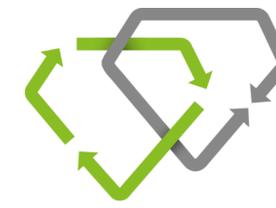




Hochschule
Zittau/Görlitz
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES



TECHNISCHE UNIVERSITÄT
BERGAKADEMIE FREIBERG
Die Ressourcenuniversität. Seit 1765.



ZIRKON



Effekte von Reifenabrieb auf die höhere Pflanze *Lemna minor*

*Workshop „Reifenabrieb in der Umwelt“ am 13.11.2023
Anne Richter und Jennifer Dutschke*



Europa fördert Sachsen.
ESF
Europäischer Sozialfonds



Diese Maßnahme wird mitfinanziert
durch Steuermittel auf der Grundlage des
vom Sächsischen Landtag beschlossenen
Haushaltes.

Hintergrund und Ziele

HINTERGRUND

- Reifenabrieb (RA) gilt als Mikroplastik → Teil des globalen Problems der Plastikverschmutzung
- in Deutschland 1,6 kg RA pro Jahr und Kopf freigesetzt (Jekel 2019)
- Reifenlaufflächen bestehen aus sehr heterogenem Material
 - Austritt gefährlicher und toxischer Substanzen (z.B. 6-PPD, DPG, etc.)
 - gelangen ins Oberflächen- und Grundwasser

ZIEL

- ganzheitliche Betrachtung der Effekte von RA auf Pflanzen:
 - morphologisch/physiologisch
 - biochemisch/biotechnologisch

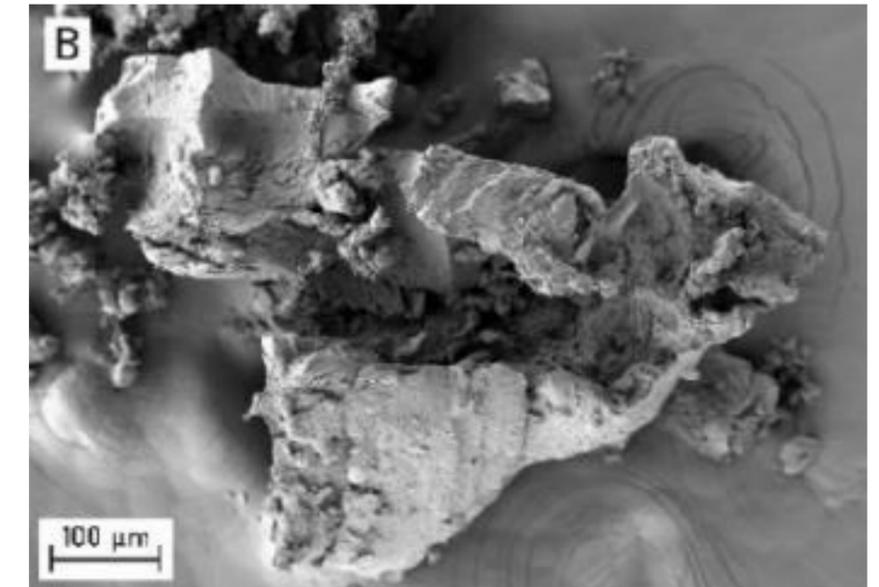


Abb. 1: Feldemissions-REM-Aufnahme von Reifenabrieb-Partikeln (Rozman and Kalcikova 2022).

