

Hans-Peter Malkomes

## Einfluss Kupfer-haltiger anthropogener Einträge auf Bodenmikroorganismen – eine Übersicht. II. Mikrobielle Aktivitäten

Influence of anthropogenic copper pollution on soil microorganisms – an overview. II. Microbial activities

429

### Zusammenfassung

Erhöhte Kupfergehalte im Boden können natürlichen Ursprungs sein. Häufig beruhen sie jedoch auf anthropogenen Einträgen. So resultieren sie in landwirtschaftlich, gartenbaulich sowie im Obst- und Weinbau genutzten Böden oft aus der langjährigen Anwendung von Cu-haltigen Pflanzenschutz- und Düngemitteln sowie von Klärschlämmen. In der Forstwirtschaft dürften dagegen industrielle Emissionen vorherrschen, die teilweise zu sehr hohen Cu-Belastungen (oft zusammen mit anderen Schwermetallen) geführt haben. Ergänzend zum ersten Teil der Übersichtsarbeit über mikrobielle Populationen werden hier die Einflüsse von Kupfer auf mikrobielle Aktivitäten im Boden dargestellt. Darunter fallen Aktivitäten des Kohlenstoffkreislaufs (Atmung, Zellulose- und Streuabbau), des Stickstoffkreislaufs (N-Bindung, N-Mineralisierung, Nitrifikation, Denitrifikation) sowie verschiedene Enzymaktivitäten und einige spezielle Leistungen (Humusbildung, Aggregatbildung, Abbau von Pflanzenschutzmitteln). Außerdem wird die Beeinflussung der Cu-Wirkungen durch andere Umweltchemikalien besprochen sowie Möglichkeiten zur Minimierung der Cu-Effekte. Der Umfang der zu den einzelnen Teilgebieten verfügbaren Literatur ist allerdings sehr unterschiedlich. In der Übersicht wird neben der Wirkung des Kupfergehalts im Boden auch die Cu-haltiger Pflanzenschutzmittel sowie verschiedener anorganischer Cu-Verbindungen behandelt. Extrem hohe Cu-Belastungen aus industriellen Emissionen werden nur ergänzend berück-

sichtigt. Insgesamt wurden bei den meisten mikrobiellen Aktivitäten Einflüsse von Kupfer festgestellt, darunter auch von Dosierungen, die unter praxisnahen Bedingungen vorkommen oder sogar geringer sind. Andererseits wurden erstaunlicherweise in einigen Fällen auch bei sehr hohen Cu-Belastungen keine messbaren Effekte beobachtet. Aufgrund der in beiden Teilen der Übersichtsarbeit zusammengetragenen Ergebnisse sowie möglicherweise ansteigender Cu-Konzentrationen im Boden wird ein zurückhaltender Umgang mit Cu-haltigen Pflanzenschutz- und Düngemitteln empfohlen sowie auf Forschungsdefizite hingewiesen.

**Stichwörter:** Kupfer, Pflanzenschutzmittel, Fungizid, Boden, Atmung, Enzymaktivität, Stickstoffbindung, Stickstoffmineralisierung, Nitrifikation, Zelluloseabbau

### Abstract

Increased Cu contents in soil may result from natural sources. In many cases, however, they are induced by anthropogenic activities. Especially in some agricultural, horticultural, vineyard or orchard soils the long-term application of Cu-containing pesticides, fertilizers and sewage sludge caused increased copper contents. In forest soils, however, sometimes a very high Cu pollution (mostly together with other heavy metals) may result from industrial emissions. In addition to the already published first part of the review on microbial populations

### Institut

Früher: Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig

### Kontaktanschrift

Dr. H.-P. Malkomes, Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany, E-Mail: ackerbau@jki.bund.de

### Zur Veröffentlichung angenommen

Mai 2010

now some further influences of copper on microbial activities in soil are presented. They include activities of the carbon cycle (respiration, cellulose and litter decomposition), the nitrogen cycle (nitrogen fixation, mineralization, nitrification, denitrification), several enzymatic as well as some special activities like humus formation, aggregation of soil particles or degradation of pesticides. In addition the modification of the Cu effects by other pollutants are presented and possibilities to minimize the influence of copper itself, too. The distribution of the available publications to the themes, however, looks very heterogenic. Besides the effects of the copper content in soil on microbial activities also those of Cu-containing pesticides and several inorganic Cu compounds have been discussed in this review. Extremely high copper pollutions by industrial emissions, however, are only additionally included in some cases. Several effects of copper on most microbial activities in soil were found in the cited literature. This includes influences of those Cu doses occurring under practical conditions and even lower ones. Contradicting to this, however, in some publications very high Cu contents did not show measurable effects. As a result from the literature cited in both parts of the review and possibly increasing Cu contents in soil a restricted handling of Cu-containing pesticides and fertilizers is recommended and some ecotoxicological research deficits are presented.

**Key words:** Copper, pesticides, fungicide, soil, respiration, enzymatic activity, nitrogen fixation, nitrogen mineralization, nitrification, cellulose decomposition

## Einleitung

In neueren Untersuchungen zahlreicher mit Cu-Fungiziden behandelter australischer Weinbergböden wurden durchschnittliche Cu-Gehalte von 21 bis 94 mg/kg gemessen, doch wurden auch Einzelwerte bis 223 mg/kg beobachtet (WIGHTWICK et al., 2008). In ihrer Übersichtsarbeit berichten KOMAREK et al. (2010) von vielen Überschreitungen der EU-Grenzwerte für Kupfer in Weinbergböden. Für die oberen Schichten zahlreicher europäischer (außer Deutschland) sowie einiger außereuropäischer Weinbergböden werden darin Cu-Werte von 4 bis 3216 mg/kg angegeben, wobei die oberen Werte bei vielen Analysenangaben oft deutlich über 100 mg/kg liegen. Die Autoren mahnen daher für diese Standorte eine sorgfältige Auswahl von Fungiziden an. Wie STRUMPF et al. (2009) ergänzend darlegen, sind anthropogene Belastungen mit Kupfer von über 1500 mg/kg außer in Böden von Weinbergen durchaus auch in denen von Obst- und Hopfenanlagen möglich. An dieser Bandbreite möglicher Kupfergehalte sollte sich daher eine Bewertung der Einflüsse auf Bodenmikroorganismen orientieren. An emissionsbelasteten – vor allem industrienahen – Standorten können sogar noch höhere Kupfergehalte vorkommen. Besonders von hohen Cu-Gehalten im Boden sind Einflüsse auf verschiedene mikrobielle Leis-

tungen im Boden zu erwarten. Die bereits im ersten Teil der Übersichtsarbeit zum Einfluss der Kupferbelastung auf mikrobielle Populationen dargelegten Ergebnisse (MALKOMES, 2010) werden nachfolgend durch eine Literaturübersicht hinsichtlich mikrobieller Aktivitäten und einer vorläufigen Beurteilung ergänzt, wobei Emissionen auch hier nur bei Bedarf berücksichtigt werden. Zunächst wird jeweils auf den Einfluss von Cu-Rückständen im Boden eingegangen. Danach wird die Wirkung von Cu-Pflanzenschutzmitteln dargestellt. Anschließend werden die Effekte von anorganischen Cu-Verbindungen exemplarisch besprochen, wobei meistens auf das bevorzugt untersuchte Cu-Sulfat zurückgegriffen wird, das gelegentlich auch als Fungizid eingesetzt wurde. Da auch über den Einfluss von Cu auf mikrobielle Aktivitäten mehrere hundert Veröffentlichungen vorliegen, wird bei der notwendigen Auswahl – soweit das im Rahmen einer repräsentativen Darstellung noch möglich ist – neuere Literatur bevorzugt. Allerdings werden Arbeiten, in denen Substratnutzungsmuster zur Ermittlung der funktionellen mikrobiellen Diversität untersucht wurden, nur insoweit berücksichtigt, wie sie einen ergänzenden Beitrag zum hier diskutierten Thema bieten.

## Einfluss von Kupfer auf den Kohlenstoffkreislauf

### 1 Bodenatmung

Verteilt über den gesamten Erfassungszeitraum von etwa 100 Jahren liegen zahlreiche Veröffentlichungen zur Bodenatmung vor, die zudem mit einer Vielzahl an Messmethoden durchgeführt wurden. Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse lassen sich folglich kaum miteinander vergleichen. Daher ist zunächst zu prüfen, um welche Art der Atmungsmessung es sich handelt. So bietet die früher fast ausschließlich untersuchte Basalatmung (ohne Substratzusatz) eine Aussage zur C-Mineralisierung im eigentlichen Boden über kurze oder längere Bebrütungszeiten, während die etwas neuere Technik der Substrat-induzierten Atmung (SIR) ein Umsatzpotenzial charakterisiert, das die CO<sub>2</sub>-Bildung oder den O<sub>2</sub>-Verbrauch nach Zusatz verschiedener organischer Verbindungen misst und damit letztlich deren Mineralisierung kennzeichnet. Die nur kurzzeitig gemessene SIR wird (z.B. nach Glucose-Zusatz) in einigen Methoden auch zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse bzw. des Biomasse-Kohlenstoffs verwendet. Entsprechend sind daher einige Veröffentlichungen bereits im ersten Teil der Übersichtsarbeit (MALKOMES, 2010) unter Biomasse-Kohlenstoff enthalten. Der Quotient aus Basalatmung und SIR bzw. Biomasse-Kohlenstoff ermöglicht außerdem eine zusätzliche Aussage zur ökotoxikologischen Belastung des Bodens, indem ein erhöhter Wert oft auf eine verstärkte Belastung hindeutet. Soweit wie möglich werden daher nachfolgend Veröffentlichungen bevorzugt, die mehrere Aussagen gewähren.

In frühen Freilanduntersuchungen stellten MATHUR et al. (1979) an einem mindestens 15 Jahre mit Cu-haltigen Düngern behandelten organischen Boden bereits eine

mit dem EDTA-extrahierbaren (etwa 55–190 mg Cu/kg) und dem Gesamt-Cu-Gehalt (etwa 100–280 mg Cu/kg) negativ korrelierte CO<sub>2</sub>-Bildung (Basalatmung) fest. In teilweise 50 Jahre mit Cu kontaminierten amerikanischen und dänischen Böden wurden Cu-Gehalte von 26 bis 3083 mg/kg gefunden (DUMESTRE et al., 1999). Die an 20 Böden durchgeführte CO<sub>2</sub>-Messung nach Glucosezusatz ergab vor allem in den ersten Messstunden eine mit dem Cu-Gehalt zunehmende Verzögerungsphase (Lag-Phase) der SIR. An 99 unterschiedlich stark mit Schwermetallen einschließlich Cu (6,4–497 mg/kg) belasteten Schweizer Freilandböden, darunter 61 Acker- und 9 Weinbergsböden, ermittelten CELARDIN und CHATENOUX (2003) u.a. die mikrobielle Biomasse (ATP-Gehalt) und die Basalatmung (CO<sub>2</sub>-Bildung über 15 d). Sowohl die Biomasse als auch besonders die Atmung nahmen dosisabhängig mit dem Cu-Gehalt im Boden ab, wobei die EC<sub>50</sub>-Werte für die Atmung bei etwa 259 mg Cu/kg lagen. Im Vergleich zu einem mit 14,4 mg Cu/kg nur gering belasteten Boden einer neuseeländischen Avocado-Anlage stellten VOGELER et al. (2008) in einem Vergleichsboden mit höherem Cu-Gehalt (171,2 mg Cu/kg) eine Hemmung der auf den Kohlenstoff im Boden bezogenen SIR fest, während die ebenfalls gemessene Basalatmung kaum Effekte aufwies. Der daraus errechnete metabolische Quotient  $q_{CO_2}$  wies dagegen – außer einer Stimulation durch Cu am Anfang – keine deutlichen Effekte auf. In dänischen Versuchen wurde je ein niedrig (9,5 mg Cu/kg) und höher (82 mg Cu/kg) mit Cu belasteter Ackerboden nach fünf Jahren zusätzlich unter Laborbedingungen mit Cu-Sulfat (40–500 mg Cu/kg) versetzt und anschließend die SIR gemessen (BRANDT et al., 2010). In beiden bis 80 d untersuchten Cu-Bodenvarianten wurde eine dosisabhängige Hemmung durch Cu-Sulfat festgestellt, wobei die bereits mit 82 mg Cu/kg belastete „Kontrolle“ ebenfalls bereits niedrigere Werte aufwies als der unbelastete Kontrollboden. In einer finnischen Forstbaumschule wurde das Fungizid Cu-Oxychlorid (35,3 kg/ha) im Abstand von 14 d zweimal angewendet (MANNINEN et al., 1998). Hierdurch wurde die über 24 h gemessene Basalatmung um 18% verringert. In einer australischen Avocado-Anlage mit jahrelanger Anwendung von Cu-Fungiziden (Cu-Ammoniumacetat, Cu-Oxychlorid, Cu-Hydroxid) und Cu-Gehalten in der obersten Bodenschicht (2 cm) von 280 bis 345 mg/kg wurde die über 28 d gemessene Basalatmung gegenüber dem Kontrollboden (13 mg Cu/kg) in etwa verdoppelt (MERRINGTON et al., 2002). Der auf die mikrobielle Biomasse bezogene metabolische Quotient  $q_{CO_2}$  war sogar noch stärker erhöht, was allerdings eine merkliche Beeinflussung der Bodenmikroflora andeutet. In chinesischen Apfelanlagen wurde der Cu-Gehalt durch die langjährige Anwendung Cu-haltiger Fungizide von 12,5 mg/kg (Kontrolle) über 21,8 mg/kg nach 5 Jahren und 41,9 mg/kg nach 20 Jahren schließlich auf 141 mg/kg nach 45 Jahren angehoben (WANG et al., 2009b). Die über 7 d gemessene Basalatmung stieg im Boden mit zunehmender Cu-Belastung deutlich an. Auch hier erhöhte sich die spezifische, auf den mikrobiellen Biomassekohlenstoff

