

#DS2125



DendroRem-Home

**Verbundvorhaben
Biologische Sanierung von Rüstungsaltslasten**

3. Statusseminar

26. und 27. Februar 1997 in Berlin

Teilvorhaben 6

**Dekontamination schadstoffbelasteter Böden mit Hilfe
selektierter Pflanzenarten bzw. -sorten mit hoher
metabolischer Entgiftungskapazität**

Bernd Schönmath, Horst Lyr und Ulrich Burth

**Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für integrierten Pflanzenschutz,
Stahnsdorfer Damm 81
14532 Kleinmachnow**

Das Vorhaben wurde vom [Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft Forschung und Technologie \(BMBF\)](#) gefördert

Förderkennzeichen: 1450 858 3

Projekträger Abfallwirtschaft und Altlasten im Umweltbundesamt, Berlin



Problem

Physikalisch-technische Sanierungsverfahren für sprengstoffverseuchte Böden müssen in der Regel als On-Site- oder Off-Site -Verfahren ex situ durchgeführt werden, sind damit sehr kostenintensiv und daher bislang nur punktuell für die Dekontamination hochverseuchter Schwerpunkorte eingesetzt worden.

Die Erarbeitung bodenschonender, biologischer Sanierungstechniken schreitet somit vor allem aus wirtschaftlichen Gründen voran. Für hochgradig belastete Orte sind mikrobiologische Verfahren mit Auslesen von pilzlichen oder bakteriellen Hochleistungsstämmen vielversprechend.

Großflächig mit 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) und dessen Begleitsubstanzen verseuchte Areale geringen bis mittleren Belastungsgrades (1...100 ppm), die oft mehrere hundert Hektar pro Altlast umfassen, sind wegen ihrer großen Ausdehnung nicht ex situ sanierbar, selbst die flächendeckende Beprobung ist aus Kostengründen nur weitmaschig realisiert.

Ziel und Aufgabe

Aus dem Ziel der Sanierung TNT-verseuchter Großflächen geringen bis mittleren Belastungsgrades durch den Einsatz von Pflanzen ergibt sich die Aufgabe, Gehölze zu finden, die fähig sind, Sprengstoffe (TNT) zu ertragen, aufzunehmen und eventuell abzubauen.

Zu den Anfangsanforderungen an die auszuwählenden Pflanzen gehörten solche Kriterien wie tiefe Bodendurchwurzelung, gutes Regenerationsvermögen, langjährige Standzeit, vegetativ-identische Vermehrbarkeit, leichte Kulturführung und gute Standorttoleranz.

Fragen

Wichtige zu beantwortende Fragen waren:

- 1. Welche Gehölze ertragen sprengstoffspezifische Schadstoffe ?*
- 2. Haben die Gehölze einen Einfluß auf den Nitroaromatengehalt des Bodens ?*
- 3. Können Gehölze TNT und/oder dessen Abkömmlinge aufnehmen ?*

Arbeitsschritte

Nach orientierenden Voruntersuchungen mit verschiedenen Gehölzen wurden unter Berücksichtigung der o.g. Anfangsanforderungen Weiden und Pappeln als wichtigste Versuchspflanzen erwählt. Hier sollte auch das bekannterweise breitgefächerte genetische Potential dieser Gehölze genutzt werden.

Die Untersuchungen sollten folgende Teilschritte umfassen:



1. Screening des Wachstums auf TNT-Toleranz
 - a) Voruntersuchungen in Hydrokultur
 - b) Toleranzuntersuchungen in Sandkultur
2. GC-ECD-Nachweis von TNT und/oder TNT-Abkömmlingen in Boden und Pflanzen
 - a) Bepflanzungsversuche mit TNT-dotiertem Sand
 - b) Bepflanzungsversuche mit Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld
3. Standortbeprobung zur Freilandbepflanzung

Aus den ersten beiden Arbeitsschritten sollen nachfolgend einige Ergebnisse vorgestellt werden.

Screening in Sandkultur

Nach Voruntersuchungen in Hydrokultur wurden Stecklinge von 25 Weidenklonen im Gewächshaus TNT-dotiertem Sand ausgesetzt. Wie aus Abb. 1 zu ersehen ist, zeigten sich schon nach 6 Wochen deutliche Wachstumsunterschiede zwischen den getesteten Klonen. So ist z.B. der Weidenklon EW-013 im Zweig- und Blattwachstum unbeeinflusst, kann also als tolerant bezeichnet werden. Der Klon EW-020 ist dagegen schon um 20 % gehemmt. Ähnliche Unterschiede sehen wir bei Pappeln (Abb. 2). Hier wurden 11 Klone untersucht.