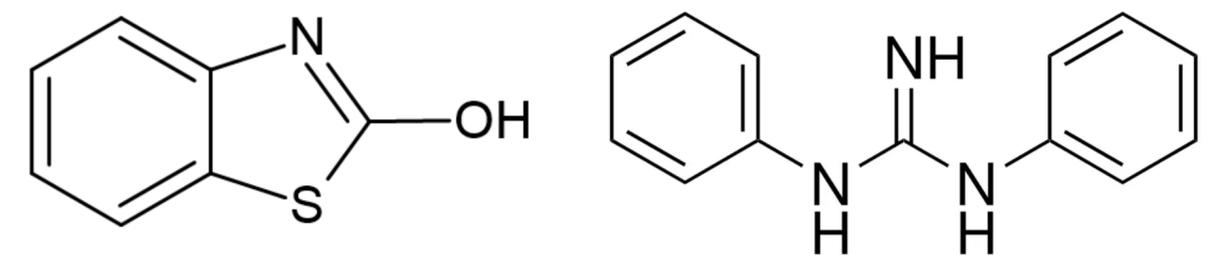


Abb. 2: Strukturen 2-Hydroxybenzothiazol (links) und 1,3-DPG (rechts).

Stand der Forschung



Stand der Forschung – Auswirkungen auf Pflanzen

- oft sehr hohe Konzentrationen getestet und RA nicht eingeschlossen (Wagner et al. 2018)
 - Wirkkonzentrationen von RA in aquatischen Medien
 - **akut: 25 – 100.000 mg/L ; chronisch: 10 – 3600 mg/L**
 - bspw. Photosynthese-Leistung (Turner und Rice 2010)
 - Konzentrationen in Flüssen und Absetzbecken nicht über **10 mg/L**
- Toxizität durch Auslaugung
 - Zn, Pb, Benzothiazol-Derivate, aromatische Amine, Phenole, ... (Wagner et al. 2018)
 - Peak (DOC und Zn) innerhalb 14 Tagen (Klun et al. 2023)