bezogene Atmungsrate als Indikator einer gestressten Bodenmikroflora noch stärker. In japanischen Versuchen, in denen die im Oberboden von Apfelanlagen gefundenen höchsten Cu-Gehalte (1120 mg/kg) im Laborversuch durch Zugabe von entsprechenden Cu-Chloridmengen (10 und 20 mmol Cu/kg) simuliert wurden, trat indessen eine dosisabhängige Hemmung der über 10 d gemessenen Basalatmung im Vergleich zum Kontrollboden auf (AOYAMA und NAGUMO, 1997). Wurde diese Atmung jedoch auf den mikrobiellen Biomasse-Kohlenstoff bezogen, so wurde auch hier eine – allerdings nicht dosisabhängige – Stimulation beobachtet, ebenfalls ein Anzeichen für eine beeinträchtigte Bodenmikroflora. Ein von WILKE et al. (2005) durchgeführter Vergleich von SIR-Atmungskurven nach Glucosezugabe ergab ab etwa 190 mg Cu/kg eine deutlich empfindlichere Reaktionen in den frisch mit Cu-Chlorid versetzten Böden als in den die entsprechenden Mengen gealterter Cu-Rückstände enthaltenden Böden. Bei 14,8 und 42,7 bzw. 46,6 mg Cu/kg waren allerdings kaum Unterschiede hinsichtlich Dosierung und Behandlungsunterschieden erkennbar. Belgische Versuche, in denen ebenfalls die Wirkung auf die SIR in frisch mit Cu-Salzen (Carbonat, Chlorid, Sulfat) versetzten Böden mit der Aktivität in entlang eines Cu-Konzentrationsgradienten entnommenen „gealterten“ Proben verglichen wurden, ergaben EC<sub>50</sub>-Werte im Bereich von 95 bis > 850 mg Cu/kg (ORTS et al., 2006). Dabei erwiesen sich je nach Boden teilweise die frisch kontaminierten Proben als empfindlicher, teilweise aber auch die anhand eines Cu-Gradienten im Feld entnommenen gealterten. In den Niederlanden untersuchten TOBOR-KOPLON et al. (2006) die Reaktion der SIR (hier allerdings nach Zugabe von Luzernemehl) in einem mit 750 mg Cu/kg (Cu-Sulfat) behandelten Ackerboden gegenüber zusätzlichem Stress durch pH-Veränderung (4,0 und 6,1), einem achtmaligen 24-stündigen Wechsel von Austrocknen und Wiederbefeuchten sowie einer Hitzebehandlung (18 h bei 50°C). Erstaunlicherweise wurde die SIR im Boden während der 60-tägigen Bebrütung – unabhängig vom zusätzlichen Stress – durch die relativ große Cu-Menge nicht signifikant beeinflusst. Doch wies die Atmung im hitzebehandelten Kontrollboden zumindest anfangs eine Tendenz zur Hemmung auf, nicht aber im Cu-Boden, was dort auf eine resistere Mikroorganismenpopulation schließen lässt.

## 2 Abbau von Zellulose, Stroh und anderen Pflanzmaterialien

Verglichen mit dem Cu-Einfluss auf andere mikrobielle Aktivitäten liegen zu diesem Bereich nur wenige Veröffentlichungen vor, die – besonders beim Streuabbau im Gazebeuteltest – zudem oft nicht ausreichend zwischen der Wirkung einzelner Schwermetalle unterscheiden, die außerdem oft verschiedene Methoden verwenden und z.T. auch noch die Abbauleistung der Bodenfauna einbeziehen. Diese Punkte sowie die relativ geringe Anzahl an verwertbaren Untersuchungen erschweren derzeit noch eine endgültige Beurteilung der Cu-Wirkung auf diese mikrobiellen Abbauleistungen.

In zwei mit mehreren Schwermetallen belasteten Regionen Polens beobachtete ZWOLINSKI (1990) eine starke negative Korrelation zwischen dem Zelluloseabbau in den Forstböden und dem Cu-Eintrag. In japanischen Versuchen verursachte die langjährige Anwendung der Pflanzenschutzmittel Bordeaux-Mischung und Bleiarsonat erhöhte Schwermetallgehalte im Boden von Obstanlagen: 189–1108 mg Cu/kg und 333–1271 mg Pb/kg (AOYAMA und KUROYANAGI, 1996). Hier wurde auch die Abbaurrate von Zellulosepulver zu CO<sub>2</sub> unter Laborbedingungen durch die Menge an CaCl<sub>2</sub>-extrahierbarem Cu exponentiell reduziert. Im Gefäßversuch beobachtete KUDUK (1990) auch nach der Applikation von Kupfersulfat (bis 2500 mg Cu/kg) eine dosisabhängige Verringerung des Zelluloseabbaus in zwei Böden, wobei die Effekte erst ab 62,5 mg Cu/kg deutlicher waren (Tab. 1). Auch die mikrobielle Cellulaseaktivität in drei Böden wurde durch CuCl<sub>2</sub> und Kupfersulfat (5 mmol/kg) ähnlich wie durch andere Schwermetalle gehemmt (DENG und TABATABAI, 1995). In einem anderen Versuch verursachte die Applikation von Cu-Acetat und Cu-Sulfat (100–10000 mg Cu/kg) zu einem Waldboden dagegen eine unterschiedliche Reaktion der Cellulaseaktivität (MALACHOWSKA-JUTSZ et al., 1997). Während Kupfersulfat in der 11-monatigen Versuchszeit erstaunlicherweise keine Wirkung zeigte, hemmte Cu-Acetat ab 7 Monaten dosisabhängig, wobei der Effekt nach 3 Monaten nur bei der höchsten Dosierung (10000 mg Cu/kg) auftrat. Möglicherweise spielen jedoch bei diesen großen Wirkungsunterschieden Störeffekte bei der Cellulase-Methode eine Rolle, wie dies SINEGANI und EMTIAZI (2006) z.B. bei Cu<sup>2+</sup> für die Nachweisreagenz 3,5-Dinitrosalicylat feststellten.

In einem langjährig mit Schwermetallen belasteten schwedischen Kieferstandort wurde der Abbau der Nadelstreu gradientenabhängig stark verringert, wobei

z.B. 500 mg Cu/kg und 1000 mg Zn/kg wirksam waren (BERG et al., 1991). Auch in einem anderen langjährig vor allem mit Cu, Ni, Pb und Zn belasteten Kiefernwald wurde der Abbau der Nadelstreu gradientenabhängig verringert (MCENROE und HELMISAARI, 2001). So betrug die Abbauleistung in 0,5 km Entfernung von der Emissionsquelle (entsprechend etwa 5799 mg Cu/kg und 462 mg Ni/kg im Bodenumus) 28,1% bei Nadel- und 40,9% bei Feinwurzelstreu und in 4 km (658 mg Cu/kg und 124 mg Ni/kg im Bodenumus) 32,2% bei Nadel- und 40,0% bei Feinwurzelstreu verglichen mit 37,9% bzw. 51,0% in unbelasteten Proben aus 200 km Entfernung. In einem langjährig durch die Pflanzenschutzmittel Bordeaux-Mischung und Bleiarsonat mit Cu, Pb und As belasteten Boden einer japanischen Obstanlage wurde der anhand der CO<sub>2</sub>-Entwicklung gemessene Abbau von Grasstreu während einer 70-tägigen Bebrütung nur etwa 14 Tage leicht dosisabhängig durch CaCl<sub>2</sub>-extrahierbare Cu-Gehalte bis etwa 38 mg/kg verringert (AOYAMA und KUROYANAGI, 1996). Unter Laborbedingungen hatte das Fungizid Cu-Oxychlorid mit 10 mg/kg nach 3 Monaten Bebrütung keinen Einfluss auf den Strohabbau (TORSTENSSON, 1988). In einem weiteren japanischen Versuch verursachte die Anwendung von CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O im Boden erhöhte Kupfergehalte von 570 und 1220 mg/kg verglichen mit 60 mg/kg in der Kontrolle (AOYAMA und NAGUMO, 1997). Hierdurch wurde der Abbau von Grasstreu während einer dreijährigen Verweildauer im Freilandboden stark dosisabhängig verringert. In 6 Jahre mit Cu belasteten Böden wurde der über die CO<sub>2</sub>-Bildung gemessene Abbau der Stoppeln von *Medicago truncatula* ab 528 mg Cu/kg dosisabhängig gehemmt (WAKELIN et al., 2010). Dieser Effekt war auch begleitet von strukturellen Änderungen der Bakterien- und Pilzgemeinschaften im Boden. Offensichtlich limitiert Cu die Kapazität der Pilzflora, sich an neue Ressourcen anzupassen. OORTS

**Tab. 1. Zelluloseabbau im Gefäßversuch nach der Applikation von Kupfersulfat zu zwei Böden (verändert nach KUDUK, 1990)**  
*Cellulose decomposition in a pot trial after application of copper sulphate to two soils (modified after KUDUK, 1990)*

Dosierung (dosage)	leichter lehmiger Sandboden (light loamy sand)		leichter Lehm Boden (light loam)	
	verfügbares Cu (available Cu)	Zelluloseabbau (cellulose decomposition)	verfügbares Cu (available Cu)	Zelluloseabbau (cellulose decomposition)
(mg Cu/kg)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
0,00	2,2	63,3 (100,0%)	2,9	78,8 (100,0%)
6,25	2,8	65,4 (103,3%)	3,0	79,0 (100,2%)
12,50	3,2	64,0 (101,1%)	4,1	78,8 (100,0%)
25,00	4,8	62,5 (98,7%)	5,3	72,8 (92,4%)
62,50	8,3	54,5 (86,1%)	9,6	64,7 (82,1%)
125,00	21,5	46,8 (73,9%)	22,4	58,5 (74,2%)
250,00	40,5	42,7 (67,4%)	42,3	51,0 (64,7%)
625,00	110,8	22,3 (35,2%)	120,9	34,5 (43,8%)
1250,00	138,0	16,8 (26,5%)	145,2	18,3 (23,2%)
2500,00	278,0	5,0 (7,9%)	336,4	10,3 (13,1%)

et al. (2006) untersuchten in verschiedenen europäischen Böden den Einfluss von frisch zugesetztem und bis zu 18 Monate nach der Zugabe gealtertem  $\text{CuCl}_2$  (25–4800 mg Cu/kg) bzw.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (250–750 mg Cu/kg) auf den Abbau von mittels  $^{14}\text{C}$  markierten Maisrückständen. Der Prozentsatz an freiem  $\text{Cu}^{2+}$  im Boden war im frisch mit Cu versetzten Boden immer höher als im gealterten. Die  $\text{EC}_{20}$ -Werte für den Abbau lagen in einer Testserie mit  $\text{CuCl}_2$  je nach Boden zwischen 116 und  $> 4288$  mg Cu/kg, die  $\text{EC}_{50}$ -Werte in einer zweiten Testserie mit  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  zwischen 95 und  $> 825$  mg/kg, wobei keine einheitliche Tendenz erkennbar war. In anderen Versuchen mit Labormikrokosmen wurde der Strohabbau in Gazebeuteln nach der Applikation von Kupfersulfat (50–800 mg Cu/kg) ab 100 mg Cu/kg verringert, jedoch trat keine ausgeprägte Dosisabhängigkeit auf (BOGOMOLOV et al., 1996).

## Einfluss von Kupfer auf den Stickstoffkreislauf

### 1 Stickstoffbindung

Oft wird nicht eindeutig zwischen der Wirkung von Kupfer auf N-bindende Mikroorganismen und der eigentlichen Stickstoffbindung unterschieden, so dass einige der vorliegenden Veröffentlichungen bereits im ersten Teil der Übersichtsarbeit (MALKOMES, 2010) behandelt wurden. Außerdem scheint es kaum Untersuchungen zum direkten Einfluss der eigentlichen Cu-Fungizide (z.B. Cu-Oxychlorid) auf die N-Bindung zu geben.

Nur wenige Veröffentlichungen liegen zur Beeinflussung der asymbiontischen N-Bindung von Cyanobakterien im Boden durch Cu vor. An mehreren über Klärschlamm mit den Schwermetallen Cd, Cr, Cu, Ni, Pb und Zn kontaminierten Böden untersuchten LORENZ et al. (1992) die asymbiontische N-Bindung. Je nach Belastungszustand (z.B. 28–630 mg Cu/kg + weitere Schwermetalle, vor allem Zn) und Boden wurde bis zu 94% Hemmung der heterotrophen und 98% der cyanobakteriellen N-Bindung festgestellt. MÅRTENSSON (1993) registrierte nach Applikation von  $\text{CuCl}_2$  eine Hemmung der heterotrophen N-Bindung durch 75 mg Cu/kg, während die N-Bindung durch Cyanobakterien erst durch 125 mg Cu/kg abnahm und unabhängig vom pH-Wert sowie dem C- und N-Gehalt des Bodens war. KOSTOV und VAN CLEEMPUT (1997) untersuchten einen mit Cu-Sulfat (500–3000 mg Cu/kg) behandelten sandigen Lehm- sowie einen sandigen Boden hinsichtlich der cyanobakteriellen N-Bindung. Lediglich die niedrigste Cu-Dosierung erlaubte noch Wachstum und N-Bindung der Cyanobakterien. Nach Anwendung von Cu-Sulfat ermittelte GRIBANOV (1954) eine Konzentration von nur 5 mg Cu/L im Nährmedium für eine optimale N-Bindung durch *Azotobacter chroococcum*. Höhere Dosierungen wirkten allerdings schädlich. Auch MALISZEWSKA (1972) ermittelte unter Laborbedingungen in mit Boden beimpften Flüssigkulturen eine verringerte heterotrophe N-Bindung durch Cu-Sulfat (5,1 mg Cu/L). An Reinkulturen der heterotrophen bakteriellen N-Binder *Azotobacter chroococcum* und

*Azospirillum brasilense* beobachteten AGGARWAL et al. (1992) bereits durch die niedrigste angewandte Dosierung von  $\text{CuCl}_2$  (0,5 mM) eine Hemmung von Wachstum und N-Bindung.

