

INSTITUT
FÜR NACHHALTIGE TECHNIKEN UND
SYSTEME

HYGIENISIERUNG VON ABWÄSSERN IN
PFLANZENKLÄRANLAGEN

*ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG VON
WURZELEXSUDATEN*

ENDBERICHT

INSTITUT
FÜR NACHHALTIGE TECHNIKEN UND
SYSTEME

HYGIENISIERUNG VON ABWÄSSERN IN
PFLANZENKLÄRANLAGEN

*ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG VON
WURZELEXSUDATEN*

ENDBERICHT

M. REINHOFER,
A. STUHLBACHER, E. GRANDI

Dezember 2007

JOANNEUM RESEARCH
Forschungsgesellschaft mbH
Institut für Nachhaltige Techniken und Systeme – JOINTS
Forschungsbereich Ökosystemtechnik
Mauritzener Hauptstraße 3, A-8130 Frohnleiten, AUSTRIA
Tel.: +43 316 876 – 1381, Fax: +43 316 876 - 1322
Email: nts-oekotechnik@joanneum.at
Web: www.joanneum.at/nts

Institutsleitung: ao. Univ.-Prof. DI Dr. Hans Schnitzer

Projektleitung: Mag. Dr. Marion Reinhofer

Projektbearbeitung: Mag. Dr. Marion Reinhofer
Dr. Arnold Stuhlbacher
Eleonora Grandi

Finanziert aus Mitteln der Steiermärkischen Landesregierung
Abteilung 3 Wissenschaft und Forschung
Fachabteilung 19A Wasserwirtschaftliche Planung und Siedlungswasserwirtschaft

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	2
1.1	Projektablauf und -methodik	2
2	KEIMELIMINATION IM RHIZOSPHÄRENBEREICH.....	4
2.1	Pflanzlicher Einfluss bei der Abwasserreinigung	4
2.2	Rhizosphäreneffekt und Wurzelexsudate.....	6
3	EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN IM LABORMAßSTAB	11
3.1	Versuchspflanzen	11
3.2	Antibakterielle Wirkungen von Wurzelextrakten.....	20
3.2.1	Extraktion mit Lösungsmitteln	22
3.2.2	Wasserdampfdestillation.....	28
3.2.3	Wässrige Extrakte.....	31
3.3	Antibakterielle Wirkung von Wurzelexsudate	35
3.3.1	Gewinnung und Quantifizierung der Wurzelexsudate	35
3.3.2	Testreihen zur antibakterielle Wirksamkeit der Wurzelexsudate.....	42
3.4	Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse	47
4	RICHTLINIEN FÜR DIE PRAXIS.....	53
5	LITERATUR.....	57

1 EINLEITUNG

Pflanzenkläranlagen erlauben eine wirksame, ökonomische und ökologische Behandlung industrieller und kommunaler Abwässer. Zusätzlich zur Beseitigung von Schadstoffen und toxischen Inhaltsstoffen, ist die Entfernung von Pathogenen ein wesentliches Ziel der Abwasserbehandlung. Im Wurzelbereich von Pflanzenkläranlagen kommt es zu einer weitreichenden Elimination pathogener Keime, welche die Eliminationsleistung konventioneller Kläranlagen übertreffen können. Die grundlegenden Kenntnisse über die Prozesse der Pathogenbeseitigung in Pflanzenkläranlagen sind derzeit unzureichend. Die Wirkungsmechanismen der Keimelimination in diesen Anlagen sind wissenschaftlich noch nicht geklärt und dies erschwert die optimale technische Umsetzung.

Die genannte Wirkung ist sehr selektiv und beruht vermutlich unter anderem auch auf der Absonderung einer Reihe von bakteriziden Substanzen, die in Rhizomen von Helophyten nachgewiesen werden konnten. Die wissenschaftlichen Meinungen über den tatsächlichen Einfluss der Wurzelexsudate (Wurzelausscheidungen) bei der Keimreduktion weichen stark voneinander ab, da neben den genannten Wurzelausscheidungen auch chemisch-physikalische Wirkmechanismen zur Keimelimination in Frage kommen.

Im vorliegenden Projekt wurde ein Teilaspekt aus diesem Fragenkomplex, nämlich die antibakterielle Wirkung von Wurzelexsudaten verschiedener Pflanzen bearbeitet. Wesentliches Ziel der in diesem Zusammenhang im Rahmen dieses Projektes durchgeführten Untersuchungen war es, die direkte bakterizide Wirkung von Wurzelexsudaten unterschiedlicher, für den Einsatz in Pflanzenkläranlagen relevanten, Pflanzen zu klären.

1.1 PROJEKTABLAUF UND -METHODIK

Die Projektbearbeitung umfasste

- eine Literatur- und Datenrecherche zur Erfassung des Wissenstands bezüglich Wirkmechanismen zur Hygienisierung von Abwässern in bepflanzten und unbepflanzten Bodenfiltern

- eine Literatur- und Datenrecherche zur Erfassung des Wissenstands in Bezug auf antibakterielle Wirkungen von Wurzelexsudaten
- Experimentelle Untersuchungen zur Erfassung und Evaluierung des antibakteriellen Effekts von Wurzelexsudaten unterschiedlicher Pflanzenarten im Labormaßstab
- die Erarbeitung von Basiswissen bezüglich der hygienisierenden Wirkung unterschiedlicher Wurzelausscheidungen von ausgewählten Pflanzenarten auf Basis oben genannter Laborversuche im Vergleich mit Literaturstudien
- eine Evaluierung der Hygienisierungswirkung bei Abwässern in Pflanzenkläranlagen unterschiedlichen Bautyps auf Basis von Literatur- und Projektdatenauswertungen

Die oben genannten Punkte dienen als Basisinformation für die Erarbeitung von Empfehlungen für die Hygienisierung von kommunalem Abwasser mittels bepflanztter Bodenfilter.

Die Darstellung des Versuchsdesigns, sowie die angewandte Methodik ist den jeweiligen Kapiteln dieses Berichtes zu entnehmen.

2 KEIMELIMINATION IM RHIZOSPHÄRENBEREICH

2.1 PFLANZLICHER EINFLUSS BEI DER ABWASSERREINIGUNG

Die Reinigungsleistung einer Pflanzenkläranlage (bepflanzter Bodenfilter) beruht im Wesentlichen auf einem Zusammenspiel von chemisch-physikalischen und mikrobiologischen Prozessen im Bodenfilter. Ungeachtet von unterschiedlichen Bau- und Betriebsweisen (horizontal bzw. vertikal durchflossene Becken, unterschiedliche Filtermaterialien, etc.), welche es ermöglichen die Reinigungsleistung zu optimieren, ist allgemein bekannt, dass Mikroorganismengemeinschaften für den größten Teil der Reinigungsprozesse verantwortlich sind.

Wie die, im Rahmen des Projektes durchgeführte internationale Literaturrecherche bestätigte, hat die Bepflanzung eines Filterbeckens einen nicht unwesentlichen Einfluss auf das System „Pflanzenkläranlage“. Neben augenscheinlich physikalischen Effekten einer Bepflanzung haben biologische und chemische Effekte der Bepflanzung einen direkten oder indirekten Einfluss auf das Wirkungsgefüge in einer Pflanzenkläranlage. Die wesentlichen Effekte der Bepflanzung werden im folgenden zusammengefasst dargestellt:

Physikalische Effekte

- Filterwirkung – Verbesserung der physikalische Filterwirkung
- Verringerung der Windgeschwindigkeit: Verbesserung der Absetzvorgänge, Minderung der Erosionsgefahr aber auch verringerte Belüftung der Wasseroberfläche (BRIX 1996)
- Stabilisierung der Filteroberfläche: Verminderung der Oberflächenerosion; Verhinderung der Bildung von Erosionskanälen durch dichtes unterirdisches Wachstum (BRIX 1996)
- Offenhalten der Oberfläche durch die Bewegungen der Pflanzen (HOFFMANN 1992, BRIX 1996)
- Mithilfe beim Abbau von organischem Material durch das Wurzelwachstum im Filtermedium
- Vermeidung von Kolmation (in vertikal durchflossenen Systemen) ebenfalls durch die Durchwurzelung

- Einfluss auf das Mikroklima und Vergleichmäßigung der Temperatur durch Beschattung im Sommer, Isolierschicht durch Bestandsabfall im Winter (MAYER 1995, REINHOFER 1992)
- Aufrechterhaltung und Verbesserung der hydraulischen Durchlässigkeit aufgrund der Durchwurzelung (FLAMISCH 1995, LABER 2001)
- Verhinderung von übermäßigem Algenwachstum, vor allem in bepflanzten Teichen durch Beschattung (BRIX 1996)
- Verminderung des Abflusses durch Verdunstungsleistung der Pflanzen

Biologische und andere Effekte

- Erhöhte Bakteriendichte durch Bereitstellung günstiger Bedingungen für die Mikroorganismen im Boden, sogenannter „Rhizosphäreneffekt“ (u. a. BÖRNER, 1992 und KNIGHT, KADLEC & OHLENDORF, 1999).
- Bereitstellen einer großen Aufwuchsfläche für Mikroorganismen. Diese Biofilme sind verantwortlich für die Mehrzahl der mikrobiologischen Prozesse, die in der Pflanzenkläranlage ablaufen (BRIX 1996).
- Veränderung der Milieubedingungen im Wurzelbereich durch die Ausscheidung von Wurzelexsudaten (z. B. Säuren) (BÖRNER 1992)
- Abgabe von Antibiotika (z. B. bei Schoenoplectus sp.) und anderen organischen Verbindungen (BRIX 1996)
- Exkretion von photosynthetischem Sauerstoff in die Rhizosphäre durch die Pflanzenwurzeln (u.a. BAHLO & WACH 1992, WETZEL 1993 und BÖRNER 1992) beeinflusst nach einigen Studien die bio-chemikalischen Kreisläufe durch veränderten Redox-Status und erhöht den aeroben Abbau (BRIX 1996).
- Verbesserte Reinigungsleistung der Pflanzenkläranlage (im Vergleich zu unbepflanzten Bodenfiltern, etc.) (FLAMISCH 1995). Nur in bepflanzten, nicht aber in unbepflanzten Bodenfiltern wurde bisher der Abbau von Ölen und Fetten nachgewiesen.
- Direkte Aufnahme und Speicherung von Nährstoffen: Durch die Aufnahme von Stickstoff und Phosphor durch die Pflanzen können durch Ernte jährlich 50 bis 150 kg Phosphor pro Hektar und 1000 bis 2.500 kg Stickstoff pro Hektar aus dem

System entfernt werden. Werden die Pflanzen nicht geerntet, so werden diese Stoffe nur zurückgehalten und nicht aus dem System entfernt. Dasselbe gilt für Schwermetalle und nicht oder schwer abbaubare Substanzen (FLAMISCH 1995). BÖRNER 1992 gibt an, dass der Nährstoffentzug durch die Pflanzenmasse nur in geringem Ausmaß stattfindet.

- Aufnahme von Schwermetallen (OJO & MASHAURI 1996) und organischen Schadstoffen. OUESLATI, HADDAD & THAYER 1996 führen die Phenolaufnahme von *Juncus fontanesii* an. SEIDEL 1968 berichtete in den 60er Jahren, dass *Scirpus lacustris* ebenso diese Fähigkeit besäße.
- Wichtige Kohlenstoffquelle für nitrifizierende und denitrifizierende Bakterien. In manchen Anlagen ist die von den Pflanzen gebildete Kohlenstoffmenge in den ersten Jahren größer als die durch das Abwasser eingebrachte. Das, von den Pflanzen produzierte organische Material konkurriert mit den gelösten organischen Substanzen des Abwassers und reduziert die Effizienz des Systems (WETZEL 1993).
- Zusätzliche Wertschöpfung durch hohen Biotopwert: Lebensraum für viele Pflanzen und Tiere (FLAMISCH 1995 und AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE 1998); Naturnahe Technik, naturnahes Erscheinungsbild, passt sich gut in Landschaften ein.

2.2 RHIZOSSPHÄRENEFFEKT UND WURZELEXSUDATE

Untersuchungen zur Biomasse in bepflanzten Bodenfiltern (TIETZ ET AL. 2007a) zeigten deutlich höhere Biomassekonzentrationen im Vergleich zu natürlichen Böden. Rund 96 % der gesamten mikrobiellen Biomasse in einem Pflanzenbecken befinden sich innerhalb der ersten 10 cm Filterschicht, also im Bereich der Pflanzenwurzeln. Die genannten Untersuchungen zeigten auch, dass keine wesentlichen Unterschiede in der Artenzusammensetzung des Biofilms zwischen vertikal und horizontal durchflossenen Becken bestehen. Jedoch konnten Unterschiede in der Artenzusammensetzung zu konventionellen Abwasserreinigungsanlagen nach dem Belebtschlammverfahren festgestellt werden (LANGERGRABER ET AL. 2007).

Derartige Erkenntnisse implizieren auch, dass dem Bewuchs ein nicht unwesentlicher Einfluss auf die Milieubedingungen in der Filterschicht einer Pflanzenkläranlage zukommt.

Sowohl in Böden als auch in bepflanzten Bodenfiltern, führt ein Pflanzenbewuchs in unmittelbarer räumlicher Umgebung der Wurzeln (ca. 1 - 5 mm), der Rhizosphäre, zu einer Änderung der Mikroorganismenzahl und -zusammensetzung. Dieser „Rhizosphäreneffekt“, wird nach derzeitigem Kenntnisstand durch den Eintrag unterschiedlicher organischer Stoffe, sowie von Sauerstoff durch die Pflanzen selbst geschaffen (ANDERSON ET AL. 1993).

Aus der Literatur ist der, als Rhizodeposition bezeichnete, Prozess für alle Pflanzenarten bekannt, hat als auch für die in Pflanzenkläranlagen eingesetzten Arten Gültigkeit.

Die Rhizodeposition erfolgt zum einen durch mechanischen Eintrag, wie z.B. Abschürfungen von Pflanzenteilen beim Wachstum (Zellen aus Wurzelhaube, Wurzelhaare etc.), und zum anderen durch direkte Abgabe unterschiedlicher organischer Verbindungen über die Wurzel.

In der Literatur findet sich keine einheitliche Definition jener Stoffe die unter dem Begriff Wurzelexsudate zusammengefasst werden. So fassen manche Autoren (wie MERBACH 1990) die Gesamtheit der abgegebenen Stoffe, als auch anorganische Substanzen unter dem Begriff Wurzelexsudate zusammen. Andere Autoren, wie LYNCH und WHIPPS 1990 sowie MOORMANN 2001 unterteilen die Gesamtheit der Rhizodeposition in nachfolgende 4 Gruppen:

- Wurzelexsudate: wasserlösliche niedermolekulare Verbindungen, die passiv, d.h. in Abhängigkeit vom Konzentrationsgradienten, über die Wurzeln an die Umgebung abgegeben werden. Dazu zählen beispielsweise Zucker, Aminosäuren, organische Säuren, Hormone, Vitamine etc.
- Wurzelsekrete: beinhalten höhermolekulare Verbindungen für deren Freisetzung metabolische Prozesse erforderlich sind, wie Polysaccharide und Enzyme. Die Abgabe derartiger Stoffe kann auch gegen ein elektrochemisches oder chemisches Potential erfolgen.
- Lysate: dies sind Verbindungen, die durch eine Autolyse von, beispielsweise abgestreifte, Zellen freigesetzt werden.

- Diverse Gase – wie Sauerstoff

Die über die Wurzeln abgegebenen niedermolekularen Kohlenstoffverbindungen, werden unter dem Begriff „Wurzelexsudate“ zusammengefasst und leisten nach SHIMP ET AL 1993 einen signifikanten Beitrag zur gesamten Rhizodeposition.

Sie beeinflussen in vielfältiger Weise die Prozesse in Böden bzw. im Filterbereich von Pflanzenkläranlagen wie beispielsweise durch

- die Stimulation wurzellosoziierte Mikroflora in der Rhizosphäre durch ihre Verwendung als Nahrungsquelle (SCHNOOR ET AL.1995; SHIMP ET AL. 1993),
- die Förderung co-metabolisch abhängiger mikrobieller Umwandlungsprozesse (SHANN, 1995)
- die extrazelluläre Metabolisierung von Schadstoffen durch ausgeschiedene Enzyme (SCHNOOR ET AL. 1995; SICILIANO ET AL. 1998)

Außerdem ist eine Vielzahl weiterer Effekte durch den Eintrag von Wurzelexsudaten bekannt, die zwar nur teilweise bei bepflanzten Bodenfiltern von Bedeutung sind, jedoch insgesamt gesehen im Rahmen der Phytosanierung kontaminierter Medien von besonderem Interesse sind. Zu diesen zählen zum Beispiel der Beitrag von Humifizierungsprozessen zur Phytostabilisation infolge spontaner Autoxidation der reaktiven organischen Verbindungen (WALTON ET AL., 1994), die Erzeugung von Resistenzen gegen phytotoxische Substanzen (BASU ET AL. 1994) oder die Mobilisierung von Metallionen aufgrund der Chelatisierungswirkung von Wurzelexsudat-Verbindungen (MENCH UND MARTIN 1991).

Wie erwähnt, umfasst die Rhizodeposition neben der Ausscheidung von Wurzelexsudaten den Eintrag höhermolekularer organischer Verbindungen, u. a. schwer löslicher Polysaccharide (Schleimstoffe usw.) und abgestorbener Wurzelreste (Lignine, Cellulosen etc.). Diese organischen Verbindungen sind, ebenso wie die Wurzelexsudate, eine wichtige Quelle des Kohlenstoffeintrags in den Boden bzw. in bepflanzte Bodenfilter, und sind zu einer Vielzahl der oben genannten Prozesse befähigt (WALTON ET AL., 1994).

Auch der pflanzliche Eintrag von Sauerstoff in die Rhizosphäre übt einen wesentlichen Einfluss auf mikrobiologische Prozesse aus (BRIX 1994), was gerade

bei Ab- und Umbauprozessen in bepflanzten Filterbecken einer Pflanzenkläranlage von besonderer Bedeutung ist. Der Sauerstoffeintrag über die Pflanzen einer Pflanzenkläranlage führt zu einer mosaikartigen Aufteilung von pflanzlich beeinflussten aeroben und relativ unbeeinflussten anaeroben Zonen innerhalb ein und desselben Beckens. Bei ausreichendem Sauerstoffeintrag durch die Pflanzen, ist ein überwiegend aerober Abbau von organischen Verbindungen möglich. Gleichzeitig können in den anaeroben Zonen oder bei genereller Sauerstoffarmut im System, anaerobe Prozesse überwiegen (VYMAZAL ET AL., 1998). Der besondere Wert besteht darin, dass über den Rhizosphäreneffekt eine Verknüpfung dieser beiden wichtigsten Wege der Schadstoffelimination erfolgt (SCHNOOR ET AL., 1995; WALTON ET AL., 1994).

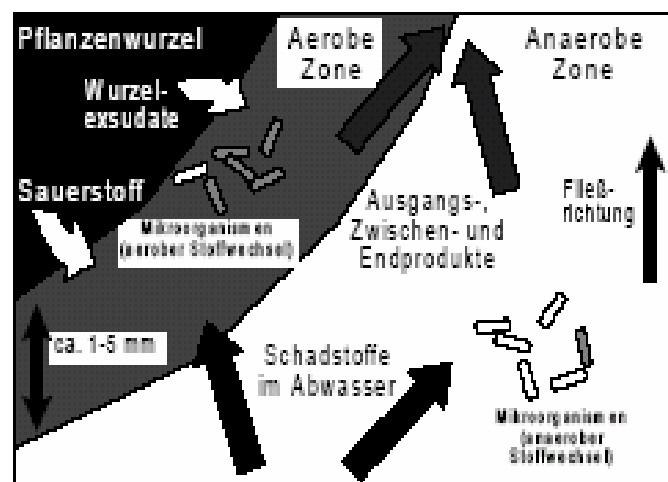


Abbildung 1: Rhizosphäreneffekte im Wurzelbereich von Pflanzenkläranlagen

Die Menge und Art der abgegebenen Rhizodepositionsprodukte einer Pflanze ist pflanzenspezifisch vom Entwicklungsstadium der jeweiligen Pflanze, sowie den jeweiligen Umweltbedingungen, wie Temperatur, Nährstoffverfügbarkeit etc. abhängig.

