Bedeutung haben polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) (KOCH und WAGNER, 1991).

Sanierungstechniken wie z.B. Bioreaktoren oder Mietenverfahren sind nicht für große Flächen geeignet (SPRINGER,

1993; WILSON und JONAS, 1993; ZEYER, 1993). Alternativen bieten möglicherweise Sanierungsverfahren mit Hilfe von Pflanzen-Mikroorganismengesellschaften, da sie unmittelbar am Standort mit geringem Investitionsaufwand eingesetzt werden können.

Die im Rhizosphärenraum der Pflanzen angereicherten stoffwechselaktiven Mikroorganismen können den Abbau organischer Schadstoffe (Phenole, Petroleum, Öle, Fungizide, Insektizide, Herbizide u. a.) artspezifisch differenziert beschleunigen (KNAEBEL und VESTAL, 1992; ANDERSON et

### Summary

The degradation of the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) anthracene and pyrene (each 50 mg · kg<sup>-1</sup> soil) in the root zone of different plants was investigated in pot experiments with loamy sand. The PAHs inhibited the plant growth, but the stimulated rhizosphere bacteria accelerated the degradation of anthracene in the soil of the root zone of wheat, oat, ryegrass and pea. The degradation of pyrene was only accelerated in the root zone of ryegrasses. Inoculation of seedlings with selected plant growth promoting bacteria enhanced the plant growth in PAH contaminated soils. The degradation of PAH was stimulated by *Agrobacterium rhizogenes* (A1A4) in association with wheat, ryegrass and maize and by *Pseudomonas fluorescens* in association with maize. There were no correlations between plant growth stimulation and PAH-degradation.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons, degradation, plant, rhizosphere bacteria.

### Zusammenfassung

In Gefäßversuchen mit lehmigem Sand wurde der Abbau der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) Anthracen und Pyren (je 50 mg · kg<sup>-1</sup> Boden) im Boden des Wurzelraumes unterschiedlicher Pflanzen während des Jugendstadiums untersucht. Obwohl die PAK das Pflanzenwachstum z.T. hemmten, bewirkte eine stimulierte Rhizosphärenbakterienflora im Boden des Wurzelraumes von Weizen, Hafer, Weidelgras und Erbsen einen beschleunigten Anthracenabbau. Pyren wurde nur in Assoziation mit Weidelgras beschleunigt abgebaut.

Inokulationen von selektierten phytoeffektiven Bakterien stimulierten auch auf PAK belasteten Böden das Pflanzenwachstum. Der PAK-Abbau wurde durch *Agrobacterium rhizogenes* (A1A4) in Assoziation mit Weizen, Weidelgras und Mais sowie durch *Pseudomonas fluorescens* (PslA12) bei Mais stimuliert. Zwischen Pflanzenwachstumsstimulierung und PAK-Abbau zeichneten sich keine positiven Beziehungen ab.

**Schlagworte:** Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, Abbau, Kulturpflanzen, Rhizosphärenbakterien.

al., 1993; SHIMP et al., 1993; FERRO et al., 1994; SCHNORR et al., 1995; CUNNINGHAM et al., 1996). Auch PAK wurden im Wurzelraum von Prärie gras beschleunigt abgebaut (APRILL und SIMS, 1990; REILLEY et al., 1996).

Ziel unserer Untersuchungen war es, die Bedeutung von Rhizosphärenmikroorganismen beim Abbau der nicht-flüchtigen PAK Anthracen und Pyren in Assoziation mit unterschiedlichen Pflanzenarten mit folgenden Fragestellungen zu testen:

- Beeinflussen die PAK im Boden die pflanzenartspezifischen Rhizosphärenbakterienpopulationen und das Pflanzenwachstum?
- Wird der PAK-Abbau von den Pflanzenarten unterschiedlich beeinflusst und zeichnen sich Interaktionen zur Rhizosphärenbakterienpopulation ab?
- Kann der PAK-Abbau durch Inokulation phytoeffektiver Rhizosphärenbakterien gefördert werden?

Anthracen und Pyren wurden ausgewählt, weil sie im Boden unterschiedlich persistent und biologisch abbaubar sind (SHUTTLEWORTH und CERNIGLIA, 1995).