TNT/ADNT-Aufnahme

Es stellte sich jetzt die für den weiteren Projektverlauf entscheidende Frage: *Sind in den Gehölzen TNT oder TNT-Abkömmlinge wie bei krautigen Pflanzen nachweisbar* oder handelt es sich lediglich um eine Vermeidungstoleranz, wie wir sie von den sogenannten Exkluderpflanzen aus der Schwermetallproblematik kennen ?

Erste gaschromatographische Analysen wurden dazu mittels ECD durchgeführt. Wie Abb. 3 zeigt, sind in den 10 zur Analyse ausgewählten Klonen kaum TNT, wohl aber TNT-Reduktionsprodukte als ADNTs in den Wurzeln nachweisbar. Die höchsten Konzentrationen an ADNTs finden sich bei Weiden in den Wurzeln des Klones EW-013. Bei Pappeln weist der Klon ZP-007 die höchsten Werte auf.

Die Analyse oberirdischer Pflanzenteile, wie Steckholz, Zweige und Blätter zeigte erste Hinweise auf das Vorkommen von ADNTs bei den meisten Klonen (keine Darst.). Die Gehölze stellen sich also dem Stressfaktor.

Doch so vielgestaltig wie das äußere Erscheinungsbild der Weiden waren auch deren störende Inhaltsstoffe. Das Klonspektrum mußte eingeschränkt werden. Nach einem Vitalitätstest (Abb. 4) wurden der Weidenklon EW-13 und der Pappelklon ZP-007 für die weiteren Versuche erwählt.

Bodenanalysen

TNT-tolerante Gehölze können also TNT ertragen und - wie krautige Pflanzen - auch Nitroaromate aufnehmen. Die Absolutmengen pro Pflanze sind jedoch gering. Unser Hauptziel ist aber die TNT-Verarmung kontaminierten Bodens.



TNT-dotierter Sand

Haben die Gehölze überhaupt einen meßbaren Effekt auf den TNT-Gehalt ?

Dazu wurden zunächst Gefäßversuche mit TNT-dotiertem Sand durchgeführt. 8 Wochen zuvor mit Weide bzw. Pappel bepflanzten Polypropylen-Töpfen wurde TNT über das Gießwasser appliziert. Die Anfangskonzentrationen betragen 5, 10 und 20 mg TNT pro kg Sand. Nach weiteren 6 Wochen Gewächshauskultur wurden Sandproben mit Methanol extrahiert und gaschromatographisch analysiert.

Ein Teil der ermittelten Ergebnisse wird in der Übersicht auf Abb. 5 dargestellt:

1. Obwohl allein TNT appliziert wurde, ist dieses auch ohne Bepflanzung zur Hälfte bzw. zu einem Drittel zu ADNTs umgewandelt.
2. Die Summe der 3 Nitroaromate wird durch die Bepflanzung um ein Drittel bis zur Hälfte der Kontrollvariante verringert.

Da die ADNT-Werte nahezu gleich bleiben, könnte eine ADNT-Nachlieferung aus TNT erfolgen, da die TNT-Konzentration in allen Varianten durch den Einfluß der Gehölze abnimmt. Höhere ADNT-Konzentrationen bei den bepflanzten Varianten (bei 20 ppm TNT) wären sonst nicht erklärbar.

Altlastboden

Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld der zu Versuchsbeginn mit 56 ppm Nitroaromaten kontaminiert war (je zu einem Drittel TNT, 4-ADNT und 2-ADNT) wurde im Gefäßversuch mit Weidensteckhölzern besetzt und nach einem halben Jahr Gewächshausaufenthalt analysiert. Die Bepflanzung führte zu einer Abreicherung der Nitroaromatensumme auf 63% (Abb. 5). Der pflanzenbedingte Nitroaromatenzug äußerte sich hier fast ausschließlich als ADNT-Verlust.

Pflanzenaufnahme

Die dritte der eingangs gestellten Fragen war: *Können Gehölze TNT und/oder dessen Abkömmlinge aufnehmen ? Können sie durch Aufnahme und Aufwärtstransport zu der eben aufgezeigten Nitroaromatenabreicherung des Bodens beitragen ?*

Die in der Tabelle 1 angeführten Pflanzenanalysen, die mit künstlich kontaminiertem Sand gewonnen wurden, zeigen, daß schon nach 6 Wochen sowohl bei Weiden, als auch bei Pappeln ein Nitroaromatennachweis bis zu den Blättern hinauf möglich ist. TNT findet sich nur in Spuren, die ADNTs dominieren. Die gemessene Augenblickskonzentrationen der Nitroaromatensummen betragen in der Wurzel das 5-6 fache der aktuellen Bodenkonzentration und fallen zu den oberirdischen Pflanzenteilen hin stark ab.