Eine Beeinflussung der symbiontischen N-Bindung durch Cu kann einmal direkt über die Knöllchenbakterien sowie auch indirekt über deren Wirtspflanzen erfolgen. Entsprechend vielfältig können die Wirkungen ausfallen. Kupfer darf nicht nur als Schadstoff angesehen werden, sondern ein Cu-Defizit im Boden kann nicht nur die bekannten Mangelsymptome an Pflanzen verursachen, sondern es kann auch die symbiontische N-Bindung verringern. So erhöhte die Applikation von Cu-Sulfat (bis 5 kg Cu/ha) die symbiontische N-Bindung bei Cu-Mangelpflanzen von *Trifolium subterraneum* (SNOWBALL et al., 1980). Auch bei anderen offensichtlich mit Cu unterversorgten Leguminosen führte die Anwendung von Cu-Sulfat (125 mg Cu/Gefäß) zu einem mehr (*Lupinus luteus*, *Vicia faba*) oder weniger deutlichen Anstieg (*Glycine max*) des N-Gehaltes in Knöllchen und Pflanzenmasse (SELIGA, 1998). Als Folge der Ausbringung von unterschiedlich hoch mit Cu belasteten Klärschlämmen wurden Cu-Gehalte im Boden von 193 und 283 mg/kg verursacht (OBBARD und JONES, 2001). Durch die niedrigeren Cu-Gehalte wurde die symbiontische N-Bindung bei *Trifolium repens* in einem Teilversuch leicht erhöht und blieb sonst unbeeinflusst, während in einem anderen die höhere Dosierung zu einer starken Hemmung führte. Bei *Pisum sativum* und *Vicia faba* waren diese Effekte teilweise weniger ausgeprägt. PORTER und SHERIDAN (1981) untersuchten den Einfluss von Cu-Sulfat in wässriger Lösung auf die symbiontische N-Bindung von *Medicago sativa*. Die anhand der Acetylenreduktion gemessene N-Bindung wurde durch 100 mg Cu/L völlig gehemmt. Im Gefäßversuch applizierten REDDY et al. (1995) Cu-Sulfat mit 0,02 bis 2 mg Cu/kg zur Leguminose *Cajanus cajan* in Sandkultur, die mit *Rhizobium* sp. P116 beimpft war. Ab 0,2 mg Cu/kg wurde die Nitrogenase als Indikator der N-Bindung dosisabhängig verringert. YOUNIS (2007) applizierte in einem Gefäßversuch Cu-Sulfat (50–200 mg Cu/kg) zu der mit *Rhizobium*-Stämmen inokulierten Leguminose *Lablab purpureus*. Dabei wurde die spezifische Nitrogenase nur durch die höchste Dosierung verringert. Auch das Cu-Fungizid 'Kocide 101' (77% Cu-Hydroxid) wurde hinsichtlich seiner Wirkung auf die N-Bindung der mit verschiedenen *Rhizobium*-Stämmen inokulierten Leguminose *Phaseolus vulgaris* untersucht (BALJUKYA und SEMU, 1998). Während die praxisübliche Dosierung des Fungizids (1,7 mg/kg Boden) keinen signifikanten negativen Einfluss auf Pflanzenwachstum, Knöllchenbildung und die N-Bindung hatte, hemmten die höheren Aufwandmengen (3,4 und 6,8 mg/kg) bis zum letzten Probenahmetermin nach 35 d um mehr als 50%.

### 2 Stickstoffmineralisierung

Da die Interpretation des Einflusses von Kupfer auf die Stickstoffmineralisierung von unterschiedlichen Versuchsansätzen ausgehen kann, ist eine klare Definition

sehr wichtig. So können z.B. verschiedene und damit auch unterschiedlich abbaubare N-haltige organische Verbindungen als Ausgangsmaterial dienen. Es muss auf jeden Fall eine Bilanzierung der anorganischen N-Verbindungen möglich sein. Daher sollten immer alle anorganischen N-Formen in diesem Umsatzprozess erfasst werden und nicht nur – wie bei einigen Testverfahren im Rahmen der ökotoxikologischen Prüfung von Pflanzenschutzmitteln vorgeschlagen – das Endprodukt Nitrat der sich meistens noch automatisch an die N-Mineralisierung anschließenden Nitrifikation. Die Anzahl an Veröffentlichungen, in denen die Versuche zur N-Mineralisierung nicht nur die vorherigen Forderungen erfüllen, sondern die Aktivität auch noch einer Dosis-Wirkungsbeziehung zur Cu-Belastung gegenübergestellt wird, ist relativ gering.

In industriell erheblich mit Schwermetallen belasteten schwedischen Waldböden fand TYLER (1975) je nach Entfernung von der Emissionsquelle 12 bis 15000 mg Cu/kg und 100 bis 20000 mg Zn/kg. Anhand der an einem Konzentrationsgradienten gemessenen Cu-Gehalte im organischen Oberboden und der zugehörigen N-Mineralisierung ließ sich eine dosisabhängige Hemmung errechnen, die verglichen mit der am geringsten belasteten Bodenprobe bei 10000 mg Cu/kg etwa 90% betrug, bei 100 mg Cu/kg aber auch bereits etwa 43%. Ebenfalls in organischen Böden, denen hier allerdings früher mäßige Cu-Mengen zugesetzt worden waren, um ihren relativ schnellen Abbau zu verringern, beobachteten MATHUR und PRESTON (1981) bei restlichen Cu-Gehalten im Boden von 22,5 bis 275 mg/kg weder eine Korrelation mit der Ammonifikation im Boden mit und ohne Zusatz von Gelatine noch mit den zugehörigen proteolytischen Bakterien. In alluvialen Böden Bangladeshs mit einem pH-Wert von 7 stimulierten 50 mg Cu/kg die N-Mineralisierung unter aeroben Bedingungen, bereits 100 mg/kg hemmten jedoch (ISHAQUE und BHUIYAN, 1984). Australische Versuche in einer Avocado-Obstanlage mit 20-jähriger Anwendung von Cu-Fungiziden (Cu-Oxychlorid, Cu-Oxid, Cu-Hydroxid) und aktueller Applikation des Fungizids Cu-Ammoniumacetat hatten zu Cu-Gehalten in den oberen Bodenschichten von 176 bis 345 mg/kg (= 0,71–2,15 mg/kg CaCl<sub>2</sub>-extrahierbares Cu) geführt verglichen mit nur 13–14 mg Cu/kg in der Kontrolle (MERRINGTON et al., 2002). Im über 28 d bebrüteten Boden konnte keine dosisabhängige Reaktion des N<sub>min</sub>-Gehaltes (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NH<sub>4</sub>-N) zum Cu-Gehalt im Boden festgestellt werden. Allerdings lag der NH<sub>4</sub>-Gehalt in den belasteten Bodenproben niedriger als im Kontrollboden. Die Anwendung einer niedrigen Dosierung von Cu-Sulfat (20 mg Cu/kg) beeinflusste die Ammonifikation weder im Boden noch in der Mais-Rhizosphäre (CHEN et al., 2001). Eine achtwöchige Bebrütung mit höheren Aufwandmengen von Cu-Sulfat führte jedoch in den Versuchen von OLAYINKA und BABALOLA (2001) zu einer starken dosisabhängigen Hemmung der N-Mineralisierung im Boden. Sie betrug bei 87 mg Cu/kg 20,7% und stieg bei 696 mg Cu/kg auf 69,8%.

### 3 Nitrifikation und Denitrifikation

Da die Nitrifikation im Boden hauptsächlich von spezialisierten Mikroorganismen durchgeführt wird, gilt sie oft als empfindlicher Indikator einer chemischen Bodenbelastung. Die Nitrifikation, d.h. die Oxidation von Ammonium-N über Nitrit schließlich zum Nitrat kann jedoch als **aktuelle Nitrifikation** anhand des End- oder auch des Zwischenprodukts im Boden ohne Zusätze sowie als **potenzielle Nitrifikation** nach vorheriger Zugabe von umsetzbaren Verbindungen wie z.B. Ammonium-Salzen, Harnstoff oder auch komplexen N-haltigen organischen Verbindungen ermittelt werden. Je nachdem, was als Indikator angesehen wird (z.B. das abzubauen Ammonium oder das zu bildende Nitrit bzw. Nitrat) und was als umsetzbare chemische Verbindung dem Boden oder einer mikrobiologischen Reinkultur zugesetzt wird, muss die Interpretation der „Beeinflussung der Nitrifikation“ durch Kupfer ggf. modifiziert werden. Da die Nitrifikation oft pH-abhängig verläuft, können indirekte Effekte wie eine Bodenversauerung die Interpretation zusätzlich beeinflussen. Zum Einfluss von Kupfer und Cu-haltigen Verbindungen auf die Nitrifikation im Boden und in mikrobiellen Reinkulturen liegt – verteilt über einen Zeitraum von etwa 100 Jahren – eine große Anzahl sehr heterogener Veröffentlichungen vor. Allerdings wurden Cu-haltige Pflanzenschutzmittel kaum untersucht.

Bereits früh weist ENO (1953) auf uneinheitliche Reaktionen der Nitrifikation verschiedener Böden hin. Teilweise traten bis zu einem Gehalt von 448 kg Cu/ha Stimulationen und erst darüber Hemmungen auf, wobei kalkarme Böden stärker beeinträchtigt wurden. Außerdem scheint es bei längerer Anwendung zur Resistenzbildung zu kommen. Auch SAUVÉ et al. (1999) konnten an dänischen Böden mit Cu-Gehalten von 26 bis 2277 mg/kg keine direkte Dosisabhängigkeit der anhand der Nitritbildung ermittelten Nitrifikation feststellen, wobei offensichtlich die organische Substanz und der pH-Wert des Bodens modifizierend wirkten. Die potenzielle Nitrifikation (von NH<sub>4</sub>-N) italienischer Böden, die in Flussnähe und im Überschwemmungsbereich mit Cr und ansonsten mit Cu (123,4–261,4 mg Cu/kg) aus der landwirtschaftlichen Bewirtschaftung belasteten waren, wies dagegen eine gewisse Hemmung in Abhängigkeit vom Cu-Gehalt auf (CARFORA et al., 2004). WILKE et al. (2005) stellten bei ihrem Vergleich der Wirkungen von Cu (14,6–2036 mg/kg) auf die potenzielle Nitrifikation fest, dass frisch zugesetztes CuCl<sub>2</sub> stärker hemmt als gealterte Cu-Rückstände. Diese Unterschiede verschwanden jedoch bei Betrachtung der NH<sub>4</sub>Cl-extrahierbaren Cu-Gehalte. NOWAK et al. (2001) untersuchten nach der Applikation von Cu-Acetat zu zwei Böden sowohl die Nitrifikation als auch die daran beteiligten Bakterien. Ab 5 mg Cu/kg wurde die Nitrifikation – besonders im sandigen Boden – stark gehemmt. Die nitrifizierenden Bakterien der ersten Stufe reagierten dabei sogar noch empfindlicher als der Umsetzungsprozess selbst. An drei Böden untersuchten CELA und SUMNER (2002) die potenzielle Nitrifikation (aus Ammoniumsulfat) in Abhängigkeit vom Cu-Gehalt (bis 157 mg/kg) nach Zugabe von

CuCl<sub>2</sub>. Je nach Boden trat eine dosisabhängige Hemmung der Nitrifikation bereits ab etwa 20 oder erst ab etwa 75 mg Cu/kg auf, während eine starke Hemmung nur in einem Boden ab etwa 80 mg Cu/kg beobachtet wurde. Der gekalkte Boden war weniger empfindlich gegenüber Cu. Eine durchschnittliche 50%-ige Hemmung wurde für einen löslichen Cu-Gehalt in den Testböden von etwa 3,7 mg/L errechnet. Nach der Behandlung von 12 australischen Freilandböden mit Cu-Sulfat ermittelten BROOS et al. (2007) bei der Substrat-induzierten (= potenziellen) Nitrifikation EC<sub>50</sub>-Werte von etwa 100 bis über 1000 mg Cu/kg, wobei die höheren vor allem bei zunehmenden pH-Werten auftraten. Auch an 17 typischen chinesischen Böden wurde unter Laborbedingungen eine dosisabhängige Hemmung der potenziellen Nitrifikation beobachtet (SUN et al., 2008). Hier lagen die EC<sub>50</sub>-Werte zwischen 73,4 und 2164,4 mg Cu/kg, die EC<sub>10</sub>-Werte sogar bei nur 7,1 bis 1962,8 mg Cu/kg. Die EC<sub>50</sub>-Werte waren positiv korreliert mit dem pH-Wert sowie dem Mg- und Ca-Gehalt im Boden. In einigen infolge langjähriger Behandlung unterschiedliche Cu-Gradienten aufweisenden dänischen, thailändischen bzw. australischen Böden ergaben sich EC<sub>50</sub>-Werte für eine Hemmung der potenziellen Nitrifikation von 160, 830 bzw. 2060 mg Cu/kg (MERTENS et al., 2010). Die bis über 50%-ige Hemmung der Nitrifikation durch die höchsten Cu-Konzentrationen (1430, 2810 bzw. 3622 mg/kg) fand statt, obwohl sogar ein 20- bis > 200-facher Anstieg der toleranten Nitrifikanten eingetreten war. Auf der Krim hatte die Anwendung von Cu-Fungiziden innerhalb von 10 Jahren den Cu-Gehalt im Boden von Obstanlagen auf 40 bis 180 mg/kg angehoben, was eine Tendenz zur stimulierten Nitrifikation bewirkte (IVANOVA, 1987). Praxisnahe Dosierungen (2,5 bis 15 kg/ha) des Cu-Fungizids Bordeaux-Mischung selbst verringerten die Nitrifikation im Boden während der 65-tägigen Bebrütungszeit dosisabhängig (DIACONU, 1987).

Zum Einfluss von Cu auf die Denitrifikation liegen nur wenige Veröffentlichungen vor, die somit auch keine umfassende Beurteilung erlauben. MALISZEWSKA (1972) beobachtete in mit Boden beimpften Flüssigkulturen unter Laborbedingungen eine Hemmung der Denitrifikation durch Cu-Sulfat (5,1 mg Cu/L). In den Testböden von SANDHU und MORAGHAN (1972) hemmte Kupfersulfat (0,02 N) die Denitrifikation im 96 h Kurzzeitbebrütungsversuch dagegen nur geringfügig. In den beiden Böden mit höherem C<sub>org</sub>-Gehalt (4,1% und 4,96%) war die Hemmung nur bis 48 h messbar, im humusärmeren Boden (2,23% C<sub>org</sub>) war sie jedoch nach 96 h noch vorhanden. Nach kurzer Bebrütung (108 h) mit Cu-Sulfat (100 mg Cu/L) beobachteten PROBENZA et al. (1996) dagegen sogar eine erhöhte Denitrifikation im Testboden. Auch im Gefäßversuch von CHEN et al. (2001) verursachte die geringe Zugabe von Cu-Sulfat (20 mg Cu/kg) zu einem allerdings bereits vorher 18,54 mg Cu/kg und 45,22 mg Cr/kg aufweisenden Boden eine leicht erhöhte Denitrifikation. Dabei fiel der Effekt in der Mais-Rhizosphäre trotz höherer Aktivität ähnlich aus wie im unbewachsenen Boden.