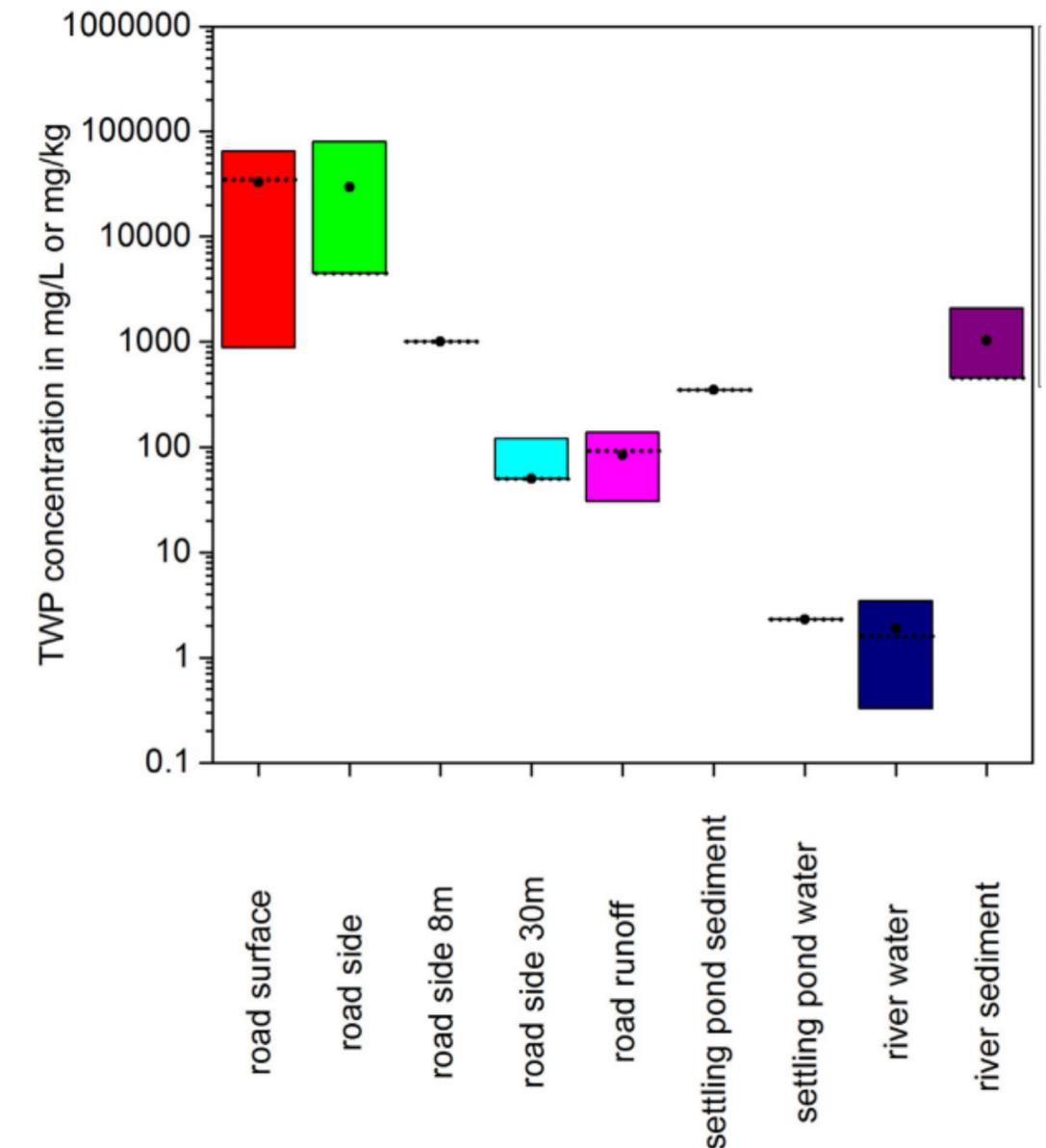


Abb. 3: realistische RA-Konzentrationen (Wagner et al. 2018).

Stand der Forschung – Auswirkungen auf Pflanzen

- Relevanz für Nahrungskette
 - Aufnahme ausgewaschener Additive (Salat) (Castan et al. 2022)
- Wasserpflanzen zur Phytoremediation vorgeschlagen (Kalcíková 2020, Bokhari et al. 2016)
- Auswirkungen auf *Lemna minor* (Rozman und Kalcíková 2022)