Noch wichtiger erscheinen uns die Langzeit-Ergebnisse mit Altlastboden (Abb. 6): Hier finden wir nach 6 Monaten - also einer für Gehölze recht realistischen Wachstumszeit - eine Bestätigung der vorherigen Ergebnisse. Wiederum finden wir TNT nur in sehr geringen Mengen. Sichere TNT-Nachweise gelingen nur in den unterirdischen Gehölzteilen.

Die ADNTs hingegen lassen sich mit dem bereits bekannten Gradienten bis zu den Blättern hin signifikant auch in den oberirdischen Kompartimenten nachweisen. Sehr auffallend ist, daß sich im nahezu funktionslosen Steckholz-Oberteil fast keine Nitroaromaten nachweisen lassen. Dies spricht für einen passiven Nitroaromatentransport über den Transpirationsstrom der Gehölze.



Zusammenfassung und Ausblick

1. Weiden und auch Pappeln bewirken im Gefäßversuch eine deutliche Nitroaromatenabreicherung des Bodens.
2. Eine Bepflanzung mit diesen Gehölzen führt zu einer Beschleunigung des mikrobiellen TNT-Abbaus im Boden.
3. Zumindest ein Teil der Bodenschadstoffe wird durch die Gehölze entzogen und läßt sich vorzugsweise als ADNT bis in oberirdische Pflanzenteile nachweisen.
4. Die in den Gehölzpflanzen nachweisbaren Nitro- bzw. Aminonitroaromatengehalte stellen Augenblickskonzentrationen dar, die sich auf die extrahierbaren Anteile beschränken und zudem auf den EC-detektierbaren Anteil eingeeengt sind.
5. Der metabolische Anteil bei der Nitroaromatenentgiftung durch Einbau in den Holzkörper muß vorerst unberücksichtigt bleiben und verlangt nach Bilanzierungsversuchen mit Radiotracer. Dabei wird der Fähigkeit der Gehölze zur Ligninproduktion eine große Bedeutung beigemessen.
6. Die unter Gewächshausbedingungen erhaltenen Ergebnisse müssen im Freiland bestätigt werden.

Tabelle 1: TNT/ADNT-Gehalt in Weiden und Pappeln nach TNT-Exposition (20 ppm

GC-ECD-Analyse von *Salix* EW-013 und *Populus* ZP-007 nach 6-wöchigem Gefäßversuch in künstlich mit 20 ppm TNT kontaminiertem Sand. Einmalige, wäßrige Applikation des TNTs. Die Stecklinge waren 8 Wochen in Sand vorinkubiert, danach wurde der Sand mit 20 ppm TNT kontaminiert. Für die Extraktion der trockenen Pflanzenteile wurden diese auf eine Partikelgröße von < 1 mm gemahlen und einheitlich 100 mg Trockensubstanz je Probe eingesetzt. Die Extraktion erfolgte mit Essigsäure und anschließender Dichlormethan-Ausschüttelung.

Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen [mg/kg TS] und der Standardabweichung.

TF = Transferfaktor für die Nitroaromatensumme [= Pflanzenkonz. / Bodenkonz.].

% TNT = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.

A. Weide EW-013; (n = 4)

[mg/kg Trockensubstanz]

Kompartim.	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	% TNT
1. Blätter	0,042 ± 0,035	0,105 ± 0,085	0,133 ± 0,062	0,280 ± 0,104	0,17	15%
2. Zweige	0,037 ± 0,027	0,029 ± 0,017	0,035 ± 0,213	0,101 ± 0,041	0,06	37%
3. Steckholz	0,166 ± 0,042	0,273 ± 0,044	0,755 ± 0,107	1,194 ± 0,084	0,71	14%
4. Wurzeln	0,394 ± 0,060	3,124 ± 0,561	6,948 ± 1,024	10,46 ± 0,720	6,15	3,8%
5. Sand	0,567 ± 0,155	0,489 ± 0,121	0,617 ± 0,167	1,673 ± 0,358	---	34%

B. Pappel ZP-007; (n = 3)

[mg/kg Trockensubstanz]

