

# Simazinzerersetzung durch Mikroorganismen verschiedener Böden \*

Von Hermann Bortels und Edith Fricke, Biologische Bundesanstalt, Institut für Bakteriologie, und Roswitha Schneider, Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

[Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 19. 1967, 101-105]

## 1. Einführung

In zahlreichen Arbeiten sind die Wirkung sowie das physikalisch-chemische Verhalten von Simazin in verschiedenen Böden untersucht worden (Audus 1964, Burnside, Fenster und Wicks 1963, Burnside, Schmidt und Behrens 1961, Burschel 1961, 1963, McCormick und Hiltbold 1966, Gast 1962, Kaufmann, Kearney und Sheets 1965, Pantos, Gyurko und Takats 1964, Sheets und Shaw 1963, Talbert und Fletchall 1965, Upchurch und Mason 1962). Dabei zeigte sich, daß seine Giftigkeit für höhere Pflanzen infolge der zersetzenden Tätigkeit der Mikroorganismen im Boden mit der Zeit abnimmt. Für die Wirkungsdauer eines Herbizids ist aber nicht nur die biologische, sondern auch die physikalische und chemische Beschaffenheit eines Bodens von Bedeutung. Insbesondere spielt hier der Adsorptionskomplex eine hervorragende Rolle (Bailey und White 1964, Burschel 1963, Day und Jordan 1964, Frissel und Bolt 1962, Gast 1962, Harris 1966, Harris und Sheets 1965, Harris und Warren 1964, Hilton und Juen 1966, Orth 1954, Sheets, Crafts und Drever 1962, Sheets und Shaw 1963, Talbert und Fletchall 1965, Upchurch und Mason 1962). So konnte beispielsweise für einen sehr fruchtbaren Boden des Kölner Tieflandbeckens (Fischenich bei Köln) nachgewiesen werden, daß schon vier Wochen nach seiner Behandlung mit Simazin (2 kg/ha) Hafer nicht mehr geschädigt wurde (Burschel 1963). Der Boden hat nach dieser Zeit scheinbar seinen ursprünglichen, gesunden Zustand wieder erreicht. In Wirklichkeit aber beruht dieser ungewöhnlich schnelle Phytotoxizitätsschwund auf dem großen Adsorptionsvermögen des Bodens, das auf seinem hohen Gehalt an Flugasche beruht und demjenigen von Aktivkohle vergleichbar ist (Bortels, Fricke und Orth 1966). So wird das Herbizid blockiert und biologisch unwirksam. Die Wirkungsdauer schwer löslicher Herbizide ist also nicht nur vom Abbau durch Mikroorganismen abhängig, sondern unter Umständen noch mehr von der Sorptionskapazität des jeweiligen Bodens. Wird jedoch das Simazin aus seiner sorptiven Bindung etwa durch Austausch oder durch Zerstörung des Sorptionskomplexes (zum Beispiel bei Temperaturerhöhung) befreit, dann ist auch die herbizide Wirkung sofort wieder festzustellen. Wirklich und endgültig gesund kann also ein Boden nach Behandlung mit schwerlöslichen Herbiziden nicht durch deren Adsorption, sondern nur infolge restloser Zersetzung dieser organischen Substanzen durch die Mikroorganismen des Bodens.

Nachdem der Einfluß der physikalischen Bodenbeschaffenheit bereits Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen ist (Bortels, Fricke und Orth 1966), soll hier die Wirkung der Mikroflora verschiedener Böden auf den Schwund des Simazins und seiner Phytotoxizität untersucht werden.

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

## 2. Methodik

Die Untersuchung erstreckte sich auf folgende landwirtschaftlich genutzte Böden:

- (1) Humoser Lößlehm, Fischenich bei Köln, pH (KCl) 7,3
- (2) Humoser Lehm, Frankfurt am Main, pH (KCl) 7,3
- (3) Humoser Lößlehm, Stuttgart, pH (KCl) 6,5
- (4) Lehmiger Sand, Ingelheim, pH (KCl) 7,3
- (5) Lehmiger Sand, Berlin-Dahlem, pH (KCl) 6,7
- (6) Lehmiger Sand, Ludwigshafen, pH (KCl) 5,0
- (7) Humoser Sand, Hamburg, pH (KCl) 5,6
- (8) Sandiger Lehm, Hann. Münden, pH (KCl) 4,0.

Die in diesen Böden an der Simazinzerersetzung beteiligten Mikroorganismen wurden nach der Cholodny-Rossi-Methode angereichert. Als Aufwuchsplatten dienten Objektträger, auf deren Oberseite eine dichte wässrige Aufschlämmung von Simazin (Schering) aufgetragen und bei Zimmertemperatur angetrocknet wurde. Jede so vorbereitete Platte (16 Parallelen je Bodenprobe) und eine entsprechende Zahl von Kontrollplatten ohne Simazin wurden in jeweils eine Petrischale eingelegt, mit 1 cm hoher Schicht des zu untersuchenden feuchtkrümeligen Bodens überdeckt und in einer feuchten Kammer bei 28° C vier Wochen lang aufbewahrt.