## Einfluss von Kupfer auf Enzymaktivitäten im Boden

Untersuchungen von Bodenenzymen werden stark von den Versuchsbedingungen beeinflusst. Die Ergebnisse charakterisieren u.U. nicht nur mikrobielle Umsatzleistungen im Boden, sondern erfassen ggf. auch den Anteil an pflanzlicher und tierischer Aktivität. Da einige Enzyme exogen vorkommen und sogar längere Zeit an Bodenpartikeln sorbiert sein können, kann besonders die Interpretation von Kurzzeitversuchen zusätzlich Probleme bereiten. Enzymuntersuchungen im Boden werden oft photometrisch durchgeführt und sind zudem pH-abhängig, was zusätzliche Störeffekte durch gefärbte oder den pH-Wert verändernde Substanzen induziert. Häufig charakterisieren die Ergebnisse zunächst ein Umsatzpotenzial und nicht die tatsächliche Situation im Boden; sie sind dann ggf. auch nicht mit der allgemeinen oder spezifischen mikrobiellen Biomasse korreliert. Insgesamt liegen über ökotoxikologische Enzymuntersuchungen zum Kupfereinfluss über viele Jahre verteilt zahlreiche Veröffentlichungen – teilweise sogar mit sehr konträren – Ergebnissen vor. Nachfolgend werden daher solche Arbeiten bevorzugt besprochen, in denen mehrere Enzymaktivitäten untersucht wurden.

Einige organische Böden, die infolge einer vorangegangenen Cu-haltigen Düngung bis zu 175 mg Cu/kg enthielten, wiesen gegenüber den weniger belasteten Proben aus dem Randbereich eine mit dem Cu-Gehalt negativ korrelierte Aktivität verschiedener Enzyme (z.B. Amylase, Cellulase, Lipase, Xylanase) auf (MATHUR und SANDERSON, 1980). Diese reduzierte Enzymtätigkeit dürfte auch die Zersetzung der organischen Bodensubstanz behindern. Von diesen Enzymen unterscheidet sich die Dehydrogenaseaktivität durch ihre enge Bindung an lebende Mikroorganismenzellen, weshalb sie oft mit Biomasseparametern korreliert ist. Allerdings können Nachweismethoden, die Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) als Indikator verwenden, durch Cu selbst gestört werden. In der von FUCHS et al. (1994) daraufhin getesteten Messvariante der Dehydrogenaseaktivität mit dem alternativen Indikator Jodnitrotetrazoliumviolett (INT) wurde in einem Cu-kontaminierten Boden eine dosisabhängige Hemmung von etwa 20% bei 50 mg Cu/kg bis etwa 50% bei 150 mg Cu/kg festgestellt. In der gleichzeitig mit untersuchten störanfälligeren TTC-Variante fielen die Effekte sogar noch stärker aus. Mehrere südindische lateritische Teeböden wurden jeweils mit 25 und 75 µM Cu<sup>2+</sup> kontaminiert (VENKATESAN und SENTHURPANDIAN, 2006). Je nach Boden wurden die nährstoffbezogene saure und alkalische Phosphataseaktivität dosisabhängig um bis über 70% verringert. Die ebenfalls Nährstoffkreisläufen zuzuordnende Arylsulfatase- und Ureaseaktivität wurden zwar auch deutlich, aber teilweise nicht so ausgeprägt dosisabhängig reduziert. Aufgrund ihrer heterogenen Ergebnisse aus mit Abwasser behandelten chinesischen Böden, in denen eine starke Abhängigkeit verschiedener Bodenenzyme (Cellulase, Katalase, alkalische Phosphatase, Polyphenoloxidase, Urease) von den Bodeneigenschaften, aber teilweise auch von den Schwermetall-

gehalten (Cd, Cu, Pb, Zn) festgestellt wurde, mahnen WANG et al. (2009a) allerdings einen vorsichtigen Umgang mit ökotoxikologischen Enzymuntersuchungen an.

Nur vereinzelt wurde der Einfluss von Cu-Fungiziden auf Bodenenzyme untersucht. Die mehrjährige Anwendung von ‚Cuprosan‘ (Cu-Oxychlorid, 2,5 kg/ha) zu Kartoffeln verursachte keine messbaren Veränderungen der Invertase-, Katalase- und Proteaseaktivitäten in einem Podsolboden (MOLCHAN et al., 1987). Ebenfalls in Kartoffelfeldern reduzierte jedoch Cu-Oxychlorid (7,4 kg/ha) während der 60-tägigen Probenahme die Dehydrogenaseaktivität besonders stark (um etwa 70%), während die nährstoffbezogene Phosphatase- nur um bis zu 30% und die Ureaseaktivität um bis etwa 20% verringert wurden (SHUKLA und MISHRA, 1996). In chinesischen Apfelanlagen hatten sich während der 45-jährigen Anwendung von Cu-Fungiziden im Boden bis zu 141 mg Cu/kg akkumuliert (WANG et al., 2009b). Trotz der leichten Tendenz einer mit dem Behandlungsalter abnehmenden Enzymaktivität konnten bei der Invertase, sauren Phosphatase und Urease keine signifikanten Behandlungsunterschiede festgestellt werden.

Relativ viele ökotoxikologische Bodenenzymuntersuchungen von Kupfer wurden mit Cu-Sulfat durchgeführt. In Langzeituntersuchungen hatte WILKE (1987) durch Cu-Sulfatgaben Cu-Gehalte im Boden von 130 und 222 mg/kg produziert. Alle untersuchten Bodenenzymaktivitäten wurden dosisabhängig durch Cu gehemmt. Die Verringerung betrug bei der Biomasse-abhängigen Dehydrogenase 52 und 64%, bei den nährstoffbezogenen Enzymen der alkalische Phosphatase 43 und 65%, der Protease 62 und 92% sowie der Saccharase 44 und 59%. In einem mit 1 bis 50 g/kg Cu-Sulfat behandelten finnischen Humusboden beobachteten LÄHDESMÄKI und PIISPANEN (1992) eine dosisabhängige Hemmung der Amylaseaktivität. Wurde der Boden jedoch fraktioniert, so nahmen die Cu-Wirkungen bereits ab etwa 1 mg/L stark zu. Offensichtlich wurde hierdurch die Schutzfunktion der Ton- und Humuskolloide für dieses Exoenzym gestört. In polnischen Versuchen erzielten KUCHARSKI und HŁASKO-NASALSKA (2005) durch eine Cu-Sulfatanwendung Ertragseinbußen bei Hafer und Sommerraps ab 420 mg Cu/kg, nicht aber bei Ackerbohnen. Im Boden ebenfalls durchgeführte Enzymuntersuchungen zeigten, dass besonders die Biomasse-bezogene Dehydrogenase- sowie die nährstoffbezogene Ureaseaktivität bereits ab 140 mg Cu/kg stark dosisabhängig reduziert wurden. Die Wirkung auf die alkalische und die saure Phosphataseaktivität war weniger stark und wurde teilweise noch durch die Kulturpflanzen modifiziert. Auch in 70-tägigen Laborversuchen wurde in sechs verschiedenen Böden nach der Anwendung von Cu-Sulfat (100 und 1000 mg Cu/kg) eine starke und oft dosisabhängige Hemmung der Dehydrogenase- und meistens auch der Katalaseaktivität beobachtet (SAVIOZZI et al., 2006). Allerdings wurden Ausmaß und Dauer der Wirkungen sehr vom Boden – und dort offensichtlich vor allem von einem hohen  $C_{org}$ -Gehalt – beeinflusst. In chinesischen Gefäßversuchen wurden Erdnusspflanzen nach Zugabe von

Cu-Sulfat ab 500 mg Cu/kg geschädigt (SHAO et al., 2008). Von den gleichzeitig untersuchten Bodenenzymen wurden die Invertase und Polyphenoloxidase von keiner der angewandten Dosierungen (300 bis 1200 mg Cu/kg) beeinflusst. Die Katalase wurde nur geringfügig dosisabhängig gehemmt, die Nährstoff-bezogene Phosphatase und Urease dagegen bereits ab 300 mg Cu/kg mit etwa 36% bzw. 33% sehr stark. Ebenfalls durch Cu-Sulfat ab 500 mg Cu/kg wurde auch die Testpflanze *Alternanthera philoxeroides* gehemmt (HUANG et al., 2009). Während die parallel untersuchten Aktivitäten der Invertase und Katalase im Boden nur eine geringe dosisabhängige Hemmung ab etwa 500 mg Cu/kg aufwiesen, wurde die Phosphatase ab 500 mg Cu/kg um etwa 12% und die Urease sogar bereits ab 50 mg Cu/kg um etwa 25% dosisabhängig verringert. Wie Tab. 2 am Beispiel des Einflusses von Cu-Chlorid auf die Arylsulfatase-, saure Phosphatase-, Protease- und Ureaseaktivität zeigt, sind auch von anderen anorganischen Cu-Verbindungen ähnliche und oft dosisabhängige Beeinträchtigungen verschiedener Bodenenzyme zu erwarten.

### Einfluss von Kupfer auf spezielle Leistungen (z.B. Humusbildung, Bodenaggregate, Abbau von Pflanzenschutzmitteln)

Zu diesen Themen liegen offensichtlich nur wenige Veröffentlichungen vor, die somit auch keine umfassende Beurteilung erlauben.

Einige in Abhängigkeit von der Entfernung zur Belastungsquelle in der oberen Schicht stark mit Cu (20–1632 mg/kg), aber weniger mit Zn (5–83 mg/kg) kontaminierte Böden wiesen einen ungünstig veränderten Humus auf mit einem erhöhten Anteil an Fulvosäuren (DROZD und KOWALINSKI, 1977). STASYUK et al. (1980) fanden allerdings beim Vergleich einiger vor allem in der oberen Schicht unterschiedlich mit den Schwermetallen Cd (0,2–19,5 mg/kg), Cu (7,7–39,3 mg/kg), Pb (22–1160 mg/kg) und Zn (9,7–300 mg/kg) belasteten Grauerden keine wesentlichen Unterschiede im Humusgehalt. In unterschiedlich stark mit Schwermetallen (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) belasteten italienischen Böden fanden VALSECCHI et al. (1995) eine positive Korrelation zwischen dem EDTA-extrahierbaren Cu-Gehalt (8–276 mg/kg) und dem  $C_{org}$ -Gehalt sowie den Humin- und Fulvosäuren. Auch ein 70 Jahre in einer Holzbehandlungsanlage mit Cu belasteter Boden wies einen verringerten Abbau der organischen Substanz auf (SAUVÉ, 2006). Es wurden folgende Cu-Grenzwerte für eine Abbauehemmung ermittelt: 154 mg Cu/kg für 10%, 193 mg Cu/kg für 20% und 285 mg Cu/kg für 50%. Ein langjährig mit Cu-Sulfat behandelte französischer Weinbergboden wies dagegen neben einem verringerten Humusgehalt auch eine Versauerung sowie reduzierte mikrobielle Populationen auf (POCHON et al., 1962). Die Applikation von Klärschlamm, der zur Simulierung einer Schwermetallkontamination u.a. mit Kupfersulfat (50–200 mg Cu/kg) behandelt war, erhöhte zwar den  $C_{org}$ -Gehalt des Bodens aufgrund des



**Tab. 2. Einfluss von Kupferchlorid auf verschiedene Enzymaktivitäten in einem forstlichen argentinischen Argiudoll-Boden nach 30 und 90 Tagen Bebrütung unter Laborbedingungen (verändert nach EFFRON et al., 2004)***Influence of copper chloride on several enzymatic activities in an forestry Argentine Argiudoll soil after 30 and 90 days incubation under laboratory conditions (modified after EFFRON et al., 2004)*

Dosierung (dosage) (mg Cu/kg)	ASA		SPA		PA		UA	
	30 d	90 d	30 d	90 d	30 d	90 d	30 d	90 d
0	422 a (100,0%)	315 a (100,0%)	819 a (100,0%)	964 a (100,0%)	233 a (100,0%)	323 a (100,0%)	62 a (100,0%)	40 a (100,0%)
50	359 b (85,1%)	236 b (74,9%)	605 b (73,9%)	824 ab (85,5%)	151 b (64,8%)	226 b (69,7%)	55 a (88,7%)	31 a (77,5%)
250	317 c (75,1%)	239 b (75,9%)	606 b (74,0%)	735 bc (76,2%)	157 b (67,4%)	214 bc (66,2%)	40 b (64,5%)	10 b (25,0%)
500	295 c (69,9%)	242*) b (76,8%)	464 bc (56,6%)	647 c (67,1%)	99 c (42,5%)	194 bc (60,1%)	34 bc (54,8%)	9 b (22,5%)
1000	283 c (67,1%)	220 c (69,8%)	357 c (43,6%)	461 d (47,8%)	85 c (36,5%)	154 c (47,7%)	28 c (45,2%)	11 b (27,5%)

ASA = Arylsulfatase-Aktivität ( $\mu\text{g p-Nitrophenol/g}\cdot\text{h}$ ). SPA = saure Phosphatase-Aktivität (*acid phosphatase activity*) ( $\mu\text{g p-Nitrophenol/g}\cdot\text{h}$ ). PA = Protease-Aktivität ( $\mu\text{g Tyrosin/g}\cdot\text{h}$ ). UA = Urease-Aktivität ( $\mu\text{g Harnstoff-N/g}\cdot\text{h}$ ).

\*) Wert aus den Originaltabellen neu errechnet (value newly calculated from the original tables). Gleiche Buchstaben innerhalb einer Säule = keine signifikante Differenz (Values followed by the same letter within one column = no significant difference)

beträchtlichen C-Eintrags, doch wurde kein Metalleinfluss festgestellt (GRIFFITHS et al., 2005). In einer brasilianischen Kaffeepflanzung erzielte die bis zu 10-jährige Anwendung der Cu-Fungizide Kupferoxid und Cu-Oxychlorid (5 Anwendungen pro Jahr mit jeweils 4 g/Baum) vor allem in der oberen Bodenschicht EDTA-extrahierbare Cu-Gehalte von 44 und 110 mg/kg (10 und 21 mg/kg in der Kontrolle) und daraus resultierend einen verringerten Abbau organischer Substanz und steigende  $C_{\text{org}}$ -Gehalte (PAVAN et al., 1994). In einem nigerianischen Kakao-Anbausystem verursachte die Anwendung von Cu-Fungiziden ( $\text{CuSO}_4\text{-Ca(OH)}_2$ ) in 0–15 cm Tiefe extrahierbare Cu-Gehalte von 7,68 und 8,2 mg/kg verglichen mit 4,03 bis 4,95 mg/kg im unbelasteten Boden (AKINNIFFESI et al., 2006). Auch die organische Substanz war nach dieser Behandlung sowohl im oberen Boden als auch in den Schichten bis 60 cm Tiefe meistens erhöht. Neuere chinesische Untersuchungen zeigten, dass der Abbau und die Humifizierung von Maisrückständen durch die Applikation von Cu-Acetat dosisabhängig beeinflusst wird (ZHANG et al., 2010). So stieg der Gehalt an Humin- und Fulvosäuren und damit der C-Gehalt der Humusfraktion mit zunehmender Cu-Konzentration (50–1000 mg Cu/kg) an, während die Aromatizität der Huminsäuren abnahm.