Kompartim.	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	% TNT
1. Blätter	0,027 ± 0,030	0,077 ± 0,045	0,217 ± 0,110	0,321 ± 0,128	0,12	8%
2. Zweige	0,086 ± 0,030	0,143 ± 0,076	0,333 ± 0,094	0,563 ± 0,104	0,22	15%
3. Steckholz	0,342 ± 0,114	0,052 ± 0,036	0,276 ± 0,133	0,670 ± 0,225	0,26	51%
4. Wurzeln	0,547 ± 0,078	4,371 ± 0,304	8,591 ± 1,009	13,50 ± 1,314	5,28	4,0%
5. Sand	1,169 ± 0,170	0,580 ± 0,043	0,823 ± 0,287	2,572 ± 0,402	---	45%

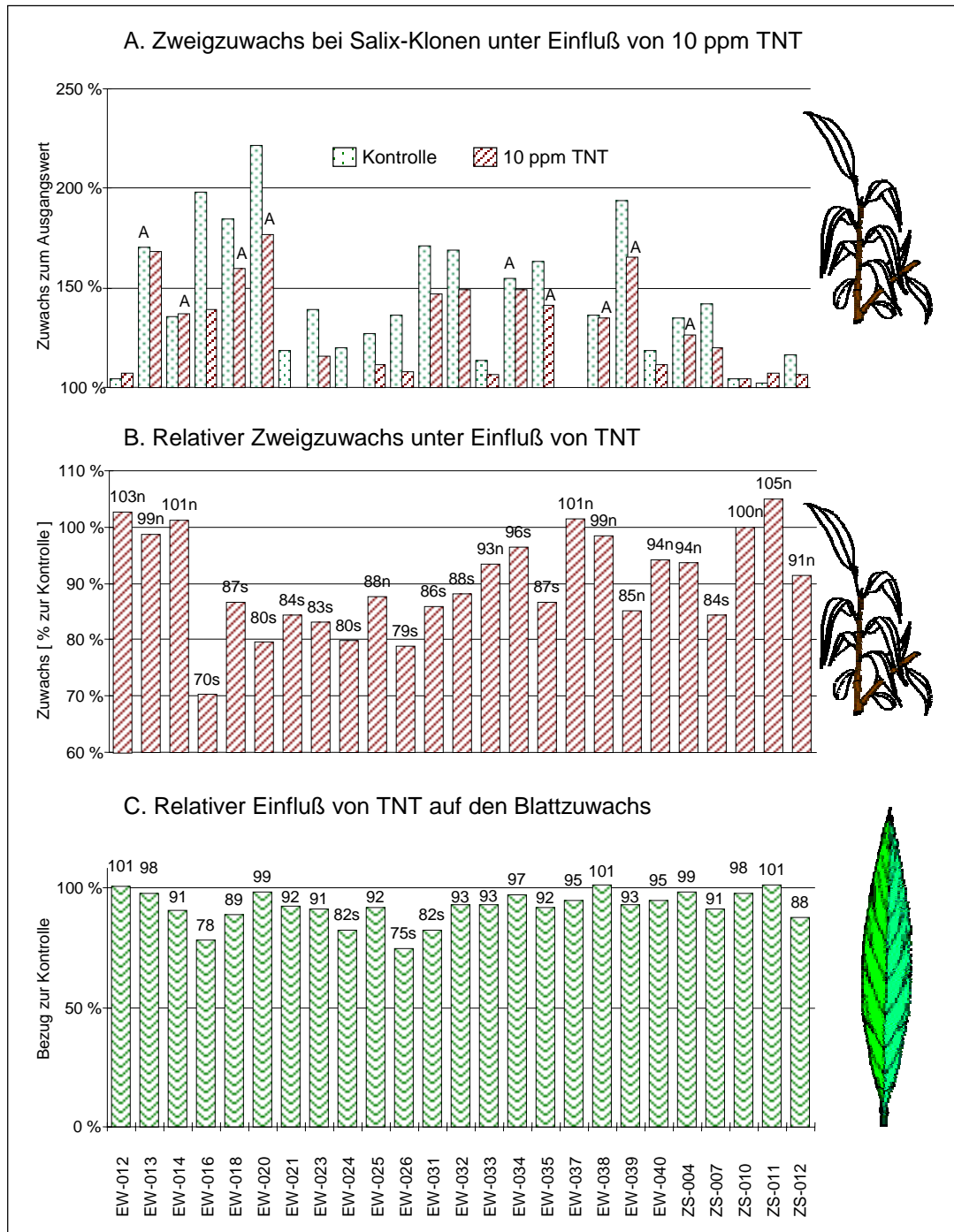


Abb. 1: Einfluß von TNT auf das Wachstum von Weiden in Sandkultur
 Vergleich von 25 *Salix*-Klonen in ihrer Wachstumstoleranz gegenüber TNT.
 Vorkultur von 20-cm-Steckhölzern über 8 Wochen in Sand.
 Danach wäßrige Applikation von 10 ppm TNT. Inkubationsdauer: 6 Wochen.
 Messung des Zweigwachstums und des Blattwachstums von 25 Weidenstecklingen je Klon.
 s = Signifikante Differenz zur unbehandelten Kontrolle für P = 0,95,
 ns = nicht signifikant. A = zur Nitroaromatenanalyse ausgewählt.