Die auf den mit Simazin versehenen Objektträgern und auf den Kontrollplatten ohne Simazin gewachsenen Mikroorganismen wurden dann in einem Tropfen sterilen Wassers aufgeschwemmt und zwecks Isolierung mindestens auf drei verschiedene Agarnährböden folgender Zusammensetzung fraktioniert ausgestrichen:

Nährboden 1	
Aqua dest.	1000,0 g
Glukose	5,0 g
Bacto-Pepton (Difco)	5,0 g
Casein-Aminosäuren (Difco)	0,5 g
Hefeextrakt (Difco)	0,1 g
Agar (Difco)	18,0 g
pH	7,2
Nährboden 2 (Möhrenagar)	
Aqua dest.	1000,0 g
Geschälte und zerkleinerte Möhren (1/2 Stunde gekocht, filtriert)	500,0 g
Agar (Difco)	18,0 g
pH	5,0
Nährboden 3 (Bierwürzeagar)	
Aqua dest.	500,0 g
Ungehopfte Bierwürze	500,0 g
Agar (Difco)	18,0 g
pH	5,0

Zuweilen kamen auch noch einige andere Substrate zur Verwendung. Aus der Vielzahl der angewachsenen Kolonien von Bakterien, Strahlenpilzen und Pilzen wurden diejenigen auf entsprechende Nährböden in Reagenzröhrchen abgeimpft, die auf den simazinhaltigen Cholodny-Platten relativ häufig aufgetreten waren. Reinkulturen dieser Abimpfungen wurden für die weiteren Untersuchungen aufbewahrt und fortgezüchtet.

Für den endgültigen Nachweis ihrer simazinzeretzenden Fähigkeit bot sich die Züchtung in belüfteter Nährlösung als besonders geeignetes Verfahren an. Die hierzu verwendete Nährlösung bestand aus folgenden beiden Teilen:

A		B	
Aqua dest.	25,0 g	Aqua dest.	25,0 g
Glukose	0,5 g	Simazin	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1 g	(Schering)	0,005 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,05 g		
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,01 g		
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,0025 g		
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,001 g		
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,0005 g		
CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,0005 g		
	pH 7,2		

Eine leicht assimilierbare Kohlenstoffquelle wie Glukose mußte unbedingt verabreicht werden, weil bei unseren Versuchen Simazin als Kohlenstoffquelle völlig unzureichend war. Es wirkte fast ausschließlich als Stickstoffquelle. 100 ml fassende Gaswaschflaschen wurden mit je 25 ml Nährlösung gefüllt, mit Schliffaufsätzen verschlossen und im Autoklaven bei 120° C 20 Minuten lang sterilisiert.

Nach Abkühlen und Zugabe von je 25 ml der ebenso sterilisierten Simazinaufschlammung (B) bzw. sterilen Wassers (Kontrollen) unter sterilen Bedingungen und nach Beimpfen jeder Flasche mit 2 Tropfen der betreffenden dichten Bakterien- oder Sporenaufschlammung wurden die Flaschen mit den nun gefetteten Schliffaufsätzen wieder verschlossen. Sie standen in Reihen, zu jeweils fünf hintereinander geschaltet. Eine Wasserstrahlpumpe mit etwa 25 l/Stunde Saugleistung sorgte für kräftige Durchlüftung. Sterile Wattefilter vor bzw. zwischen den Flaschen verhinderten ebenso wie das Fett in den Glasschliffen Fremdinfectionen aus der eingesaugten Außenluft. Für den anscheinend nur streng aerob verlaufenden Simazinabbau sichert dieses Verfahren den Organismen optimale Sauerstoffversorgung bei gleichzeitig innigem Kontakt mit dem schwerlöslichen, aber ständig aufgewirbelten Simazin.

Für jede zu prüfende Mikroorganismenkultur wurden fünf Parallelen und zwei simazinfreie Kontrollen angesetzt und zehn Tage bei 28° C belüftet. Bei der wahllosen Verteilung der Parallelkulturen ergaben sich keine beachtlichen Unterschiede im Bewuchs. Um nach Ablauf der zehn Versuchstage jede weitere Entwicklung in sämtlichen Kulturen eines Versuchsansatzes gleichzeitig zu unterbinden, wurden sie dann eine Stunde lang im strömenden Dampf sterilisiert.

In den Nährlösungen etwa noch vorhandene Simazinreste ließen sich dann durch den Biotest an Haferkeimpflanzen feststellen, die im Gewächshaus mit den von den Mikroorganismen befreiten Nährlösungen begossen wurden. Sie riefen je nach Menge des noch vorhandenen Simazins an den jungen Pflanzen Stauchwuchs, Chlorose oder totale Welke hervor. In Tontöpfen mit 7 cm oberem Durchmesser und jeweils 100 g Komposterde wurden je 12 Haferkörner der Sorte 'Petkuser Gelbhafer' ausgesät. Nach Keimung bei 25° C und 100 % relativer Luftfeuchtigkeit wuchsen die jungen Pflanzen weiterhin bei durchschnittlich 18° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 bis 80 %, während des Winters mit zusätzlicher Belichtung. Nach vier Wochen waren die mit simazinhaltiger Kontrolllösung behandelten Pflanzen abgestorben. Zu diesem Zeitpunkt wurden alle übrigen Pflanzen auf etwa vorhandene Chlorose- und Welkeerscheinungen untersucht und ihre Sproßhöhen gemessen.