## 2. Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten mit einem Pyren- und Anthracengemisch in Gefäßversuchen mit lehmigem Sandboden ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  TS:  $C_t$  60;  $N_t$  5,6; P 0,7; K 0,9; pH 6,0). Die Gesamt-PAK-Aufwandsmenge betrug  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  TS. Die Einzeldosen lagen bei je  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  TS. Die PAK wurden in Diethylether/Petrolbenzin (1:1) gelöst und in den Boden eingemischt. Die Kontrolle war unbelastet.

Die Pflanzenanzucht erfolgte in Tongefäßen (350 g Boden/Gefäß; oberflächlich mit einer 0,5 cm dicken Quarzsandschicht abgedeckt) bei Temperaturen von  $20^\circ \text{C} \pm 2^\circ$  am Tage und  $10^\circ \text{C} \pm 2^\circ$  in der Nacht mit 6 Wiederholungen.

Als Versuchspflanzen dienten: W.-Weizen, Hafer, Mais, Erbsen, Weidelgras. Je Gefäß wurden 4, bei Weidelgras 6 Pflanzen angezogen. Die Ernte der Versuchsgefäße erfolgte nach 2, 4 und/bzw. 6 Wochen.

Die PAK-Untersuchungen im Boden und an den Wurzeln erfolgten nach Ethylacetatextraktion und alkalischer Verseifung mittels HPLC und UV-Detektion (252 nm) modifiziert nach ESCHENBACH et al. (1994). Drei g Boden wurden mit 6 ml Ethylacetat in 10 ml-Schraubdeckelflaschen 1 min geschüttelt und anschließend 30 min im Ultraschallbad behandelt. Zur Abtrennung des Überstandes wurden die Proben 15 min bei 3000 U/min zentrifugiert.

Der Ethylacetat-Überstand wurde vollständig dekandiert. Aliquote wurden an der HPLC vermessen. Zur Bestimmung der an Wurzeln sorbierten PAK wurden die Wurzeln zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Von den luftgetrockneten Wurzeln wurden 0,5 g mit 3 ml Azeton/Dichlormethan (1:2) extrahiert (siehe oben).

Die extrahierten Proben wurden mit 2,8 ml Methanol und 0,2 ml 2 N KOH versetzt und 1 h bei  $80^\circ \text{C}$  im Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung wurden die Proben bei 3000 U/min zentrifugiert. Aliquote des Überstandes wurden an der HPLC vermessen.

Die Bakterienpopulation wurde im Boden und in der Rhizosphäre (Wurzeln nach Abschütteln des Bodens) auf Glycerin-Pepton-Agar ermittelt. Die Bakterien wurden in Anlehnung an HIRTE (1969a, b) aufgrund makro- und mikromorphologischer Merkmale zunächst in Typen eingeteilt. Anschließend wurde der Anteil der Typen an der Gesamtzahl ermittelt. Die Identifizierung typenspezifischer Isolate erfolgte durch Analyse der zellulären Fettsäuremethylsterprofile mit dem „Microbial Identification System“ (MIS, Microbial ID Inc., Newark, Del.) nach der Methode von MILLER (1982) bzw. SASSER und MILLER (1984).

Untersuchungen zum Einfluß phytoeffektiver Bakterien erfolgten mit Isolaten von *Pseudomonas fluorescens* (PsIA12, 115), *Rhizobium trifolii* (R39), *Agrobacterium rhizogenes* (A1A4) und *Stenotrophomonas maltophilia* (PsI4, PsI2, PsIB2). Bei Erbsen wurde zusätzlich ein *Rhizobium leguminosarum*-Stamm (pis4) inokuliert. Diese Bakterien stimulierten in Vorversuchen das Wachstum von Getreide, Leguminosen und/oder Kreuziferen auf unbelasteten Ackerböden in Feldversuchen (HÖFLICH et al., 1994, 1997; HÖFLICH und KÜHN, 1996). Die Anzucht der Bakterien erfolgte in Schüttelkultur mit Glycerin-Pepton-Medium. In der Keimphase wurden  $10^6 \text{ cfu} \cdot \text{Samen}^{-1}$  inokuliert.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Einfluß der PAK auf die pflanzenartspezifischen Bakterienpopulationen und das Pflanzenwachstum