Die bereits oben erwähnten stark mit Cu kontaminierten Böden wiesen zusätzlich noch geringere Mikroaggregate und biogene Poren auf, was die Wassererosion erhöhte (DROZD und KOWALINSKI, 1977). Auch in den bereits oben dargestellten mit Cd, Cu, Pb und Zn belasteten Grauerden trat eine Verringerung der Mikroaggregation der Bodensubstanz sowie der Mikroporosität auf (STASYUK et al., 1980). ELSACKERS et al. (2005) beobachte-

ten in ihrer Untersuchung zur Wirkung des Fungizids Cu-Oxychlorid auf die Regenwurmaktivität in südafrikanischen Weinbergen auch eine – möglicherweise nicht mikrobiell bedingte – höhere Bodendichte als in benachbarten Böden.

Der Einfluss von Kupfer auf den Abbau von Pflanzenschutzmitteln wurde offensichtlich nur bei wenigen Herbiziden und Insektiziden untersucht, obwohl auch Fungizide als Kombinationspartner infrage kämen. In polnischen Versuchen beobachtete STRZELEC (1982) eine Hemmung des mikrobiellen Abbaus des Herbizids Atrazin durch Kupfersulfat ab 50 mg Cu/kg im Boden, während die Dosis-Wirkungsbeziehung bei Kulturen des abbauenden Pilzes *Penicillium citrinum* nicht so ausgeprägt war. In Reisböden wurde auch der Abbau des Herbizids Thiobencarb durch die als Fungizide eingesetzten Mittel  $\text{Cu(OH)}_2$  und Kupfersulfat ab 40 mg Cu/L gehemmt, während er bei Dosierungen von  $< 3$  mg Cu/L dem des unsterilen Kontrollbodens entsprach (GUNASEKARA et al., 2005). In französischen Versuchen wurde weiterhin der Abbau des Herbizids Isoproturon im Boden sowohl durch eine Klärschlammbehandlung als auch durch Cd-, Cu- und Zn-Sulfat und Pb-Nitrat – trotz kaum differenzierter extrahierbarer Cu-Gehalte von 0,121 bis 0,195 mg/kg – um fast 10% verringert (PERRIN-GANIER et al., 2001). In langjährig mit den Schwermetallen Cu (35–178 mg/kg), Pb (90–802 mg/kg) und Zn (162–397 mg/kg) belasteten niederländischen Böden beobachteten KOOLS et al. (2005) dagegen keinen Einfluss auf die Abbaurate des Herbizids Glyphosat. In mit Cu belasteten Böden neuseeländischer Obstanlagen registrierten GAW et al. (2003) allerdings wiederum eine negative Korrelation zwischen dem Abbau des Insektizids DDT und Cu-Konzentrationen

von 21 bis 490 mg/kg. Auch der Abbau von Insektiziden im Boden kann offensichtlich durch Kupfer (10 mg/kg) verlangsamt werden (LIU et al., 2007). So wurde der Abbau von Cyhalothrin etwa 5 d verzögert, der von Cypermethrin um etwa 15 d.

### Beeinflussung der Kupferwirkungen auf mikrobielle Aktivitäten im Boden durch andere Umweltchemikalien

Der Einfluss von Kupfer zusammen mit anderen Schwermetallen auf mikrobielle Aktivitäten im Boden wurde zwar im Rahmen von industriellen Umweltbelastungen vergleichsweise häufig untersucht, doch wurden dabei die Effekte der einzelnen Schwermetalle meistens nicht von deren Kombinationswirkung unterschieden. Daher liegen zum eigentlichen Thema nur relativ wenige Veröffentlichungen vor. WILKE (1988) untersuchte im Gefäßversuch die Wirkung der Chlorid- bzw. Sulfatsalze von Cd (3 mg/kg), Cr (100 mg/kg), Cu (50 mg/kg), Hg (2 mg/kg), Ni (50 mg/kg), Pb (100 mg/kg) und Zn (200 mg/kg) einzeln und in einer Gesamtkombination auf die Basalatmung sowie die Dehydrogenaseaktivität der A<sub>p</sub>-Schicht einer Parabraunerde. Dabei wurde die Atmung vom Tag 11 bis 42 stark durch Kupfer verringert, während das Gemisch zwar ähnlich, aber länger (bis 59 d) wirkte. Die Enzymaktivität wurde vor allem durch das Wirkstoffgemisch gehemmt. In einem 6-wöchigen Gefäßversuch applizierten NWUCHE und UGOJI (2008) Sulfatsalze von Cu, Ni und Zn zum Boden, wobei einzeln jeweils 3000, in der Zweierkombination jeweils 1500 und in der Dreierkombination jeweils 1000 mg/kg eingesetzt wurden. Die C-Mineralisierung wurde durch Cu und ähnlich auch durch Cu + Ni (etwas schwächer) und Cu + Zn sechs Wochen erhöht, durch die Dreierkombination dagegen nicht. Die N-Mineralisierung wurde jedoch nur durch Cu und dessen Kombination mit Zn erhöht. Wie die Messung des Biomasse-C anhand reduzierter Werte für Cu und Cu + Zn zeigt, dürfte die vorher genannte erhöhte C- und N-Mineralisierung allerdings auf einem Abtötungseffekt dieser Behandlungen beruhen. In umfangreichen polnischen Gefäßversuchen applizierten WYSZKOWSKA et al. (2006) sowohl CuCl<sub>2</sub> (50 und 450 mg Cu/kg) als auch Salze der Schwermetalle Cd, Cr, Ni, Pb und Zn sowie deren Zweier- bis Fünferkombinationen und untersuchten mehrere Enzymaktivitäten in zwei Böden. Die Dehydrogenaseaktivität wurde durch 50 mg Cu/kg verringert, durch 450 mg Cu/kg dagegen vollständig gehemmt, wobei die Kombinationswirkungen denen von Cu allein ähnelten. Die Aktivitäten der Urease sowie die der sauren und alkalischen Phosphatase wurden durch Cu dosisabhängig gehemmt. Die Kombination der höheren Cu-Dosierung mit den anderen Schwermetallen verursachte meistens vergleichbare Wirkungen wie Cu selbst, teilweise aber auch positive oder negative Abweichungen. Ähnlich wirkten sich die Behandlungen auch auf den Haferertrag aus.

Zum Thema Wirkung der Kombination von Kupfer mit Pflanzenschutzmitteln liegen nur wenige Veröffentlichun-

gen vor. In polnischen Laborversuchen applizierten KŁODKA und NOWAK (2004) das Fungizid Cu-Oxychlorid in einfacher und 10-facher Dosierung allein sowie zusammen mit Adjuvants (Polybutenemulsion, Pflanzenöl). Während der 112-tägigen Bebrütung lagen besonders die Werte der Dehydrogenase- und  $\beta$ -Glucosidaseaktivität nach Applikation der Mittelkombination zeitweise niedriger als beim Fungizid selbst. Die saure und alkalische Phosphataseaktivität reagierten nicht so ausgeprägt. Unter Laborbedingungen applizierten LIU et al. (2004) Kupfersulfat (50–300 mg Cu/kg), das Herbizid Atrazin (5–50 mg/kg) sowie deren Kombination zu einem Boden mit einem bereits vorhandenen Cu-Gehalt von 15,3 mg/kg und untersuchten die Aktivität der Invertase, Katalase, sauren Phosphatase und Urease. Kupfer hemmte die Enzymaktivitäten in der Reihenfolge Urease > saure Phosphatase > Invertase > Urease, wobei die Wirkung stärker war als bei Atrazin. Deren Kombination wirkte vor allem auf die insgesamt am empfindlichsten reagierende saure Phosphatase. DEMANOU et al. (2006b) applizierten im Mikrokosmenversuch CuO (128 mg/kg) und das Fungizid Mefenoxam (4 mg AS/kg) sowie deren Kombination zu einem vorher nie mit Pflanzenschutzmitteln behandeltem tropischen Boden. Auf einem allerdings sehr niedrigen Aktivitätsniveau wurde die potenzielle Nitrifikation im Boden durch Cu nicht signifikant beeinflusst, durch Mefenoxam und noch stärker durch dessen Kombination mit Cu jedoch gefördert. Ergänzende Untersuchungen von 7 Enzymen wiesen zudem auf eine zeitweise veränderte funktionelle Aktivität des Bodens durch Mefenoxam und dessen Kombination mit Kupfer hin (DEMANOU et al., 2006a): Die Chitinase- und Glucosidaseaktivität wurden hierdurch erhöht, während die Laccase nach der Cu-Behandlung höher war als in der Kontrolle und nach Mefenoxam. Unter Laborbedingungen applizierten LIU et al. (2008) je 5 Dosierungen von Kupfersulfat (100–600 mg Cu/kg) und dem Insektizid Cypermethrin (1–150 mg/kg) sowie deren Kombinationen zu einem chinesischen Boden, den sie 35 Tage bebrüteten. Kupfer allein reduzierte die Katalaseaktivität dosisabhängig bis auf 85% der Kontrollwerte, während Cypermethrin keine Dosisabhängigkeit aufwies, kaum hemmte und z.T. sogar stark stimulierte. Insgesamt ergab sich folgende Reihenfolge der Hemmung der Katalaseaktivität: Cu > Cu + Cypermethrin > Cypermethrin. An einem Boden aus einem chinesischen Langzeit-Feldversuch mit unterschiedlicher Düngung wurde der Einfluss von CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (100 mg Cu/kg) und dem Insektizid Cypermethrin (10 mg/kg) sowie deren Kombination in praxisnahen Dosierungen auf die Dehydrogenaseaktivität während einer 28-tägiger Bebrütung unter Laborbedingungen untersucht (XIE et al., 2009). Kupfer verursachte eine deutliche Hemmung der Enzymaktivität, die im ungedüngten Boden bis zum Versuchsende, in den mineralisch oder organisch gedüngten Varianten dagegen nur bis 21 Tage anhielt. Die Wirkung von Cu in der Kombination mit dem Insektizid wurde meistens etwas abgeschwächt, da Cypermethrin allein teilweise stimulierte. Die ebenfalls untersuchte funktionale Diversität zeigte

anhand von Substratnutzungsmustern nur im ungedüngten und mineralisch gedüngten Boden geringe Einflüsse beider Cu-Behandlungen. Unter Laborbedingungen wurde auch der Nitrifikationshemmer ‚Stay-N 2000‘ (4 mg AS/kg Boden; umformuliertes Nitrapyridin) zusammen mit Kupfersulfat (5 mmol Cu/kg) zu zwei Böden appliziert (ROVITA und KILLORN, 2008). Kupfer selbst beeinflusste die Nitratbildung in beiden Böden während der 60-tägigen Bebrütung kaum, während es in Kombination mit ‚Stay-N 2000‘ dessen starke Hemmung deutlich verringerte.

### Möglichkeiten zur Minimierung der Kupfereinflüsse auf Bodenmikroorganismen und zur Bodensanierung

Bereits frühzeitig weisen BAROUX und SECHET (1974) darauf hin, dass eine Anhebung des Boden-pH-Wertes die Toxizität von Kupfersulfat (ab 100 mg Cu/kg) gegenüber Bakterien, der Ammonifikation und Nitrifikation sowie dem bakteriellen Zelluloseabbau merklich verringern kann, besonders wenn Kalk zusammen mit Humuskolloiden eingesetzt wurde. BADURA et al. (1984) stellten während der 28-tägigen Bebrütung unter Laborbedingungen bei hohen Kalkgaben auch eine Reduzierung der durch sehr hohe Kupfersulfatgaben (10000 mg Cu/kg) verursachten Hemmung von Aktivitäten des N-Kreislauf (Denitrifikation, N-Bindung) fest. KOSTOV und VAN CLEEMPUT (2001a) beobachteten weiterhin einen abschwächenden Einfluss von Kalk und besonders dessen Kombination mit Kompost auf den negativen Effekt von Kupfersulfat gegenüber der Bodenatmung und dem Biomasse-C. Außerdem wurde auch die Anzahl an Aktinomyzeten stark erhöht. Ähnlich günstig wirkte sich Kalk und dessen Kombination mit Kompost auch auf den Einfluss von Kupfersulfat gegenüber der N-Mineralisierung und Nitrifikation aus (KOSTOV und VAN CLEEMPUT, 2001b). Im Laborversuch erwies sich neben Kompost auch  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  als geeignet, die toxische Wirkung von Kupfersulfat (750 mg Cu/kg) auf ammonifizierende Bakterien und Pilze im Boden zu reduzieren (KALOYANOVA und KOSTOV, 2003). KIIKKILÄ et al. (2002) untersuchten einen mit Cu belasteten finnischen Waldboden, der neben Ni und Zn vor allem 4700 mg/kg austauschbares Cu in der organischen Bodenschicht und je nach Tiefe zwischen 12 und 230 mg/kg im Mineralboden enthielt. Eine Mulchschicht aus Kompost und Holzschnitzeln verringerte die Toxizität von Cu gegenüber Bodenbakterien, indem das mit löslichem organischem C (DOC) angereicherte Leachingwasser die Bildung von Cu-Komplexverbindungen förderte, die wiederum Bakterien weniger stark beeinflussten als die mineralischen Cu-Formen. Allerdings besteht die Gefahr, dass Cu stärker im Bodenprofil verlagert wird. Auch FARRELL et al. (2010) versuchten durch Applikation von verschiedenen Komposten und Mineraldünger eine Remediation der mit Cu, Pb und Zn belasteten Böden zu erreichen. Sie konnten zwar durch Kompost einen Anstieg mikrobieller Parameter (mikrobielle Diversität und Aktivität) im Oberboden erzielen, nicht aber im ebenfalls belasteten Unterboden. VOGELER et al. (2008) beobachte-

ten, dass besonders durch Cu-resistente Pflanzen wie z.B. *Agrostis capillaris* die mikrobielle Aktivität im Boden mit niedrigen Cu-Gehalten gesteigert wird, während dieser Effekt bei höheren Cu-Gehalten an die veränderte Wüchsigkeit der Pflanzen, d.h. an phytotoxische Cu-Einflüsse, gekoppelt zu sein scheint. Nicht in allen Fällen kann jedoch der negative Effekt von Kupfer durch die Zufuhr organischen Materials verringert werden. So fand WILKE (1991) zwar nach der Anwendung von Stallmist zu einem mit Kupfer belasteten Boden eine Erhöhung der mikrobiellen Aktivität (Dehydrogenase, alkalische Phosphatase) und des ATP-Gehaltes (Biomasse). Die relative und teilweise sogar die absolute Hemmung der mikrobiellen Aktivität durch die durch Cu-Sulfat induzierten Gehalte von 130 und 222 mg Cu/kg blieb jedoch weitgehend erhalten. Eine spezielle Methode, die durch den Einsatz Cu-haltiger Pflanzenschutzmittel und der damit verbundenen Cu-Anreicherung im Boden verursachten Nachteile bei der Bekämpfung von pilzlichen Krankheitserregern zu minimieren, bieten KREDICS et al. (2001). Die Autoren untersuchten die Möglichkeit, Mutanten einiger gegen bodenbürtige Pflanzenkrankheitserreger (z.B. *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*) antagonistisch wirkenden Stämmen des Pilzes *Trichoderma* zu finden, die zusätzlich gegen Cu und andere Schwermetalle weitgehend resistent sind und somit in diesen belasteten Problem Böden zur Bekämpfung genutzt werden können.