Auf chemischem Wege wurden die in den bewachsenen Nährlösungen verbliebenen, extrem geringen Simazinsmengen spektralphotometrisch nach Delle

(1958) bestimmt. Die Grundlage dieser Methode bildet die Extraktion mit Chloroform und anschließende Reextraktion aus dem Chloroform bei gleichzeitiger Hydrolyse durch Schütteln mit 50%iger Schwefelsäure. Das Kation des Hydrolyseproduktes zeigt eine maximale Absorption bei 240 nm. Das ermöglicht eine UV-spektralphotometrische Bestimmung, wobei die Erfassungsgrenze bei etwa 0,1 ppm liegt.

Um festzustellen, ob die Organismen das Simazin zum Aufbau ihrer Zellsubstanz verwendeten, wurden die Bakterien, Strahlenpilze und Pilze durch Porzellanfiltriergel von den simazinhaltigen und simazinfreien Nährlösungen getrennt, mehrfach mit Wasser gewaschen, anschließend bei 100° C getrocknet und gewogen.

### 3. Ergebnisse

Schon die vergleichende mikroskopische Durchsicht der simazinfreien und der mit Simazin bedeckten Objektträger, die mit den verschiedenen Bodenproben überschichtet waren, machte es deutlich, daß Simazin auf viele verschiedene Mikroorganismen eine Nährstoffwirkung ausübt. Die mit Simazin versehenen Objektträger ließen in allen Fällen eine kräftigere Entwicklung von Pilzen, Strahlenpilzen und Bakterien erkennen als die simazinfreien Kontrollplatten.

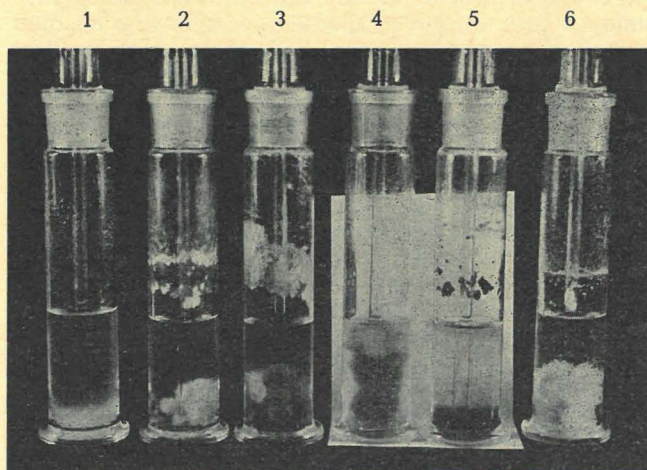


Abb. 1. Lüftungskulturen.

Von links nach rechts: 1. Ein nicht simazinzeretzender, nicht identifizierter Pilz als Kontrolle. 2. *Penicillium tuniculosum*. 3. *Aspergillus fumigatus*. 4. *Trichoderma viride*. 5. *Stachybotrys atra*. 6. *Aspergillus ustus*.

Die im Lüftungsverfahren festgestellte, verhältnismäßig gute Entwicklung (Abb. 1) der aus den untersuchten Böden isolierten Simazinzersetzer ist auf die Ausnutzung des Herbizids als Stickstoffquelle zurückzuführen. Denn ohne Simazin entwickelten sie sich stets nur sehr schwach oder gar nicht, mit Simazin aber gut. Die nicht simazinzeretzenden Organismen wuchsen dagegen nur mit optimaler Ammonsulfatgabe statt Simazin. Bei reichlicher Versorgung mit Ammonsulfat, aber ohne Glukose, entwickelten sich die Organismen weder mit noch ohne Simazin. Dieses hat ihnen also im wesentlichen nur den für ihre Entwicklung über das Angebot aus 0,01 % Ammonsulfat hinaus notwendigen Stickstoff geliefert und nicht den Kohlenstoff, jedenfalls nicht in Mengen, die eine wenn auch nur kümmerliche Entwicklung gestattet hätten.