Nach GRAYSTON ET AL. 1996 sind die dominierenden Verbindungen in Wurzelexsudaten Zucker, Aminosäuren und organische Säuren. So befinden sich in der „Mucilage“ einer Pflanze vorwiegend Polysaccharide und Polygalacturonsäuren höheren molekularen Gewichtes.

In wesentlich geringeren Mengen sind Verbindungen, wie Hormone und Vitamine enthalten. Diese Stoffe können in ihrer Wirkung aber entscheidend für das

Vorkommen spezieller Mikroorganismen in der Rhizosphäre sein. In Spuren können Substanzen mit hemmenden oder aber stimulierenden sowie allelopathischen Effekten auf andere Organismen auftreten. (nach MOORMANN 2001). Nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über Stoffgruppen, welche als Wurzelexsudate zusammenfasst werden (modifiziert nach MOORMANN 2001).

Art der Verbindung	Exsudatkomponenten
Kohlenhydrate	Arabinose, Ribose, Xylose, Fruktose, Galaktose, Glukose, Rhamnose, Maltose, Sukrose, Raffinose, Oligossaccharide, andere Polysaccharide
Aminosäuren und Amide	Alle 20 Protein-Aminosäuren, Aminobuttersäure, Homoserin, Cystathionin
Organische Säuren	Essigsäure, Glycolsäure, Oxalsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Buttersäure, Fumarsäure, Weinsäure, Valeriansäure, Zitronensäure, Protocatechussäure, Salizylsäure, Sinapiussäure, p-Hydroxybenzoesäure, Cumarsäure, Ferulsäure, Gallussäure, Gentisinsäure
Fettsäuren und Sterole	Palmitin, Stearin, Olein, Linolsäure, Linolensäure, Cholesterol, Campesterol, Stigmasterol, Sitosterol
Vitamine, Hormone,	Biotin, Thiamin, Niacin, Pantothenat, Cholin, Inositol, Pyridoxine, p-Aminobenzoessäure, n-Methylnicotinsäure
Nukleotide, Flavone und Enzyme	Flavon, Adenin, Guanin, Uridin, Sytidin, Desoxyribonuclease, Peroxidase, Ribonuclease, Phosphatase, Invertase, Amylase, Protease, Polygalacturonsäure
Andere Verbindungen	Auxin, Scopoletin, fluoreszierende Substanzen, Blausäure, Glycoside, Saponine, organische Phosphorverbindungen

Abbildung 2: Mögliche Substanzen als Exsudate von Pflanzenwurzeln (modifiziert nach MOORMANN 2001)

3 EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN IM LABORMAßSTAB

Die im Labor durchgeführten experimentellen Untersuchungen umfassten Versuchsreihen zu nachfolgenden Schwerpunkten:

1. Gewinnung von Wurzelextrakten mit unterschiedlichen Extraktionsmethoden
 - Lösungsmittlextraktion (Hexan, Ethanol)
 - Wässriger Auszug
 - Wasserdampfdestillation
2. Testung der antibakteriellen Wirkung der gewonnenen Extrakte
3. Gewinnung von Wurzelexsudaten
4. Testung der antibakteriellen Wirkung der Exsudate

3.1 VERSUCHSPFLANZEN

Die Auswahl der Versuchspflanzen erfolgte anhand einer zuvor durchgeführten Recherche in Bezug auf die Einsetzbarkeit der jeweiligen Pflanze in Pflanzenkläranlagen sowie auf mögliche antibiotische Wirkung der Pflanze.

Als am häufigsten und erfolgreichsten eingesetzte Pflanze in Pflanzenkläranlagen gilt das Schilf (*Phragmites australis*). Andere dominante Arten sind die Teich- oder Flechtbinse (*Scirpus lacustris*.) sowie der Rohrkolben (*Typha latifolia*). Je nach Einsatzbereich finden auch häufig Rohrglanzgras (*Phalaris arundinacea*), Simsen (*Juncus* sp.) und Seggen (*Carex* sp.) ihre Anwendung. Bäume werden nur selten eingesetzt. BOLTON & GREENWAY 1994 beschreiben die Verwendung der Teebaum-Arten *Melaleuca quinquenervia*, *M. alternifolia* und *M. leucadendron* für die Abwasserreinigung in einer australischen Pilotanlage. Weiden (*Salix* sp.) werden in schwedischen Anlagen zur Reinigung von Sickerwässern aus Mülldeponien gepflanzt (HASSELGREN, 1989).

Nachfolgende Tabellen (aus PUSSARNIG 2000) geben einen Überblick über häufig eingesetzte Pflanzenarten zur Abwasserreinigung:

TABLE 3-3

Aquatic and Wetland Plants for Use in Constructed Wetlands

Plant Species	Common Name	Growth Form	Persistence	Growth/Spread Rate	Vegetative Growth Method	Spacing	Propagules	Habitat	Shade Tolerance	Wildlife Benefits	Water Regime	Salinity Tolerance
<i>Acer negundo</i>	Box elder	Tree	Perennial; deciduous	Fast; 4.5 to 6 m / 5 yrs			Container	Forested wetlands	Full sun	Songbirds; waterbirds; small mammals	Irregular to regular inundation or saturation	Fresh water; resistant to salt water
<i>Acer rubrum</i>	Red maple	Tree	Perennial; deciduous	Medium to fast; 5 to 7 m/ 10 yrs			Seed, whip; bare root	Fresh marsh; swamp; alluvial woods	Partial shade	Gamebirds; songbirds; browsers	Irregular to seasonally inundated or saturated	Fresh water; < 0.5 ppt
<i>Acorus calamus</i>	Sweet flag	Emergent; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Moderate; 15 cm/yr	Rhizome	0.3 to 0.9 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Fresh to brackish marshes	Partial shade	Waterfowl; muskrat	Regular to permanent inundation; < 15 cm	Fresh to brackish; < 10 ppt
<i>Alnus serrulata</i>	Smooth alder	Shrub	Perennial; deciduous	Rapid; 60 cm/yr			Container	Fresh marshes and swamps	Full sun	Songbirds; gamebirds; ducks; woodcock; blackbirds; beaver	Seasonal to regular inundation; up to 7 cm	Fresh water; < 0.5 ppt
<i>Carex spp.</i>	Sedges	Emergent; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Slow to rapid	Rhizome	0.15 to 1.8 m O.C.	Seed, bare root plant	Fresh marshes; swamps; lake edges	Full shade to full sun	Rails; sparrows; snipe; songbirds; ducks; moose	Irregularly to permanently inundated; <015 cm	Fresh water; <0.5 ppt
<i>Cephalanthus occidentalis</i>	Buttonbush	Shrub	Perennial; deciduous	Medium; 30 to 60 cm/yr			Seedling; bare rootplant	Fresh marshes; swamps; edge of ponds	Full shade to full sun	Ducks; deer; rails; blackbirds; muskrats; beaver	Irregular to permanent inundation; up to 90 cm	Fresh water; tolerates infrequent salt water
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Coontail	Submerged aquatic	Perennial	Rapid	Fragmentation		Whole Plant	Lakes; slow streams		Ducks; coots; geese; grebes; swans; marshbirds; muskrats	Regular to permanent inundation; 0.3 to 1.5 m	Fresh water; <0.05 ppt

TABLE 3-3 (CONTINUED)

Aquatic and Wetland Plants for Use in Constructed Wetlands

Plant Species	Common Name	Growth Form	Persistence	Growth/Spread Rate	Vegetative Growth Method	Spacing	Propagules	Habitat	Shade Tolerance	Wildlife Benefits	Water Regime	Salinity Tolerance
<i>Cyperus esculentus</i>	Chufa	Emergent herbaceous	Perennial; nonpersistent	Rapid	Rhizome		Seed, tuber	Fresh marshes; wet meadows	Full sun	Waterfowl; songbirds; small mammals	Irregular to regular inundation; <0.3 m	Fresh water; <0.5 ppt
<i>Eichhornia crassipes</i>	Water hyacinth	Nonrooted floating aquatic	Perennial; nonpersistent	Rapid	Stolons		Whole plants	Fresh water ponds and sluggish streams	Full sun	Coots; cover for invertebrates and fish	Permanent inundation	Fresh water; < 0.5 ppt
<i>Hydrocotyle umbellata</i>	Water-pennywort	Emergent to floating; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Rapid	Stolons or rhizomes		Bare root plant; whole plant	Shorelines; shallow marshes	Partial shade	Wildfowl; waterfowl	Regular to permanent inundation; <30 cm	Fresh water; <0.5 ppt
<i>Iris versicolor</i>	Blue flag	Emergent; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Slow; <60 cm/yr	Bulb	0.15 to 0.45 m O.C.	Seed; bulb; bare root plant	Marshes; wet meadows; swamps	Partial shade	Muskrat; wildfowl; marsh birds	Regular to permanent inundation; <15 cm	Fresh to moderately brackish
<i>Juncus effusus</i>	Soft rush	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Slow; <6 cm/yr	Rhizome	0.15 to 0.45 m O.C.	Seed, rhizome; bare root plant	Marshes; shrub swamps; wet meadows	Full sun	Wildfowl; marshbirds; songbirds; waterfowl	Regular to permanent inundation; <30 cm	Fresh water; <0.5 ppt
<i>Nuphar luteum</i>	Spatterdock	Rooted floating to emergent; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Slow; <6 cm/yr	Rhizome	0.15 to 0.45 m O.C.	Bare root plant	Marshes; swamps; ponds	Partial shade	Ducks; muskrat; fish	Regular to permanent inundation; up to 1.8 m	Fresh water to infrequent brackish
<i>Nymphaea odorata</i>	Fragrant water lily	Rooted floating aquatic	Perennial; nonpersistent		Rhizome		Bare root seedling	Ponds and lakes	Partial shade	Cranes; ducks; beaver; muskrat; moose	Permanent inundation; 0.3 to 0.9 m	Fresh water; <0.05 ppt

Abbildung 3: Häufig verwendete Pflanzen zur Abwasserreinigung- Teil 1 (nach PUSSARNIG 2000)

Abbildung 4: Häufig verwendete Pflanzen zur Abwasserreinigung- Teil 2 (nach PUSSARNIG 2000) – nächste Seite

TABLE 3-3 (CONTINUED)

Aquatic and Wetland Plants for Use in Constructed Wetlands

Plant Species	Common Name	Growth Form	Persistence	Growth/Spread Rate	Vegetative Growth Method	Spacing	Propagules	Habitat	Shade Tolerance	Wildlife Benefits	Water Regime	Salinity Tolerance
<i>Nyssa sylvatica</i>	Black gum	Tree	Perennial; deciduous	Slow	Suckers		Seed; bare root plant	Forested wetlands; swamps	Partial shade	Ducks; woodpeckers; songbirds; aquatic furbearers	Irregular to permanent inundation	Fresh water to infrequent brackish
<i>Phragmites australis</i>	Common reed	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Rapid; > 30 cm/yr	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Bare root plant	Fresh to brackish marshes; swamps	Full sun	songbirds; marshbirds; shorebirds; aquatic furbearers	Seasonal to permanent inundation; up to 60 cm	Fresh to brackish; up to 20 ppt
<i>Pontederia cordata</i>	Pickereelweed	Emergent herbaceous	Perennial; nonpersistent	Moderate; 15 cm/yr	Rhizome	0.3 to 0.9 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Fresh to brackish marshes; edges of ponds	Partial shade	Ducks; muskrat; fish	Regular to permanent; up to 30 cm	Fresh to moderately brackish; up to 3 ppt
<i>Populus deltoides</i>	Eastern cottonwood	Tree	Perennial; deciduous	Fast; 1.2 to 1.5 m/yr			Bare root plant; container	Forested wetlands	Full sun	Gamebirds; songbirds; waterfowl; aquatic furbearers; browsers	Seasonal inundation or saturation	Fresh water to infrequent brackish
<i>Potamogeton nodosus</i>	Long-leaved pond weed	Rooted submerged aquatic	Perennial; nonpersistent	Rapid	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Seed; bare root plant	Streams; lakes; ponds		Waterfowl; marshbirds; shorebirds; aquatic furbearers; moose; fish	Regular to permanent inundation; 0.3 to 1.8 m	Fresh water; <0.05 ppt
<i>Quercus bicolor</i>	Swamp white oak	Tree	Perennial; deciduous	Fast; 0.4 to 0.6 m/yr			Bare root plant; container	Forested wetlands	Partial shade	Waterfowl; marshbirds; shorebirds; gamebirds; songbirds; mammals	Irregular to seasonal inundation or saturation	Fresh water to infrequent brackish
<i>Rosa palustris</i>	Swamp rose	Shrub	Perennial; deciduous				Container	Fresh marshes; shrub swamps	Full sun	Songbirds; gamebirds	Irregular to regular soil saturation	Fresh water; < 0.5 ppt

TABLE 3-3 (CONTINUED)

Aquatic and Wetland Plants for Use in Constructed Wetlands

Plant Species	Common Name	Growth Form	Persistence	Growth/Spread Rate	Vegetative Growth Method	Spacing	Propagules	Habitat	Shade Tolerance	Wildlife Benefits	Water Regime	Salinity Tolerance
<i>Sagittaria latifolia</i>	Duck potato	Emergent; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Rapid; > 30 cm/yr	Runners; tubers	0.6 to 1.8 m O.C.	Tuber; bare root plant	Fresh marshes; swamps; edge of ponds	Partial shade	Ducks; swans; rails; muskrats; beaver	Regular to permanent inundation; up to 60 cm	Fresh water; <0.5 ppt
<i>Salix nigra</i>	Black willow	Tree	Perennial; deciduous	Fast; 0.9 to 1.8 m/yr	Suckers		Bare root; container	Fresh marshes; swamps	Full sun	Gamebirds; ducks; songbirds; woodpeckers; aquatic mammals	Irregular to permanent inundation	Fresh water; < 0.5 ppt
<i>Scirpus acutus</i>	Hardstem bulrush	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Rapid	Rhizome	0.9 to 1.8 m O.C.	Seed; rhizome	Fresh to brackish marshes	Full sun	Ducks; geese; swans; cranes; shorebirds; rails; snipe; muskrats; fish	Regular to permanent; up to 90 cm	Fresh to brackish
<i>Scirpus americanus</i>	Oney's bulrush	Emergent; herbaceous	Perennial; semi-persistent	Rapid; > 30 cm/yr	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Brackish and alkali marshes	Full sun	Ducks; geese; swans; cranes; shorebirds; rails; snipe; muskrats; fish	Regular to permanent inundation; up to 30 cm	Fresh to brackish water; up to 15 ppt
<i>Scirpus cyperinus</i>	Wool grass	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Moderate; 15 cm/yr	Rhizome	0.3 to 0.9 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Fresh marshes; wet meadows; sloughs; swamps	Full sun	Ducks; geese; swans; cranes; shorebirds; rails; snipe; muskrats; fish	Irregular to seasonal inundation	Fresh water; < 0.5 ppt
<i>Scirpus validus</i>	Soft stem bulrush	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Rapid; > 30 cm/yr	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Fresh and brackish marshes	Full sun	Ducks; geese; swans; cranes; shorebirds; rails; snipe; muskrats; fish	Regular to permanent inundation; up to 5 ppt	Fresh to brackish water; up to 5 ppt
<i>Sparganium eurycarpum</i>	Giant bur-reed	Emergent; herbaceous	Perennial; nonpersistent	Rapid; > 30 cm/yr	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Seed; rhizome; bare root plant	Marshes; pond shorelines	Partial shade	Ducks; swans; geese; beaver; muskrats	Regular to permanent inundation; up to 30 cm	Fresh water; < 0.5 ppt

TABLE 3-3 (CONTINUED)

Aquatic and Wetland Plants for Use in Constructed Wetlands

Plant Species	Common Name	Growth Form	Persistence	Growth/Spread Rate	Vegetative Growth Method	Spacing	Propagules	Habitat	Shade Tolerance	Wildlife Benefits	Water Regime	Salinity Tolerance
<i>Taxodium distichum</i>	Bald cypress	Tree	Perennial; deciduous	Medium; 0.3 to 0.6 m/yr			Seed; bare root plant; container	Fresh water swamps; pond and lake margins	Partial shade	Perching and nesting site for birds	Irregular to permanent inundation	Fresh water; < 0.5 ppt
<i>Typha angustifolia</i>	Narrow-leaved cattail	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Rapid; > 30 cm/yr	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Fresh and brackish marshes; pond edges	Full sun	Geese; ducks; muskrats; beaver; blackbirds; fish	Irregular to permanent inundation; up to 30 cm	Fresh to brackish; up to 15 ppt
<i>Typha latifolia</i>	Broad-leaved cattail	Emergent; herbaceous	Perennial; persistent	Rapid; > 30 cm/yr	Rhizome	0.6 to 1.8 m O.C.	Rhizome; bare root plant	Fresh marshes; pond margins	Full sun	Geese; ducks; muskrats; beavers; blackbirds; fish	Irregular to permanent inundation; up to 30 cm	Fresh water; < 0.5 ppt

cm/yr centimeters per year

O.C. on center

ppt parts per thousand

Source: Adapted from Thunhorst (1993).

Für die Versuchsreihen im Rahmen dieses Projektes wurden *Phragmites australis* (Schilf), *Acorus calamus* (Kalmus), *Iris pseudacorus* (Wasserschwertlilie), *Juncus effusus* (Flutterbinse), *Typhus laxmannii* (Laxmannscher Rohrkolben) sowie *Scirpus lacustris* (Teichbinse) ausgewählt.

Die Auswahl erfolgte auf Grund der nachfolgend beschriebenen Eigenschaften dieser Pflanzen, sowie ihrer Einsatzhäufigkeit in Pflanzenkläranlagen.

Phragmites australis (Schilf)

Phragmites australis (Poaceae) ist eine der am weitesten verbreiteten Pflanze der Welt. Das Verbreitungsgebiet von *Phragmites australis* umfasst fast alle Erdteile mit Ausnahme von einigen Tropengebieten (z.B. Amazonas-Gebiet), dem südlichsten Teil von Südamerika und Island. Seine nordöstliche Verbreitung reicht fast bis zum 70. Breitengrad, die obere Arealgrenze in Europa liegt in den Alpen und im Kaukasus bei ca. 1900 m Meereshöhe, in den Karpaten bei ca. 1200 m und im Norden Europas bei ca. 700 m (RODEWALD-RUDESCU 1974), während in Asien und Südamerika die Arealgrenze wesentlich höher bei 3000 m liegt.

In Europa kommt Schilf bestandsbildend als Verlandungspflanze an stehenden und langsam fließenden Gewässern auf nährstoffarmen bis nährstoffreichen Böden vor.

Diese große Biotopbreite, sowie die große morphologisch-anatomische und physikalische Variabilität des Schilfes und die Fähigkeit, ausgedehnte hochproduktive monospezifische Bestände zu bilden (HÜRLIMANN 1951, RODEWALD-RUDESCU 1974, BJÖRK 1967), prädestinieren *Phragmites* zum Einsatz bei der Phytoremediation wässriger Medien.

Schilf ist derzeit die am häufigsten in Pflanzenkläranlagen eingesetzte Pflanze. Zumeist wächst Schilf im Abwasser wie an seinem natürlichen Standort. Es ist ausgesprochen nitrophil und verträgt hohe organische Belastungen. Das Schilf ist die einzige Art der Poaceen, die mit ihren Rhizomen vertikal und horizontal wandert. Dabei kann der Boden über 2 m tief durchwurzelt werden. FEES 1992 zählte in einer Pflanzenkläranlage im Mittel pro m² 1802 Wurzeln und 47 Rhizome mit einem mittleren Durchmesser von 9,5-13,1 mm Durchströmfläche, wobei sich die Menge der für die Reinigungswirkung unentbehrlichen Haarwurzeln und Wurzelhärchen nur ahnen lässt.