In der Rhizosphäre der Versuchspflanzen waren auf unbelasteten und PAK-belasteten Böden *Pseudomonas* spp., *Agrobacterium* spp., *Xanthomonas* spp. und z. T. *Streptomyces* spp. im Vergleich zum Boden zumindest im Trend stimu-

liert (Tab. 1). In der Rhizosphäre von Erbsen wurden unabhängig von der Belastung höhere Bakterienpopulationen als bei den Vergleichspflanzen Weizen, Hafer, Weidelgras und Mais ermittelt. Unter den Nichtleguminosen nahm auf unbelasteten Böden Hafer den ersten Platz ein. Die Rangfolge der Bakteriengattungen in der Rhizosphäre war auf unbelasteten Böden meist *Agrobacterium* spp. > *Pseudomonas* spp. > *Xanthomonas* spp. > *Streptomyces* spp. > *Bacillus* spp.

Eine PAK-Behandlung stimulierte diese Bakterien in der Rhizosphäre meist stärker als im Boden. Am meisten wurden *Pseudomonas* spp. gefördert (Tab. 1). In der Erbsenrhizosphäre waren auf kontaminierten Böden alle Bakteriengattungen angereichert.

Auf das Jungpflanzenwachstum bis zum 4-6-Blattstadium (4wöchige Vegetation) wirkten sich Pyren und Anthracen im Mittel von zwei Gefäßversuchen meist negativ aus (Abb. 1). Das Sproßwachstum war bei allen untersuchten Pflanzenarten nach PAK-Behandlung im Trend reduziert. Das Wurzelwachstum von Weidelgras, Mais und Erbsen wurde sogar signifikant gehemmt. Diese Pflanzenarten wiesen auch in den Kontrollen die geringsten Wurzeltrockenmassen auf. Nach 6-wöchiger Vegetation zeichnete sich kein eindeutiger PAK-Einfluß mehr ab (Versuchsunterlagen).

### 3.2 Einfluß von Pflanzenarten auf den PAK-Abbau und mögliche Interaktionen zur Rhizosphärenbakterienpopulation

Im Vergleich zum unbepflanztem Boden wurde der Abbau von Anthracen im Boden des Wurzelraumes von Weizen,

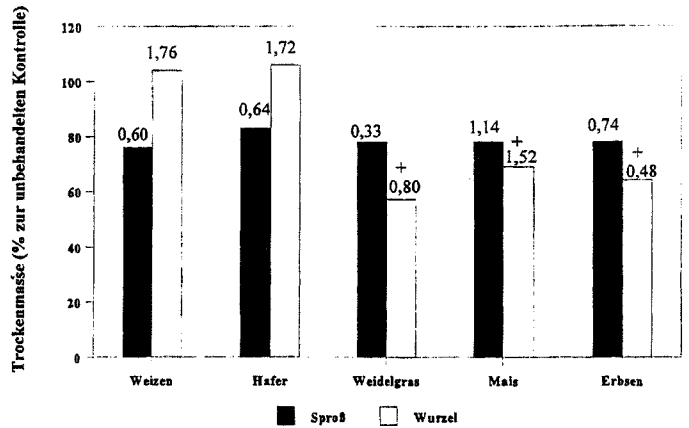


Abbildung 1: Einfluß von Pyren und Anthracen (je 50 mg · kg<sup>-1</sup> TS) auf das Wachstum (Sproß- und Wurzeltrockenmasse) unterschiedlicher Pflanzenarten im 4-Blattstadium nach vierwöchiger Vegetationszeit (Mittelwerte von 2 Gefäßversuchen, Kontrolle ohne PAK = 100)

\* Die Werte unterscheiden sich signifikant von der unbelasteten Kontrolle bei P < 0,05.

Die Zahlen über den Säulen bedeuten g Trockensubstanz je Gefäß.

Figure 1: Plant biomass (shoot and root dry weight) after four weeks of growth in soil contaminated with pyrene and anthracene (50 mg · kg<sup>-1</sup> dw each). Values are expressed as percent of the untreated control.

\* Means of two experiments are significantly different from the untreated control at levels of P < 0.05.

Numbers above columns denote absolute values (g dry weight per pot).

Hafer, Weidelgras und Erbsen bereits nach zwei- bzw. vierwöchiger Vegetation signifikant stimuliert (Tab. 2). Mais hatte während des gesamten Versuchszeitraumes keinen signifikanten Einfluß.