Bei Verwendung unbewachsener simazinhaltiger Nährlösungen als Gießwasser für die hochempfindlich reagierenden Haferpflanzen trat totale Welke ein, mit bewachsenen Lösungen dagegen überhaupt keine Schädigung oder nur noch eine sehr schwache in Form von

Stauchwuchs und gelegentlicher Spitzenchlorose (Bortels, Fricke und Orth 1966). Hieraus geht hervor, daß die untersuchten Organismen das gebotene Simazin unter den gewählten Laboratoriumsbedingungen innerhalb von zehn Tagen fast ganz oder restlos zersetzen. Nicht immer hatten Wiederholungsversuche bei Verwendung derselben Mikroorganismen ähnliche Ergebnisse. In einigen Fällen übten die simazinhaltigen bewachsenen Lösungen sogar eine noch stärkere und schneller eintretende Schädigung auf die Haferpflanzen aus als die simazinhaltigen unbewachsenen Lösungen. Eine einwandfreie Erklärung hierfür läßt sich z. Z. noch nicht geben. Vielleicht ist sie in gewissen atmungshemmenden Witterungsfaktoren zu suchen, die möglicherweise Zwischenstufen des Simazinabbaus entstehen lassen, die toxischer wirken als das Herbizid selbst. Die Ergebnisse chemischer Analysen von Parallelkulturen unterstützen diese Annahme. Simazin war in solchen Fällen nicht mehr nachweisbar, obwohl die Haferpflanzen in entsprechenden Parallelkulturen besonders stark geschädigt worden waren. Die Annahme, daß schon allein die simazinfreie Nährlösung Schäden am Hafer hervorgerufen haben könnte, erwies sich als nicht zutreffend. Mit steriler simazinfreier Lösung begossene Kontrollpflanzen blieben völlig gesund.

Die später spektralphotometrisch bestimmten Abbauraten in Prozent der gegebenen Simazinmenge zeigten, daß in zehn Tagen von den jeweiligen Reinkulturen ein totaler Abbau des Simazins meistens nicht mehr erreicht wurde. Wahrscheinlich lag das daran, daß die auf den sehr nährstoffreichen Substraten laufend fortgezüchteten Organismen von ihrer simazinerstörenden Wirkung schon etwas eingebüßt hatten. Mit der Zeit schwand nämlich diese Fähigkeit aller Isolate vollständig. Gleichzeitig änderten sich auch andere ihrer physiologischen und einige ihrer morphologischen Merkmale, wie das für viele Mikroorganismen allgemein bekannt ist. Auch mit Mischkulturen verschiedener Kombination wurde gewöhnlich kein restloser Abbau mehr erzielt. Durchschnittlich blieben 5 bis 10% der Ausgangsmenge des Simazins unzerstört zurück. Dieses Ergebnis war in gewissen Grenzen unabhängig von der zu Versuchsbeginn gewählten Simazinmenge. Allerdings konnte bei Vorlage einer Dosis von nur 1 mg Simazin schon nach zehn Tagen nichts mehr nachgewiesen werden. Lüftungskulturen mit 5 mg Simazin, die erst nach zwei Monaten anstatt nach zehn Tagen untersucht wurden, enthielten damals ebenfalls weder auf Hafer toxisch wirkende noch chemisch nachweisbare Simazinreste. Auch die Kurven in Abb. 2 nähern sich asymptotisch der Abszisse, was für den vollständigen Abbau nach längerer Zeit spricht.

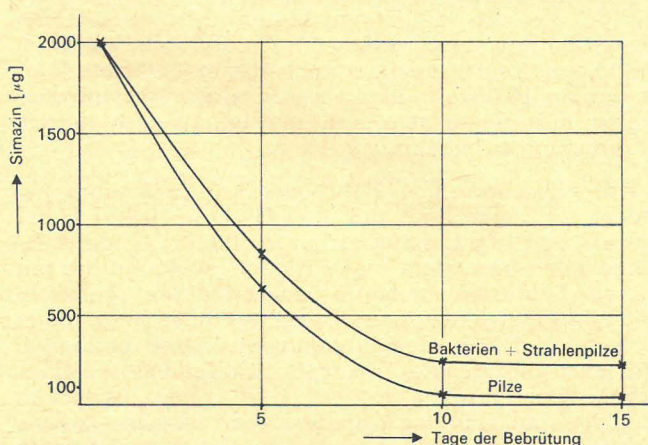


Abb. 2. Simazinabbau in Belüftungskultur nach 5, 10 und 15 Tagen bei 28°C, Mittelwerte aus jeweils 8 Versuchsreihen und 12 Bakterien-, 4 Strahlenpilz- und 21 Pilzkulturen.