Folgende morphologische und physikalische Eigenschaften des Schilfs werden bei der Phytoremediation genutzt (nach WISSING 1995):

- Das Schilf zeigt ein starkes Wasserbedürfnis, das die Niederschlagsmengen bei weitem übersteigen kann (RODEWALD-RUDESCU 1974). Dies ist vor allem beim Einsatz zur Entwässerung von Schlämmen von großer Bedeutung.
- Es ist gegenüber dem Boden- und Wasserchemismus relativ widerstandsfähig (RODEWALD-RUDESCU 1974)
- Es hat eine sehr große ökologische Amplitude und kann auch in staunassen, überfluteten und anaeroben Böden gedeihen (GESSNER 1995 und BURIAN 1973).
- Das reich verzweigte Rhizomsystem gewährleistet eine gute Durchwurzelung (vertikal und horizontales Wachstum der Rhizome)
- Durch das Aerenchym wird Luftsauerstoff in die Wurzeln transportiert. Bei ausreichender Sauerstoffversorgung kann Sauerstoff direkt an die Wurzelumgebung abgegeben werden, wo er zu chemischen und biochemischen Umsetzungsvorgängen genutzt werden kann (GRIES, KRETZSCHMAR & WIDMOSER 1991). Nach den Untersuchungsergebnissen verschiedener Autoren, liegt beim Schilfrohr der Eintrag von Sauerstoff über das Rhizomsystem im Jahresdurchschnitt bei 5 g pro m² und Tag, was immerhin rund 15 Litern Luft entspricht. Neben der direkten Abgabe von Sauerstoff durch die Rhizomwurzeln kommt noch hinzu, dass infolge der Wühlarbeit der Wurzeln und des Wasserentzugs durch die Pflanzen das Porenvolumen des Bodens vergrößert wird. Auf diese Weise erfolgt eine weitere Verbesserung der Sauerstoffversorgung (HOFMANN 1992).

Acorus calamus (Kalmus)

Acorus calamus (Acoraceae) stammt aus dem südöstlichen Asien und wurde im 16. Jahrhundert in Mitteleuropa eingeführt. „Vom Kalmus wird berichtet, die Mongolen hätten ihn auf ihren Feldzügen einst mitgebracht, weil sie um seine wasserreinigende Wirkung gewusst hätten“ (WISSING 1995).

Am natürlichen Standort besiedelt Kalmus Uferzonen nährstoffreicher, stehender oder langsam fließender Gewässer. Kalmus ist Wärme liebend und bis zur montanen Höhenstufe anzutreffen.

Rhizome und Blätter des Kalmus enthalten ätherische Öle (unter anderem Asaron), die in der Medizin (Magen) und Parfumherstellung eingesetzt werden. Die antibakterielle Wirkung dieser Inhaltstoffe ist bekannt. So schreibt WISSING 1995: „Es handelt sich um ein süßlich-zitronig riechendes ätherisches Öl von bitterem Geschmack, welches, dem Trinkwasser zugefügt, eine purifizierende und bakterizide Wirkung hat.“ Das Rhizom enthält in speziellen Ölzellen ca. 3,1 % ätherisches Öl, hauptsächlich beta-Aserin, neben Terpenen, Sesquiterpenen, Bitter- und Gerbstoffen. GRADL ET. AL. 1994 konnten bei Untersuchungen von Technikums-Pflanzenkläranlagen deutlich verbesserte Keimeliminationsraten beim Einsatz von Kalmus als beim Einsatz von Schilf feststellen.

Nach WISSING 1995, ist *Acorus calamus* eine bestandsbildende Art, die in Pflanzenkläranlagen einsetzbar ist. Die Rhizome zeigen schnellen Wuchs, sind aber nur an wenigen Stellen mit grünen Trieben versehen. Ältere Rhizomteile werden schon ab der zweiten Vegetationsperiode wieder abgebaut. Ein *Acorus* Bestand ist wenig konkurrenzfähig gegenüber eindringenden anderen Arten ist.

Iris pseudacorus (Sumpfschwertlilie)

Iris pseudacorus (Iridaceae) ist in Europa heimisch. Das Verbreitungsgebiet erstreckt sich bis Westsibirien. *Iris pseudacorus* ist mehrjährig, hat dicke, waagrecht kriechende Rhizome, und eine Wuchshöhe von 50-100 cm. Sie bevorzugt sonnige, bis halbschattige Plätze, hat jedoch eine breite ökologische Amplitude gegenüber den meisten Standortfaktoren. Nach WISSING 1995, ist sie neben einigen Seggen, die einzige halbschattenverträgliche Art unter den helophytischen Repositionspflanzen.

Das Rhizom ist gerbstoffreich (ca. 5% des Frischgewichts). Die Inhaltsstoffe haben eine schwach giftige Wirkung. *Iris pseudacorus* wurde früher als diuretisches Mittel in der Medizin benutzt, und wird heute kaum mehr verwendet. Auf Grund der Verwechslungsmöglichkeiten der Rhizome mit jenen von Kalmus, wurde es auch als „falscher Kalmus“ bezeichnet.

Laut Wissing 1995, ist die Sumpfschwertlilie in Pflanzenkläranlagen auf Grund ihrer dekorativen Blüten eine häufig verwendete Art. Einzelstehende Horste haben auch

gegenüber den großen Röhrichtarten eine langjährige Behauptungsmöglichkeit. Kleinwüchsige monokotyle Arten, aber auch dikotylen Helophyten, vertragen sich mit der Schwertlilie gut.

Juncus effusus (Flutter-Binse)

Juncus effusus (Juncaceae) ist außer in der Arktis auf der gesamten Nordhalbkugel verbreitet. *Juncus* ist mehrjährig, mit einer Wuchshöhe von 30-120 cm und stark horstbildend. Sie bevorzugt staunasse, nährstoffreiche, meist kalkarme Böden und ist auf Feuchtwiesen, in Mooren oder auf staunassen Flächen anzutreffen. Optimale Bedingungen sind feuchte, saure, mäßig stickstoffreiche Böden. *Juncus effusus* hat starkes Wurzelwachstum. In Pflanzenkläranlagen wird *Juncus effusus* meist nur in „extensiven“ Anlagen mit artenreichen Strukturen gepflanzt (Wissing 1995).

SEIDL 1966 fand in ihren Untersuchungen zur Keimelimination in Pflanzenkläranlagen eine große Hemmwirkung in mit *Juncus* bepflanzten Beeten.

Scirpus lacustris (Teich- oder Flechtbinse/Teichsimse)

Die Gattung *Scirpus* (Cyperaceae) ist ein Kosmopolit, hat aber sehr viel deutlicher als das Schilf eigenständige Arten in verschiedenen Teilen der Welt gebildet. Es gibt darunter Arten mit sehr engen ökologischen Amplituden und hoher spezifischer Anpassung (z.B. hohe Salzverträglichkeit), was die Gattung insgesamt gesehen, interessant für den Einsatz bei der Phytoremediation unterschiedlicher Medien macht.

Die bei uns heimische Art, *Scirpus lacustris* (Teich- oder Flechtbinse) bildet im natürlichen Standort im Bereich der Rhizome ein sehr stabiles und reißfestes Wurzelgeflecht. Die Rhizome wachsen dicht an der Oberfläche bindiger oder kiesiger Böden unter der Faulschicht des Detritus. Neue Rhizome kriechen über alte Rhizome, dazwischen bildet sich eine fruchtbare Schicht aus Detritus und abgestorbenen Wurzeln.

Die Anpassung der großen Teichbinse an verschiedenste Abwässer (bis 3000 mg CSB/l) ist beträchtlich. Sie verträgt hohe organische Belastungen und Nährstoffkonzentration. Wie das Schilf gilt sie als Nährstofffresser.

Typha latifolia (Breitblättriger Rohrkolben)
Typha laxmannii (Laxmann'scher Rohrkolben)

Die Gattung Typha (Typhaceae) ist kosmopolisch verbreitet, allerdings ist die Häufigkeit der einzelnen Arten unterschiedlich. Typha latifolia (breitblättriger Rohrkolben) hat eine sehr weite Verbreitung. Diese erstreckt sich von den temperierten Zonen der Nordhalbkugel bis nach Südamerika und Teilen Afrikas.

Typha latifolia wird bei vielen wasserbaulichen Maßnahmen verwendet. Er ist unter den Helophyten insofern eine Ausnahme, als seine Samenvermehrung auch unter natürlichen Bedingungen problemlos verläuft. Allerdings zeigt er gegenüber Bodenverhältnissen nur eine schmale ökologische Amplitude. Auf feuchten lehmigen Böden ohne Bewuchs können sich schnell große Bestände bilden. Bei Feuchtigkeitsmangel, der bei vorübergehender Trockenheit in tonigen Böden schneller erreicht wird als in sandigen, können die Bestände aber genauso schnell zusammenbrechen. In Konkurrenz mit den anderen großen Röhrichtpflanzen, wie Phragmites (Schilf) und Scirpus (Teichbinse), wird der flachwurzelnende Rohrkolben zurückgedrängt (WISSING 1995).

Auf Grund der bestandsbildenden Eigenschaften, findet sich Typha latifolia häufig in Pflanzenkläranlagen. Als „Flachwurzler“ ist er allerdings nur in flachen, horizontal durchströmten Becken sinnvoll einsetzbar. Die Rhizome des Rohrkolbens sind sehr lang und reich an Stärke, allerdings auch relativ kurzlebig und vor allem empfindlich gegenüber Druck und Trockenheit.

Im Gegensatz zu Schilf haben die Pflanzenteile des Rohrkolbens ein niedriges C/N-Verhältnis, abgestorbene Pflanzenteile sowie Bestandsabfall können daher auf der Oberfläche einer Pflanzenkläranlage zu einer Sekundärverschmutzung führen (WISSING 1995). In Rohrkolbenbeständen wurden hohe Einträge von Sauerstoff in den Wurzelbereich (STENGEL 1991) festgestellt, was für den Einsatz zur Wasserreinigung spricht.

Typha laxmannii (Laxmannscher Rohrkolben) ist in ganz W-Eurasien heimisch. Vor allem in jüngster Zeit wird er verstärkt im Handel angeboten und findet insbesondere in Gartenteichen verstärkten Einsatz. Die Wuchsform von Typha laxmannii ist im Vergleich zu Typha latifolia etwas kleiner, daher wurde er für die Laborversuche ausgewählt. Relevante Eigenschaften für den Einsatz in Pflanzenkläranlagen sind ähnlich wie jene von Typha latifolia.










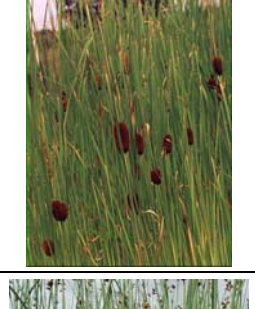


Versuchspflanzen		
Phragmites australis (Schilf)		
Acorus calamus (Kalmus)		
Iris pseudacorus (Wasser-Schwertlilie)		
Juncus effusus (Flatter-Binse)		
Typha laxmannii (Laxmanns Rohrkolben)		
Scirpus lacustris (Teich Binse)		

Abbildung 5: Versuchspflanzen

Die Versuchspflanzen wurden als Jungspflanzen in Töpfen mit handelsüblicher Gartenerde in einer Gärtnerei angekauft, und im Klimaschrank unter standardisierten Bedingungen vorgezogen. Die Umweltbedingungen im Klimaschrank hatten eine Temperatur von 21°C, eine Luftfeuchte von 45 %, und einen Rhythmus von 15 Stunden Tag und 9 Stunden Nacht.

Für die Versuche wurden die Pflanzen jeweils zwei Wochen vor Beginn der Versuche in eine handelsübliche Universal-Nährlösung („Bluesana“) überführt. Diese Lösung besteht aus 6 % Ges-Stickstoff, 1 % Nitrat, 5 % Karbonit-Stickstoff, 3 % wasserlösliches Phosphat, 6 % Kaliumoxid, 0,01 % Bor, 0,01 % Kupfer, 0,03 % Eisen (als Chelat EDTA), 0,01 % Mangan und 0,002 % Zink.

Vor der Überführung in die Nährlösung wurden die Wurzeln der jeweiligen Versuchspflanzen mit normalem Wasser gewaschen und weitgehend von Erde befreit. Die Pflanzen zeigten sowohl in den Erdtöpfen, als auch nach der Überführung in die Universal-Nährlösung sehr gutes Wachstum.

Bis auf die Versuche mit Extraktionen, die teilweise mit getrockneten Kalmus- und Schilfwurzeln durchgeführt wurden, wurden für die Versuche Frischpflanzen verwendet.

3.2 ANTIBAKTERIELLE WIRKUNGEN VON WURZELEXTRAKTEN

Die Evaluierung der geeigneten Methodik zur Beurteilung eines antibiotischen Effektes erfolgte anhand von Extrakten aus Wurzeln und Rhizomen ausgewählter Versuchspflanzen.

Als Versuchspflanzen wurde *Phragmites australis* (Schilf) verwendet sowie, *Acorus calamus* (Kalmus) als Referenzpflanze, da die grundsätzliche antibiotische Wirksamkeit von Inhaltsstoffen der Kalmuswurzeln bekannt ist.

Zur Gewinnung der Extrakte wurden unterschiedliche Extraktionsmethoden verwendet. Dies deshalb, da mit den gewählten Methoden unterschiedliche Stoffgruppen aus den Wurzeln bzw. Rhizomen herausgelöst werden können.

Die verwendeten Verfahren waren

- Lösungsmittlextraktion (Hexan, Ethanol)
- Wasserdampfdestillation
- Wässriger Auszug

Die mit der jeweiligen Methode extrahierten Wurzellösungen wurden jeweils einzeln auf ihre bakterienhemmenden oder bakterizide Wirkung getestet.

Spezifische Hemmwirkungen wurden hinsichtlich der Beeinflussung des Wachstumsverhalten von Indikatorkeimen, unter standardisierten Bedingungen, quantifiziert. Als Referenzstamm zur Beurteilung der inhibitorischen Wirkungen wurde *Escherichia coli*, ein gramnegatives Bakterium aus der Familie der Enterobacteriaceae, welches sich leicht nachweisen lässt und als Indikator bei fäkalen Verunreinigungen dient, eingesetzt.

Zur Austestung eines hemmenden Effektes der gewonnenen Wurzelextrakte wurden einem Vollmedium (Standard-I-Nährbouillon MERCK) unterschiedliche Konzentrationen der jeweiligen Extrakte zugesetzt und mit einer Vorkultur von *E.coli* beimpft. Als Referenz wurden beimpfte Ansätze des Vollmediums ohne Extraktzusätze herangezogen. Die Ansätze wurden in einem Schüttelinkubator über 24 Stunden bei 37°C inkubiert und anschließend die Keimkonzentration bestimmt. Dies erfolgte mittels eines Bac Trac Impedanzanalysators. Dabei handelt es sich um ein mikrobielles Detektionssystem basierend auf der elektrischen Impedanzmessung. Durch die mikrobiellen Stoffwechselfvorgänge kommt es zu einer Veränderung der Ionenkonzentration im Kulturmedium und an der Oberfläche der Messelektroden. Das Messgerät registriert in spezifischer Weise die daraus resultierenden zeitlichen Änderungen der Impedanz.



Abbildung 6: Messgerät - Bac Trac 4100

3.2.1 Extraktion mit Lösungsmitteln

In einem ersten Schritt wurde die Extraktion mit unterschiedlichen Lösungsmitteln ausgetestet und deren Einfluss auf das mikrobielle Wachstum detektiert.

Dazu wurden die gewaschenen, luftgetrockneten Wurzeln und Rhizome von Schilf (Frischpflanzen) und Kalmus (getrocknete Wurzeln) im Labor zuerst händisch, dann mit einer Mühle zerkleinert und extrahiert.

Die Extraktion erfolgte mit dem Verfahren der beschleunigten Lösungsmittelextraktion, der „Accelerated Solvent Extraction (ASE 100)“. Dies ist eine Technik zur Extraktion von festen und pastösen Proben. Unter hohem Druck und/oder Temperaturen von 120 - 180 °C werden in Gegenwart von geeigneten Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen organische Wirkstoffe aus festen Matrices herausgelöst. Die Temperaturen können aber auch je nach Anwendung niedriger gewählt werden. Das ASE-Verfahren vereinigt die Vorteile des Kaltextraktionsverfahrens mit den Vorzügen der Heißextraktion. Gleichzeitig werden Nachteile, wie z.B. Emulsionsbildung (Kaltextraktion) oder Zersetzung von organischen Wirkstoffen (Heißextraktion) vermieden. Während die Temperatur die Extraktionskinetik beschleunigt, hält der Druck das Lösungsmittel im flüssigen Zustand und erlaubt dadurch schnelle und einfache Extraktionen. Die ASE zeichnet sich weiters im Vergleich zu den konventionellen Extraktionsverfahren durch einen geringen Lösungsmittelverbrauch, kurze Extraktionszeiten und den hohen Grad der Automation aus. Durch die Extraktion unter Schutzgas (Stickstoff) können die Inhaltsstoffe besonders schonend extrahiert werden. Dies betrifft vor allem Stoffe, die unter Lufteinfluss leicht oxidieren (z.B. Antioxidantien).

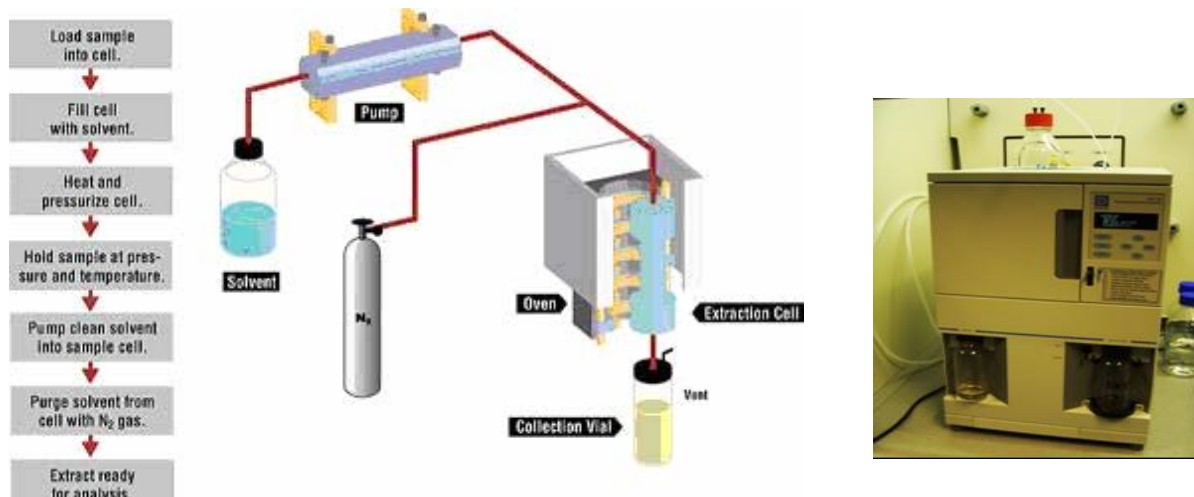


Abbildung 7: Dionex ASE 100 Extractor

Als Extraktionsmittel wurde sowohl n-Hexan, als auch Ethanol in unterschiedlichen Verdünnungsstufen verwendet. Weiters erfolgte die Extraktion sowohl bei 100 °C als auch bei 40°C.

Nachfolgende Tabelle zeigt die unterschiedlichen Versuchsreihen zur Extraktion der Inhaltstoffe von *Phragmites australis* (Schilf) und *Acorus calamus* (Kalmus) Wurzeln bzw. Rhizomen.