 - Versuchsbedingungen: 100 mg RA/L, 7d
 - 1 % des RA haftet an Oberfläche
 - Wurzellänge: 25 % geringer (sign.)
 - Chlorophyll a: keine Auswirkungen
 - Wachstumsrate: 7 % geringer (nicht sign.)
- Hypothese: RA verursacht oxidativen Stress bei Wasserpflanzen
- Forschungslücken
 - Auswirkungen von gealtertem RA
 - Kombination morph. und biochem. Marker

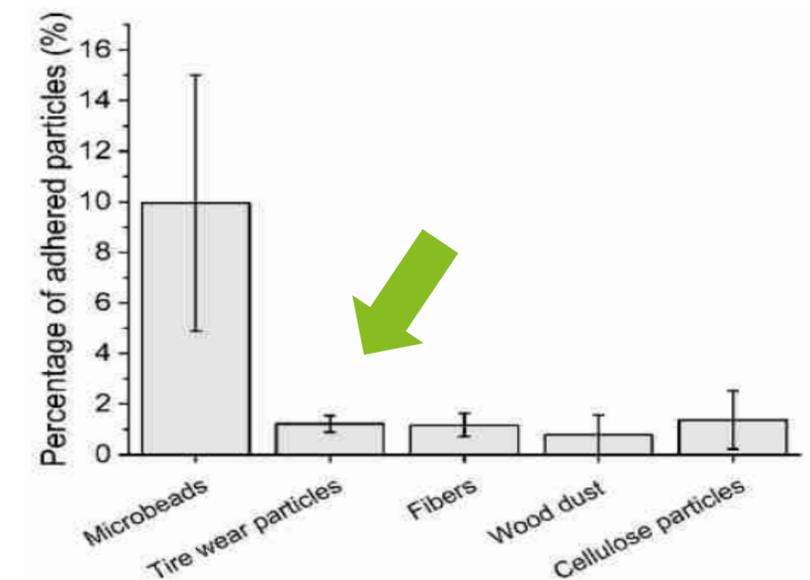
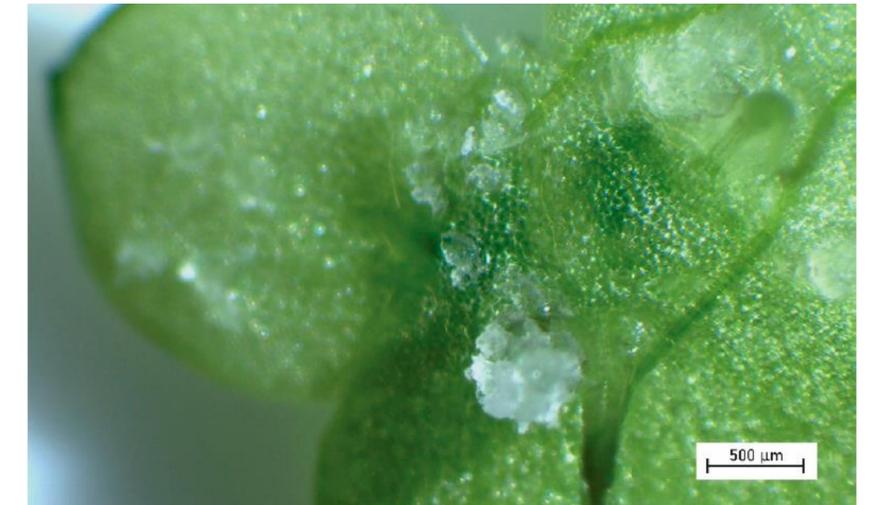