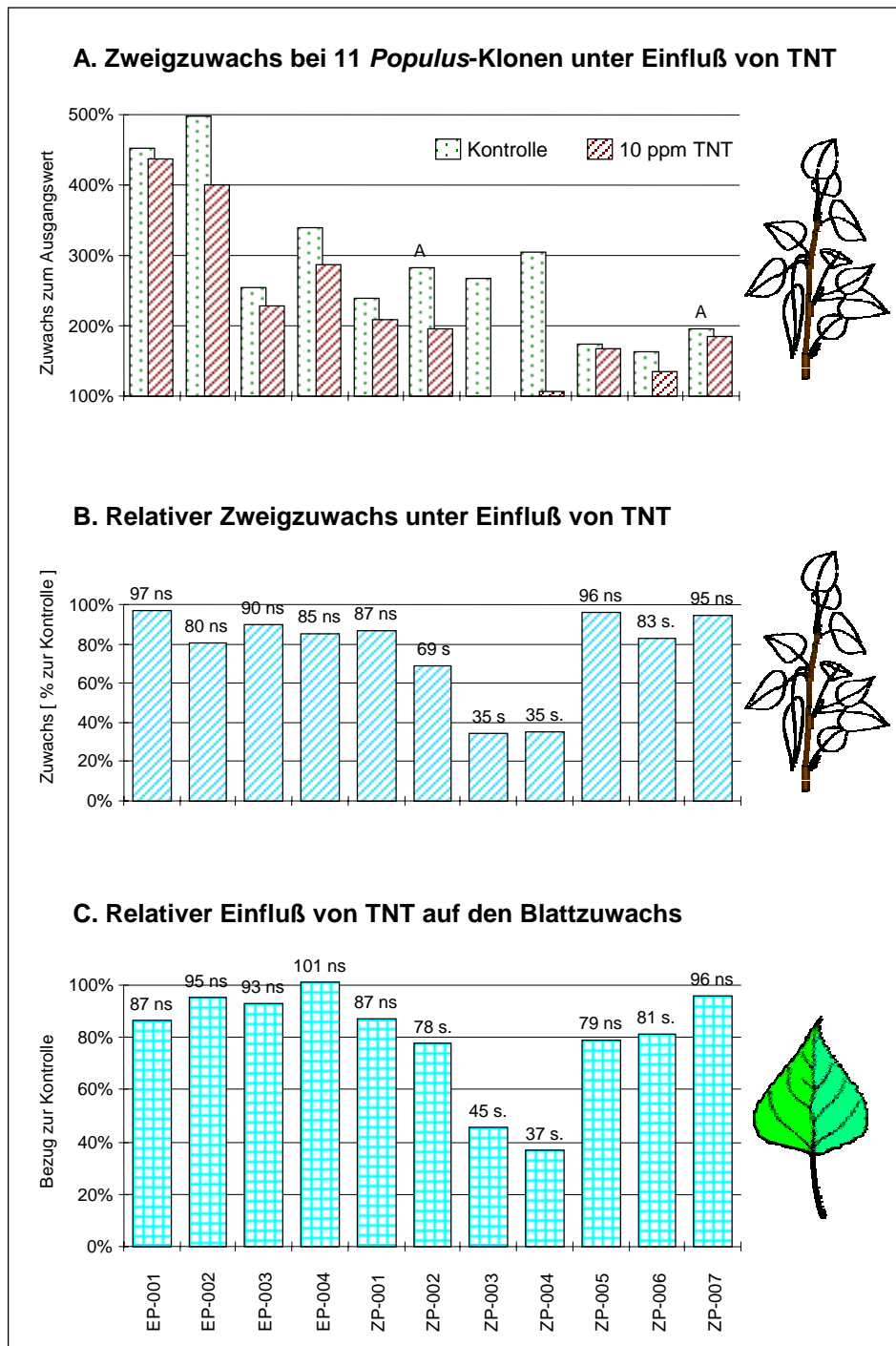


Abb. 2: Einfluß von TNT auf das Wachstum von Pappeln in Sandkultur

Vergleich von 11 *Populus*-Klonen in ihrer absoluten und relativen Wachstumstoleranz gegenüber TNT. Vorkultur von 20-cm-Steckhölzern über 8 Wochen in Sand.