Tabelle 1: Boden- und Rhizosphärenbakterienpopulation in unbelasteten und PAK-belasteten Böden nach zwei Wochen (10<sup>6</sup> cfu · g<sup>-1</sup> Boden oder Wurzeln)

Table 1: Soil and rhizosphere bacteria populations of the uncontaminated and PAH contaminated soil after two weeks (10<sup>6</sup> cfu · g<sup>-1</sup> soil or root)

Pflanzenart	<i>Pseudomonas</i> spp.		<i>Bacillus</i> spp.		<i>Agrobacterium</i> spp.		<i>Xanthomonas</i> spp.		<i>Streptomyces</i> spp.	
	unbel.	bel.	unbel.	bel.	unbel.	bel.	unbel.	bel.	unbel.	bel.
ohne	2,7	12,0	5,7	12,5	3,3	9,1	2,7	2,7	4,7	7,2
Weizen	24,0*	115,9*	6,0	15,0	38,0*	49,4*	18,0	74,2*	12,0	43,9*
Hafer	58,0*	70,2*	17,0	15,0	108,0*	110,0*	40,0*	60,0*	22,0	33,0*
Weidelgras	28,0*	31,1	5,0	21,0	27,0	57,0	5,0	17,0	13,0	25,0
Mais	30,0*	65,1*	25,0	25,0	45,0	59,9*	20,0	38,0*	10,0	17,0
Erbsen	100,0*	660,0*	20,0	150,0*	230,0*	450,8*	80,0*	80,0*	20,0	50,0*
GD p = 0,05	21,2		19,8		27,4		19,3		21,9	

\* signifikant zur Bakterienzahl im Boden

unbel. = unbelastet

bel. = mit PAK belastet

Tabelle 2: PAK-Rückstände im Boden ohne und mit unterschiedlichen Kulturpflanzen. Die analysierten PAK-Konzentrationen lagen am Anfang bei 49,2 mg Anthracen · kg<sup>-1</sup> TS und 44,4 mg Pyren · kg<sup>-1</sup> TS (Mittelwerte von 2 Gefäßversuchen nach 2, 4 und 6 Wochen)

Table 2: Residual concentration of PAHs in soil planted with different plants and in unplanted controls. The initial determined PAH concentrations were 49,2 mg anthracene · kg<sup>-1</sup> and 44,4 mg pyrene · kg<sup>-1</sup> dw (means of two experiments after 2, 4 and 6 weeks)

Pflanzenart	Anthracen (mg · kg <sup>-1</sup> TS)			Pyren (mg · kg <sup>-1</sup> TS)		
	Wochen:			Wochen:		
	2	4	6	2	4	6
ohne	27,0	9,2	2,0	33,7	15,0	5,6
Weizen	17,9 <sup>+</sup>	3,7 <sup>+</sup>	3,0	26,7	10,2	5,1
Hafer	9,0 <sup>+</sup>	4,8	2,2	26,7	16,8	5,1
Weidelgras	13,0 <sup>+</sup>	3,7 <sup>+</sup>	1,5	24,2 <sup>+</sup>	6,3 <sup>+</sup>	4,4
Mais	22,1	7,3	2,8	30,9	12,3	4,9
Erbsen	16,3 <sup>+</sup>	5,1	5,9	26,8	10,6	6,2

\* Die PAK-Konzentrationen unterscheiden sich signifikant vom un bepflanzten Kontrollboden bei P < 0,05.

Der Pyrenabbau wurde nur im Wurzelraum von Weidelgras gefördert. Die Vierringbindungen von Pyren wurden in allen Varianten langsamer als die Dreiringbindungen von Anthracen abgebaut. Bei beiden PAK zeichneten sich nach 6 Wochen keine Variantenunterschiede mehr ab, obwohl die Anfangsgehalte des unbehandelten Bodens (0,1 mg Anthracen · kg<sup>-1</sup> und 0,9 Pyren · kg<sup>-1</sup>) noch nicht erreicht wurden.