Da Schwermetalle wie Cu nicht wie organische Pflanzenschutzmittel abbaubar sind und somit lange im Boden persistieren können, bleibt für eine Sanierung neben einer chemischen Bindung und somit Wirkungsverminderung eigentlich nur die Möglichkeit des Entfernens aus dem Boden durch Leaching oder aber mittels Bioremediation, wobei ausgewählte Pflanzen das Schwermetall aufnehmen und dieses anschließend mit der Cu-belasteten Biomasse entnommen wird. BÖCKL et al. (1998) verringerten in einem durch die frühere Anwendung von Cu-Fungiziden mit Cu belasteten Hopfenboden den  $\text{Cu}_t$ -Gehalt von 318 mg/kg auf 121 mg/kg bzw. den EDTA-extrahierbaren Cu-Gehalt von 130 mg/kg auf 42 mg/kg, indem sie ein Leaching mit Aminosäurehydrolysat durchführten. Während die nachfolgende Wiederbesiedlung des Bodens mit Nematoden sehr schnell erfolgte, trat bei Protozoen und Collembolen offenbar eine Verzögerung ein, was auch eine Veränderung der Nahrungskette zur Folge haben kann und nicht unbedingt erwünscht ist. Da JADIA und FULEKAR (2009) in ihrer Übersichtsarbeit zahlreiche Techniken der Phytoremediation Schwermetall-belasteter Böden beschreiben und dieses Thema nur am Rande tangiert wird, soll hier nicht weiter darauf eingegangen werden. Am Beispiel der Untersuchungen von TURAN und ESRINGÜ (2007) sei allerdings darauf hingewiesen, dass durch eine vorherige Behandlung des Bodens (z.B. mit EDTA) die Cu-Aufnahme in die Pflanzen und damit der Remediationserfolg zusätzlich beeinflusst werden kann. Allerdings scheint das ebenfalls zum Chelieren von Cu verwendbare EDDS Bodenmikroorganismen weniger zu beeinträchtigen als EDTA (ULTRA et al., 2006).

## Schlussbetrachtungen

Nach den Angaben von KRATZ et al. (2009) dürfen laut EU-Recht Cu-haltige Pflanzenschutzmittel nur mit bis zu 6 kg Cu/ha im Jahr ausgebracht werden, während die aus ökotoxikologischer Basis abgeleitete Zusatzfracht nach BBodSchV sogar nur 0,36 kg Cu/ha im Jahr erlaubt. In ihrer Übersichtsarbeit schätzen KÜHNE et al. (2009) für Deutschland einen Cu-Eintrag durch Pflanzenschutzmittel in den Boden von etwa 2 bis 4 kg/ha im ökologischen und etwa 1,2 bis 7 kg/ha im konventionellen Landbau. Bezogen auf eine obere Bodenschicht von 10 cm würden damit je nach Bodendichte in etwa Cu-Konzentrationen von < 1 bis 5 mg/kg erreicht. Einige Zeit nach der Anwendung der Pflanzenschutzmittel wären in einer dünneren oberen Bodenschicht jedoch auch 5- bis 10-fach höhere Konzentrationen möglich. Wie in beiden Teilen der Übersichtsarbeit zu Cu-Wirkungen auf Bodenmikroorganismen ersichtlich, können bereits niedrige Cu-Gehalte (z.B. 5 mg/kg) im Boden oder Nährmedium verschiedene mikrobielle Parameter beeinflussen. Dies gilt sowohl für mikrobielle Populationen, deren Biomasse und Diversität als auch deren Aktivitäten. Während durch sehr niedrige Dosierungen neben vereinzelt Hemmungen auch ‚echte‘ Stimulationen verursacht werden können, sollten Stimulationen bei hohen Cu-Konzentrationen zunächst kritisch auf ihre Aussage überprüft werden. Speziell bei einigen allgemeinen mikrobiellen Populationen und besonders bei Mineralisierungsleistungen des C- und N-Kreislaufs kann es nämlich nach einer anfänglichen Abtötung oder starken Schädigung von Teilen der mikrobiellen Biomasse zu einer ‚scheinbaren‘ vorübergehenden Stimulation infolge des zusätzlichen Angebots mineralisierbarer organischer Substanz kommen (MALKOMES, 2001). Dies lässt sich jedoch meistens anhand von Biomasseparametern oder dem metabolischen Quotienten klären. Allerdings kann es in ungünstigen Fällen zu Überlagerungen konträrer Effekte kommen, die eindeutige Aussagen erschweren. Vereinzelt ist damit zu rechnen, dass sich bei längerer Belastung Cu-resistente mikrobielle Populationen im Boden anreichern können, die wiederum auch bei höheren Cu-Gehalten im Boden noch einzelne Umsatzleistungen erbringen können (BRANDT et al., 2010). Aus ihren Untersuchungen zur mikrobiellen Wirkung von Cu-Sulfat (400 und 800 mg Cu/kg) im Boden schlossen DENG et al. (2009), dass generelle mikrobielle Parameter (z.B. Biomasse-C, SIR) offensichtlich stabiler sind als spezifische (z.B. potenzielle Nitrifikation).

Unabhängig von einer möglichen nachfolgenden Cu-Anreicherung im Boden sollten alle eingesetzten Cu-haltigen Pflanzenschutz- und Düngemittel grundsätzlich zunächst mikrobiologisch-ökotoxikologischen Tests mit den im Boden zu erwartenden Konzentrationen unterzogen werden, um ggf. noch nicht verfügbare Basisdaten zu erhalten. Fundierte Aussagen lassen sich jedoch – zumindest für einzelne Cu-Verbindungen – letztlich nur anhand von darüber hinausgehenden Dosis-Wirkungs-Beziehungen finden, die neben der mikrobiellen Biomasse möglichst noch deren Diversität und mehrere

mikrobielle Aktivitätsparameter (z.B. Basalatmung, SIR, N-Mineralisierung, Nitrifikation, Streuabbau) berücksichtigen. So leitete DOMSCH (1991) für eine ausreichende Beurteilung der ökotoxikologischen Wirkung von Pflanzenschutzmitteln im Boden aus umfangreichen Literaturstudien eine Mindestanzahl von fünf mikrobiellen Testparametern ab. Auch ELLIS et al. (2001) konnten aus ihren Mikrokosmenuntersuchungen zum ökotoxikologischen Einfluss von Schwermetallen im Boden, darunter Cu-Chlorid, feststellen, dass der Informationsgewinn steigt, wenn mehrere mikrobielle Tests (Plattenzähltest, BIOLOG, Fettsäureprofile, Dehydrogenaseaktivität) sowie auch Nematoden erfasst wurden. Wird dieser Maßstab an die derzeit verfügbare und im vorliegenden Review zitierte Literatur angelegt, so werden zahlreiche Informationslücken sichtbar. Zusätzlich zu vielen heterogenen Einzelangaben wurden im hier vorliegenden sowie im ersten Teil der Übersichtsarbeit (MALKOMES, 2010) bereits einzelne Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen Cu (meistens als Cu-Sulfat) und einigen mikrobiologischen Parametern aus Einzelversuchen zitiert. Dort wurde bei mikrobiellen Populationen z.B. eine 50%-ige Hemmung in Nährmedien erreicht durch 0,18 mg/L (*Vibrio fischeri*), 6–60 mg/L (Rhizobien) und 250 mg/L (*Beauveria bassiana*) bzw. im Boden durch 1,54–3,75 mg/L (indigene Mikroorganismen). Bei einigen mikrobiellen Aktivitäten lagen die EC<sub>50</sub>-Werte für Cu im Boden meistens deutlich höher als der erlaubte jährliche Cu-Eintrag und betragen z.B. 259 mg/kg (Basalatmung), 95–> 850 mg/kg (SIR), 95–> 825 mg/kg (Abbau von Maisrückständen), 73,4–2060 mg/kg (potenzielle Nitrifikation), 150 mg/kg (Dehydrogenaseaktivität), 285 mg/kg (Abbau organischer Substanz). Doch dürfen diese Angaben wegen zahlreicher ebenfalls vorliegender niedrigerer Werte aus anderen Untersuchungen zunächst nicht verallgemeinert werden. Unter Freilandbedingungen bieten sich dagegen zur Beurteilung der durch langjährige Anwendung oft in viel höherer Konzentration im Boden vorkommenden gealterten Cu-Rückständen vor allem bisher kaum durchgeführte Untersuchungen an, die sich an entsprechenden Cu-Gradienten im Boden orientieren, während Gefäßversuche eine Simulierung definiert gealterter Cu-Rückstände zulassen. Bei den hier zu erwartenden höheren Cu-Konzentrationen im Boden muss entsprechend der im vorliegenden Review zitierten Ergebnisse vermehrt mit Einflüssen auf zahlreiche mikrobielle Parameter gerechnet werden.

Bezogen auf einen gleichen Cu-Gehalt lassen sich die verschiedenen mineralischen Cu-Verbindungen oft nicht in ihrer Wirkung auf Bodenmikroorganismen unterscheiden. Allerdings führen Sulfatsalze in einigen Böden zu einer Absenkung des pH-Wertes und damit u.U. zu verstärkten Effekten, während andererseits Acetate infolge ihres C-Eintrags zusätzliche abbaubare Substanz liefern. Schließlich ist von Cu-haltigen Fungiziden zu erwarten, dass sie Bodenpilze bevorzugt beeinträchtigen. Zahlreiche Cu-Verbindungen (z.B. Cu-Sulfat) wirken – zumindest bei hohen Konzentrationen – auch toxisch gegen höhere Pflanzen. Diese Effekte greifen automatisch in die

gesamte Bodenbiozönose ein, so dass zahlreiche indirekte Effekte nicht auszuschließen sind. Dies gilt auch bezüglich der Bodenfauna, sowohl was ihre Anhängigkeit von der Bodenmikroflora betrifft als auch deren Wirkung auf Mikroorganismen. So stellte TYLER (1988) in seiner Betrachtung umfangreicher schwedischer Untersuchungen zur industriellen Belastung von Nadelwäldern mit Schwermetallen – darunter vor allem Kupfer und Zink – fest, dass bei entsprechend hohen Cu-Einträgen nicht nur eine eindeutige Schädigung von Mikroorganismen, sondern auch von Tieren im Boden sowie von niederen und höheren Pflanzen auftritt. Hinweise auf biozönotische Zusammenhänge sind auch im Mikrokosmosversuch von STOCKINGER et al. (1997) zu finden, wo eine niedrigere Toleranzgrenze von *Enchytraeus buchholzi* und Bodenmikroorganismen gegenüber Schwermetallen (u.a. Cu) auftrat als bei den meisten Kulturpflanzen. Die Autoren schlossen aus der verringerten mikrobiellen Biomasse, dass die mikrophytophagen Enchytraeen zusätzlich ihre Nahrungsquelle verloren hatten. Sinnvoll sind daher Untersuchungen, die neben Bodenmikroorganismen auch Teile der Bodenfauna (z.B. Collembolen, Nematoden, Regenwürmer) und ggf. Pflanzen einbeziehen. Bisher erfüllen jedoch nur wenige Veröffentlichungen diese Forderungen.

In einigen mikrobiologischen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass die Wirkung auf Bodenmikroorganismen vom verfügbaren (extrahierbaren) Cu-Gehalt im Boden abhängt. Entsprechend können Bodenfaktoren wie Ton und Humus und letztlich auch der Bodentyp die Cu-Verfügbarkeit und damit die Wirkung verringern. Dies bedeutet in einigen Fällen auch eine reduzierte Wirkung von gealterten Cu-Rückständen im Boden gegenüber frisch zugesetztem Cu. In einigen Fällen scheint eine lang anhaltende Cu-Belastung in manchen Böden zusätzlich die Entstehung Cu-toleranterer mikrobieller Populationen zu ermöglichen (KAMITANI et al., 2006). Andererseits kann die Cu-Verfügbarkeit in der Rhizosphäre von Pflanzen sogar höher sein als im umgebenden Boden. Doch kann dieser Effekt überlagert werden durch die dort größere mikrobielle Aktivität, was wiederum zu abgemilderten Cu-Effekten führt (YANG et al., 2005).

Mikroorganismen sowie letztlich die gesamte Biozönose werden im Boden von zahlreichen ökologischen Faktoren beeinflusst. Entsprechend vielfältig können die Wirkungen von Cu im Boden modifiziert werden. Aus der vorliegenden Literatur lässt sich nicht eindeutig ableiten, ob ein zusätzlicher ökologischer Stress zu einer Abmilderung oder Verstärkung der Cu-Effekte führt oder ob eine vorausgegangene Belastung sogar zur Ausbildung von resistenteren Organismen führen kann. Ähnlich variabel scheint die Situation im Zusammenhang mit zusätzlichen anthropogenen Belastungen durch Pflanzenschutzmittel und Umweltschadstoffe zu sein.