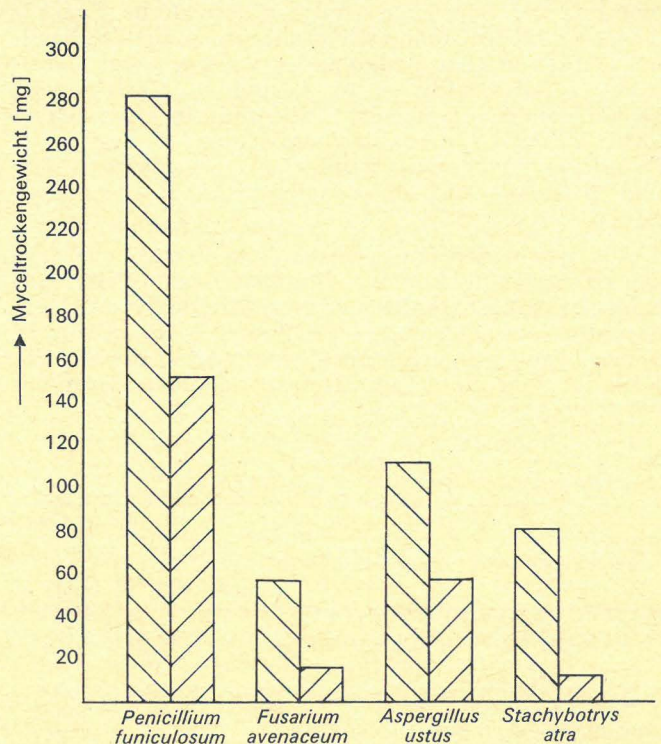


Abb. 3. Trockengewichte von Myzelien simazinerzetzender Pilze nach 10 Tagen in belüfteten synthetischen Nährlösungen ohne (jeweils rechts) und mit 2 mg Simazin (jeweils links).

Bei vergleichender Betrachtung der Trockengewichte der in simazinhaltiger und simazinfreier Nährlösung gewachsenen Mikroorganismen war leicht zu erkennen, daß das Simazin zu Wachstum und Vermehrung verwendet wurde. Die Trockengewichte der in simazinhaltiger Lösung gewachsenen Organismen waren deutlich erhöht. In Abb. 3 sind die Pilzmyzel-Trockengewichte der aktivsten Zersetzer dargestellt. Ganz so auffällige Unterschiede wie zwischen den Trockengewichten der mit und ohne Simazin ernährten Pilzmyzelien waren bei den Trockengewichten der Bakterien und Strahlenpilze nicht zu verzeichnen, obwohl sie auch hier deutlich waren. Es steht also außer Zweifel, daß Simazin in den Reinkulturlüftungsversuchen als Nährstoff, und zwar im wesentlichen als Stickstoffquelle, gedient hat.

Die simazinerzetzenden Mikroorganismen, die aus den 8 untersuchten Bodentypen isoliert werden konnten, setzen sich aus Bakterien, Strahlenpilzen und Pilzen zusammen. Sie stellen natürlich eine Auswahl solcher Formen dar, die auf den verwendeten Nährböden gut gedeihen können. Fast alle sind keine seltenen oder gar von uns erstmalig entdeckten Organismen. Sie gehören mehr oder weniger zur bekannten Mikroorganismenpopulation von Kulturböden. Es sind nur aerobe Mikroorganismen isoliert worden. Unter anaeroben Versuchsbedingungen wurden keine Simazinerzersetzer gefunden. Es ist auch nicht anzunehmen, daß die Simazinerzersetzung überhaupt anaerob verlaufen kann.

Unter den Bakterien sind außer einem grampositiven, unbeweglichen *Bacillus* nur gramnegative Formen vertreten, darunter auch 3 gramnegative Bazillen. Da für die Isolierung der Mikroorganismen die genannten Nährsubstrate z. T. auch mit Erdextrakt statt Wasser angesetzt worden sind, dürften die grampositiven, nicht sporenbildenden autochthonen Bodenbakterien als Simazinerzersetzer tatsächlich nicht in Betracht kommen, es sei denn, daß sie sich nur in Kontakt mit schwer

löslichen Erd- oder Humusteilchen entwickeln (Trollenier 1966). Grampositive und gramnegative Bazillen wurden in allen Böden nachgewiesen, außer – vielleicht zufällig nicht – in 4 und 8. Verschiedene Pseudomonaden fanden sich ebenfalls in allen Böden außer in 3 und 7. Auch das mag wieder ein Zufall sein. *Ps.-fluorescens*-Stämme wurden aus den Böden 1, 4, 5 und 8 isoliert und unbewegliche Stäbchen aus den Böden 1, 3, 5 und 7.

Aus jedem der untersuchten Böden, auch aus dem sauren Boden 8, konnten Strahlenpilze als Simazinzer-setzer isoliert werden, und zwar *Streptomyces*-Arten, darunter jedesmal, außer aus Boden 7, *Str. albus*. In Boden 1 fand sich außerdem eine schwächer zersetzende *Nocardia* und eine *Micromonospora*, die auch in Boden 2 vorkam.