Bei den an Wurzeln angelagerten PAK waren ebenfalls eindeutige Unterschiede zwischen den Pflanzenarten zu erkennen (Tab. 3). Erbsenwurzeln enthielten nach 2, 4 und 6 Wochen höhere Gehalte an Anthracen und Pyren als die Wurzeln der Gramineae. Am niedrigsten waren die Werte meist bei Weidelgras. Parallel zu den PAK-Werten im Boden gingen auch die an Wurzeln angelagerten PAK während der Versuchsdauer zurück.

Ein Vergleich zwischen Bakterienpopulationen (Tab. 2) und PAK-Gehalten (Tab. 2 und 3) zeigt, daß sich die in der Rhizosphäre von Weizen, Hafer, Weidelgras und Erbsen stimulierte Bakterienflora offensichtlich positiv auf den beschleunigten PAK-Abbau ausgewirkt hat. Die niedrigen PAK-Gehalte an den Wurzeln von Weidelgras zeigen jedoch, daß der PAK-Abbau nicht direkt mit der Bakterienbesiedlung in der Rhizosphäre korreliert. Auch bei den Bakteriengattungen zeichneten sich keine eindeutigen Beziehungen zum pflanzenartspezifisch differenzierten PAK-Abbau ab.

Tabelle 3: Konzentration von an Wurzeln sorbierten PAK bei unterschiedlichen Kulturpflanzen während einer sechswöchigen Vegetation (Mittelwerte von 2 Gefäßversuchen)

Table 3: Concentration of root associated PAHs of crop plants during six weeks of cultivation (means of two experiments)

Pflanzenart	Anthracen (mg · g <sup>-1</sup> Wurzel TS)			Pyren (mg · g <sup>-1</sup> Wurzel TS)		
	Wochen:			Wochen:		
	2	4	6	2	4	6
Weizen	124 cd	35 c	10 b	173 c	48 c	7 c
Hafer	216 b	110 b	20 b	308 b	105 b	11 b
Weidelgras	86 d	47 c	2 c	144 c	30 c	1 d
Mais	179 c	106 b	28 b	300 b	117 b	15 b
Erbsen	617 a	290 a	212 a	598 a	188 a	54 a

Werte mit gleichen Buchstaben in einer Säule unterscheiden sich nicht signifikant (p < 0,05).

Erbsen, mit den größten Bakterienzahlen in der Rhizosphäre (insbesondere in Kombination mit PAK) (Tab. 1), wiesen die höchsten PAK-Werte auch an den Wurzeln auf. Das deutet auf eine Beteiligung der Bakterien an einer PAK-Sorption hin.

Eine Stimulierung der Bakterienflora im Boden durch organische Düngung (50 g Luzernemehl je kg Boden) beschleunigte nicht den PAK-Abbau im Wurzelraum von Hafer und Mais (Versuchsunterlagen).

### 3.3 Einfluß inokulierter phytoeffektiver Rhizosphärenbakterien auf das Pflanzenwachstum und den PAK-Abbau

Selektierte Rhizosphärenbakterien, die das Wachstum von Getreide, Leguminosen und Kruziferen in Feldversuchen auf unbelasteten Ackerböden förderten, können auch auf PAK-belasteten Böden in Gefäßversuchen wachstumsstimulierend wirken (Tab. 4).

Positive Effekte wurden insbesondere bei Erbsen durch Isolate von *P. fluorescens*, *A. rhizogenes*, *R. trifolii* und *S. maltophilia* erzielt. Bei W.-Weizen und Weidelgras waren nicht alle positiven Inokulationswirkungen signifikant. Mais und Hafer reagierten nur tendenziell positiv.

Eine bakterielle Stimulierung des Pflanzenwachstums führte nicht mit Sicherheit zu beschleunigtem PAK-Abbau (Versuchsunterlagen). Einige Bakterien-Pflanzenassoziationen können jedoch den PAK-Abbau (Tab. 5) im Boden auch ohne Pflanzenwachstumsstimulierung (Tab. 4) fördern. Positiv wirkte *Agrobacterium rhizogenes* (A1A4) in Assoziation mit W.-Weizen, Weidelgras und Mais. Bei Mais war auch ein *Pseudomonas fluorescens* (PsIA12) wirksam.