Danach wäßrige Applikation von 10 ppm TNT. Inkubationsdauer: 6 Wochen.

Messung des Zweigwachstums und des Blattwachstums von 25 Weidenstecklingen je Klon.

s = Signifikante Differenz zur unbehandelten Kontrolle für P = 0,05.

ns = nicht signifikant.

A = zur Nitroaromatenanalyse ausgewählt.

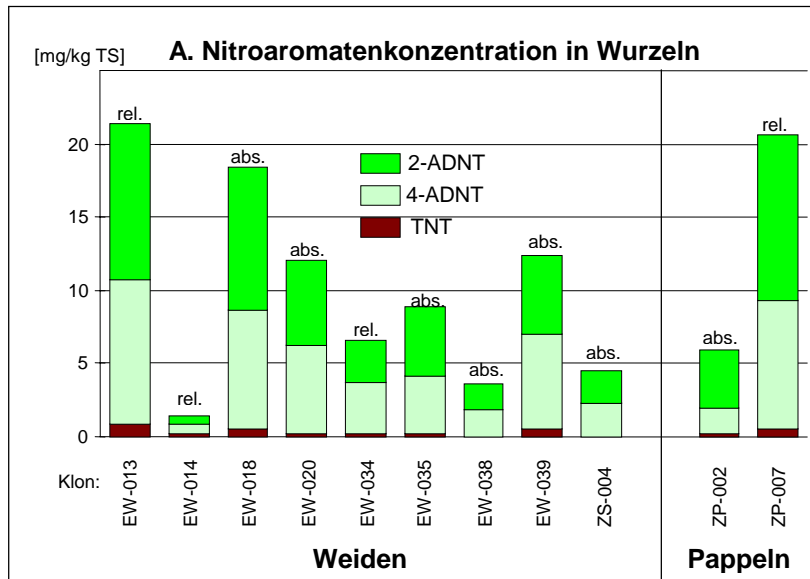


Abb. 3: Wurzelanalysen auf Nitroaromate bei TNT-behandelten Weiden und Pappeln
 200 mg TS je Probe, 5 ml EA
 rel. = relativ tolerant, abs. = absolut tolerant

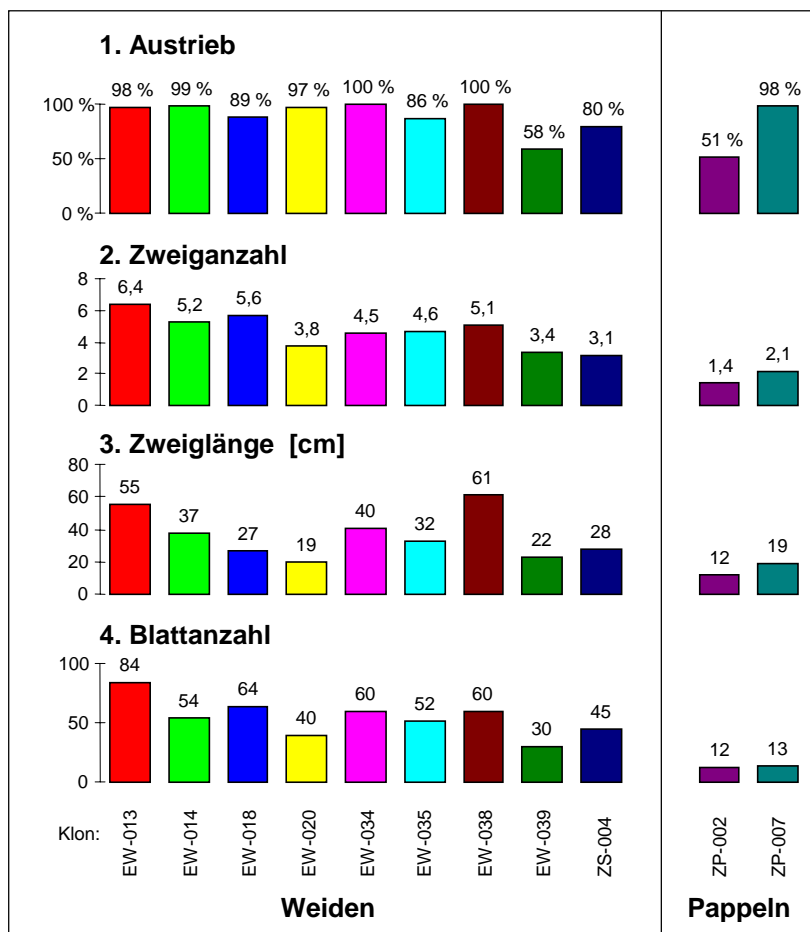


Abb. 4: Vitalitätstest für Nachfolgeversuche zur TNT-Behandlung
 Austrieb von 20-cm-Steckhölzern ausgewählter Weiden- und Pappelklone nach 4 Wochen Vorkultur in Sand. Messung der Wachstumsparameter Zweiganzahl, Zweiglänge und Blattanzahl.
 Auswertung von 80-120 Pflanzen je Klon.