Tabelle 1

Nr.	Pilze	Isoliert aus Boden Nr.
1	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	4, 5
2	<i>Aspergillus ustus</i> (Bain.) Thom et Church	1, 3, 4
3	<i>Chaetomium</i> sp.	1
4	<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	1
5	<i>Fusarium oxysporum</i> Schl.	1
6	<i>Gliocladium roseum</i> (Link) Bainier	6
7	<i>Mucor fragilis</i> Bain.	7
8	<i>Mucor spinosus</i> van Tiegh.	6
9	<i>Paecilomyces marquandii</i> (Masse) Hughes	5
10	<i>Paecilomyces</i> ? <i>parvus</i> Brown et Smith	1
11	<i>Phycomycet</i> (nicht näher bestimmbar)	1
12	<i>Penicillium frequentans</i> Westl.	3, 8
13	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	1, 7
14	<i>Penicillium jenseni</i> Zaleski	5
15	<i>Penicillium notatum</i> Westl.	4
16	<i>Penicillium tardum</i> Thom	3
17	<i>Penicillium waksmani</i> Zaleski	6, 7
18	<i>Rhizopus arrhizus</i> Fischer	4
19	<i>Stachybotrys atra</i> Corda	1
20	<i>Stachybotrys</i> sp.	3
21	<i>Trichoderma viride</i> Pers.	1, 4, 5, 6, 7, 8

Simazinzer-setzende Pilze aus verschiedenen Böden

Die isolierten 21 Pilze aus 11 verschiedenen Gattungen wirkten durchschnittlich stärker simazinzer-setzend als die Bakterien und Strahlenpilze. Sie sind in Tab. 1 alphabetisch aufgeführt. *Trichoderma viride* schien am meisten vertreten zu sein. Dieser Pilz wurde in sechs von den acht untersuchten Böden gefunden, *Aspergillus ustus* in drei, *A. fumigatus*, *Penicillium frequentans*, *P. funiculosum* und *P. waksmani* in jeweils zwei und alle anderen nur in jeweils einem der Böden. Für die Tatsache, daß aus Boden 2 trotz mehrfacher Bemühungen keine simazinzer-setzenden Pilze isoliert werden konnten, gibt es vorläufig keine einleuchtende Erklärung.

Zwischen den 8 verschiedenen Böden, aus denen die Simazinzer-setzer isoliert worden waren, ließen sich – abgesehen von Boden 2 – keine auffallenden, mit bekannten Tatsachen nicht erklärbaren Unterschiede qualitativer oder quantitativer Art hinsichtlich der isolierten Organismen feststellen. Wenn aus dem humosen Lößlehm von Fischenich im Unterschied zu den anderen Böden eine größere Zahl simazinzer-setzender Mikroorganismen isoliert werden konnte, so liegt das erstens an seiner häufigeren Unter-

suchung und zweitens auch daran, daß dieser Boden im Gegensatz zu den anderen Böden häufiger mit Simazin behandelt worden war. Zwar ist festzustellen, daß die fruchtbareren, neutral bis schwach sauer reagierenden Böden eine größere Zahl von Simazinzer-setzern enthielten als der weniger fruchtbare, stärker saure Boden 8. Aus ihm konnten außer *Penicillium frequentans* und *Trichoderma viride* nur noch *Streptomyces albus* und *Pseudomonas fluorecens* isoliert werden. Das ist jedoch einfach damit zu erklären, daß bekanntlich fruchtbarere, neutrale Böden insgesamt eine wesentlich größere Zahl von Mikroorganismen enthalten als weniger fruchtbare, saure Böden. Der auffallend rasche Phytotoxizitätsschwund des Simazins im Fischenicher Boden 1 ist außerdem nicht in erster Linie der zersetzenden Tätigkeit seiner zahl- und artenreichen Mikroflora zu verdanken, sondern seiner ungewöhnlich hohen Sorptionskapazität (Bortels, Frücke und Orth 1966). Jedoch wird dadurch das Herbizid eher langsam als schnell beseitigt (Burschel 1963) und kann jederzeit wieder toxisch werden, solange die Mikroorganismen es nicht wirklich restlos zerstört haben. Offenbar wird sorptiv gebundenes Simazin der mikrobiologischen Zersetzung entzogen (Gast 1962).

Bei den Isolierungen aus den Böden 1, 2, 4 und 5 auf den verwendeten phosphatarmen Substraten hoben sich zwei Kolonietypen aus der Masse der übrigen heraus. Es handelte sich um *Pseudomonas*-Arten, deren Kolonien blaugrün bzw. rotorange gefärbt und verhältnismäßig oft und zahlreich vertreten waren. Sie erregten deshalb unser besonderes Interesse. Das rotorange gefärbte Stoffwechselprodukt der einen von den beiden farbstoffbildenden *Pseudomonas*-Arten ließ sich in phosphorarmer Nährlösung stark anreichern und hieraus mit Chloroform extrahieren, wenn die Lösung zuvor angesäuert wurde. Die Chloroformlösung sah dann gelb aus. Sie wurde mit Wasser mehrfach gewaschen und danach bis zur Trockne verblasen. Der Rückstand ließ sich in 96%igem Alkohol aufnehmen und daraus zu einem Gemisch verschieden geformter Kristalle umkristallisieren. Nach Bestimmung des Schmelzbereiches dieser Kristallmischung (205 bis 220° C) ist mit großer Sicherheit anzunehmen, daß es sich um Phenazinverbindungen handelt und daß die rotorange gefärbte *Pseudomonas*-Art mit der relativ seltenen und anscheinend schwach tierpathogenen *Ps. aureofaciens* identisch ist (Kluyver 1956). Der blaugüne Farbstoff der anderen simazinzer-setzenden *Pseudomonas*-Art ließ sich leider nicht kristallisieren. Nach dem Extrahieren mit Chloroform aus der angesäuerten Nährlösung und Verdampfen des Extraktionsmittels blieb nur ein dunkelblaues, harziges Produkt zurück, das sich in keinem der üblichen organischen Lösungsmittel löste, außer in Chloroform, und sich hierin bei Zimmertemperatur langsam entfärbte. Der blaugüne Farbstoffbildner wurde stoffwechselphysiologisch nicht näher untersucht und ist uns auch aus der Literatur nicht bekanntgeworden.