	Pflanze (g)	Extraktionsmittel (ml), Temperatur	Extraktionskonz. (g/ml)
Extract 1	<i>Phragmites australis</i> 2,156 g	n-Hexan 40°C 12,5 ml	0,17 g/ml
Extract 2	<i>Phragmites australis</i> 2,038 g	n-Hexan 100°C 15,5 ml	0,13 g/ml
Extract 3	<i>Phragmites australis</i> 2,087 g	Ethanol 20% 100°C 13 ml	0,16 g/ml
Extract 4	<i>Phragmites australis</i> 2,089 g	Ethanol 20% 40°C 14,5 ml	0,14 g/ml
Extract 5	<i>Acorus calamus</i> 4,163 g	n-Hexan 40°C 11,5 ml	0,36 g/ml
Extract 6	<i>Acorus calamus</i> 4,013 g	n-Hexan 100°C 11 ml	0,36 g/ml
Extract 7	<i>Acorus calamus</i> 4,036 g	Ethanol 20% 100°C 8,5 ml	0,47 g/ml
Extract 8	<i>Acorus calamus</i> 4,531 g	Ethanol 20% 40°C 7 ml	0,65 g/ml

Extract 9	<i>Acorus calamus</i> 28,203 g	Ethanol 5% 40°C 100 ml	0,28 g/ml
Extract 10	<i>Acorus calamus</i> 28,071 g	Ethanol 10% 40°C 105,5 ml	0,26 g/ml
Extract 11	<i>Acorus calamus</i> 28,460 g	Ethanol 15% 40°C 96 ml	0,30 g/ml
Extract 12	<i>Acorus calamus</i> 30,060 g	Ethanol 20% 40°C 104 ml	0,29 g/ml
Extract 13	<i>Phragmites australis</i> 1,169 g	Ethanol 10% 40°C 18 ml	0,06 g/ml
Extract 14	<i>Phragmites australis</i> 1,169 g	n-Hexan 40°C 15,4 ml	0,07 g/ml
Extract 15	<i>Phragmites australis</i> 2.25 g	Ethanol 10% 40°C 27 ml	0,98g/ml

Tabelle 1: Extraktionsergebnisse von *Acorus calamus* und *Phragmites australis*.

Hemmwirkungen - *Acorus calamus* (Kalmus)

Tests mit *Acorus calamus* dienten, aufgrund bekannter bakteriozider Wirkungen, u.a. der Optimierung und Evaluierung des Versuchsdesigns. Variiert wurden innerhalb dieses Testzyklus die Art des Lösungsmittels als auch die Extraktionstemperatur.

Die Ergebnisse zeigten grundsätzlich, das n-Hexan als Lösungsmittel bei der Extraktion für diese Zwecke nicht geeignet ist. Der antibakterielle Effekt des Lösungsmittels überlagert mögliche Wirkungen der Extraktinhaltsstoffe, sodass keine Aussage in Bezug auf die Pflanzen selbst gemacht werden kann. Aus diesem Grund wurde bei den weiteren Extraktionen nur mehr Ethanol als Lösungsmittel verwendet. Auf Basis der vergleichenden Untersuchungsergebnisse wurde für weiterführende Tests ausschließlich Ethanol als Lösungsmittel und eine Extraktionstemperatur von 40°C gewählt.

Grundsätzlich konnten für die Extrakte aus den Kalmus Wurzeln und Rhizomen eindeutige antibakterielle Effekte verifiziert werden, was auch aus der Literatur bekannt ist.

In den nachfolgenden Tabellen sind die Ergebnisse der Untersuchungen zur Keimhemmung der Ethanolextrakte der Kalmuswurzeln und -rhizome zusammengefasst dargestellt.

Extraktionsmittel	Konzentration (mg/ml)	Ethanol Konzentration%	KBE/ml	Hemmung in %
Ethanol 5%	28	0,5	1,50E+08	34,78
	56	1	2,90E+07	87,39
	112	2	5,80E+06	97,48
	168	3	9,20E+05	99,60
	224	4	5,60E+05	99,76
Ethanol 10%	26	1	1,40E+08	39,13
	52	2	3,10E+07	86,52
	104	4	3,40E+04	99,99
	156	6	1,70E+05	99,93
	208	8	5,80E+04	99,97
Ethanol 15%	30	1,5	7,30E+07	68,26
	60	3	1,60E+06	99,30
	120	6	2,50E+04	99,99
	180	9	1,80E+04	99,99
	240	12	1,60E+04	99,99
Ethanol 20%	29	2	1,90E+07	90,50
	58	4	7,30E+06	96,35
	116	8	1,80E+05	99,91
	174	12	1,60E+04	99,99
	232	16	7,00E+03	100,00

Tabelle 2: Testergebnisse mit Kalmus

Extraktionsmittel	Konzentration (mg/ml)	Konzentration %	KBE/ml	Hemmung %
n-Hexan 40°C	36	0,1	1,90E+06	99,39
	3,6	0,01	3,20E+07	89,68
	0,36	0,001	2,90E+08	6,45
n-Hexan 100°C	36	0,1	3,90E+06	98,74
	3,6	0,01	2,40E+07	92,26
	0,36	0,001	2,60E+08	16,13
Ethanol 20% 100°C	47	0,2	6,40E+07	79,35
	4,7	0,02	3,10E+08	Keine Hemmung
	0,47	0,002	3,20E+08	Keine Hemmung
Ethanol 20% 40°C	65	0,2	4,10E+07	86,77
	6,5	0,02	2,60E+08	16,13
	0,65	0,002	2,80E+08	9,68

Tabelle 3: Testergebnisse mit Kalmus mit n-Hexan und Ethanol bei 100 °C bzw. 40 °C

Hemmwirkungen - Phragmites australis (Schilf)

Nachfolgende Tabellen geben einen Überblick über die Untersuchungsergebnisse der Extraktion von Schilfwurzeln und Rhizomen mit unterschiedlichen Lösungsmitteln bei unterschiedlichen Temperaturen, und zeigen die Keimhemmung der derart gewonnenen Extrakte.

Extraktionsmittel	Konzentration (mg/ml)	Lösungsmittel Konzentration %	KBE/ml	Hemmung %
n-Hexan 40°C	17	0,1	1,70E+03	100,00
	1,7	0,01	4,50E+07	83,33
	0,17	0,001	7,40E+07	72,59
n-Hexan 100°C	13	0,1	3,50E+03	100,00
	1,3	0,01	1,10E+08	59,26
	0,13	0,001	9,00E+07	66,67
Ethanol 20% 100°C	16	0,2	1,10E+08	59,26
	1,6	0,02	9,10E+07	66,30
	0,16	0,002	1,80E+08	33,33
Ethanol 20% 40°C	14	0,2	6,60E+07	75,56
	1,4	0,02	1,20E+08	55,56
	0,14	0,002	1,50E+08	44,44

Tabelle 4: Testergebnisse mit Schilf mit n-Hexan und Ethanol bei 100 °C bzw. 40 °C.

Extraktionsmittel	Konzentration (mg/ml)	Konzentration %	KBE/ml	Hemmung %
n-Hexan	7	0,1	7,60E+07	keine Hemmung
	0,7	0,001	1,90E+04	63,46
	0,07	0,001	2,90E+04	44,23
Ethanol 10%	6	1	6,80E+03	86,92
	0,6	0,1	2,30E-02	100,00
	0,06	0,01	1,90E-01	100,00

Tabelle 5: Hemmwirkung von Schilfextrakten mit n-Hexan und Ethanol bei 100 °C bzw. 40 °C.

Tests mit *Acorus calamus* dienten, aufgrund bekannter bakteriozider Wirkungen, u.a. der Optimierung und Evaluierung des Versuchsdesigns. Variiert wurden innerhalb dieses Testzyklus die Art des Lösungsmittels als auch die Extraktionstemperatur.

Die Ergebnisse zeigten grundsätzlich, das n-Hexan als Lösungsmittel bei der Extraktion für diese Zwecke nicht geeignet ist. Der antibakterielle Effekt des Lösungsmittels überlagert mögliche Wirkungen der Extraktinhaltsstoffe, sodass keine Aussage in Bezug auf die Pflanzen selbst gemacht werden kann. Aus diesem Grund wurde bei den weiteren Extraktionen nur mehr Ethanol als Lösungsmittel verwendet. Auf Basis der vergleichenden Untersuchungsergebnisse wurde für weiterführende Tests ausschließlich Ethanol als Lösungsmittel und eine Extraktionstemperatur von 40°C gewählt.

Bei Schilf (*Phragmites australis*) waren Unterschiede in der hemmenden Wirkung zwischen Extrakten aus getrockneten und aus frischen Wurzeln bzw. Rhizomen festzustellen. Ein eindeutiger antibakterieller Effekt der Lösungsmittelextrakte aus den Schilfwurzeln bzw. Rhizomen konnte jedoch im Rahmen dieser Untersuchungen nicht verifiziert werden.

3.2.2 Wasserdampfdestillation

Ergänzend zu den Lösungsmittlextraktionen wurden für Kalmus Wasserdampfdestillationen zur Gewinnung ätherischer Öle durchgeführt. Kalmus enthält im Rhizom als antibakteriell wirkende Substanzen, rund 3,1 % ätherisches Öl, mit den Hauptbestandteilen alpha und beta-Aserin sowie Terpene, Sesquiterpene, und Bitter- bzw. Gerbstoffe (GRADL et al. 1994).

Die antibiotische Wirkung von Substanzen aus Kalmuswurzeln ist hinlänglich bekannt, sodass bei einer Verifizierung dieser Wirkung über den für das Projekt gewählten Methodenansatz, auch eine Evaluierung dieses Ansatzes möglich wurde.

Die Destillation erfolgte über eine Laborwasserdampfdestille (Labordestille UMWEX 100 – 1000 UMW-Extraktionsanlage, Innendurchmesser: 100 mm; Höhe: 1000 mm)) Die Anlagenteile sind aus Glas angefertigt, so dass eine Beobachtung des Destillationsvorganges möglich ist. Bei diesem Gewinnungsverfahren wird in der sogenannten Destillationsblase gesättigter Wasserdampf durch einen Pflanzenschüttkörper geleitet. Dabei verdampft auch das in den Pflanzenteilen enthaltene ätherische Öl und steigt gemeinsam mit dem Wasserdampf auf. Das gasförmige Öl-/Wassergemisch wird dann in einem Kondensator wieder verflüssigt. Die eigentliche Abtrennung des ätherischen Öls erfolgt in einer Trennvorrichtung aufgrund des Prinzips der unterschiedlichen Dichten von ätherischem Öl und Wasser. Das abfließende Kondensat wird Hydrolat bzw. Aromawasser genannt, weil sich darin noch kleinste Tröpfchen ätherischen Öls befinden, die dem Wasser den entsprechenden Duft- bzw. Geschmack verleihen.

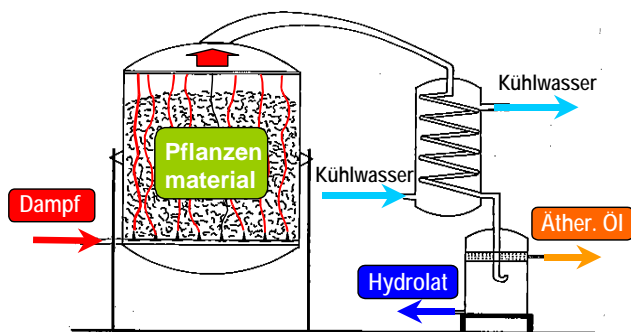


Abbildung 8: Schema einer Wasserdampfdestillationsanlage sowie die Wasserdampfdestille im Labor von Joanneum Research

Die Destillation erfolgte mit 500g zerkleinerter, getrockneter Wurzel- und Rhizomteilen von Kalmus, bei einer Zeit von rund 50 Minuten mit einem Verbrauch von 2 Liter Aqua dest. Aus den 500g Wurzeln konnte 8g ätherisches Öl gewonnen werden. Das Öl und das Hydrolat wurden bis zu weiterführenden Untersuchungen in Plastikflaschen bei -20°C, dunkel gelagert.

Untersuchungen zu möglichen bakteriziden Wirkungen wurden sowohl mit dem gewonnenen Öl als auch dem Hydrolat durchgeführt.

	Öl Konzentration (mg/kg)	KBE/ml	Hemmung %	Ethanol Konzentration %
Öl	80	2,90E+04	99,98	1
mit	160	0,00	100,00	2
Ethanol	320	0,00	100,00	4
20%	480	0,00	100,00	6

Tabelle 6: Hemmwirkung des ätherischen Öls aus Kalmuswurzeln und -rhizomen

	Verdünnungsfaktor	KBE	Hemmung in %
Hydrolat	0,1	1,70E+08	0,00
	0,2	1,50E+08	11,76
	0,4	1,20E+08	29,41
	0,6	6,10E+07	64,12
	0,8	1,90E+07	88,82

Tabelle 7: Hemmwirkung des Hydrolates aus Kalmuswurzeln und –rhizomen

Inkubation	Ölkonzentration (mg/kg)	KBE/ml	Hemmung in %	Ethanolkonz. %
0 Stunden	16	3,30E+04	25,00	0,02
	40	6,70E+03	84,77	0,05
	120	0,00	100,00	0,15
4 Stunden	16	6,60E+02	96,53	0,02
	40	6,10E-02	100,00	0,05
	120	0,00	100,00	0,15
8 Stunden	16	1,20E-01	100,00	0,02
	40	0,00	100,00	0,05
	120	0,00	100,00	0,15
12 Stunden	16	0,00	100,00	0,02
	40	0,00	100,00	0,05
	120	0,00	100,00	0,15
	160	0,00	100,00	0,2
20 Stunden	16	0,00	100,00	0,02
	40	0,00	100,00	0,05
	120	0,00	100,00	0,15
	160	0,00	100,00	0,2
24 Stunden	16	0,00	100,00	0,02
	40	0,00	100,00	0,05
	120	1,00E-02	100,00	0,15
	160	0,00	100,00	0,2

Tabelle 8: Hemmwirkung von Ätherischem Öl aus Kalmuswurzeln und –rhizomen in Abhängigkeit der Inkubationszeit

Wie die in den Tabellen dargestellten Ergebnisse zeigen, konnte ein eindeutiger bakteriostatischer Effekt in Abhängigkeit der Inkubationszeit bei dem ätherischen Öl aus Kalmuswurzeln- und –rhizomen verifiziert werden. Bei allen getesteten Konzentrationen wurde eine 100%ige Hemmung des Bakterienwachstums festgestellt. Die durchgeführten Zeitreihen mit unterschiedlicher Einwirkzeit des

ätherischen Öls auf die Mikroorganismenpopulation zeigten selbst in unterschiedlichen Verdünnungsreihen nach 8 Stunden Inkubationsdauer eine 100%ige Hemmung. Auch die Hydrolate zeigten signifikante antibakterielle Wirksamkeit.

Die oben dargestellte Verifizierung des keimhemmenden Effekts von ätherischem Öl aus Kalmusrhizomen, erlaubte die positive Evaluierung der gewählten Methodik zur Testung der Keimhemmung für die im Rahmen des Projekts durchgeführten Versuche.

3.2.3 Wässrige Extrakte

Zur Gewinnung von wässrigen Extrakten aus den Wurzeln und Rhizomen wurden frische, im Klimaschrank in einer Standard Nährlösung vorkultivierte Versuchspflanzen verwendet.

Die Wurzeln und Rhizome der jeweiligen Pflanze wurden zerkleinert und vermahlen. Je 10,5g (Frischgewicht) der so vermahlenden Wurzelmasse wurde in 200 ml destilliertem Wasser 10 min mit dem Ultraschallstab aufgeschlossen und 24 h im Schüttler bei Zimmertemperatur ausgezogen. Diese Lösung wurde dann abzentrifugiert (10 min bei 40.000 Umdrehungen) und abfiltriert (Filtergröße 0,45 µ).

Die auf diese Weise gewonnenen Extrakte wurden in einer ersten Versuchsserie, zur Quantifizierung möglicher bakterizider Wirkungen, ohne Vorinkubation mit in unterschiedlichen Konzentrationen getestet.

Die Untersuchungen wurden mit *Phragmites australis* (Schilf), *Acours calmus* (Kalmus) und *Iris pseudacorus* (Schwertlinie) in dreifacher Wiederholung durchgeführt.

In nachfolgender Abbildung sind die Ergebnisse dargestellt.

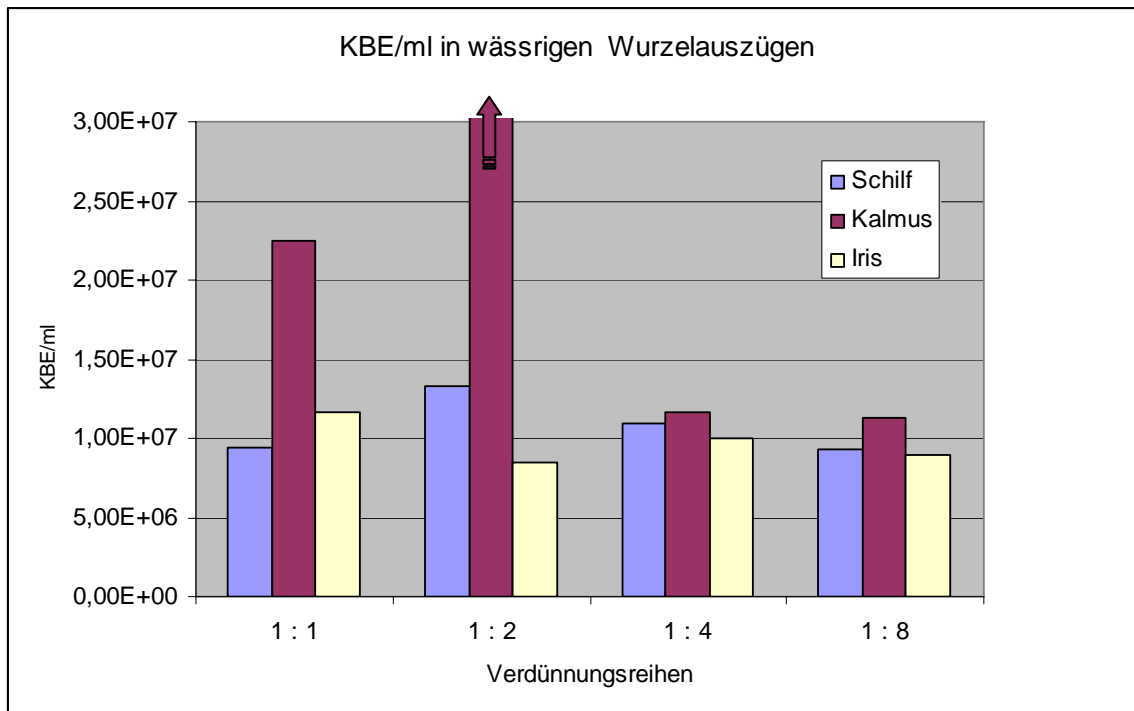


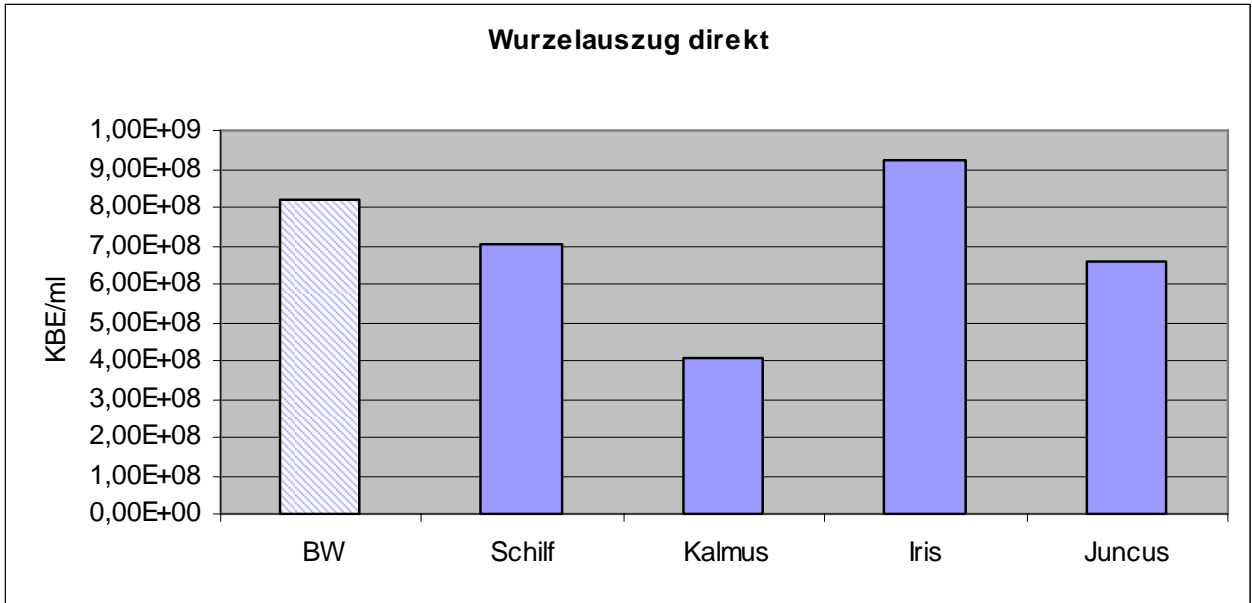
Abbildung 9: KBE in wässrigen Wurzelaustrüngen von Schilf, Kalmus und Iris (E. coli KBE/ml)

Die Abbildung verdeutlicht Unterschiede der Keimhemmung in Abhängigkeit der drei verschiedenen Versuchspflanzen und der Verdünnungsreihen, die jedoch nicht signifikant sind. Ein Nachweis einer möglichen bakteriziden Wirkung konnte somit nicht erbracht werden.