Abb. 4: Lemna minor als mögl. Bioindikator; Anhaftung von RA und PE-Partikeln an *Lemna minor* (verändert nach Rozman and Kalcikova 2022).

Vorversuche zur Markertestung



Lemna minor als Untersuchungsobjekt

- Familie Araceae (Aronstabgewächse)
- Wurzeln an den Blättchen (Fronds): Nährstoff-Aufnahme, Stabilisierung
- Vermehrung durch Sprossung, hohe Vermehrungsrate
- Schwimmfähigkeit durch Luftleitgewebe (Aerenchym)
- Rolle im Ökosystem: Nahrung und Habitat (Rozman und Kalcikova 2022)
- etablierter Modellorganismus für Toxizitätstests und Bioindikator (Ziegler et al. 2016)
 - DIN EN ISO 20079:2005
 - pot. Bioindikator für Mikroplastik (Rozman und Kalcikova 2022)
- Kandidat für Phytoremediation (Gupta und Prakash 2014)



Abb. 5: Wasserlinse (*Lemna minor*).



Abb. 6: Aerenchym (*Lemna gibba*).

Vorversuche

MARKERAUSWAHL UND MARKERTESTUNG

- Vorauswahl von **5 morphologischen** und **3 biochemischen** Markern
 - **Chlorophyll-Gehalt, Wurzellänge, Frond-Anzahl, Trockenmasse, physiologischer Zustand der Pflanzen**
 - **Gehalt an Ascorbinsäure, Gehalt an Wasserstoffperoxid, Catalase-Aktivität**
- Testung der Marker auf Tauglichkeit → Anlehnung an DIN EN ISO 20079: „Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (*Lemna minor*)“
- Vorgehen: Stressen der Pflanzen mit geeignetem Stressor (hier: UV-B-Licht mit 312 nm) → Induktion von oxidativem Stress (Yannarelli et al. 2006)
 - Dauer des Versuchs: 7 Tage
 - Probenahme an Tag 1, Tag 3, Tag 5, Tag 7
 - UV-Dosis:
 - 1. Messreihe: Einmalig 5 Stunden
 - 2. Messreihe: Täglich 6 Minuten (Xie et al. 2022)
 - 3. Messreihe: Täglich 12 Minuten

Versuchsaufbau

MARKERAUSWAHL UND MARKERTESTUNG

- Versuchsdesign:
 - Teilung in Kontrolle (ohne UV-Strahlung) und Gestresste Pflanzen (mit UV-Strahlung)
 - Teilung in Invasive Marker (Pflanze verbraucht) und Nicht-invasive Marker (Pflanze erhalten)



Abb. 7: Versuchsaufbau.