Auf phosphorarmer Nährböden wie z. B. auch auf einem 1,8%igen Agar mit 1% Glukose, 0,5% Hefeextrakt und 1% Calciumcarbonat bildeten beide *Pseudomonas*-Arten besonders viel Farbstoff, während die mit diesen Bakterien beimpfte simazinhaltige, gelüftete und phosphorreiche Nährlösung fast oder ganz ungefärbt blieb. Die beiden *Pseudomonas*-Arten verhielten sich also ähnlich wie andere farbstoffbildende Mikroorganismen (Bortels 1956, 1959). Viele Farbstoffe entstehen mikrobiologisch ebenso wie gewisse Toxine, Antibiotika und sonstige sehr reaktive Verbindungen nur dann, wenn ihre aromatischen Vorstufen nicht im oxydativen Stoffwechsel durch intensive Atmung mit gekoppelter Phosphorylierung infolge Ringsprengung

vollständig mineralisiert werden können, also bei gehemmter Atmung. Es ist bezeichnend, daß beide Pseudomonaden bei guter Lüftung und optimaler Phosphorversorgung den heterozyklischen Ring des Simazins aufsprengen und dabei keinen Farbstoff bilden.

Für die landwirtschaftliche Praxis ergibt sich hieraus, daß es möglicherweise gelingen müßte, den Simazinabbau im Boden durch eine verstärkte Phosphordüngung zu beschleunigen. Da aber die Zersetzungsgeschwindigkeit im wesentlichen Umfang auch davon abhängt, daß den beteiligten Mikroorganismen im Boden eine geeignete Kohlenstoffquelle zur Verfügung steht, wurde versucht, den praktisch nicht in Betracht kommenden Zucker durch Stroh zu ersetzen. Lufttrockene Dahlemer Komposterde wurde mit 20 g Haferstrohmehl/kg gut vermischt, bis 50 % der Wasserkapazität durchfeuchtet und vier Wochen in Tontöpfen zu je 100 g bei 20° C feucht aufbewahrt. Danach wurde sie z. T. mit jeweils einer dichten wässerigen Aufschlammung der simazinzersetzenden blaugrünen *Pseudomonas*, einer der *Streptomyces*-Arten oder der Sporen von *Trichoderma viride* beimpft. Anschließend wurden in alle Töpfe je 2 mg Simazin eingearbeitet und 12 Körner 'Petkuser Gelbhafer' eingesät. Nach vier Wochen welkten die mit Simazin behandelten, nicht beimpften Kontrollpflanzen, während die beimpften nur Stauchwuchs (*Streptomyces* sp.) oder mäßige Spitzenchlorose (*Trichoderma viride* und blaugrüne *Pseudomonas*) zeigten. Die Pflanzen in beimpfter simazinfreier Erde blieben völlig gesund. Dieser Teilerfolg war in anderen Versuchsreihen weder mit beimpfter Erde ohne Strohdüngung noch mit Strohdüngung ohne Beimpfung erreicht worden. Abgesehen von der schon erwähnten starken Phosphordüngung wäre also noch zweierlei geeignet, den Abbau des Herbizids im Boden zu beschleunigen: eine organische stickstoffarme, kohlenstoffreiche Düngung (z. B. Stroh) und massive Beimpfung mit simazinzersetzenden Mikroorganismen. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung konnten jedoch nicht mehr durchgeführt werden.

#### 4. Zusammenfassung

Aus 8 verschiedenen Böden wurden simazinabbauende Mikroorganismen isoliert. Sie verwenden das Simazin vornehmlich als Stickstoffquelle. Die Pilze waren stärker am Abbau des Simazins beteiligt als die Bakterien und Strahlenpilze. Zwischen den verschiedenen Böden waren, abgesehen von einer Ausnahme, hinsichtlich Zahl und Art der simazinzersetzenden Mikroorganismen keine auffallenden Unterschiede festzustellen. Verhältnismäßig häufig wurden zwei rot-orange bzw. blaugrün gefärbte *Pseudomonas*-Arten als Simazinersetzer isoliert. Die rotorange gefärbte Art ist sehr wahrscheinlich identisch mit der verhältnismäßig seltenen und vermutlich schwach tierpathogenen *Pseudomonas aureofaciens*. Es ergaben sich Hinweise dafür, daß sich der Simazinabbau im landwirtschaftlich genutzten Boden unter praktischen Bedingungen durch geeignete Kulturmaßnahmen beschleunigen läßt.