In einem weiteren Versuch wurde der wässrige Wurzelaustrüg anstatt in Aqua dest. mit Standard I Nährboullion (MERK) durchgeführt (10,5 g FG vermahlene Wurzelmasse in 200 ml Standard I Nährboullion). In bezug auf das Versuchsdesign hatte dies zum Zweck in der weiterführenden Behandlung höhere Extraktkonzentrationen einsetzen zu können bzw. um zu gewährleisten, dass in der Inkubationsphase keine Nährstofflimitierung auftritt.

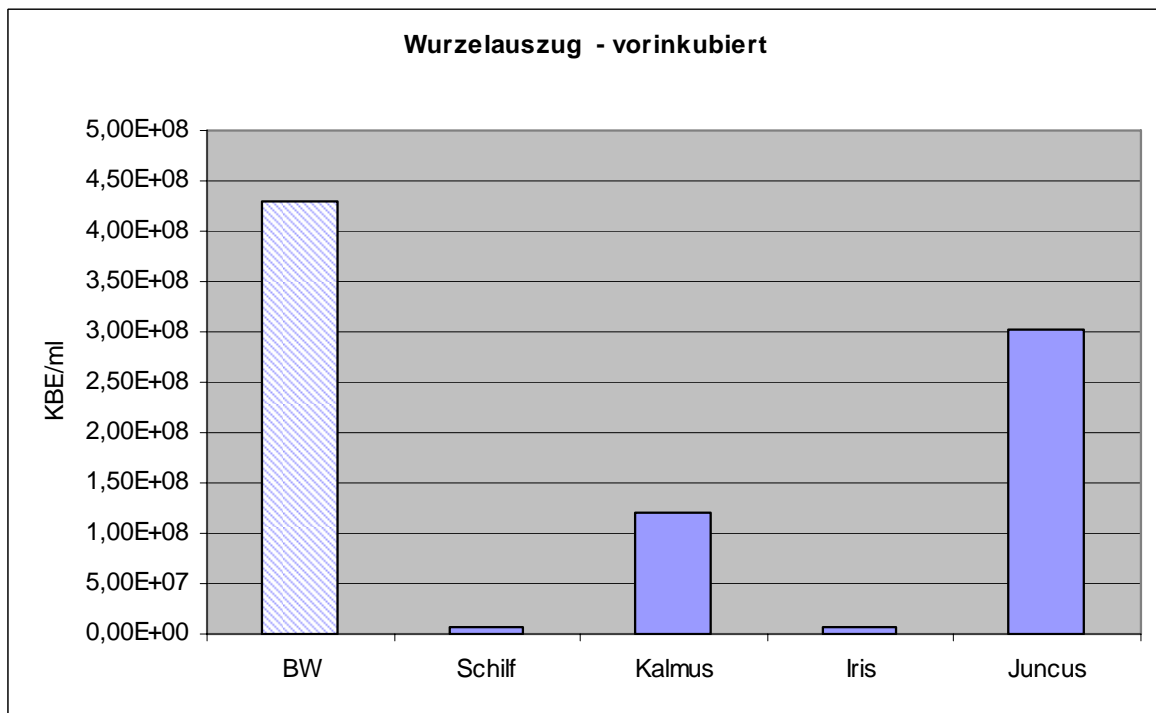
Die so gewonnenen Wurzelextrakte wurden sowohl ohne als auch mit 24-stündiger Vorinkubation bei 37 °C, auf ihre keimhemmende Wirkung getestet.

Die Ansätze erfolgten in jeweils zweifacher Wiederholung mit den Versuchspflanzen *Phragmites australis* (Schilf), *Acorus calamus* (Kalmus), *Iris pseudacours* (Schwertlilie) und *Juncus effusus* (Binse).



BW = Blindwert: Standardnährlösung + E. coli

Abbildung 10: Hemmende Effekte von Wurzelauszügen von Schilf, Kalmus, Iris und Juncus ohne Vorinkubation (E. coli KBE/ml)



BW = Blindwert: Standardnährlösung + E. coli

Abbildung 11: Hemmende Effekte von Wurzelauszügen von Schilf, Kalmus, Iris und Juncus nach 24 stündiger Vorinkubation bei 37°C (E. coli KBE/ml)

Wie die Abbildungen verdeutlichen, waren bei beiden Versuchsvarianten die gemessenen Keimkonzentrationen in den Ansätzen mit Wurzelextrakten gegenüber dem Ansatz ohne Extraktzugabe (Blindwert) wesentlich verringert.

Aus nachfolgender Tabelle ist die prozentuelle Hemmwirkung der einzelnen Wurzel- bzw. Rhizomextrakte ersichtlich.

	Direktzugabe	24 h inkubiert
	Hemmwirkung in %	Hemmwirkung in %
Schilf	14,02	98,63
Kalmus	50,61	72,09
Iris	keine Hemmung	98,29
Juncus	19,51	29,88

Tabelle 9: Hemmwirkung von wässrigen Wurzelextrakten

Die Extrakte aus den Kalmuswurzeln zeigen bereits bei direkter Zugabe eine bakteriostatische Wirkung. Das Keimwachstum war um ca. 50 % gegenüber einer unbehandelten Probe verringert, bei längerer Inkubation (24 h bei 37°C) stieg der keimhemmende Effekt auf 72 %.

Die Proben mit Schilfwurzelextrakt zeigten bei direkter Zugabe eine Reduktion des Keimwachstums um 14 % gegenüber der unbehandelten Probe. Die mit Schilfwurzelextrakt vorinkubierten Proben brachten eine nahezu völlige Verhinderung des Keimwachstums (98,6 %ige Wachstumsverringerng gegenüber der Blindprobe) mit sich.

Die Juncusextrakte bewirkten eine Verringerung des Keimwachstums um ca. 19,5 % bei direkter Zugabe und um ca. 30 % bei den vorinkubierten Proben.

Die Hemmwirkung der Wurzelextrakte von Iris ps. war bei der direkten Zugabe nicht messbar, bei den vorinkubierten Proben zeigte sich eine beinahe völlige Hemmung des Wachstums.

3.3 ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG VON WURZELEXSUDATE

3.3.1 Gewinnung und Quantifizierung der Wurzelexsudate

Die Versuchspflanzen wurden im Klimaschrank unter definierten Umweltbedingungen (Temperatur 21°C, Relative Luftfeuchte 45 %, 15 Stunden Tag, 9 Stunden Nacht) in Töpfen mit normaler Erde vorkultiviert. 2 Wochen vor Beginn der jeweiligen Untersuchungen, wurden die Pflanzen in eine handelsübliche Universal-Nährlösung überführt. Dazu wurden zuvor die Wurzeln der jeweiligen Versuchspflanzen mit Wasser gewaschen und weitgehend von Erde befreit. Die Pflanzen zeigten sowohl in den Erdtöpfen, als auch nach der Überführung in die Universal-Nährlösung sehr gutes Wachstum.

Die Gewinnung der Wurzelexsudate erfolgt in Batch-Kulturen (modifiziert nach Moormann 2001). Dazu wurden jeweils mehrere Versuchspflanzen in 500 ml Bechergläser mit Mineralsalzlösung nach Hill (siehe Tabelle 10) überführt.

Nährlösung nach Hill (1996) modifiziert nach Moormann 2001				
Lösung I			Lösung II	
KH ₂ PO ₄	840 mg/l		H ₃ BO ₃	300 mg/l
K ₂ HPO ₄	750 mg/l		CoCl ₂	200 mg/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	488 mg/l		ZnSO ₄ x 7H ₂ O	100 mg/l
NaCl	60 mg/l		MnSO ₄	30 mg/l
CaCl ₂	60 mg/l		Na ₂ MoO ₄	30 mg/l
MgSO ₄	60 mg/l		Ni(NO ₃) ₂	20 mg/l
FeCl ₂	6 mg/l		CuCl ₂	10 mg/l
1 ml von Lösung II auf 999 ml von Lösung I geben				

Tabelle 10: Nährlösung nach Hill (modifiziert nach Moormann 2001)

Nach einer bestimmten Verweildauer der Pflanzen in der Nährlösung (unter oben genannten Umweltbedingungen im Klimaschrank) wurden die Lösung abfiltriert (0,45 µm) und die darin gelösten organischen Bestandteile über DOC-Messung quantifiziert.

Weiters erfolgte die Bestimmung der ober- und unterirdischen Trockenmasse der jeweiligen Pflanzen durch 24-stündiges Trocknen bei 105°C im Trockenschrank.



Abbildung 12: Batch-Versuche - Versuchspflanzen



Abbildung 13: Versuchspflanzen in Nährlösung nach Hill

Die Quantifizierung der Ausscheidung von Wurzelexsudaten der unterschiedlichen Pflanzen, erfolgte über die Messung des DOC (gelöster organischer Kohlenstoff) Gehaltes, als Anhaltspunkt für die Ausscheidung organischer Kohlenstoffverbindungen. Diese Methodik wurde in Anlehnung an Moormann 2001 gewählt, da sie für die im Rahmen des Projektes aufgeworfenen Fragestellungen am zielführendsten erschien.

Die Bestimmung des DOC Gehaltes der Proben erfolgte mit einem TOC-Analysator „TOC-5000 (SHIMADZU)“, nach dem Meßprinzip der thermischen Oxidation.

Die gemessenen DOC Werte sind grundsätzlich als Richtwerte anzusehen. Dies zum Einen, da mit dem Summenparameter „DOC“ neben den Stoffen die als Wurzelexsudate ausgeschieden werden können, wie Zucker und organische Säuren, auch andere Substanzen wie Cellulosen, Lignini, Hemizellulosen und Lignocellulosen erfasst werden. Zum Anderen ist davon auszugehen, dass der gemessene DOC Wert auch gelösten organischen Kohlenstoff mikrobiellen Ursprungs enthält, da unter nicht sterilen Bedingungen gearbeitet wurde.

Wie aus der Literatur bekannt, ist die Abgabe von Wuzeleksudaten stark vom Vitalitätszustand der jeweiligen Pflanze abhängig und kann je nach Wachstumszustand der Pflanze starke Schwankungen aufzeigen. Für die vergleichende Auswertungen wurden die gemessenen DOC Werte auf das Frischgewicht (g) der jeweiligen Gesamtpflanzen bezogen. Relative Zuwachsraten der Pflanzen während der Versuchsdauer sind nicht in die Versuchsauswertung eingeflossen.

Nachfolgend Tabelle zeigt die DOC Werte der Nährlösung mit den verschiedenen Versuchspflanzen nach einer Expositionsdauer von 4 Tagen. Es handelt sich dabei um Mittelwerte aus drei Versuchen mit je 2 Wiederholungen bei Schilf, Kalmus und Iris sowie um eine Versuchsreihe mit je zwei Wiederholungen bei Juncus, Scirpus und Typha.

DOC mg/l bezogen auf Frischgewicht/Pflanze (g) nach 4 Tagen Exposition	
Schilf	0,24
Kalmus	0,20
Iris	0,10
Juncus	0,13
Scirpus	0,07
Typha	0,09

Tabelle 11: Ergebnisse der DOC Messungen nach 4 Tagen Exposition

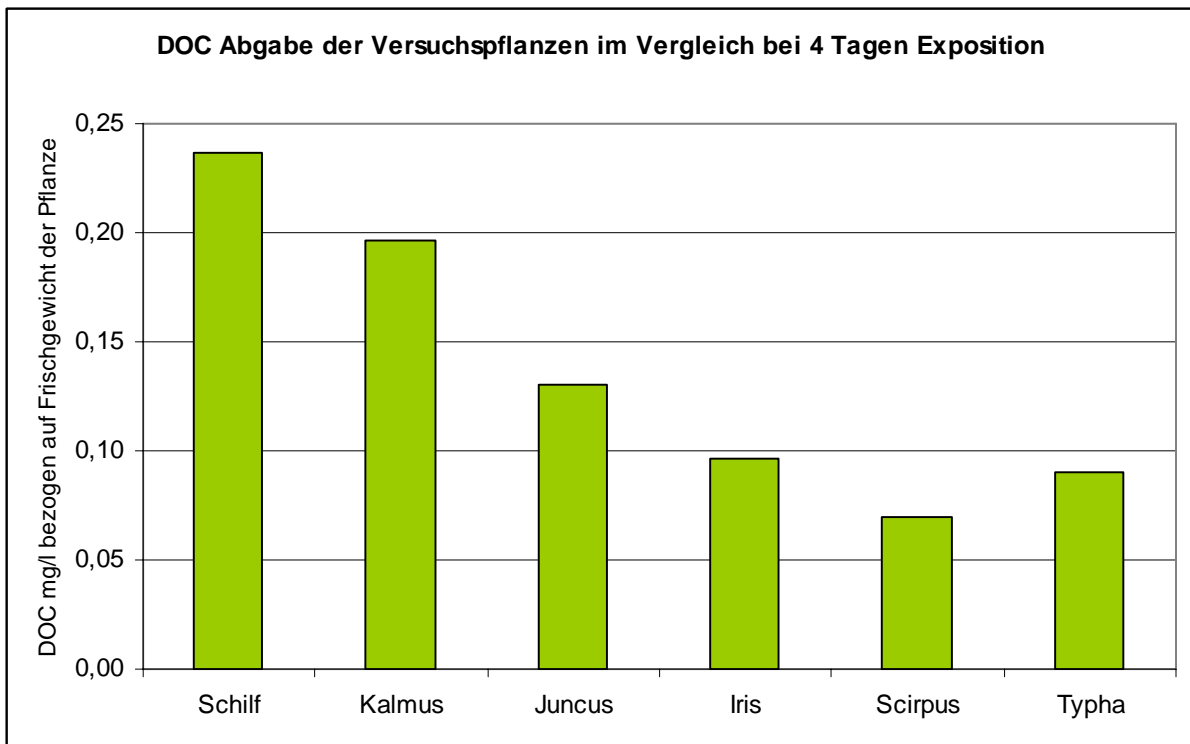


Abbildung 14: DOC Gehalt (mg/l) bezogen auf Frischgewicht der jeweiligen Pflanze als Indikator für die Abgabe von Wurzelexsudaten nach 4 Tagen Exposition

Wie die Abbildung verdeutlicht, zeigen sich deutliche Unterschiede in der DOC Konzentration in den Wurzellösungen der einzelnen Pflanzen. Die höchsten DOC Anreicherungen fanden sich bei Schilf und Kalmus. Die geringste DOC Anreicherung war bei Scirpus und Typha feststellbar.

Zur Feststellung des Langzeitverhaltens wurde eine Versuchsreihe mit täglicher DOC Messung durchgeführt. Die Messung erfolgte bei den Versuchspflanzen Schilf, Kalmus und Iris über einen Zeitraum von 7 Tagen, bei Scirpus und Typha über einen Zeitraum von 10 Tagen.

Nachfolgende Tabelle und Abbildung zeigt die Ergebnisse der gemessenen DOC Anreicherung im zeitlichen Verlauf.

DOC mg/l bezogen auf Frischgewicht (g) der Gesamtpflanze					
Exposition/Tage	Schilf	Kalmus	Iris	Scirpus	Typha
1 Tag	0,04	0,12	0,14	0,07	0,13
2 Tage	0,07	0,10	0,10	0,08	0,13
3 Tage	0,25	0,24	0,10	0,08	0,07
4 Tage	0,27	0,15	0,08	0,07	0,09
5 Tage	---	---	---	0,08	0,12
6 Tage	0,15	0,15	0,15	0,10	0,12
7 Tage	0,13	0,15	0,15	0,09	0,13
10 Tage	---	---	---	0,13	0,20

Tabelle 12: Ergebnisse der DOC Messungen im zeitlichen Verlauf

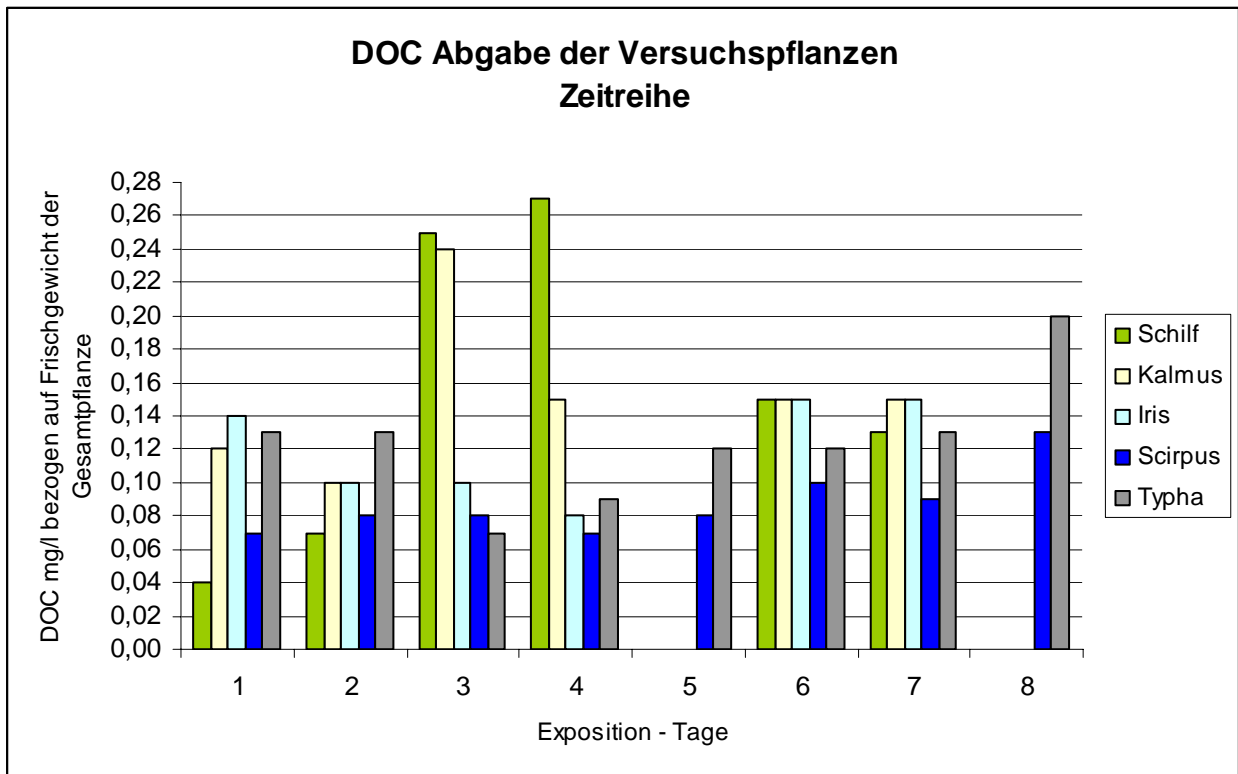


Abbildung 15: DOC Gehalt (mg/l) bezogen auf Frischgewicht der jeweiligen Pflanzen im zeitlichen Verlauf

Wie obige Abbildung verdeutlicht, ist bei der Messung des zeitlichen Verlaufes der DOC Anreicherung bei den einzelnen Versuchspflanzen kein eindeutiger Trend feststellbar. Die Messungen der DOC Anreicherung in der Wurzellösung von Schilf war im Vergleich mit den Lösungen der anderen Versuchspflanzen am höchsten. Die

Werte zeigten bis zum 4. Expositionstag einen kontinuierlichen Anstieg, danach zeigten die Werte eine Abnahme.

Ein annähernd ähnliches Verhalten zeigte sich bei den Wurzellösungen von Kalmus. Hier stiegen die Werte bis zum 3. Expositionstag an und reduzierten sich ab dem 4. Tag. Im Vergleich war die DOC Anreicherung in den Wurzellösungen von Kalmus am zweit höchsten.