Abb. 8: Versuchsdesign zur Markertestung.

Ergebnisse - Markertestung

FROND-ANZAHL (N=4)

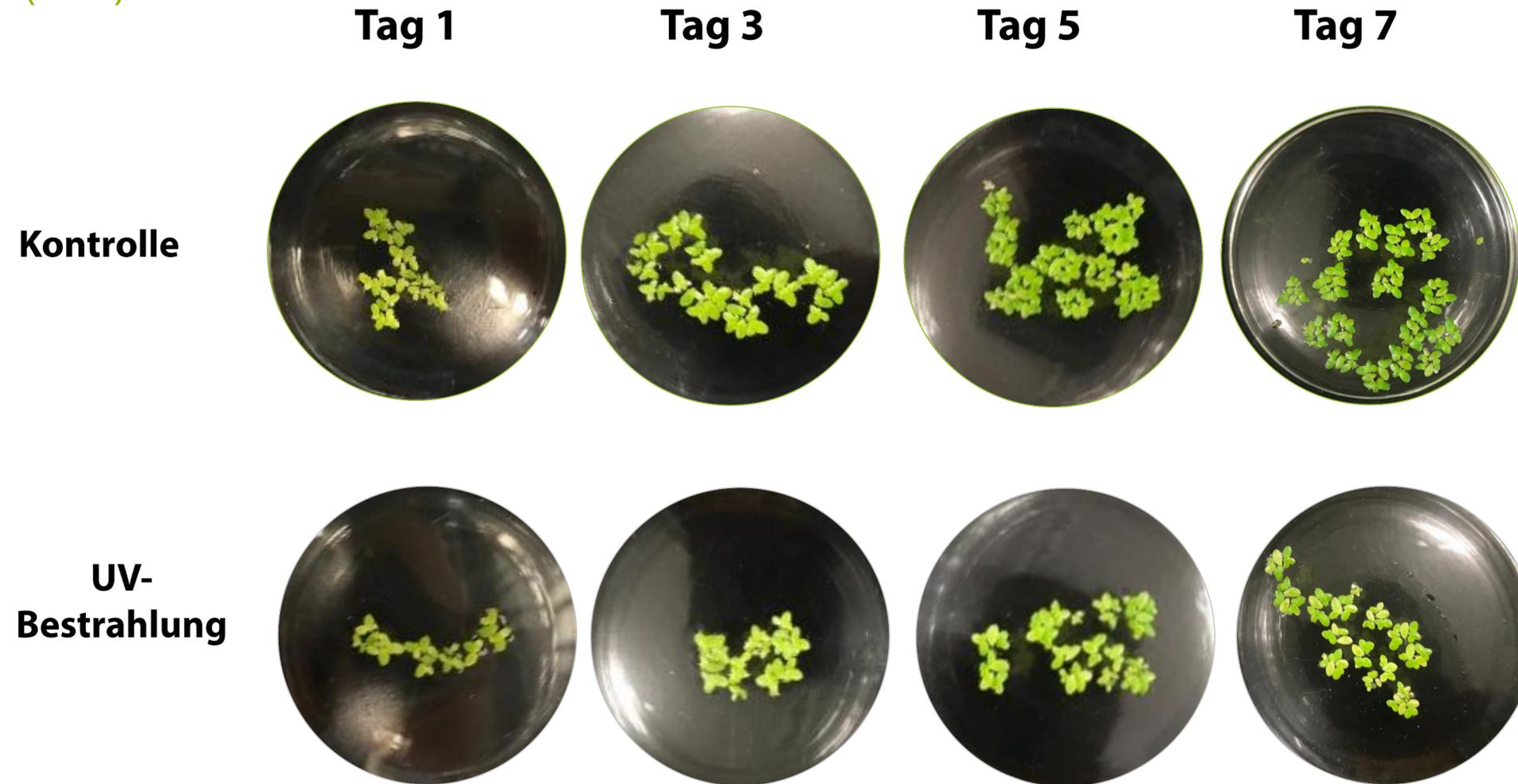
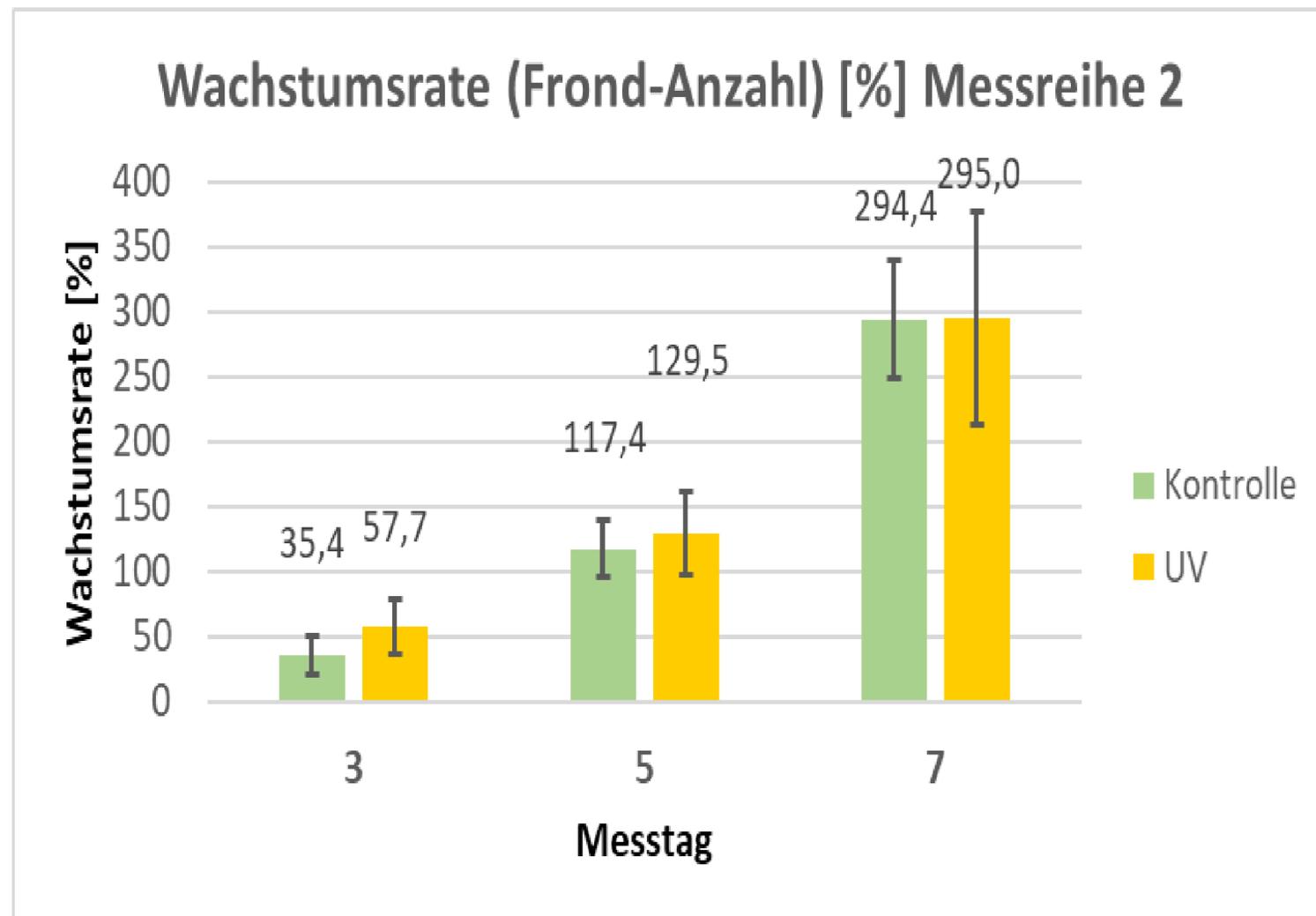