Trotz der gerade in letzter Zeit stark angestiegenen Literatur zur mikrobiologisch-ökotoxikologischen Wirkung von Cu im Boden lässt sich derzeit noch keine abschließende Beurteilung der Situation im Landbau erreichen. Die in den letzten Jahren meistens rückläufigen

Cu-Einträge dürften jedoch eine aktuelle Gefährdung der Bodenmikroorganismen erheblich vermindern. Allerdings darf es nicht – wie in vergangenen Jahrzehnten – zu einer erneuten Cu-Akkumulation im Boden kommen mit dem damit verbundenen ökotoxikologischen Risiko, denn eine erhöhte Belastung der Bodenbiozönose durch bereits vorhandene hohe Cu-Konzentrationen im Boden besteht aufgrund der zahlreichen Untersuchungen nach wie vor.

## Literatur

- AGGARWAL, P., B.S. KUNDU, I.S. SHEORAN, 1992: Influence of heavy metals on growth and nitrogen fixation by diazotrophs. *Environ. Ecol.* **10**, 625-627.
- AKINIFESI, T.A., O.I. ASUBIOJO, A.A. AMUSAN, 2006: Effects of fungicide residues on the physico-chemical characteristics of soils of a major cocoa-producing area in Nigeria. *Sci. Total Environ.* **366**, 876-879.
- AOYAMA, M., S. KUROYANAGI, 1996: Effects of heavy metal accumulation associated with pesticide application on the decomposition of cellulose and orchard grass in soils. *Soil Sci. Plant Nutr.* **42**, 121-131.
- AOYAMA, M., T. NAGUMO, 1997: Comparison of the effects of Cu, Pb, and As on plant residue decomposition, microbial biomass, and soil respiration. *Soil Sci. Plant Nutr.* **43**, 613-622.
- BADURA, L., R. GALIMSKA-STYPA, I. SIMON, 1984: (The effect of liming on survival rate of microorganisms in the soil contaminated by copper ions. 3. The response of physiological groups of bacteria active in nitrogen transformations). *Acta Biol. Katowice*, (648), 9-16 (in Poln.).
- BAJUKYA, F.P., E. SEMU, 1998: Effects of Kocide 101® on the bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) – *Rhizobium* symbiosis. *Acta Agric. Scand., Sect. B* **48**, 175-183.
- BAROUX, J., J. SECHET, 1974: Toxicité du cuivre sur la microflore des sols viticoles. *Ann. Microbiol.* **24**, 125-136.
- BERG, B., G. EKBOHM, B. SÖDERSTRÖM, H. STAAF, 1991: Reduction of decomposition rates of Scots pine needle litter due to heavy-metal pollution. *Water Air Soil Pollut.* **59**, 165-177.
- BÖCKL, M., K. BLAY, K. FISCHER, S. MOMMERTZ, J. FILSER, 1998: Colonisation of copper-decontaminated soil by micro- and mesofauna. *Appl. Soil Ecol.* **9**, 489-494.
- BOGOMOLOV, D.M., S.-K. CHEN, R.W. PARMELEE, S. SUBLER, C.A. EDWARDS, 1996: An ecosystem approach to soil toxicity testing: A study of copper contamination in laboratory soil microcosms. *Appl. Soil Ecol.* **4**, 95-105.
- BRANDT, K.K., R.J.N. FRANSEN, P.E. HOLM, O. NYBROE, 2010: Development of pollution-induced community tolerance is linked to structural and functional resilience of a soil bacterial community following a five-year field exposure to copper. *Soil Biol. Biochem.* **42**, 748-757.
- BROOS, K., M.S.J. WARNE, D.A. HEEMSBERGEN, D. STEVENS, M.B. BARNES, R.L. CORRELL, M.J. MCLAUGHLIN, 2007: Soil factors controlling the toxicity of copper and zinc to microbial processes in Australian soils. *Environ. Toxicol. Chem.* **26**, 583-590.
- CARFORA, A., S. CASTALDI, R. D'ASCOLI, F.A. RUTIGLIANO, 2004: Impact of heavy metal pollution on microbial processes involved in soil N transformations. 14<sup>th</sup> Meet. Italian Soc. Ecol., Siena, 5 pp.
- CELA, S., M.E. SUMNER, 2002: Critical concentrations of copper, nickel, lead, and cadmium in soils based on nitrification. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **33**, 10-30.
- CELARDIN, F., L. CHATENOUX, 2003: Correlations between soil microbiological parameters (CO<sub>2</sub> respiration, ATP-biomass) and heavy metals in field soils. *Arch. Sci., Genève* **56** (3), 127-135.
- CHEN, Y., Y. YANG, K. WANG, Q. LIN, G. TIAN, 2001: Effect of heavy metals on ammonification, nitrification and denitrification in maize rhizosphere. *Pedosphere* **11** (2), 115-122.
- DEMANOU, J., S. SHARMA, U. DÖRFLER, R. SCHROLL, K. PITSCH, T. NJINE, U. BAUSENWEIN, A. MONKIEDJE, J.C. MUNCH, M. SCHLOTTER, 2006a: Structural and functional diversity of soil microbial communities as a result of combined applications of copper and mefenoxam. *Soil Biol. Biochem.* **38**, 2381-2389.
- DEMANOU, J., S. SHARMA, A. WEBER, B.-M. WILKE, T. NJINE, A. MONKIEDJE, J.C. MUNCH, M. SCHLOTTER, 2006b: Shifts in microbial community functions and nitrifying communities as a result of combined application of copper and mefenoxam. *FEMS Microb. Lett.* **260**, 55-62.

- DENG, H., X.-F. LI, W.-D. CHENG, Y.-G. ZHU, 2009: Resistance and resilience of Cu-polluted soil after Cu perturbation, tested by a wide range of soil microbial parameters. *FEMS Microb. Ecol.* **70**, 293-304.
- DENG, S.P., M.A. TABATABAI, 1995: Cellulase activity of soils: Effect of trace elements. *Soil Biol. Biochem.* **27**, 977-979.
- DIACONU, V., 1987: (Influence of Bordeaux mixture, dithane M 45 and topsin M 70 on some soil biological processes). *Anal. Inst. Cerc. Protect. Plant.* **20**, 203-211 (in Rum.).
- DOMSCH, K.H., 1991: Status and perspectives of side-effect testing. *Toxicol. Environ. Chem.* **30**, 147-152.
- DROZD, J., S. KOWALINSKI, 1977: (Changes in soil properties due to pollution from the Legnica copper foundry). *Roczniki Glebozn.* **28** (2), 49-75 (in Poln.).
- DUMESTRE, A., S. SAUVÉ, M. MCBRIDE, P. BAVEYE, J. BERTHELIN, 1999: Copper speciation and microbial activity in long-term contaminated soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **36**, 124-131.
- EFFRON, D., A.M. DE LA HORRA, R.L. DEFRIERI, V. FONTANIVE, R.M. PALMA, 2004: Effect of cadmium, copper, and lead on different enzyme activities in a native forest soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **35**, 1309-1321.
- EJLSACKERS, H., P. BENEKE, M. MABOETA, J.P.E. LOUW, A.J. REINECKE, 2005: The implications of copper fungicide usage in vineyards for earthworm activity and resulting sustainable soil quality. *Ecotox. Environ. Safety* **62**, 99-111.
- ELLIS, R.J., B. NEISH, M.W. TRETT, J.G. BEST, A.J. WEIGHMAN, P. MORGAN, J.C. FRY, 2001: Comparison of microbial and meiofaunal community analyses for determining impact of heavy metal contamination. *J. Microbiol. Meth.* **45**, 171-185.
- ENO, C.F., 1953: The effect of copper on nitrification in some Florida soils. *Proc. Florida State Hort. Soc.* **66**, 172-177.
- FARRELL, M., G.W. GRIFFITH, P.J. HOBBS, W.T. PERKINS, D.L. DAVEY, 2010: Microbial diversity and activity are increased by compost amendment of metal-contaminated soil. *FEMS Microb. Ecol.* **71**, 94-105.
- FUCHS, M., C. KOCH, B.-M. WILKE, 1994: Modifizierung der Dehydrogenaseaktivitätsbestimmung mit Tetrazoliumchlorid für schwermetallkontaminierte Böden. *VDLUFA-Schriftenreihe* **38**, 899-902.
- GAW, S.K., G. PALMER, N.D. KIM, A.L. WILKINS, 2003: Preliminary evidence that copper inhibits the degradation of DDT to DDE in pip and stonefruit orchard soils in the Auckland region, New Zealand. *Environ. Pollut.* **122**, 1-5.
- GRIBANOV, V.M., 1954: (The effect of different doses of copper and manganese on the fixation of nitrogen by *Azotobacter chroococcum*). *Mikrobiol. Zhurn.* **16** (3), 18-21 (in Russ.).
- GRIFFITHS, B.S., P.D. HALLETT, H.L. KUAN, Y. PITKIN, M.N. AITKEN, 2005: Biological and physical resilience of soil amended with heavy metal-contaminated sewage sludge. *Europ. J. Soil Sci.* **56**, 197-205.
- GUNASEKARA, A.S., P.L. TENBROOK, A.J. PALUMBO, C.S. JOHNSON, R.S. TJEERDEMA, 2005: Influence of phosphate and copper on reductive dechlorination of thiobencarb in California rice field soils. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 10113-10119.
- HUANG, Y., J. YANG, H. YANG, J. ZHANG, S. ZHOU, 2009: (Effects of copper pollution on growth of *Alternanthera philoxeroides* and activity of soil enzymes). *Acta Pedol. Sinica* **46**, 494-500 (in Chin.).
- ISHAQUE, M., M.R.H. BHUIYAN, 1984: Effect of some mineral elements on the biodynamics of nitrogen during incubation of an alluvial soil. *Indian J. Agric. Chem.* **17**, 47-52.
- IVANOVA, A.S., 1987: (Copper in orchard soils of the Crimea). *Agrokhimiya*, (10), 76-82 (in Russ.).
- JADIA, C.D., M.H. FULEKAR, 2009: Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African J. Biotechnol.* **8**, 921-928.
- KALOYANOVA, N., O. KOSTOV, 2003: (Effect of some ameliorants on the number and dynamics of ammonifying bacteria, fungi and copper and arsenic tolerant fungi in paddy soil contaminated with copper and arsenic). *Pochvozn. Agrokhim. Ekol.* **38** (3), 35-38 (in Bulg.).
- KAMITANI, T., H. OBA, N. KANEKO, 2006: Microbial biomass and tolerance of microbial community on an aged heavy metal polluted floodplain in Japan. *Water Air Soil Poll.* **172**, 185-200.
- KIICKILÄ, O., J. DERÖME, T. BRÜGGER, C. UHLIG, H. FRITZE, 2002: Copper mobility and toxicity of soil percolation water to bacteria in a metal polluted forest soil. *Plant Soil* **238**, 273-280.
- KŁODKA, D., J. NOWAK, 2004: Influence of combined fungicides and adjuvants application on enzymatic activity and ATP content in soil. *Electron. J. Polish Agric. Univ., Ser. Environ. Dev.* **7** (1), 8 pp.
- KOMAREK, M., E. CADKOVA, V. CHRASTNY, F. BORDAS, J.C. BOLLINGER, 2010: Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environ. Intern.* **36**, 138-151.
- KOOLS, S.A.E., M. VAN ROOVERT, C.A.M. VAN STRAALLEN, 2005: Glyphosate degradation as a soil health indicator for heavy metal polluted soils. *Soil Biol. Biochem.* **37**, 1303-1307.
- KOSTOV, O., O. VAN CLEEMPUT, 1997: Biological N<sub>2</sub> fixation of copper contaminated soils. In: *Proc. 11<sup>th</sup> Intern. World Fertil. Congr.* 'Fertilization for sustainable plant production and soil fertility', Gent, 664-671.
- KOSTOV, O., O. VAN CLEEMPUT, 2001a: Microbial activity of Cu contaminated soils and effect of lime and compost on soil resiliency. *Compost Sci. Utiliz.* **9**, 336-351.
- KOSTOV, O., O. VAN CLEEMPUT, 2001b: Nitrogen transformations in copper-contaminated soils and effects of lime and compost application on soil resiliency. *Biol. Fertil. Soils* **33**, 10-16.
- KRATZ, S., S. HANEKLAUS, E. SCHNUG, 2009: Kupfergehalte in Acker- und Grünlandböden und das Verhältnis dieser Gehalte zu den durch Pflanzenschutz ausgebrachten Kupfermengen. *Journal für Kulturpflanzen* **61**, 112-116.
- KREDICS, L., Z. ANTAL, L. MANCZINGER, E. NAGY, 2001: Breeding of mycoparasitic *Trichoderma* strains for heavy metal resistance. *Lett. Appl. Microbiol.* **33**, 112-116.
- KUCHARSKI, J., A. HŁASKO-NASALSKA, 2005: (Crop yielding and soil enzymatic activity as affected by copper contamination). *Acta Agric. Silv., Ser. Agric.* **45**, 55-63 (in Poln.).
- KUDUK, C., 1990: (Comparison of the response of soyabeans (*Glycine hispida*) to copper sulphate in 2 different soils). *Zeszyty Nauk. Akad. Roln. Wroclawiu, Roln.* **52** (199), 53-61 (in Poln.).
- KÜHNE, S., J. STRASSEMAYER, D. ROSSBERG, 2009: Anwendung kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel in Deutschland. *Journal für Kulturpflanzen* **61**, 126-130.
- LÄHDESMÄKI, P., R. PIISPANEN, 1992: Soil enzymology: Role of protective colloid systems in the preservation of exoenzyme activities in soil. *Soil Biol. Biochem.* **24**, 1173-1177.
- LIU, G.-S., D.-M. XU, L.-M. WANG, K.-B. LI, W.-P. LIU, 2004: Effect of organic/inorganic compounds on the enzymes in soil under acid rain stress. *J. Environ. Sci.* **16**, 177-180.
- LIU, J., J. XIE, Y. CHU, C. SUN, C. CHEN, Q. WANG, 2008: Combined effect of cypermethrin and copper on catalase activity in soil. *J. Soils Sedim.* **8**, 327-332.
- LIU, T.-F., C. SUN, N. TA, J. HONG, S.-G. YANG, C.-X. CHEN, 2007: Effect of copper on the degradation of pesticides cypermethrin and cyhalothrin. *J. Environ. Sci.* **19**, 1235-1238.
- LORENZ, S.E., S.P. MCGRATH, K. GILLER, 1992: Assessment of free-living nitrogen fixation activity as a biological indicator of heavy metal toxicity in soil. *Soil Biol. Biochem.* **24**, 601-606.
- MAŁACHOWSKA-JUTSZ, A., K. MIKSCH, J. PACHA, 1997: Enzymatic activity of soil polluted by copper compounds. "In situ on-side bioremediation", *Papers 4<sup>th</sup> Internat. Symp.*, (4), 43-48.
- MALISZEWSKA, W., 1972: Influence de certains oligo-éléments sur l'activité de quelques processus microbiologiques du sol. *Rev. Ecol. Biol. Sol* **9**, 505-512.
- MALKOMES, H.-P., 2001: Microbial tests of the effects of plant protection products in soil: Experience and proposals to improve ecotoxicological significance. *EPPO Bull.* **31**, 159-167.
- MALKOMES, H.-P., 2010: Einfluss Kupfer-haltiger anthropogener Einträge auf Bodenmikroorganismen – eine Übersicht. I. Mikrobielle Populationen. *Journal für Kulturpflanzen* **62**, 211-222.
- MANNINEN, A.-M., T. LAATIKAINEN, T. HOLOPAINEN, 1998: Conditions of Scots pine fine roots and mycorrhiza after fungicide application and low-level ozone exposure in a 2-year field experiment. *Trees* **12**, 347-355.
- MÄRTENSSON, A.M., 1993: Use of heterotrophic and cyanobacterial nitrogen fixation to study the impact of anthropogenic substances on soil biological processes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **50**, 466-473.
- MATHUR, S.P., H.A. HAMILTON, M.P. LEVESQUE, 1979: The mitigating effect of residual fertilizer copper on the decomposition of an organic soil in situ. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **43**, 200-203.
- MATHUR, S.P., C.M. PRESTON, 1981: The effect of residual fertilizer copper on ammonification, nitrification and proteolytic population in some organic soils. *Canad. J. Soil Sci.* **61**, 445-450.
- MATHUR, S.P., R.B. SANDERSON, 1980: The partial inactivation of degradative soil enzymes by residual fertilizer copper in histosols. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **44**, 750-755.
- MCENROE, N.A., H.S. HELMISAARI, 2001: Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environ. Pollut.* **113**, 11-18.
- MERRINGTON, G., S.L. ROGERS, L. VAN ZWIETEN, 2002: The potential impact of long-term copper fungicide usage on soil microbial biomass and microbial activity in an avocado orchard. *Austr. J. Soil Res.* **40**, 749-759.
- MERTENS, J., S.A. WAKELIN, K. BROOS, M.J. MCLAUGHLIN, E. SMOLDERS, 2010: Extent of copper tolerance and consequences for functional stability of the ammonia-oxidizing community in long-term copper contaminated soils. *Environ. Toxicol. Chem.* **29**, 27-37.
- MOLCHAN, A.P., A.F. SKURYAT, E.M. BUNYAKINA, N.V. PETRASHKEVICH, 1987: (Fungicides effects on microflora and biochemical processes in soil at different backgrounds of mineral nutrition). *Byull. Vses. Nauchno-Issled. Inst. Sel'sk. Mikrobiol.*, (46), 43-44 (in Russ.).