Die DOC Werte in der Wurzellösung der Irispflanzen zeigte grundsätzlich keinen eindeutigen Effekt zur Anreicherung, die Werte nahmen zwischen dem 1. und 4. Expositionstag kontinuierlich ab und gegen Ende der Versuchsreihe wieder zu. Die DOC Anreicherung insgesamt lag unter jener von Schilf und Kalmus.

Ebenso zeigten die DOC Anreicherungen in den Versuchen mit Scirpus und Typha keine eindeutige Tendenz zur kontinuierlichen Zunahme. Die DOC Anreicherung in den Lösungen mit den Scirpuspflanzen waren grundsätzlich am niedrigsten im Vergleich mit den anderen Versuchspflanzen. Die DOC Werte in den Proben der Lösungen mit Typhapflanzen zeigten ebenso Schwankungen, waren jedoch höher als jene von Lösungen der Scirpus- und zum der Teil Iris Pflanzen.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse grundsätzlich Unterschiede der DOC Konzentrationen der Wurzellösungen der unterschiedlichen Versuchspflanzen. Die gemessenen DOC Konzentrationen waren in den Lösungen mit Schilfwurzeln am höchsten, gefolgt von den Lösungen mit Kalmus, Juncus, Iris, Typha und Scirpus.

Die Schwankungen der DOC Konzentrationen im zeitlichen Verlauf erklären sich zum Einen aus dem bekannten Einfluss des Vitalitätszustandes einer Pflanze auf die Ausscheidung von Wurzelexsudaten. Zwar wurde im Versuchsansatz darauf geachtet Pflanzen mit augenscheinlich ähnlichem Vitalitätszustand für die einzelnen Versuchsreihen zu verwenden, die Wachstumsraten der einzelnen Pflanzen sind in die Auswertungen der Ergebnisse nicht eingeflossen.

Zum anderen ist ein nicht unerheblichem Einfluss der Mikroorganismen im Rhizospährenbereich zu erwarten, da die Versuchsansätze nicht unter sterilen Bedingungen erfolgt sind. Die gemessenen DOC Werte setzten sich daher nicht ausschließlich aus Substanzen, die von den Pflanzen kommen zusammen, sondern auch aus mikrobiellen Stoffwechselprodukten. Vorallem bei längerer Verweildauer (z.B. ab 3-4 Tag) ist mit einem verstärktem Abbau bzw. einer Metabolisierung ausgeschiedener Wurzelexsudate durch Mirkoorganismen zu rechnen.

MOORMANN 2001 verweist auch auf Untersuchungen, die auf eine Wiederaufnahme von Wurzelexsudaten durch die Pflanzen bei längeren Verweilzeiten in Wurzellösungen unter Laborbedingungen hinweisen. Ebenso ist aus der Literatur bekannt, dass Mikroorganismen direkt oder indirekt die Ausscheidung von Wurzelexsudaten fördern. Beispielsweise erhöhen Mikroorganismen im Rhizosphärenbereich, durch z.B. besseren Aufschluss von Nährstoffen, das Wachstum von Pflanzen, was wiederum eine stärkere Ausscheidung von Exsudaten mit sich bringen kann (LYNCH 1982).

Die im Rahmen der Versuche gemessenen DOC Werte lassen einen Rückschluss auf eine pro Tag abgegebene DOC Menge von maximal 0,18 mg/l (bezogen auf 1 g Frischmasse der Gesamtpflanze) bei Schilf und minimal bei 0,01 mg/l (bezogen auf 1 g Frischmasse der Gesamtpflanze) zu. Wobei hierbei der Einfluss mikrobieller Biomasse nicht berücksichtigt wurde. Dies Werte sind im Vergleich mit Literatur im oberen Bereich anzusiedeln. Vergleichbare Versuchsansätze von Moormann 2001 zeigten DOC Anreicherungen von 0,01 -0,04 mg/l DOC (bezogen auf 1 g Pflanzenfrischmasse) bzw. für *Scirpus lacustris* von 0,01 – 0,02 mg/l DOC (bezogen auf 1 g Pflanzenfrischmasse). Zu beachten ist hierbei, dass die Probenansätze bei den Versuchsansätze von MOORMANN 2001 sterilfiltriert wurden, d.h. zumindest teilweise unter sterilen Bedingungen gearbeitet wurde.

Unter Beachtung der zuvor genannten Einflussfaktoren und des Literaturvergleichs, lassen die gewonnenen Erkenntnisse den Schluss zu, dass eindeutige Unterschiede in der Ausscheidung der Wurzelexsudate zwischen den einzelnen untersuchten Versuchspflanzen bestehen.

Auf Grund der Komplexität des Kohlenstoffhaushaltes im Rhizosphärenbereich, der Wechselwirkungen zwischen Pflanze und Mikroorganismen in der Rhizosphäre ist anzumerken, dass eine Quantifizierung tatsächlicher Ausscheidungen über den gelösten Kohlenstoffgehalt als Richtwerte anzusehen sind. Darüberhinaus wären substanzspezische Analysen notwendig.

3.3.2 Testreihen zur antibakterielle Wirksamkeit der Wurzelexsudate

In einem ersten Versuch wurden Verdünnungsreihen (1:1, 1:2, 1:4 und 1:8) der abfiltrierten Wurzelexsudatlösungen hergestellt. Als Vorlage für die Verdünnungsreihen dienten je 10 ml der Nährlösung nach Hill. Je 10 ml der verdünnten Lösung wurden mit 1 ml E. coli aus der Vorkultur beimpft und direkt im Bac Trac Analyser vermessen. Die Versuche wurden mit Exsudaten aus Schilf-, Kalmus- und Iriswurzeln in dreifacher Wiederholung durchgeführt.

Nachfolgende Abbildung zeigt die jeweilige Keimkonzentration der Versuchsreihen mit Schilf, Kalmus und Iris.

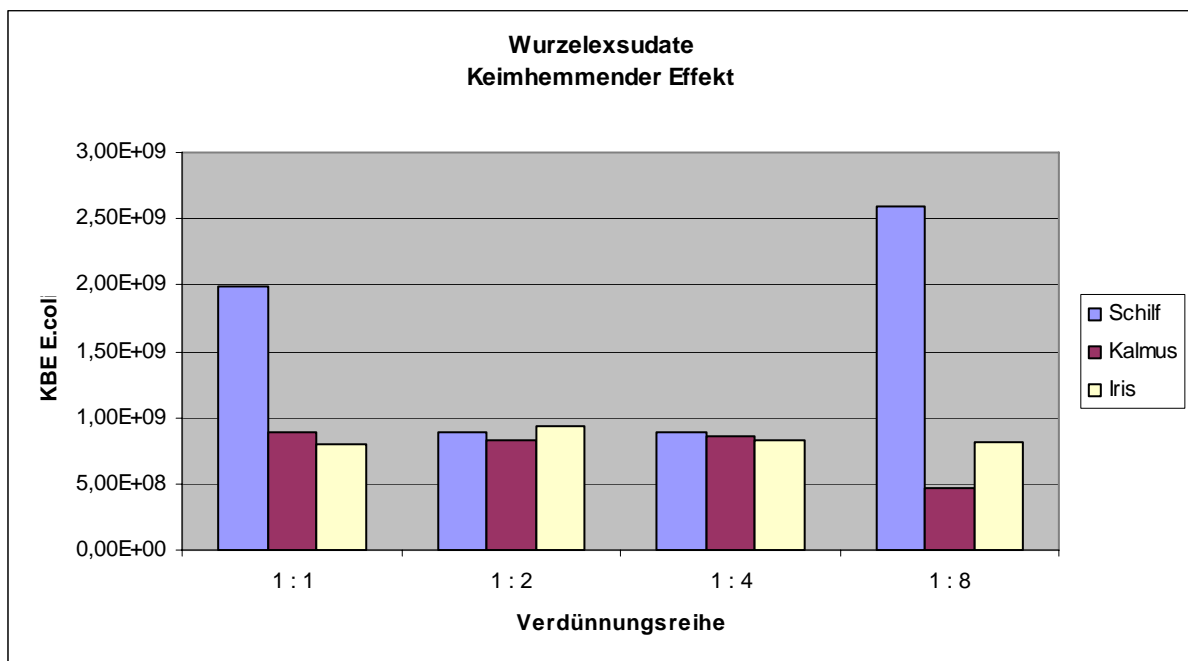


Abbildung 16: Hemmeffekt unterschiedlicher Wurzelexsudate (E. coli KBE/ml)

Die DOC-Konzentrationen (berichtigt durch DOC der Ausgangslösung (Hill-Lösung)) in der unverdünnten Probe betrug bei Schilf 18,69 mg/l, bei Kalmus 9,46 mg/l und bei Iris 9,52 mg/l. Die Expositionszeit bis zur DOC Messung bzw. zum Ansatz betrug 4 Tage.

Wie aus der Abbildung ersichtlich, weisen die Ergebnisse eine starke Streuung auf. Unterschiede im Keimwachstum zwischen den einzelnen Verdünnungsreihen sind zwar vorhanden, jedoch nicht plausibel erklärbar bzw. eindeutig auf die Wirkung von Wurzelexsudaten zurückzuführen. Zwischen den einzelnen Verdünnungsreihen sind keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Exsudate mit und ohne Vorinkubation getestet. Dazu wurde in einem sterilen 500 ml Kolben 250 ml der abfiltrierten Wurzelexsudatlösung mit Standard I Nährlösung versetzt und mit 0,5 ml der Vorkultur von *E. coli* beimpft. In den so versetzten Probe wurde die Keimkonzentration entweder sofort oder nach einer 24-stündigen Inkubation bei 37°C im Schüttelinkubator, bestimmt.

Die Versuchsreihen erfolgten mit Wurzelexsudaten von Schilf, Kalmus, Iris und Juncus, in zweifacher Wiederholung.

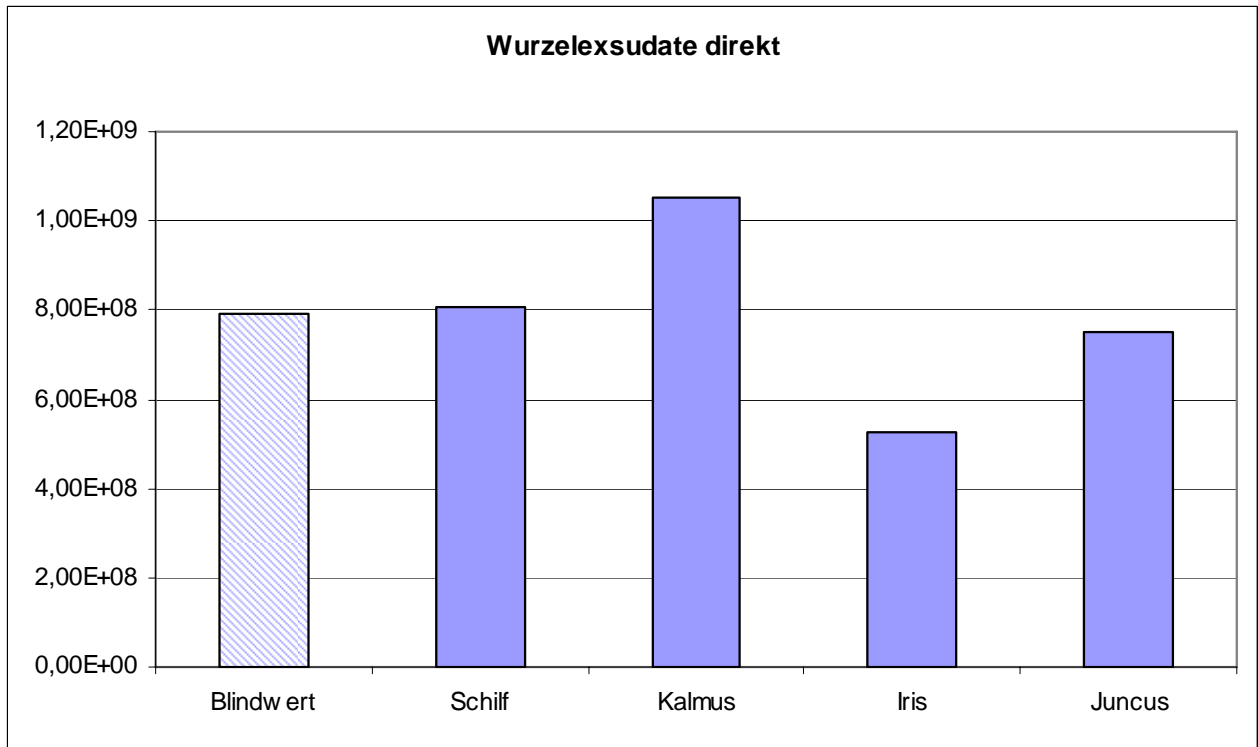
Die DOC Konzentrationen (korrigiert durch BW) in den getesteten Wurzellösungen betragen in der Lösung von Schilf 19,5 mg/l, bei Kalmus 9,2 mg/l, bei Iris 6,9 mg/l und bei Juncus 5,8 mg/l. Die Expositionszeit der Pflanzen betrug 4 Tage bis zur DOC Messung bzw. zum Testansatz.

Bei den Proben ohne Vorinkubation zeigten sich bei den Proben mit Zugabe von Exsudaten aus Schilfwurzeln und Kalmuswurzeln keine Hemmung des Bakterienwachstums gegenüber der Blindprobe. Die Proben mit der Zugabe von Exsudaten von Iris und Juncuswurzeln zeigten ein verringertes bakterielles Wachstum. Gegenüber der unbelasteten Probe waren das Wachstum in der Probe mit Wurzelexsudaten von Iris um 33,5% geringer, bei jener mit Wurzelexsudaten aus Juncuswurzeln um 5,1 %.

Bei der Versuchsreihe mit den vorinkubierten Proben ist ebenfalls ein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Pflanzen festzustellen.

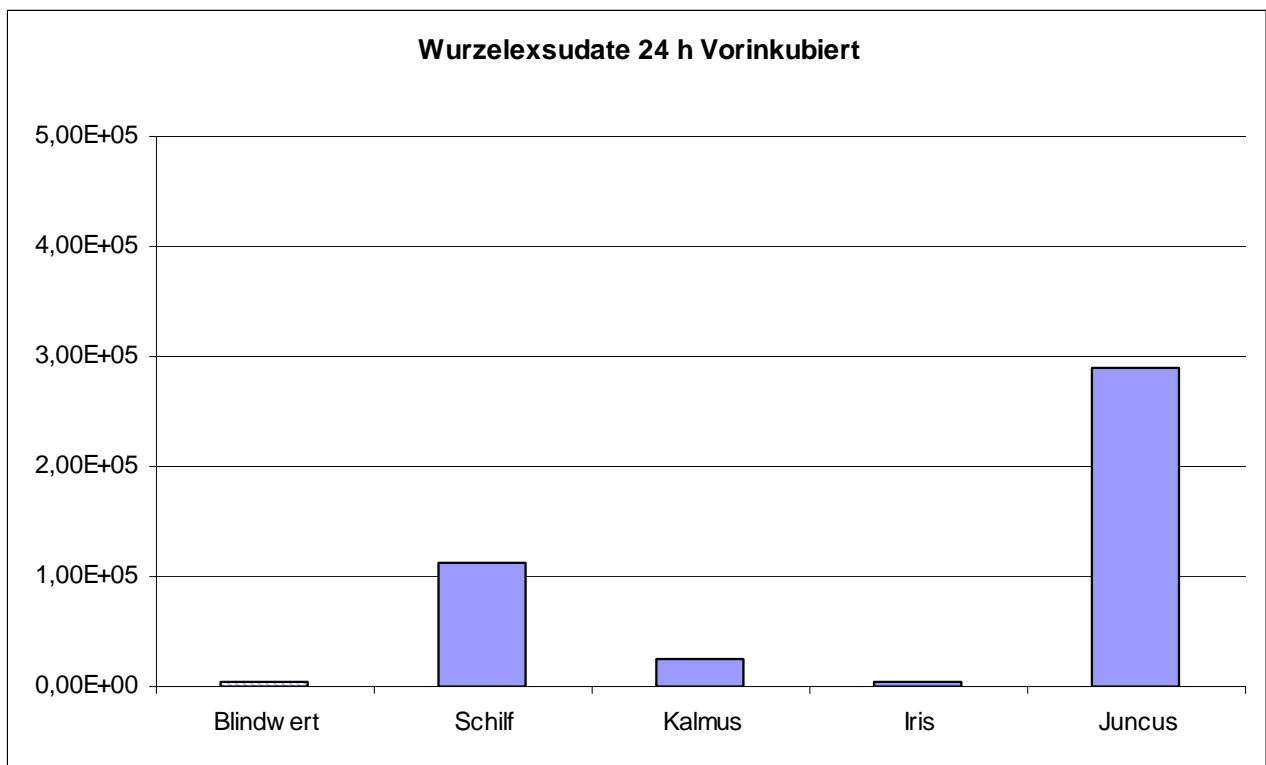
Am geringsten war das Keimwachstum in den Proben mit Irisexsudaten, gefolgt von jenen mit Kalmus- und Schilfextrakten. Am stärksten war das Wachstum in den Proben mit den Juncusextrakten.

Nachfolgende Abbildungen fassen die Testergebnisse zusammen.



BW = Blindwert: Standardnährlösung + E. coli

Abbildung 17: Testergebnisse bei direkter Zugabe der Wurzellösungen (E.coli KBE/ml)



BW = Blindwert: Standardnährlösung + E. coli vorinkubiert

Abbildung 18: Testergebnisse mit 24-stündiger Vorinkubation (E. coli KBE/ml)

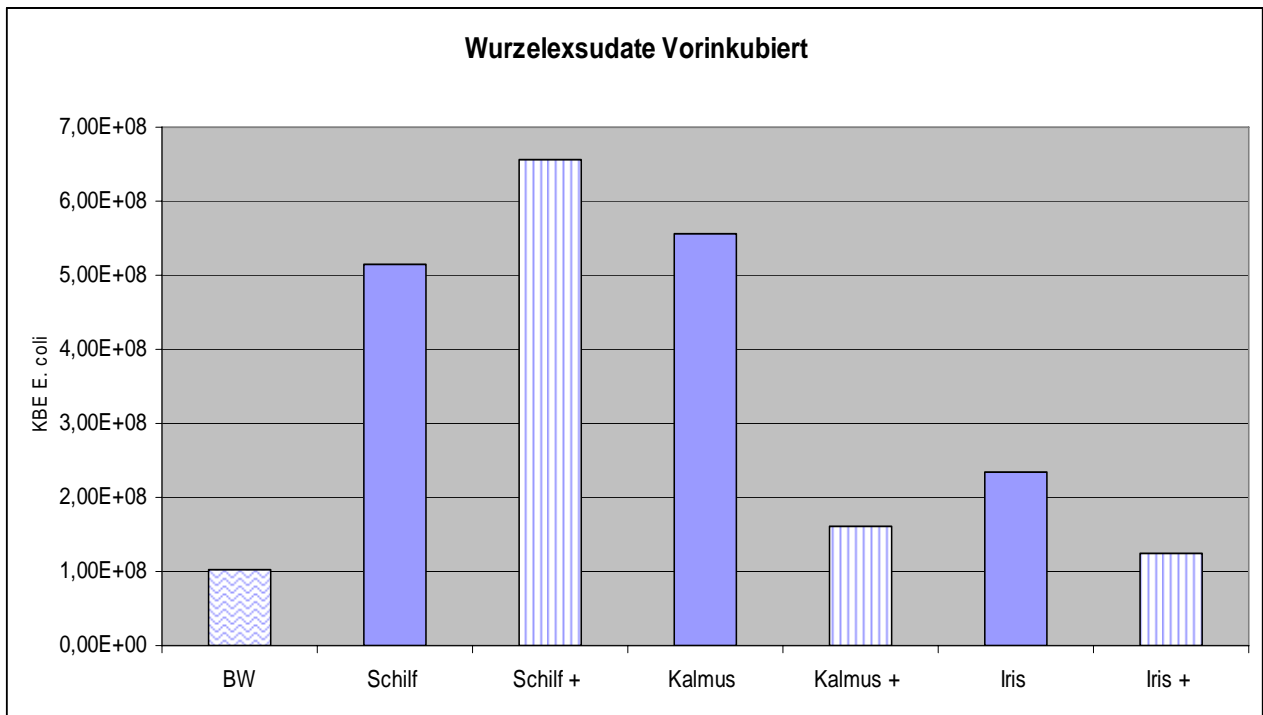
In einer weiteren Versuchsreihe wurden Untersuchungen bei maximaler Kohlenstoffversorgung durchgeführt. Dazu wurde ein normaler Ansatz mit Beigabe der Wurzelexsudate (Versuchsdesign siehe voriger Versuch) und ein Ansatz mit einer zusätzlichen Dosierung von 15 mg Kohlenstoff pro Liter (über Standard I Nährlösung (MERK)) durchgeführt. Beide Ansätze wurden über 24 h bei 37°C im Klimaschrank (geschüttelt) inkubiert. Der Versuch erfolgte in zweifacher Wiederholung.