Tabelle 4: Einfluß inokulierter phytoeffektiver Bakterien auf das Wachstum (Sproß- und Wurzelrockenmasse) unterschiedlicher Pflanzenarten auf PAK-belasteten Böden nach vier Wochen (Mittelwerte von 2 Gefäßversuchen, uninokulierte Kontrolle = 100)

Table 4: Effects of inoculated plant growth promoting bacteria on plant dry matter in PAH contaminated soil after four weeks (means of two experiments, uninoculated control = 100)

Pflanzenart	Inokulierte Bakterien		Pflanzentrockenmasse (% der uninokulierten Kontrolle)		
			Sproß	Wurzel	
W.-Weizen	<i>P. fluorescens</i>	PsIA12	106	116	
	"	115	114	109	
	<i>A. rhizogenes</i>	A1A4	114	106	
	<i>R. trifolii</i>	R39	121 <sup>+</sup>	108	
	<i>S. maltophilia</i>	PsI4	114	109	
	"	PsIB2	121 <sup>+</sup>	103	
	"	PsI2	129 <sup>+</sup>	115	
	Mais	<i>P. fluorescens</i>	PsIA12	116	109
"		115	115	108	
<i>A. rhizogenes</i>		A1A4	107	110	
<i>R. trifolii</i>		R39	111	112	
<i>S. maltophilia</i>		PsI4	116	105	
Weidelgras		<i>P. fluorescens</i>	PsIA12	148 <sup>+</sup>	163 <sup>+</sup>
		"	115	126 <sup>+</sup>	99
	<i>A. rhizogenes</i>	A1A4	110	97	
	<i>R. trifolii</i>	R39	192 <sup>+</sup>	150 <sup>+</sup>	
	<i>S. maltophilia</i>	PsI4	119	101	
	Hafer	<i>P. fluorescens</i>	115	105	111
<i>R. trifolii</i>		R39	114	109	
Erbse		<i>P. fluorescens</i>	PsIA12+pis4 <sup>1</sup>	121	132 <sup>+</sup>
	"	115+pis4 <sup>1</sup>	136 <sup>+</sup>	171 <sup>+</sup>	
	<i>A. rhizogenes</i>	A1A4+pis4 <sup>1</sup>	135 <sup>+</sup>	167 <sup>+</sup>	
	<i>R. trifolii</i>	R39+pis4 <sup>1</sup>	127 <sup>+</sup>	131 <sup>+</sup>	
	<i>S. maltophilia</i>	PsI4+pis4 <sup>1</sup>	134 <sup>+</sup>	152 <sup>+</sup>	

<sup>+</sup> Die Werte unterscheiden sich signifikant von der uninokulierten Kontrolle bei P < 0,05.

<sup>1</sup> *R. leguminosarum*

Tabelle 5: Einfluß inokulierter phytoeffektiver Bakterien auf den PAK-Abbau im Boden mit unterschiedlichen Pflanzen nach 2 Wochen

Table 5: Effects of inoculated plant growth promoting bacteria on disappearance of PAH in planted soil after two weeks

Pflanzenart	Inokulierte Bakterien	Anthracen (mg · kg <sup>-1</sup> TS)		Pyren (mg · kg <sup>-1</sup> TS)	
		ohne Inokulation	mit Inokulation	ohne Inokulation	mit Inokulation
Weizen	A1A4	31,1	20,0	38,7	31,8
Hafer	R39	9,0	4,0	26,7	14,5 <sup>+</sup>
Weidelgras	A1A4	16,0	11,3 <sup>+</sup>	31,6	20,0 <sup>+</sup>
Mais	A1A4	22,1	8,7 <sup>+</sup>	30,0	14,9
Mais	PsIA12	22,1	6,3 <sup>+</sup>	30,0	16,0 <sup>+</sup>

<sup>+</sup> Die Werte unterscheiden sich signifikant von der uninokulierten Kontrolle bei P < 0,05.

Der Abbau bei Hafer konnte durch *Rhizobium trifolii* (R39) gefördert werden.