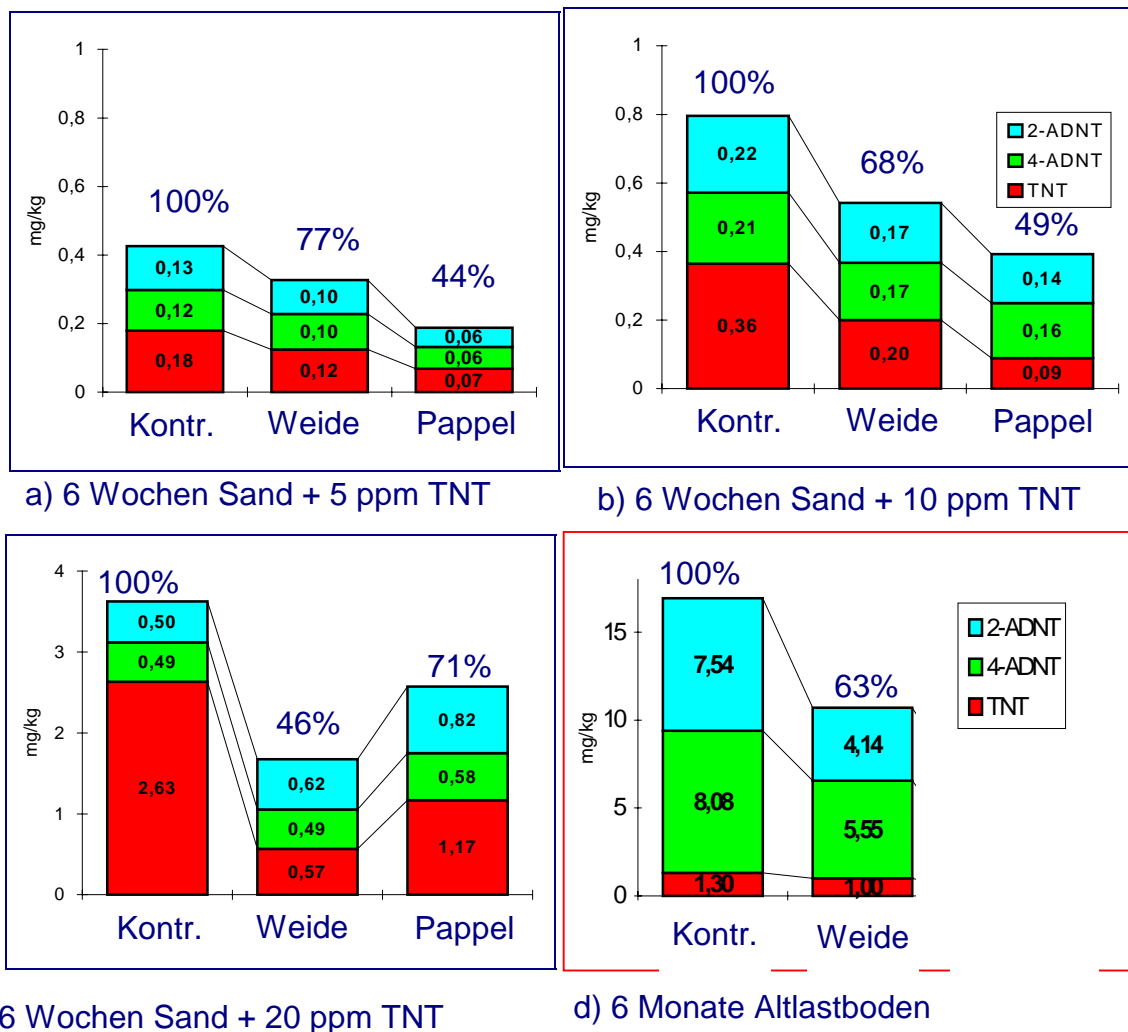


Abb. 5: Bepflanzungseffekt auf TNT-dotierten Sand und TNT/ADNT-Altlastboden

a, b, c: GC-ECD-Analyse von künstlich mit TNT kontaminiertem Sand, der unbepflanzt bzw. mit Weide und Pappel bepflanzt war.

d): GC-ECD-Analyse von Altlastboden (Werk „Tanne“, Clausthal-Zellerfeld nach 6-monatigem Gefäßversuch mit Weide).