Die DOC Konzentrationen in den Ausgangslösungen (Messung und Versuchsansatz nach 3 Tagen Expositionzeit) betragen bei den Exsudaten von Schilfwurzeln 25,0 mg/l, bei jenen von Kalmus 19,23 mg/l, Iris 12,58 mg/l, Scirpus 14,15 mg/l Typha 7,78 mg/l.

Die bei diesem Versuch gewonnenen Ergebnisse sind in nachfolgender Abbildung dargestellt. Die Ergebnisse zeigen ein sehr differenziertes Bild. Das Bakterienwachstum in der Probe ohne Zusatz von Exsudatlösungen ist wesentlich geringer als in den Proben mit den Exsudaten. Dies würde den Rückschluss zulassen, dass keine Hemmung vorliegt und die Bakterien möglicherweise auf Grund besserer Kohlenstoffversorgung in den Proben mit den Exsudaten besser wachsen.

Bei den Proben mit Exsudaten von Schilf zeigt sich ein besseres Wachstum in der Probe mit der zusätzlichen Kohlenstoffbeigabe. Bei den Proben mit Exsudaten aus Kalmus und Iris ist dies nicht der Fall. Hier ist das Bakterienwachstum wesentlich geringer.

Im Vergleich der einzelnen Proben untereinander ist das Bakterienwachstum bei den Exsudatproben von Iris am geringsten, gefolgt von Schilf und Kalmus. Insgesamt ist zu beachten, dass die DOC Konzentrationen in den Ausgangslösungen von Schilf und Kalmus am höchsten waren.



BW = Blindwert: Standardnährlösung + E. coli – vorinkubiert
Schilf+, Kalmus +, Iris + = mit extra C Beigabe

Abbildung 19: Testergebnisse mit 24-stündiger Vorinkubation mit und ohne Beigabe von extra Kohlenstoff (E. coli KBE/ml)

Zusammengefasst kann auf Basis der Ergebnisse der Untersuchungen zur antibakteriellen Wirkung von Wurzelexsudaten festgestellt werden, dass kein eindeutiger bakteriostatischer oder bakterizider Effekt der Wurzelausscheidungen der Versuchspflanzen nachgewiesen werden konnte.

Unter Beachtung der unterschiedlichen DOC Ausgangskonzentrationen der getesteten Wurzellösungen ist feststellbar, dass das Wachstum von E. coli, als Indikatorbakterium, in jenen Lösungen mit höherem DOC Gehalt, wie den Exsudatlösungen von Schilf und Kalmus, höher war, als in den Lösungen mit den geringeren DOC Ausgangskonzentrationen. Dies lässt den Schluss zu, dass in Lösungen mit mehr Exsudaten auf Grund der besseren Kohlenstoffversorgung das Bakterienwachstum besser war.

3.4 ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Untersuchungen zur Keimhemmung von, mittels unterschiedlicher Verfahren gewonnener Extrakte (Lösungsmitelextraktion mit Hexan und Ethanol, sowie wässriger Auszug) aus Wurzeln und Rhizomen der Versuchspflanzen, gaben einen ersten Anhaltspunkt des möglichen Potentials an keimhemmenden Inhaltsstoffen.

Grundsätzlich konnten für alle Extrakte aus den Kalmus Wurzeln und Rhizomen eindeutige antibakterielle Effekte verifiziert werden. Für die Extrakte aus Schilfwurzeln und –rhizomen war für die durch Lösungsmitelextraktion (Hexan bzw. Ethanol) gewonnenen Extrakte kein eindeutiger antibakterieller Effekt detektierbar.

Wesentlich eindeutiger waren die gemessenen keimhemmenden Effekte der wässrigen Extrakte aus Wurzeln und Rhizomen der Versuchspflanzen. So zeigten die wässrigen Extrakte aus den Kalmuswurzeln bereits bei direkter Zugabe eine Verringerung des Keimwachstums um ca. 50 % gegenüber einer unbehandelten Probe, bei längerer Inkubation stieg der keimhemmende Effekt auf 72 %. Die Proben mit Schilfwurzelextrakt zeigten bei direkter Zugabe eine Reduktion des Keimwachstums um 14 % gegenüber der unbehandelten Probe. Die mit Schilfwurzelextrakt vorinkubierten Proben brachten eine nahezu völlige Hemmung des Keimwachstums (98,6 %ige Wachstumsverringering gegenüber der Blindprobe) mit sich. Die Junucsextrakte bewirkten eine Verringerung des Keimwachstums um ca. 19,5 % bei direkter Zugabe und um ca. 30 % bei den vorinkubierten Proben. Die Hemmwirkung der Wurzelextrakte von Iris ps. war bei der direkten Zugabe nicht messbar, bei den vorinkubierten Proben zeigte sich eine beinahe völlige Hemmung (98%) des Wachstums.

Für den Praxisbetrieb einer Pflanzenkläranlage sind diese, im Labortest gewonnenen Erkenntnisse nur indirekt umlegbar. Zwar erfolgt im Filterbecken ein mechanischer Eintrag von Pflanzenteilen (z.B. über Verletzungen, Abschürfungen bei Wurzelwachstum, etc.), der im Zuge von Abbau- und Umbauprozessen direkt und indirekt Einfluss auf die Milieubedingungen im Wurzelbereich einer Pflanzenkläranlage hat. Jedoch muss davon ausgegangen werden, dass diese Prozesse im wurzelnahen Bereich wesentlich langsamer verlaufen und nur wesentlich geringere Mengen jener Stoffe freigesetzt werden, die für die

Keimhemmung verantwortlich sind, als dies beim mechanischen Aufschluss der Wurzeln und Rhizome für die Laborversuche erfolgt ist. Die Ergebnisse implizieren jedoch, dass ein Potential an antibiotisch wirkenden Substanzen in Wurzeln und Rhizomen der untersuchten Pflanzen vorhanden ist.

Zur Quantifizierung der Ausscheidung von Wurzelexsudaten der unterschiedlichen Pflanzen, wurden diese über einen bestimmten Zeitraum in einer definierten Lösung inkubiert und als Richtwert für ausgeschiedene Exsudate der DOC (gelöster organischer Kohlenstoff) Gehalt gemessen.

Die Ergebnisse zeigten grundsätzlich Unterschiede der DOC Konzentrationen der Wurzellösungen bei den unterschiedlichen Versuchspflanzen. Die gemessenen DOC Konzentrationen waren in den Lösungen mit Schilfwurzeln am höchsten, gefolgt von den Lösungen mit Kalmus, Juncus, Iris, Typha und Scirpus. Auf Grund der Komplexität des Kohlenstoffhaushaltes im Rizospährenbereich, der Wechselwirkungen zwischen Pflanze und Mikroorganismen in der Rhizospähre und der Tatsache, dass über eine DOC Messung nur gelöster organischer Kohlenstoff erfasst wird, stellen die gemessenen DOC Werte keine Absolutwerte für die Abgabe der Wurzelexsudate dar, sondern sind allenfalls als Richtwerte zu interpretieren.

Mit den Laboruntersuchen konnte kein eindeutiger bakteriostatischer oder bakteriozider Effekt der Wurzelausscheidungen der Versuchspflanzen auf *E. coli* nachgewiesen werden.

Unter Beachtung der unterschiedlichen DOC Ausgangskonzentrationen der getesteten Wurzellösungen ist feststellbar, dass das Wachstum von *E. coli*, als Indikatorbakterium, in jenen Lösungen mit höherem DOC Gehalt, wie den Exsudatlösungen von Schilf und Kalmus, höher war, als in den Lösungen mit den geringeren DOC Ausgangskonzentrationen. Dies lässt den Schluss zu, dass in Lösungen mit mehr Exsudaten auf Grund der besseren Kohlenstoffversorgung das Bakterienwachstum besser war.

Für die Fragestellung zur Keimelimination in Pflanzenkläranlagen, bedeuten die Ergebnisse, dass die Keimelimination nicht direkt auf einzelnen als Wurzelexsudate ausgeschiedenen Stoffen oder Stoffgruppen zurückzuführen ist. Die Ausscheidung von Wurzelexsudaten schafft Milieubedingungen, die das Bakterienwachstum im

wurzelnahen Bereich anregen, unmittelbar verantwortlich für die Keimeleimination scheinen sie nicht zu sein. Sehr wohl konnte jedoch festgestellt werden, dass die Menge der ausgeschiedenen Wurzelexsudate, unter annähernd ähnlichen Laborbedingungen, unterschiedlich war. Auf Basis der Untersuchungsergebnisse dieses Projektes, kann davon ausgegangen werden, dass Schilf gefolgt von Kalmus, Juncus und Iris quantitativ mehr Wurzelexsudate ausscheiden als Typha und Scirpus. Ebenso hatten die wässrigen Extrakte von Schilf, Kalmus und Iris ps. die höchste antibiotische Wirkung im Laborversuch. Geht man davon aus, dass aus abgestorbenen Wurzel- und Rhizomteilen in der Rhizosphäre wasserlösliche Substanzen daraus freigesetzt werden, könnte davon auch eine keimhemmende Wirkung ausgehen.

Zusammenfassend ergibt sich für die Praxis in Bezug auf die Bepflanzung von Pflanzenkläranlagen, unter Einbeziehung der physiologischen und ökologischen Eigenschaften der jeweiligen Pflanze, und unter besonderer Berücksichtigung des Aspektes der Hygienisierung, dass Schilf gefolgt von Kalmus und Iris ps. die geeignetsten Pflanzen sind.

Nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die maßgeblichen Eigenschaften der getesteten Pflanzen im Hinblick auf ihren Einsatz zur Hygienisierung von Abwässern.

	Sehr gut geeignet	Gut geeignet	Gut geeignet
	Phragmites australis (Schilf)	Acorus calamus (Kalmus)	Iris pseudacorus (Sumpfschwertlinie)
Wurzelexsudate	Hohe Ausscheidung	Hohe Ausscheidung	Hohe Ausscheidung
Keimhemmender Effekt von Wurzelinhaltsstoffen	Hohe keimhemmung der wässrigen Extrakte	Hohe keimhemmung der Inhaltsstoffe	Hohe keimhemmung der wässrigen Extrakte
Rhizom-Wurzelwachstum	Gutes Rhizomwachstum, langlebig, wächst horizontal und vertical	Hauptsächlich vertical Rhizome sterben schnell ab, abbau schon ab 2. Vegetationsperiode,	horstbildend, hauptsächlich verticales Wachstum der Rhizome,
Konkurrenzfähigkeit	Bestandsbildend, starke konkurrenzfähigkeit gegenüber allen anderen Röhrichtpflanzen	Wenig konkurrenzfähig gegenüber anderen Arten	Horstbildend, gute Verträglichkeit mit kleinwüchsigeren Arten;
Ökologische Amplitude	Breite ökologische Amplitude, widerstandsfähig gegen Boden- und Wasserchemismus	Wärmeliebend, empfindlicher gegen Boden- und Wasserchemismus,	Breite ökologische Amplitude gegenüber meisten Standortfaktoren; verträgt auch schattige Standorte gut
Sonstige Eigenschaften	Hohe Transpirationsleistung Hohe Sauerstoffabgabe im Wurzelbereich		
	geeignet	geeignet	geeignet
	Typha laxmannii (Rohrkolben)	Scirpus lacustris (Teichbinse)	Juncus effusus (Binse)
Wurzelexsudate	Geringere Ausscheidung	Geringere Ausscheidung	Hohe Ausscheidung
Keimhemmender Effekt von Wurzelinhaltsstoffen	Weniger Hemmeffekt	Weniger Hemmeffekt	--
Rhizom-Wurzelwachstum	„flaches Rhizomwachstum“, kurzlebige Rhizome, empfindlich, rasches absterben,	Wachstum dicht an Oberfläche, kaum Wurzelung nach unten; stabiles, reißfestes Wurzelgeflecht	Stark horstbildend Starkes Wurzelwachstum, oberflächennah
Konkurrenzfähigkeit	Schwache Konkurrenzfähigkeit, wird rasch von Schilf oder Scirpus verdrängt	Gute Konkurrenzfähigkeit, von Schilf wird sie allerdings verdrängt	Bevorzugt feuchte, staunasse Böden,
Ökologische Amplitude	Schmale ökologische Amplitude; empfindlich auf Feuchtigkeitsmangel,	gute Anpassung an unterschiedliche Abwässer	eher schmale ökolog. Amplitude Meist nur in „extensiven“ Anlagen“ eingesetzt
Sonstige Eigenschaften	Hoher Sauerstoffeintrag im Wurzelbereich	Verträgt hohe organische Belastungen, Anpassung an unterschiedliches Abwasser ist gut	

Tabelle 13: Maßgebliche Eigenschaften im Hinblick auf den Einsatz zur Hygienisierung

In Bezug auf die Mechanismen der Keimreduktion in bepflanzten Filterbecken bestätigen die Ergebnisse die, in der Literatur diskutierte „indirekte“ Wirkung des Biofilms im Wurzelbereich bei der Keimreduktion. Zahlreiche Autoren vertreten die Meinung, dass die indirekt durch den Pflanzenbewuchs geschaffenen Milieubedingungen Mikroorganismengemeinschaften begünstigen, die bei der Keimreduktion als Prädatoren fungieren (DECAMP et al. 1999) bzw. die durch antagonistische Beziehungen untereinander in der Lage sind pathogene Bakterien und Viren zu eliminieren.

Allerdings finden sich in der Literatur auch zahlreiche Hinweise, dass die Bepflanzung alleine nicht unbedingt ausschlaggebend für die Keimelimination ist. So zeigten neueste Untersuchungen von SLEYTR 2007 keinen Unterschied in der Keimelimination zwischen bepflanzten und unbepflanzten Becken. Ebenso fand beispielsweise LABER 2001 bei Technikumsversuchen keine signifikant nachweisbaren Unterschiede in der Keimelimination zwischen Versuchen mit unterschiedlicher Bepflanzung. Filtrationswirkung, Prädatorendruck und natürliche Absterberaten sind demnach jene Eliminationsmechanismen die im Pflanzenbecken dominieren und die Einflussfaktoren einer Bepflanzung überdecken.

Nach zahlreichen Autoren (HAGENDORF 2004, LABER 2001 etc.) hat der Aufbau des Filterkörpers, die Aufenthaltszeit, die hydraulische Belastung sowie die Betriebsweise der Anlage einen nicht unerheblichen Auswirkung auf die Eliminationsleistung des Bodenfilters.

Insbesondere zeigte sich, dass die Körnung des Filtermaterials einen wesentlichen Einfluss hat, je feiner die Körnung desto besser ist die Keimelimination auf Grund der Filterwirkung.

Weiters konnte LABER 2001 einen klaren statistischen Einfluss auf die Eliminationswirkung durch Wasserspiegelmanagement feststellen. Bei alternierendem Betrieb war die Eliminationsleistung in Zeiten ohne Wasserspiegelabsenkung um eine Zehnerpotenz höher, als in Zeiten mit Wasserspiegelabsenkung. Unklar ist jedoch ob es sich hierbei um eine wirkliche Elimination der Keime handelte, oder ob die Keime lediglich ausgeschwemmt wurden.

Weiters gibt es Hinweise darauf, dass längere Aufenthaltszeiten sich positiv auf die Keimelimination auswirken.

Eine nachweisliche Beeinflussung der hydraulischen Belastung auf die Keimelimination konnte HAGENDORF 2004 bzw. 1994 feststellen. Bei einer mittleren Zulaufkonzentration ($10^5/100$ ml – $10^6/100$ ml) stellt er eine Abnahme der Eliminationsleistung fest, sobald die durchschnittliche Beschickungshöhe von 80 mm/d in der Hauptreinigung und 120 mm/d (Nachreinigung) überschritten wurde. Kurztägiger Intervallbetrieb mit hydraulischen Spitzen hatten keinen Einfluss auf die Eliminationsleistung. Bei sehr hoher Zulaufkonzentration ($10^7/100$ ml) und Beschickungsmenge war eine hohe Elimination feststellbar, die vermutlich jedoch auf Auswaschung der Keime beruhte.

LABER 2001 beschreibt eine Beeinträchtigung der Keimreduktion durch Kolmation der Pflanzenbecken. Grund dafür ist in erster Linie die Limitierung des Sauerstoffeintrages und somit die Limitierung des aeroben Abbaues durch z.B. höhere Prädatoren, die im aeroben Milieu zum Teil 5-fach höhere Fraßraten haben als unter anoxischen/anaeroben Bedingungen, sowie die Veränderung der Artenzusammensetzung im anaeroben Milieu.

Im Zusammenschau mit der Literaturauswertung implizieren die Ergebnisse dieses Projektes, dass sowohl die Bau- und Betriebsweise einer Pflanzenkläranlage (Filtermaterial, Dimensionierung, Hydraulik, etc.) als auch die direkte und indirekte Wirkung der Bepflanzung (Exudatausscheidung, Rhizosphäreneffekt) sich maßgeblich auf Keimeliminationsraten auswirken. Die im Labortest bei den untersuchten Pflanzen festgestellten unterschiedlichen Größenordnungen der ausgeschiedenen Wurzelexsudate, sowie die festgestellte unterschiedlich starke keimhemmenden Wirkung wasserlöslicher Substanzen aus den Wurzel- und Rhizomteilen, sind für die Praxis direkt nutzbare Erkenntnisse, die bei der Wahl der geeigneten Bepflanzung Berücksichtigung finden sollten.

4 RICHTLINIEN FÜR DIE PRAXIS

Der Schwerpunkt des durchgeführten Forschungsprojektes lag in der Beurteilung der Rolle von Pflanzen und ihrer Ausscheidungsprodukte im Zusammenhang mit der Praxis der Abwasserreinigung mittels Pflanzenkläranlagen und dies ausschließlich unter der Berücksichtigung etwaiger hygienisierender Wirkungen. Wenngleich sich aufgrund der Projektergebnisse grundsätzliche Eignungspotentiale für Pflanzen im Zusammenhang mit hygienisierenden Wirkungsmechanismen ergaben, ist für die Praxis relevant, dass der Bepflanzung keine dominante Rolle zugemessen werden kann.

Eindeutig bewiesen ist, dass mehrstufige bepflanzte Bodenfilter eine weitaus höhere Keimeliminationsleistung (je nach Autor zwischen 3-5 Zehnerpotenzen) haben, als einstufige Verfahren (je nach Autor 1,5 – 2,5 Zehnerpotenzen). Weiters steht außer Diskussion, dass bei der Eliminationsleistung zwischen Vertikal- und Horizontalfilter keine Unterschiede bestehen (HAGENDORF 2004).

Pflanzenkläranlagen, die als Hauptreinigungsstufe oder nachgeschaltete Reinigungsstufe, zur Hygienisierung von kommunalen Abwässern eingesetzt werden sollen, unterliegen somit im wesentlichen jenen Bemessungsgrundsätzen wie sie für den Bau derartiger Anlagen als Hauptreinigungsstoffe zur Nährstoffelimination definiert sind.

