

BAM-Dissertationsreihe, Band 58

Dipl.-Biol. Desiree Jakobs

## **Mikrobieller Abbau eines im Holzschutz verwendeten metallorganischen Biozids im Boden**

2010, ISBN 978-3-9813346-9-2

Holz und eine Vielzahl von Holzschutzmitteln (HSM) werden im Bodenkontakt durch Eukaryonten und Prokaryonten bis zum Kohlenstoffdioxid abgebaut und zum Teil in mikrobielle Biomasse umgewandelt. Die Abbauprozesse eines HSMs, auf Basis von metallorganischem Kupfer-HDO, wurden im Rahmen dieser Arbeit durch die Verknüpfung chemischer und molekularbiologischer Techniken sowie  $^{13}\text{C}$  „Tracer“-Experimenten näher charakterisiert.

Analysen mit sterilisiertem Boden ergaben, dass der Abbau von  $^{13}\text{C}$ - und  $^{12}\text{C}$ -Kupfer-HDO durch eine mikrobielle Gemeinschaft beschleunigt wurde. Durch Auswaschung aus geschütztem Holz können Teile des Biozids in geringen Konzentrationen in den Boden gelangen. Messungen der Biozidkonzentration mittels HPLC über die Zeit ergaben, dass das Kupfer-HDO innerhalb von wenigen Tagen im Boden abgebaut wurde. Ein Vergleich der Abbaugeschwindigkeiten zeigte, dass Kupfer-HDO als reines Biozid im Boden schneller abgebaut wird, als ein im Holz eingebetteter Bestandteil einer Holzschutzmittelformulierung. Die Analysen des respiratorisch entstandenen  $\text{CO}_2$ , sowie der Veränderungen der mikrobiellen PLFA-Struktur in den Testansätzen mittels EA-IRMS- bzw. GC-C-IRMS erbrachten, dass das Kupfer-HDO sowohl anabolisch als auch katabolisch von der mikrobiellen Gemeinschaft metabolisiert wurde.

Durch den Einsatz der SIP-PLFA-Technik wurde die mikrobielle Gemeinschaft charakterisiert. Mittels der Analyse des  $\delta^{13}\text{C}$ -Werts in den PLFAs wurde nachgewiesen, dass der Abbau des Biozids hauptsächlich durch Gram negative Bakterien erfolgte. In den nur in geringem Maße vorhandenen Signaturfettsäuren von Pilzen und anderen Eukaryonten konnte demgegenüber keine Veränderung des  $\delta^{13}\text{C}$ -Werts festgestellt werden. Dies deutet darauf hin, dass die Eukaryonten nicht am Abbau des Kupfer-HDOs beteiligt waren.

Um die mikrobielle Sukzession in Bezug auf HSM zu charakterisieren, wurde die Zusammensetzung der mikrobiellen Lebensgemeinschaft auf der Oberfläche von Kupfer-HDO- und Kupfer-Amin-behandelten sowie unbehandelten Holzprüfkörpern im Bodenkontakt bestimmt. Zur Aufklärung der Bedeutung des Co-Biozids HDO für die mikrobielle Lebensgemeinschaft am Holz wurde dies durch ein anderes Amin ersetzt und unter der Bezeichnung Kupfer-Amin-HSM in den Untersuchungen eingesetzt.

Mit Hilfe des Fingerabdruckverfahrens T-RFLP wurde die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaftsstruktur charakterisiert. In einem Ordinatensystem wurden die Veränderungen der bakteriellen Gemeinschaftsstruktur hinsichtlich der Faktoren Inkubationszeit und HSM visualisiert. Die statistische Auswertung der Datensätze ergab, dass sich die bakterielle Gemeinschaftsstruktur zwischen dem Kupfer-Amin-basierten HSM signifikant von dem Kupfer-HDO-basierten HSM unterschieden. Im Verlauf der Inkubationszeit konnten in den einzelnen Testansätzen keine statistisch signifikanten Unterschiede detektiert werden.

Die Gemeinschaftsstruktur der Eukaryonten wurde mittels des SSCP-Fingerabdruckverfahrens charakterisiert. Dazu wurde die DNA von abundanten operativen taxonomischen Einheiten (OTUs), welche sich über die Zeit und im Bezug auf die verschiedenen HSM besonders stark änderten, aus den Banden in den SSCP-Gelen isoliert, kloniert und sequenziert. Entgegen den Erwartungen, unter den Eukaryonten am Holz und im angrenzenden Boden eine große Anzahl an Pilzen detektieren zu können, zeigte sich, dass nur drei Pilze an der Sukzession der eukaryontischen Gemeinschaft von Bedeutung waren. So wurde der Weißfäule erregende Basidiomycet *Sphaerobolus stellatus* vor allem an den  $\text{H}_2\text{O}$ -behandelten Kontrollprüfkörpern nachgewiesen. Auch der Moderfäule erregende Ascomycet *Lecytophora multabilis* wurde vermehrt in den Kontrollen nachgewiesen.

Die eukaryontische Gemeinschaft wurde von unterschiedlichen Phyla, wie Alveolata, Disicicrista, Amoebozoa, Arthropoda oder Nematoda dominiert. Von keinem dieser Organismen war aus der Literatur bekannt, dass er in der Lage ist, Holz, HSM oder einzelne Bestandteile von HSM zu metabolisieren. Diese Organismen ernähren sich in der Mehrzahl bakterivor. Dies deutet darauf hin, dass sie weniger das Kupfer-HDO abbauen, als vielmehr den Bakterienrasen beweidet, der sich auf der Oberfläche des Holzes angesiedelt hat.

Mit der vorliegenden Arbeit konnte erstmals eine direkte Verbindung zwischen Organismengruppen und dem Abbau des metallorganischen Biozids Kupfer-HDO hergestellt werden. Zusätzlich wurden die zeitlichen Veränderungen der mikrobiellen Lebensgemeinschaft in Abhängigkeit von Kupfer-HDO charakterisiert.