Sandextraktion: 5 g Sand / je 15 ml Methanol / 30 min Horizontalschüttler ($f = 170$ / min), danach 60 min Ultraschallbad ($f = 31,5$ kHz, $T = 25$ °C)

Bodenextraktion: 5 g Boden / je 100 ml Ethylacetat / 90 min Ultraschallbad ($f = 31,5$ kHz, $T = 35$ °C)

Analyse: GC-ECD (SHIMADZU 14A); Säule: Optima 5 (50 m; 0,25 mm I.D.; 0,24 μ m Film); Injektionsvolumen: 1 μ l; Injektortemperatur: 250 °C; Split: 1:13; Detektortemperatur: 300 °C; Carrier: He (3,0 kg/cm²); Make up: N₂ (0,7 kg/cm²); Ofen: 160°C (1 min); 5°/min bis 195°C; 5 min bei 195°C; 3°/min bis 220 °C.

Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen [mg/kg Boden] bei $n = 4 - 5$.

Abb. 6: TNT/ADNT-Gehalt in Weide nach 6 Monaten Kultur in Altlastboden

GC-ECD-Analyse von Weide nach Gefäßversuch in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld. 20-cm-Steckholzsegmente wurden in „7x7x8 Göttinger Töpfen“ über 6 Monate im Gewächshaus kultiviert.

Pflanzenproben: 300 mg (Blätter, Zweige, Steckholz) bzw. 100 mg (Wurzeln); Partikelgröße: < 0,25 mm.

Extraktion: 5 ml Essigsäure, 60 min Ultraschall; Ausschütteln mit 4 x 1,5 ml Dichlormethan.

Bodenproben: 5 g Boden; 90 min Ultraschall mit je 100 ml Ethylacetat bei T = 35 °C und f = 31,5 kHz.

Analyse: GC-ECD. Säule: Optima 5 (50 m; 0,25 mm I.D.; 0,24 µm Film); Injektionsvolumen: 1 µl; Injektortemp.: 250 °C; Split: 1:13; Detektortemp.: 300 °C; Carrier: He (3,0 kg/cm²); Make up: N₂ (0,7 kg/cm²); Ofen: 160°C (1 min); 8°/min bis 195°C; 5 min bei 195°C; 2°/min bis 220; 20°/min bis 230 °C.

Angabe von Mittelwerten [mg/kg Trockensubstanz] und der Standardabweichung. Hochgestellte Werte = Signifikanzniveau des Unterschiedes der Analysenwerte zum unbelasteten Referenzmaterial. „n.s.“ = nicht signifikant für α < 5 % (Student-Test).

„TF“ = Transferfaktor für die Nitroaromatensumme;

„%TNT“ = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.

	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	%TNT
	1. Blätter, n = 3					
	0,09 ^{n.s.}	0,14 ^{n.s.}	0,45 ^{0,1%}	0,68^{n.s.}	0,06	13,4%
	±0,07	±0,04	±0,18	±0,18		
	2. Zweige, n = 5					
	0,04 ^{n.s.}	0,22 ^{1%}	0,77 ^{0,1%}	1,03^{1%}	0,10	3,6%
	±0,04	±0,08	±0,24	±0,31		
	3. Steckholz-Oberteil, n = 3					
0,06 ^{n.s.}	0,00 ^{n.s.}	0,02 ^{n.s.}	0,09^{n.s.}	0,01	70,9%	
±0,05	±0,00	±0,04	±0,06			
4. Steckholz-Mittelteil, n = 5						
0,06 ^{1%}	0,26 ^{0,1%}	1,35 ^{0,2%}	1,67^{0,1%}	0,16	3,4%	
±0,02	±0,05	±0,62	±0,65			
5. Steckholz-Unterteil, n = 5						
0,13 ^{1%}	1,22 ^{1%}	2,11 ^{0,1%}	3,46^{0,1%}	0,32	3,8%	
±0,06	±0,59	±0,46	±1,02			
6. Wurzeln, n = 5						
2,27 ^{0,1%}	34,57 ^{0,1%}	34,78 ^{0,1%}	71,61^{0,1%}	6,70	3,2%	
±0,377	±6,547	±5,336	±11,825			
7. Boden, n = 5						
1,00 ^{0,1%}	5,55 ^{0,1%}	4,14 ^{0,1%}	10,69^{0,1%}	—	9,3%	
±0,185	±0,847	±0,713	±1,683			