#### 4. Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, daß sich PAK-Konzentrationen von 50 mg Pyren · kg<sup>-1</sup> Boden und 50 mg Anthracen · kg<sup>-1</sup> Boden hemmend auf das Jugendwachstum unterschied-

licher Kulturpflanzen auswirken können. Der PAK-Abbau wurde pflanzenartspezifisch beschleunigt. Im Boden des Wurzelraumes von Weizen, Hafer, Weidelgras und Erbsen ging der Anthracengehalt schneller als im unbewachsenen Boden zurück. Die Zersetzung von Pyren wurde nur mit Weidelgras gefördert. Die C4-Pflanze Mais hatte den geringsten Effekt. Einen schnelleren Abbau der Dreiringbindung Anthracen im Vergleich zur Vierringbindung

Pyren wiesen bereits KÄSTNER et al. (1993) nach. Ein positiver Einfluß von Pflanzen auf den PAK-Abbau im Boden wurde auch mit Präriegras (APRILL und SIMS, 1990), Wiesenschwingel und Luzerne (SCHWAB und BANKS, 1994) nachgewiesen.

Da eine Aufnahme von PAK durch Pflanzen nicht nachgewiesen wurde (SIMS und OVERCASH, 1983; SCHWAB und BANKS, 1994), haben Rhizosphärenmikroorganismen für den beschleunigten PAK-Abbau im durchwurzelten Bodenraum eine besondere Bedeutung (GOODWIN und WEBBER, 1995; GÜNTHER et al., 1996; REILLEY et al., 1996).

In den vorliegenden Untersuchungen zeigten sich bei Weizen, Hafer, Weidelgras und Erbsen positive Beziehungen zwischen stimulierter Rhizosphärenbakterienflora und PAK-Abbau. Für Mais trifft das nicht zu. Eine direkte Beziehung zur pflanzenartspezifischen Besiedlungsstärke der Rhizosphärenbakterien und PAK-Abbau zeichnete sich nicht ab. Die pflanzenartspezifische Wurzelmorphologie - z.B. eine starke Wurzelverzweigung bei Weidelgras - spielt offensichtlich auch eine besondere Rolle (SCHNORR et al., 1995; WALTON et al., 1994).

Bei Erbsen deuten hohe Bakterienzahlen und PAK-Werte in der Rhizosphäre auf eine mögliche Beteiligung von Bakterien bei der PAK-Sorption an Wurzeln hin. Spezielle Untersuchungen hierzu sind notwendig.

Selektierte phytoeffektive assoziative Rhizosphärenbakterien, die das Wachstum von Gramineen, Leguminosen und Kruziferen auf unbelasteten Böden wiederholt förderten (HÖFLICH et al., 1997; HÖFLICH und KÜHN, 1996), stimulierten auch auf PAK-belasteten Böden das Wachstum von Weizen, Weidelgras und Erbsen. Zwischen Wachstumsstimulierung und PAK-Abbau zeichneten sich jedoch keine Beziehungen ab. Einige Bakterien-Pflanzenassoziationen können jedoch den Abbau von Anthracen und Pyren auch ohne Pflanzenwachstumsstimulierung fördern. Die Bakterien bildeten Phytohormone und wirken antagonistisch (HÖFLICH et al., 1997). Die Ursachen für den beschleunigten PAK-Abbau können z.Z. nicht erklärt werden.

Die Ergebnisse mit künstlich belasteten Böden in Gefäßversuchen zeigen, daß mit geeigneten Bakterien-Pflanzeninteraktionen der PAK-Abbau im Boden gefördert werden kann.

Eine Nutzung von Pflanzen-Mikroorganismen-Kombinationen für die Sanierung von PAK kontaminierten Böden erfordert weitere Langzeituntersuchungen unter den spezifischen Freilandbedingungen, da sich ökologische Faktoren differenzierend auf die Interaktionen zwischen Pflanzen und Mikroorganismen auswirken können.

## Danksagung

Wir danken M. Roth, B. Leske, I. Bär und M. Lätz für die sehr gute technische Absicherung der Versuche. Die Untersuchungen wurden gefördert vom Thüringer Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kultur.