- NOWAK, A., K. PRZYBULEWSKA, K. STOPA, K. SZCZYKAŁA, 2001: (The influence of heavy metals (Cu, Cd, Pb, Hg) on selected elements of nitrogen cycle). *Folia Univ. Agric. Stetin.*, (221), 159-164 (in Poln.).
- NWUCHE, C.O., E.O. UGOJI, 2008: Effects of heavy metal pollution on the soil microbial activity. *Intern. J. Environ. Sci. Technol.* **5**, 409-414.
- OBARD, J.P., K.C. JONES, 2001: Measurement of symbiotic nitrogen fixation in leguminous host-plants grown in heavy metal-contaminated soils amended with sewage sludge. *Environ. Pollut.* **111**, 311-320.
- OLAYINKA, A., G.O. BABALOLA, 2001: Effects of copper sulphate application on microbial numbers and respiration, nitrifier and urease activities, and nitrogen and phosphorus mineralization in an alfisol. *Biol. Agric. Hortic.* **19**, 1-8.
- OORTS, K., H. BRONCKAERTS, E. SMOLDERS, 2006: Discrepancy of the microbial response to elevated copper between freshly spiked and long-term contaminated soils. *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 845-853.
- PAVAN, M.A., J.C.D. CHAVES, A.A.P.G. KAISER, 1994: (Copper accumulation in coffee soils treated with copper fungicides). *Arquiv. Biol. Tecnol.* **37**, 409-415 (in Port.).
- PERRIN-GANIER, C., F. SCHIAVON, J.L. MOREL, M. SCHIAVON, 2001: Effect of sludge-amendment or nutrient addition on the degradation of the herbicide isoproturon in soil. *Chemosphere* **44**, 887-892.
- POCHON, J., L. LEBORGNE, P. TARDIEUX, J. FALCOU-SIGRAND, 1962: Incidence des doses élevées de cuivre et de soufre sur la microflore bactérienne de sols viticoles (Médoc). *Ann. Inst. Pasteur* **103**, 612-622.
- PORTER, J.R., R.P. SHERIDAN, 1981: Inhibition of nitrogen fixation in alfalfa by arsenate, heavy metals, fluoride, and simulated acid rain. *Plant Physiol.* **68**, 143-148.
- PROBANZA, A., F.J.G. MANERO, B. RAMOS, N. ACERO, J.A. LUCAS, 1996: Effect of heavy metals on soil denitrification and CO<sub>2</sub> production after short term incubation. *Microbiologia (Madrid)* **12**, 417-424.
- REDDY, D.S., G. REDDY, H. POLASA, 1995: Biotoxic effects of copper on ureide metabolism of pigeon pea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **54**, 884-891.
- ROVITA, D., R. KILLORN, 2008: Heavy-metal inhibition of nitrification in selected Iowa soils treated with Stay-N 2000. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **39**, 972-982.
- SANDHU, M.S., J.T. MORAGHAN, 1972: Influence of 3 chemicals on soil biological activity. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **3**, 439-447.
- SAUVÉ, S., 2006: Copper inhibition of soil organic matter decomposition in a 70-year field exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 854-857.
- SAUVÉ, S., A. DUMESTRE, M. MCBRIDE, J.W. GILLET, J. BERTHELIN, W. HENDERSHOT, 1999: Nitrification potential in field-collected soils contaminated with Pb or Cu. *Appl. Soil Ecol.* **12**, 29-39.
- SAVIOZZI, A., R. LEVI-MINZI, R. CARDELLI, S. CIPOLLI, R. RIFFALDI, 2006: Biological activity in Cu-contaminated soils: A laboratory experiment. *Fresenius Environ. Bull.* **15**, 477-483.
- SELIGA, H., 1998: Nitrogen fixation in several grain legume species with contrasting sensitivities to copper nutrition. *Acta Physiol. Plant.* **20**, 263-267.
- SHAO, D.-H., Z.-J. SHEN, L. CHU, 2008: (The effects of the different Cu pollution on POD, SOD activities in the peanut and soil enzymes activities). *J. Anhui Normal Univ., Nat. Sci.* **31** (3), 269-273 (in Chin.).
- SHUKLA, A.K., R.R. MISHRA, 1996: Response of microbial population and enzyme activities to fungicides in potato field soil. *Proc. Indian Nat. Sci. Acad.*, B **62**, 435-438.
- SINEGANI, A.A.S., G. EMTIAZI, 2006: The relative effects of some elements on the DNS method in cellulase assay. *J. Appl. Sci. Environ. Managem.* **10** (3), 93-96.
- SNOWBALL, K., A.D. ROBSON, J.F. LONERAGAN, 1980: The effect of copper on nitrogen fixation in subterranean clover *Trifolium subterraneum*. *New Phytol.* **85**, 63-72.
- STASYUK, N.V., K.N. FEDOROV, L.N. SEREBRENNIKOVA, I.N. SKVORTSOVA, V.A. CHASOVNIKOV, 1980: (Effect of increased heavy metal content on certain properties of soils). *Biol. Nauki*, (7), 96-99 (in Russ.).
- STOCKINGER, A., R. BAUER, E. KANDELER, 1997: Der Einfluss von Schwermetallen auf *Enchytraeus buchholzi* und auf die Aktivität der Mikroorganismen in einem Mikrokosmenversuch. *Mitt. Deutsch. Bodenk. Ges.* **85**, 611-614.
- STRUMPF, T., U. STENDEL, C. VETTER, 2009: Gesamtgehalt von Kupfer in Böden des Kernobstanbaus, Weinbergen und Hopfenanlagen. *Journal für Kulturpflanzen* **61**, 117-125.
- STRZELEC, A., 1982: (Effect of copper and zinc on the rate of atrazine degradation and development of soil microflora). *Roczniki Glebozn.* **33** (1-2), 61-72 (in Poln.).
- SUN, J.-W., Y.-Z. HUANG, L.-J. ZHAO, X.-F. LI, W.-G. GAO, 2008: (Effects of copper on nitrification rates in 17 kinds of typical soils in China). *Asian J. Ecotox.* **3**, 513-520 (in Chin.).
- TORBOR-KOPELON, M.A., J. BLOEM, P.C. DE RUTTER, 2006: Functional stability of microbial communities from long-term stressed soils to additional disturbance. *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 1993-1999.
- TORSTENSSON, L., 1988: (Influence of fungicides on soil microorganisms). *Växtskyddsrapport Jordbruk* **49**, 165-172 (in Schwed.).
- TURAN, M., A. ESRINGÜ, 2007: Phytoremediation based on canola (*Brassica napus* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) planted on spiked soil by aliquot amount of Cd, Cu, Pb and Zn. *Plant Soil Environ.* **53**, 7-15.
- TYLER, G., 1975: Heavy metal pollution and mineralization of nitrogen in forest soils. *Nature* **255**, 701-702.
- TYLER, G., 1988: The impact of heavy metal pollution on forests: A case study of Gusum, Sweden. *Ambio* **13**, 18-24.
- ULTRA, V.U., A. YANO, K. IWASAKI, S. TANAKA, Y. KANG, K. SAKURAI, 2006: Influence of chelating agent addition on copper distribution and microbial activity in soil and copper uptake by brown mustard (*Brassica juncea*). *Soil Sci. Plant Nutr.* **51**, 193-202.
- VALSECCI, G., C. GIGLIOTTI, A. FARINI, 1995: Microbial biomass, activity, and organic matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. *Biol. Fertil. Soils* **20**, 253-259.
- VENKATESAN, S., V.K. SENTHURPANDIAN, 2006: Enzyme activities of laterite soils as influenced by trace element contamination. *Intern. J. Soil Sci.* **1**, 20-26.
- VOGELER, I., A. VACHEY, M. DEURER, N. BOLAN, 2008: Impact of plants on the microbial activity in soils with high and low levels of copper. *Europ. J. Soil Biol.* **44**, 92-100.
- WAKELIN, S.A., G.X. CHU, K. BROOS, K.R. CLARKE, Y.C. LIANG, M.J. MCLAUGHLIN, 2010: Structural and functional response of soil microbiota to addition of plant substrate are moderated by soil Cu levels. *Biol. Fertil. Soils* **46**, 333-342.
- WANG, H., S.-F. GAO, Y.-H. CHEN, G. WANG, 2009a: (Changes of soil enzyme activities in heavy metals polluted region: A case study in a wastewater-irrigated agricultural area near a smelter in Xinluo district of Longyan city, Fujian province). *Chin. J. Appl. Ecol.* **20**, 3034-3042 (in Chin.).
- WANG, Q.-Y., D.-M. ZHOU, L. GANG, 2009b: Microbial and enzyme properties of apple orchard soil as affected by long-term application of copper fungicide. *Soil Biol. Biochem.* **41**, 1504-1509.
- WIGHTWICK, A.M., M.R. MOLLAH, D.L. PARTINGTON, G. ALLINSON, 2008: Copper fungicide residues in Australian vineyard soils. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 2457-2464.
- WILKE, B.-M., 1987: Langzeitwirkungen von Kupfer und Zink auf die mikrobielle Aktivität eines humosen, lehmigen Sandes. *Landwirtsch. Forsch.* **40**, 336-343.
- WILKE, B.-M., 1988: Untersuchungsmethoden zur Erfassung der Wirkung von Schwermetallen auf die mikrobielle Aktivität von Böden. *Landwirtsch. Forsch.* **41**, 194-200.
- WILKE, B.-M., 1991: Wirkungen von Kupfer und Zink auf ATP-Gehalt, Dehydrogenase- und alkalische Phosphataseaktivität eines humosen lehmigen Sandes vor und nach einer Stallmistdüngung. *Kali-Briefe* **20**, 489-495.
- WILKE, B.-M., M. MAI, A. GATTINGER, M. SCHLOTTER, P. GONG, 2005: Effects of fresh and aged copper contaminations on soil microorganisms. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **168**, 668-675.
- WYSZKOWSKA, J., J. KUCHARSKI, W. LAJSZNER, 2006: The effects of copper on soil biochemical properties and its interaction with other heavy metals. *Polish J. Environ. Stud.* **15**, 927-934.
- XIE, W., J. ZHOU, H. WANG, X. CHEN, Z. LU, J. YU, X. CHEN, 2009: Short-term effects of copper, cadmium and cypermethrin on dehydrogenase activity and microbial functional diversity in soils after long-term mineral or organic fertilization. *Agric. Ecosyst. Environ.* **129**, 450-456.
- YANG, Y., Y.-X. CHEN, G.-M. TIAN, Z.-J. ZHANG, 2005: Microbial activity related to N cycling in the rhizosphere of maize stressed by heavy metals. *J. Environ. Sci.* **17**, 448-451.
- YOUNIS, M., 2007: Response of *Lablab purpureus*-*Rhizobium* symbiosis to heavy metals in pot and field experiments. *World J. Agric. Sci.* **3**, 111-122.
- ZHANG, J.J., L.B. WANG, C.L. LI, 2010: Humus characteristics after maize residues degradation in soil amended with different copper concentrations. *Plant Soil Environ.* **56**, 120-124.
- ZWOLINSKI, J., 1990: (Decomposition of cellulose in forest soils in areas affected by non-ferrous metal industries). *Prace Inst. Badawcz. Lesn.*, (714), 85-92 (in Poln.).