#### Literatur

Audus, L. J. [Ed.]: The physiology and biochemistry of herbicides. London, New York 1964. IX, 555 pp.  
 Bailey, G. W., and White, J. L.: Review of adsorption and desorption of organic pesticides by soil colloids, with implications concerning pesticide bioactivity. Journ. agric. Food Chem. **12**. 1964, 324-332.  
 Bortels, H.: Beziehungen zwischen Wetterwechsel, Atmung und Farbstoffbildung bei Mikroorganismen. Zentralbl. Bakteriologie. 2. Abt. **109**. 1956, 329-335.

Bortels, H.: Das Problem meteorobiologischer Beziehungen im Lichte mikrobiologischer Forschung. Int. Journ. Bioclimatol. Biometeorol. **3** (Part I, Section F). 1959, 1-7.  
 Bortels, H., Fricke, E., und Orth, H.: Die phytotoxische Wirkung des Simazins in Abhängigkeit von seiner Sorption im Boden. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **18**. 1966, 65-69.  
 Burnside, O. C., Fenster, C. R., and Wicks, G. A.: Dissipation and leaching of monuron, simazine, and atrazine in Nebraska soils. Weeds **11**. 1963, 209-213.  
 Burnside, O. C., Schmidt, E. L., and Behrens, R.: Dissipation of simazine from the soil. Weeds **9**. 1961, 477-484.  
 Burschel, P.: Untersuchungen über das Verhalten von Simazin im Boden. Weed Res. **1**. 1961, 131-141.  
 Burschel, P.: Das Verhalten der forstlich wichtigen Herbizide im Boden. Forstarchiv **34**. 1963, 221-233.  
 Day, B. E., and Jordan, L. S.: Influence of soil properties on adsorption and phytotoxicity of simazine. Abstracts, Weed Soc. America 1964, 8-9.  
 Delley, R.: Bestimmung von geringen Mengen Simazin. Basel: J. R. Geigy AG 1958.  
 Frissel, M. J., and Bolt, G. H.: Interaction between certain ionizable organic compounds (herbicides) and clay minerals. Soil Sci. **94**. 1962, 284-291.  
 Gast, A.: Beiträge zur Kenntnis des Verhaltens von Triazin im Boden. Meded. Landbouwhogeschool Gent **27**. 1962, 1252-1274.  
 Harris, C. J.: Adsorption, movement, and phytotoxicity of monuron and s-triazine herbicides in soil. Weeds **14**. 1966, 6-10.  
 Harris, C. J., and Sheets, T. J.: Influence of soil properties on adsorption and phytotoxicity of CIPC, diuron and simazine. Weeds **13**. 1965, 215-219.  
 Harris, C. J., and Warren, G. F.: Adsorption and desorption of herbicides by soil. Weeds **12**. 1964, 120-126.  
 Hilton, H. W., and Juen, Q. H.: Adsorption and leaching of herbicides in Hawaiian sugarcane soils. Journ. agric. Food Chem. **14**. 1966, 86-90.  
 Kaufmann, D. D., Kearney, P. C., and Sheets, T. J.: Microbial degradation of simazine. Journ. agric. Food Chem. **13**. 1965, 238-242.  
 Kluver, A. J.: *Pseudomonas aureofaciens* nov. spec. and its pigments. Journ. Bact. **72**. 1956, 406-411.  
 McCormick, L. L., and Hiltbold, A. E.: Microbiological decomposition of atrazine and diuron in soil. Weeds **14**. 1966, 77-82.  
 Orth, H.: Zur Inaktivierung wuchsstoffhaltiger Herbizide durch Adsorption an Kohle. Ztschr. Pflanzenkrankh. **61**. 1954, 385-396.  
 Pantos, G., Gyurko, P., and Takats: Study of the soil-microbiological effect of herbicides used in practical farming. Agroékémia és Talajtan **13**. 1964, 63-72.  
 Sheets, T. J., Crafts, A. S., and Drever, H. R.: Influence of soil properties on the phytotoxicities of the s-triazine herbicides. Journ. agric. Food Chem. **10**. 1962, 458-462.  
 Sheets, T. J., and Shaw, W. C.: Herbicidal properties and persistence in soils of s-triazines. Weeds **11**. 1963, 15-21.  
 Talbert, R. E., and Fletchall, H. O.: Inactivation of simazine and atrazine in the field. Weeds **12**. 1964, 33-37.  
 Talbert, R. E., and Fletchall, H. O.: The adsorption of some s-triazines in soils. Weeds **13**. 1965, 46-52.  
 Trolldenier, G.: Über die Eignung Erde enthaltender Nährsubstrate zur Zählung und Isolierung von Bodenmikroorganismen auf Membranfiltern. Zentralbl. Bakteriologie. 2. Abt. **120**. 1966, 496-508.  
 Upchurch, R. P., and Mason, D. D.: The influence of soil organic matter on phytotoxicity of herbicides. Weeds **10**. 1962, 9-14.

Eingegangen am 26. April 1967.