## Literatur

- ANDERSON, T. A., E. A. GUTHRIE and B. T. WALTON (1993): Bioremediation in the rhizosphere. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2630–2636.
- APRILL, W. and R. C. SIMS (1990): Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere* 20, 253–265.
- CUNNINGHAM, S. D., T. A. ANDERSON, A. P. SCHWAB and F. C. HSU (1996): Phytomediation of soils contaminated with organic pollutants. In: D. L. SPARKS (ed.): *Advances in Agronomy* 56, Academic Press, San Diego, 55–114.
- ESCHENBACH, A., M. KÄSTNER, R. BIERL, G. SCHÄFER and B. MAHRO (1994): Evaluation of a new, effective method to extract polycyclic aromatic hydrocarbons from soil samples. *Chemosphere* 28, 683–692.
- FERRO, A. M., R. C. SIMS and B. BUGBEE (1994): Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. *J. Environ. Qual.* 23, 272–279.
- GOODWIN, J. D. and M. D. WEBBER (1995): Persistence and fate of anthracene and benzo(a)pyrene in municipal sludge treatment soil. *J. Environ. Qual.* 24, 272–278.
- GÜNTHER, TH., U. DORNBERGER and W. FRITSCH (1996): Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere* 33, 203–215.
- 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.
- HÖFLICH, G., W. WIEHE and G. KÜHN (1994): Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. *Experientia* 50, 879–905.
- 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 Nährstoffaufnahmen und den Ertrag von Mais. *Arch. Acker. Pfl. Boden* 41, 323–333.
- KÄSTNER, M., B. MAHRO und R. WIENBERG (1993): Biologischer Schadstoffabbau in kontaminierten Böden unter besonderer Berücksichtigung der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe. In: STEGMANN, R. (ed.): *Hamburger Berichte 5*, Economica-Verlag, Bonn.
- KNAEBEL, D. B. und J. R. VESTAL (1992): Effects of intact rhizosphere microbial communities on the mineralization of surfactants in surface soils. *Can. J. Microbiol.* 38, 643–653.
- KOCH, R. und B. O. WAGNER (1991): *Umweltchemikalien*. 2. Aufl., Weinheim, New York, NY, Cambridge, Basel, VCH.
- LEE, E. and M. K. BANKS (1993): Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: a microbial study. *J. Environ. Sci. Health*, A28(10), 2187–2198.
- 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, 585–586.
- REILLEY, K. A., M. K. BANKS and A. P. SCHWAB (1996): Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J. Environ. Qual.* 25, 212–219.
- SASSER, M. und L. T. MILLER (1984): Identification of *Pseudomonas* by fatty acid profiling. In: PSALLIDAS, P. G. and A. S. ALIVAZATOS (eds.): *Proceedings of the Second Working Group on Pseudomonas syringae Pathovars*. Hellenic Phytopathological Society Publ. Athens, 45–46.
- SCHNORR, J. L., L. A. LICH, S. C. MCCUTCHEON, N. L. WOLFE and L. H. CARREIRA (1995): Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 29, 318–323.
- SCHWAB, A. P. and M. K. BANKS (1994): Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone. In: ANDERSON, T. A. and J. R. COATS (eds.): *Bioremediation through Rhizosphere Technology*, ACS Symposium Series 563, Washington D.C., 132–141.
- SHIMP, J. F., J. C. TRACY, L. C. DAVID, E. LEE, W. HUANG, L. E. ERICKSON and J. L. SCHNORR (1993): Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 23, 41–77.
- SHUTTLEWORTH, K. L. and C. E. CERNIGLIA (1995): Environmental aspects of PAH biodegradation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 54, 291–302.
- SIMS, R. C. and M. R. OVERCASH (1983): Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems. *Residue Rev.* 88, 1–68.
- SPRINGER, M. (1993): *Biologische Bodensanierung, Ansätze für einen reparierenden Bodenschutz*. Umwelttechnologieforum Berlin 15.–19. Februar 1993.
- WALTON, B. T., E. A. GUTHRIE and A. M. HOYLMAN (1994): Toxicant degradation in the rhizosphere. In: ANDERSON, T. A. and J. R. COATS (eds.): *Bioremediation through rhizosphere technology*. ACS Symposium Series 563, Washington D.C., 11–26.
- WILSON, S. C. and K. C. JONAS (1993): Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Environ. Poll.* 81, 229–249.
- ZEYER, J. (1993): *Biologische Sanierung – Illusionen und Realitäten*. *Spektrum der Wissenschaft*, 90–92.

### **Anschrift der Verfasser**

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

e-mail: imann@zalf.de

**Dr. Thomas Günther**, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Mikrobiologie/Lehrstuhl Technische Mikrobiologie, Philosophenweg 12, D-07743 Jena, Germany.

Eingelangt am 25. Februar 2000

Angenommen am 21. April 2000