- Beckenprofil: Länge = $2 \times$ Höhe + Sohlbreite, Tiefe = 0,9m bis 1,2m, Beetlänge als Funktion der EW-Zahl bzw. der erforderlichen Fläche (4-5 m²/EW).
- Filtermaterial: gewaschener Sand 0,06-4 mm und Rundkies 4-8 mm, Mindeststärke der Sandschicht 50 cm. Die Durchlässigkeit der Sandschicht muss so beschaffen sein, dass die wirksame Korngröße $d_{10} > 0,17$ mm ist.
- Einstauhöhe: Maximale Einstauhöhe < 30 cm

Auf Basis der Untersuchungsergebnisse des vorliegenden Projektes in Verknüpfung mit publizierten Erfahrungswerten, sind für die Praxis der Hygienisierung von Abwässern mittels Pflanzenkläranlagen nachfolgende Punkte von Bedeutung:

- Aus Praxisversuchen ist die, im Vergleich zu anderen Abwasserreinigungstechnologien erhöhte Keimelemination in Pflanzenkläranlagen bekannt. SLEYTR 2007 fand Keimeliminationsraten für E.coli von 4,4 log Stufen, für Coliforme um 4,3 log Stufen und um bis zu 4,8 für Enterococcen in vertical durchflossenes Becken. KAINZ 2007 und STUHLBACHER et al. 1995 beschreiben einen Wirkungsgrad bei der Keimelimination bei nachgeschalteten Pflanzenbecken von 70-99 % bei einer hydraulischen Belastung zwischen 3 und 0,5 m²/EW. LABER 2001 konnte Eliminationsraten von 2,9 – 3,4 log Stufen feststellen.
- Die Keimbelastung in Kläranlagenabläufen unterschiedlicher Abwasserreinigungstechnologien erwies sich als weitgehend unabhängig von der Konzentration und der Abbauleistung organischer Kohlenstoffverbindungen. Statistisch betrachtet ergaben sich hingegen signifikante Zusammenhänge zwischen der bakteriologischen Zulaufbelastung, dem Nitrifikationspotential und der Konzentration der Fäkalcoliformen im Ablauf (STUHLBACHER 1995).
- Die Körnung des Filtermaterials hat einen wesentlichen Einfluss auf die Keimelemination - je feiner die Körnung desto besser ist die Keimelimination auf Grund der Filterwirkung (HAGENDORF 2004, LABER 2001)
- Aufenthaltsdauer: Längere Aufenthaltszeiten wirken sich positiv auf die Keimelimination auswirken (LABER 2001)
- Hydraulische Belastung: nicht mehr als 80 mm/d bei Hauptreinigung und 120 mm/d bei der Nachreinigung bei durchschnittlicher Zulaufkonzentration von 10⁵/100 ml – 10⁶/100 ml (HAGENDORF 2004)
- Wasserspiegelmanagement: Wasserspiegelabsenkungen wirken sich negativ auf die Keimreduktion aus (LABER 2001)
- Kolmation der Pflanzenbecken wirkt sich negativ auf Keimelimination aus

- Die Bepflanzung wirkt sich nur indirekt auf die Keimelimination in Pflanzenbecken aus. Eine direkte antibiotische Wirkung von Wurzelexsudaten konnte nicht festgestellt werden. Jedoch schafft die Ausscheidung von Wurzelexsudaten Milieubedingungen, die das Bakterienwachstum im wurzelnahen Bereich anregen.
- Die Menge der ausgeschiedenen Wurzelexsudate variiert je nach Pflanzenart. Auf Basis der Untersuchungsergebnisse dieses Projektes, kann davon ausgegangen werden, dass Schilf gefolgt von Kalmus, Juncus und Iris quantitativ mehr Wurzelexsudate ausscheiden als Typha und Scirpus.
- Ebenso hatten die wässrigen Extrakte von Schilf, Kalmus und Iris die höchste antibiotische Wirkung im Laborversuch. Geht man davon aus, dass aus abgestorbenen Wurzel- und Rhizomteile in der Rhizosphäre wasserlösliche Substanzen daraus freigesetzt werden, könnte davon auch eine keimhemmende Wirkung ausgehen.
- Unter Berücksichtigung der letzten beiden Punkte, sowie unter Einbeziehung der physiologischen und ökologischen Eigenschaften der jeweiligen Pflanze ergibt sich für die Einsatzbereich in einer Pflanzenkläranlage folgende Empfehlung: Allen voran ist Schilf (*Phragmites australis*) auf Grund seiner hohen Konkurrenzfähigkeit, der hohen Ausscheidung von Wurzelexsudaten sowie der hohen keimreduzierenden Wirkung der wässrigen Extrakte aus den Rhizomen- und Wurzeln am besten geeignet. Gefolgt von Kalmus (*Acorus calamus*), der einen sehr hohen Anteil an keimhemmenden Inhaltsstoffen im Rhizom besitzt, allerdings gegenüber anderen Arten weniger konkurrenzfähig ist. Iris pseudacorus (Sumpfschwertlinie) ist ebenfalls auf Grund seiner keimhemmenden Inhaltsstoffe in Rhizomen und Wurzeln, gut für den Einsatzbereich der Hygienisierung geeignet, der Bestand ist im Vergleich zu Schilf jedoch ebenso weniger konkurrenzfähig gegenüber größeren Röhrichtarten, wie Schilf.

Für die Anwendung einer Pflanzenkläranlage zur Hygienisierung von Abwässern ergeben sich daher folgende Vorgaben für die Praxis

Anlagenkonzept	Mehrstufige Anlage oder nachgeschaltetes Pflanzenbecken
Anlagentyp	Horizontal oder vertical durchflossenes Becken (kein Unterschied im Wirkungsgrad)
Dimensionierung	80 mm/d bei Hauptreinigung 120 mm/d bei der Nachreinigung bei durchschnittlicher Zulaufkonzentration von $10^5/100$ ml – $10^6/100$ ml (HAGENDORF 2004) zwischen 3 und 0,5 m ² / EW als Nachreinigung
Filtermaterial	Je feinkörniger desto besser
Beschickung / Betrieb	Kontinuierlich, keine Absenkungen etc. Lange Aufenthaltszeiten wirken sich positiv auf Keimelimination aus
Bepflanzung	Schilf als Monobestand oder Kalmus mit Iris (kombiniert oder Monobestände)
Sonstiges	Kolmation soll vermieden werden

Tabelle 14: Vorgaben für die Praxis der Hygienisierung von Abwässern mit Pflanzenkläranlagen

5 LITERATUR

- AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE (API). 1998/a. The Use of Treatment Wetlands for Petroleum Industry Effluents. Prepared for the API Biomonitoring. – API Publication No. 4672. Washington, D. C.
- ANDERSON, T. A.; GUTHRIE, E. A.; WALTON, B. T. 1993: Bioremediation in the rhizosphere -plant roots and associated microbes clean contaminated soil, Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., 27, 2630 - 2635
- BAHLO K. & WACH G. 1992: Naturnahe Abwasserreinigung: Planung und Bau von Pflanzenkläranlagen. Ökobuch Verlag – Staufen bei Freiburg.
- BANKS, M. K.; LEE, E.; SCHWAB, A. P. 1999: Evaluation of Dissipation Mechanisms for Benzo[a]pyrene in the Rhizosphere of Tall Fescue, J. Environ. Qual., 28, 294 - 298
- BASU, U.; GODBOLD, D.; TAYLOR, G. J. 1994: Aluminum resistance in *Triticum aestivum* associated with enhanced exudation of malate, J. Plant Physiol., 144, 747 - 753
- BITTMANN E. 1953: Das Schilf und seine Verwendung im Wasserbau. In: Arbeiten aus der Zentralstelle für Vegetationskartierung. Hrsg. Tüxen R.
- BJÖRK S. 1967. Ecologic investigations of *Phragmites communis*. Studies in theoretic and applied limnology. - Folia limnol. scand. 14. - Lund-Kopenhagen-Oslo.
- BOLTON K. G. E. & GREENWAY M. 1994. From wastes to resources – Melaleuca trees for wastewater treatment and primary industries. – In: 4th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. Proceeding, pp. 795-798. – Guangzhou, People's Republic of China.
- BRIX H. 1996. Role of macrophytes in constructed treatment wetlands. – In: 6th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Proceedings, keynote address 2: 1-6. – Aguas de Sao Pedro, SP Brazil.
- BRIX, H. 1990 Gas exchange through the soil-atmosphere interphase and through dead culms of *Phragmites australis* in a constructed reed bed receiving domestic sewage, Wat. Res., 24, 259- 266
- BRIX, H. 1994: Functions of macrophytes in constructed wetlands, Wat. Sci. Techol., 29, 71 - 78
- BRIX, H.; SORRELL, B. K.; ORR, P. T. 1992: Internat. pressurization and convective gas flow in some emergent freshwater macrophytes, Limnol. Oceanogr., 37, 1420 - 1433
- BURIAN 1973. *Phragmites communis* Trin. im Röhricht des Neusiedler Sees. Wachstum, Produktion und Wasserverbrauch. - In: Ellenberg H., Ökosystemforschung. Ergebnisse von Symposien dt. bot. Ges. angew. Bot. Innsbruck. - 61-77.-Berlin-Heidelberg-New York.
- COOPER P. F. & AL. 1996. Reed beds and constructed wetlands for wastewater treatment.
- CUNNINGHAM, S.D., BERTI, W.R., HUANG, J. W. 1995: Phytoremediation of contaminated soils. Trend Biotechn., 13, 393-397

- DE MAESENEER J. L. 1993. Results of trials on the purification of abattoir wastewater by vertical movement through soil. – IAWQ Specialist group on the use of macrophytes in water pollution control, Newsletter, 8: 13-21.
- DECAMP O., WARREN A., SANCHEZ R. 1999: The role of ciliated protozoa in subsurface flow wetlands and their potential as bioindicators. *Wat. Sci. Tech.* 40/3, 91-98.
- DONNELLY, P. K.; HEGDE, R. S.; FLETCHER, J. S. 1994: Growth of PCB-degrading bacteria on compounds from photosynthetic plants, *Chemosphere*, 28, 981 - 988
- DYKYJOVA D., ONDOK P. J. & HRADECKA D. 1972: Growth and development of the root/shoot rotation in reedswamp macrophytes grown in winter hydroponic cultures. - *Folia geobot. phytotax Praha* 7: 259-268.
- FEES U. 1992: Entwicklung der unterirdischen Biomasse von Schilf in einer Pflanzenkläranlage. Diplomarbeit TU Weihenstephan.
- FLAMISCH N. 1995. Pflanzenkläranlagen in Österreich: Grundlagen, Erfahrungen, Bemessung, Bau und Betrieb. Diplomarbeit. – Universität für Bodenkultur Wien.
- FLETCHER, J. S.; HEGDE, R. S. 1995: Release of phenols by perennial plant roots and their potential importance in bioremediation, *Chemosphere*, 31, 3009 - 3016
- GESSNER F. 1985. Hydrobotanik. Die physiologischen Grundlagen der Pflanzenverbreitung im Wasser. II Stoffhaushalt. - Berlin.
- GLASS D. 1999: U.S. and international market for Phytoremediation, 1999-2000. Massachusetts.
- GRADL T., ENGLMAR S., LENZ A. 1994: Hygienisierung von gereinigtem Abwasser mit bewachsenen Bodenfiltern. In: *Korrespondenz Abwasser* 1994/12
- GRAYSTON, S.J., VAUGHAN, D., JONES, D. 1996: Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the important of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied soil ecology* 5, 29 - 56.
- GRIES C., KRETZSCHMAR R. & WIDMOSER P. 1991. Die Bedeutung von *Phragmites australis* für die Abwasserbehandlung in einer Wurzelraumanlage. - *Wasser und Boden* 5: 280-295.
- HAGENDORF U., DIEHL K., FEUERPFIL I., HUMMEL A., LOPEZ-PILA J., SZEWYK R. 2004: Mikrobiologische Untersuchungen zur seuchenhygienischen Bewertung naturnaher Abwasserbehandlungsanlagen. In: *KA – Abwasser, Abfall* 2004 (51) Nr. 5
- HARKARE W. P. & AL. 1996. Status of rootzone in India. – In: 5th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. Proceedings, Poster 14: 1-4. – Wien.
- HASSELGREN K. 1989. Sweden, Research Projects. – IAWPRC Specialist group on the use of macrophytes in water pollution control, Newsletter, 1: 60.
- HOFMANN K. 1992. Entwässerung und Vererdung von Klärschlamm in Schilfbeeten. - Stuttgart.

- HÜRLIMANN H. 1951. Zur Lebensgeschichte des Schilfs an den Ufern der Schweizer Seen. - In: Pflanzengeographische Kommission der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft, Beitr. geobot. Landesaufn. Schweiz 30.
- IDELOVITSCH E. & MICHAEL M. 1984. Soil-aquifer treatment - a new approach to an old method of wastewater reuse. IWPCF, 8. - Zitiert in: HABERL R. & JANAUER G. A. 1987. Abwasser-reinigung mit Pflanzen. Grundlagen. - Wiener Mitt. 71: 1-39.
- KAINZ A. 2007: Pflanzenkläranlagen als Nachreinigungsstufe. In: Wiener Mitteilungen Band 207. 1. Österreichischer Kleinkläranlagentag.
- KNIGHT R. L., KADLEC R. H. & OHLENDORF H. M. 1999. The Use of Treatment Wetlands for Petroleum Industry Effluents. – Environmental Science & Technology. Vol. 33. 7: 973-980.
- LABER J. 2001: Bepflanzte Bodenfilter zur weitergehenden Reinigung von Oberflächenwasser und Kläranlagenabläufen. Wiener Mitteilungen Band 167. Dissertation Univ. Bodenkultur Wien.
- LANGERGRABER G., PRESSL A., ROHRHOFER R. 2007: Neue Erkenntnisse bei Pflanzenkläranlagen. Wiener Mitteilungen Band 207. pp M124, Univ. Bodenkultur Wien
- LYNCH J.M. 1982: Interactions between bacteria and plants in the root environment. In Bacteria and plants. Academic Press. New York. Pp 1-23
- LYNCH J.M., WHIPPS J. 1990: Substrate flow in rhizosphere. Plant and Soil 129, 1-10.
- MAYER H. R. 1994. Stand der Technik von Pflanzenkläranlagen in Europa, Diplomarbeit. – Universität für Bodenkultur Wien.
- MCFARLANE, C. PFLEEGER, T. 1990: Effect, uptake and deposition of nitrobenzene in several terrestrial plants. Environ.Tocol. Chem. 9, 513-520
- MENCH, M.; MARTIN, E. 1991: Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L., Plant Soil, 132, 187 - 196
- MOORMANN H. 2001: Einfluss der Rhizodeposition von Helophyten auf den mikrobiellen Schadstoffabbau. Dissertation Universität Bremen.
- OJO O. E. & MASHAURI D. A. 1996. Uptake of heavy metals in the root-zone of Msimbazi reeds. – In: 5th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Proceedings, XI/2: 1-7. – Vienna.
- OUESLATI M. A., HADDAD M. & THAYER B. 1996. Phenol uptake by *Juncus fontanesii*. – In: 5th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Proceedings, Poster 23: 1-4. – Vienna.
- PLUGGE, J. 2001: Wechselwirkungen industrieller organischer Schadstoffe mit Rhizospärenkomponenten und Bilanzierung von Stoffströmen in Pflanzenkläranlagen - Laborversuche. Dissertation, Univ. Leipzig.
- PUSSARNIG C. 2000: Pflanzenkläranlagen für die Kreislaufschließung und Reinigung industrieller Abwässer und anderer nicht-kommunaler Abflüsse. Diplomarbeit. Inst. f. Pflanzenphysiologie. Univ. Graz.

- REILLEY, K. A.; BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P. 1996: Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere, *J. environ. qual.*, 25, 212 - 219
- REINHOFER M. 1997: Klärschlammvererdung mit Schilf. Die Rolle des Schilfs bei Vererdungsvorgängen. Diss. Univ. Graz.
- RODEWALD-RUDESCU L. 1974. Das Schilfrohr, *Phragmites communis* Trin. - Die Binnen-gewässer.- Einzeldarstellungen aus der Limnologie und ihren Nachbargebieten. 27. - Stuttgart.
- RUDESCU L. 1965: Monografia stufului den Delta Dunarii. Editura Academiei Republicii Socialiste, Romania.
- SANDMANN, E. R.; LOOS, M. A. 1984: Enumeration of 2,4-D degrading organisms in soils and crop plant rhizospheres using indicator media, high populations associated with sugarcane (*Saccharum officinarum*), *Chemosphere*, 13, 1073 - 1084
- SCHNOOR, J. L.; LICHT, L. A.; MC CUTCHEON, S. C.; WOLFE, N. L.; CARREIRA, L. H. 1995: Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants, *Environ. Sci. Technol.*, 29, 318A -323A
- SCHOLL W., WURSTER H., THALMANN A. & MÖLLER J. 1985. Klärschlammvererdung in Schilfbecken. Ergebnisse und Erkenntnisse eines praxisbezogenen Pilotprojektes. - *Korrespondenz Abwasser*, 32: 386-395.
- SEIDEL, K. 1966: Reinigung von Gewässern durch höhere Wasserpflanzen, *Naturwissenschaften*, 53, 289 - 297
- SEIDL K. & HAPPEL H. 1984: Abwasserreinigung mit Binsen. In: Österreichisches Institut für Baubiologie. Tagungsband St. Wolfgang.
- SEIDL K. 1976: Über die Selbstreinigung natürlicher Gewässer. *Naturwissenschaften*, 63, 286-291. Heidelberg.
- SEIDL K. 1977: Öleliminierung aus belasteten Gewässern. *Naturwissenschaften*, 64, 487. Heidelberg.
- SEITZ P. 1992: Repositionspflanzen zur Entsorgung. In: Fachtagung Arbeitsgemeinschaft Repositionspflanzen. Frankfurt
- SHIMP, J. F.; TRACY, J. C.; DAVIS, L. C.; LEE, E.; HUANG, W.; ERICKSON, L. E.; SCHNOOR, J. L. 1993: Beneficial Effects of Plants in the Remediation of Soil and Groundwater Contaminated With Organic Materials, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 23, 41 - 77
- SICILIANO, S. D.; ALDIE, H.; GERMIDA, J. J. 1998: Enzymatic activity in root exudates of dahurian wild rye (*Elymus dauricus*) that degrades 2-chlorobenzoic acid, *J. agric. food chem.*, 46, 5 - 7
- SLEYTR K., TIETZ A., LANGERGRABER G., HABERL R. 2007: Investigation of bacterial removal during the filtration process in constructed wetlands. In: *Science of Total Environment* 380 (2007) 173-180.
- SMIRNOFF, N.; CRAWFORD, R. M. M. 1983: Variation in the structure and response to flooding of root aerenchyma in some wetland plants, *Annals of Botany*, 51, 237 - 249
- STENGEL E. 1991: Wasserreinigung mit Hilfe höherer grüner Pflanzen. In: Bericht aus der Ökologischen Forschung 5, Forschungszentrum Jülich.

- STUHLBACHER A., MARSCHER F. 1995: Hygienisch Bakteriologische Untersuchungen von Abwasserreinigungssystemen. Joanneum Research.
- TIETZ A., HORNEK R., LANGERGRABER G., MACH R., HABERL R. 2007B: Diversity of ammonia oxidizing bacteria in a vertical subsurface flow constructed wetland. *Water Sci Technol* 56(3), pp 241-247
- TIETZ A., LANGERGRABER G., SLEYTR K., KIRSCHNER A., HABERL R. 2007A: Characterization of microbial biocoenosis in vertical subsurface flow constructed wetlands. *Sci Total Environ* 380(1-3) pp 163-172
- VYMAZAL, J.; BRIX, H.; COOPER, P. F.; HABERL, R.; PERFLER, R.; LABER, J. 1998: Removal mechanisms and types of constructed wetlands, in: J. Vymazal, et al., "Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Europe", Backhuys Publishers, Leiden, 17 - 66
- WALTON, B. T.; GUTHRIE, E. A.; HOYLMAN, A. M. 1994: Toxicant Degradation in the Rhizosphere, in: T. A. Anderson und J. R. Coats, "Bioremediation through Rhizosphere Technology", American Chemical Society, Washington D. C., 563, 11 – 25
- WETZEL R. G. 1993. CONSTRUCTED WETLANDS: SCIENTIFIC FOUNDATIONS ARE CRITICAL. – In: Moshiri G. A. (Hrg.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. – Lewis Publishers. Boca Raton, Florida.
- WISSING F. 1995: *Wasserreinigung mit Pflanzen*. Stuttgart.
- WITT H. 1993: Repositionspflanzen - neue Chancen für den Gartenbau. *Gärtnerbörse, Gartenwelt* 40/93. Aachen.