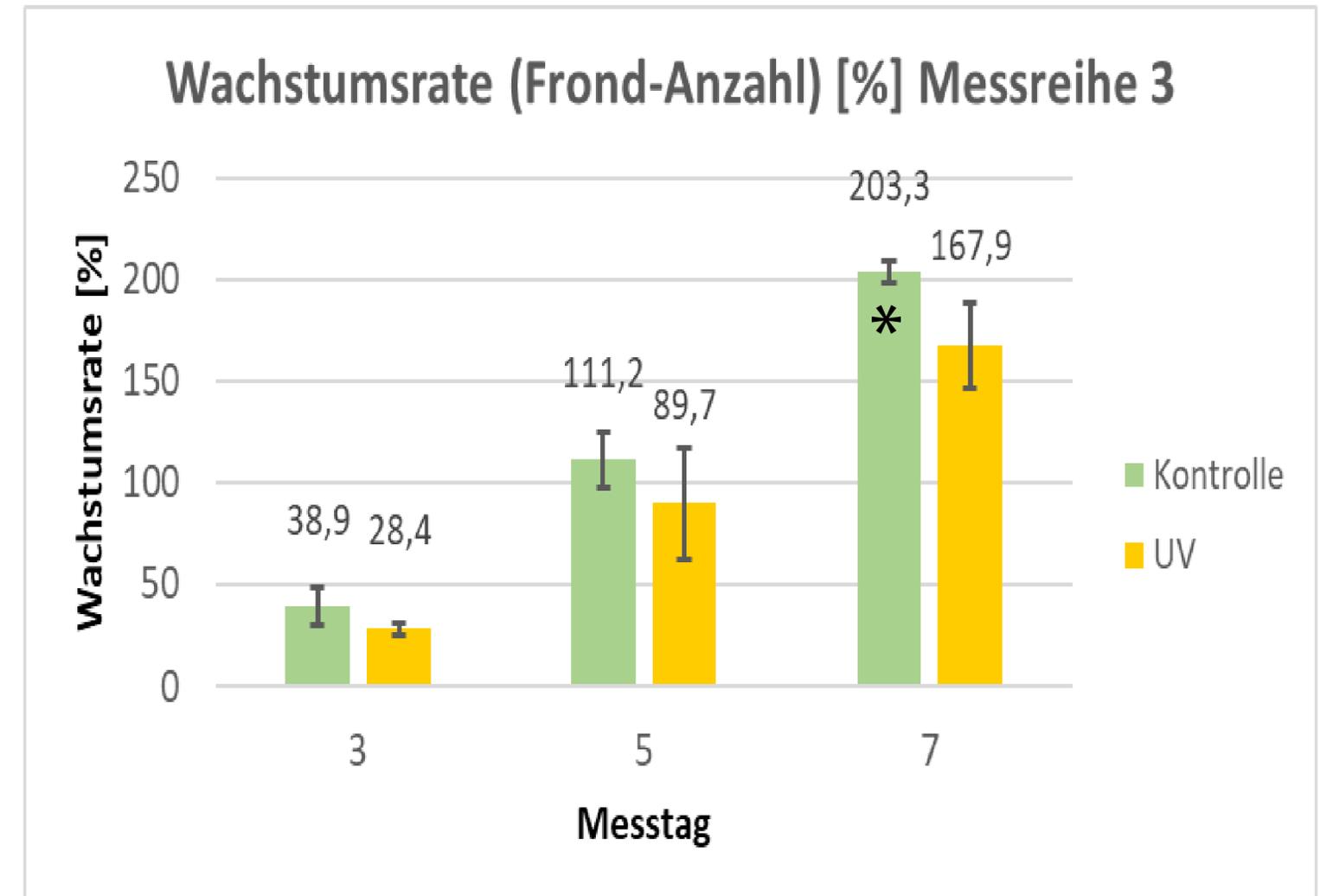
Abb. 9: Wasserlinsen-Zuwachs, Messreihe 3 (Täglich 12 min UV-Strahlung), Auszählen in ImageJ.

Ergebnisse - Markertestung

FROND-ANZAHL (N=4)



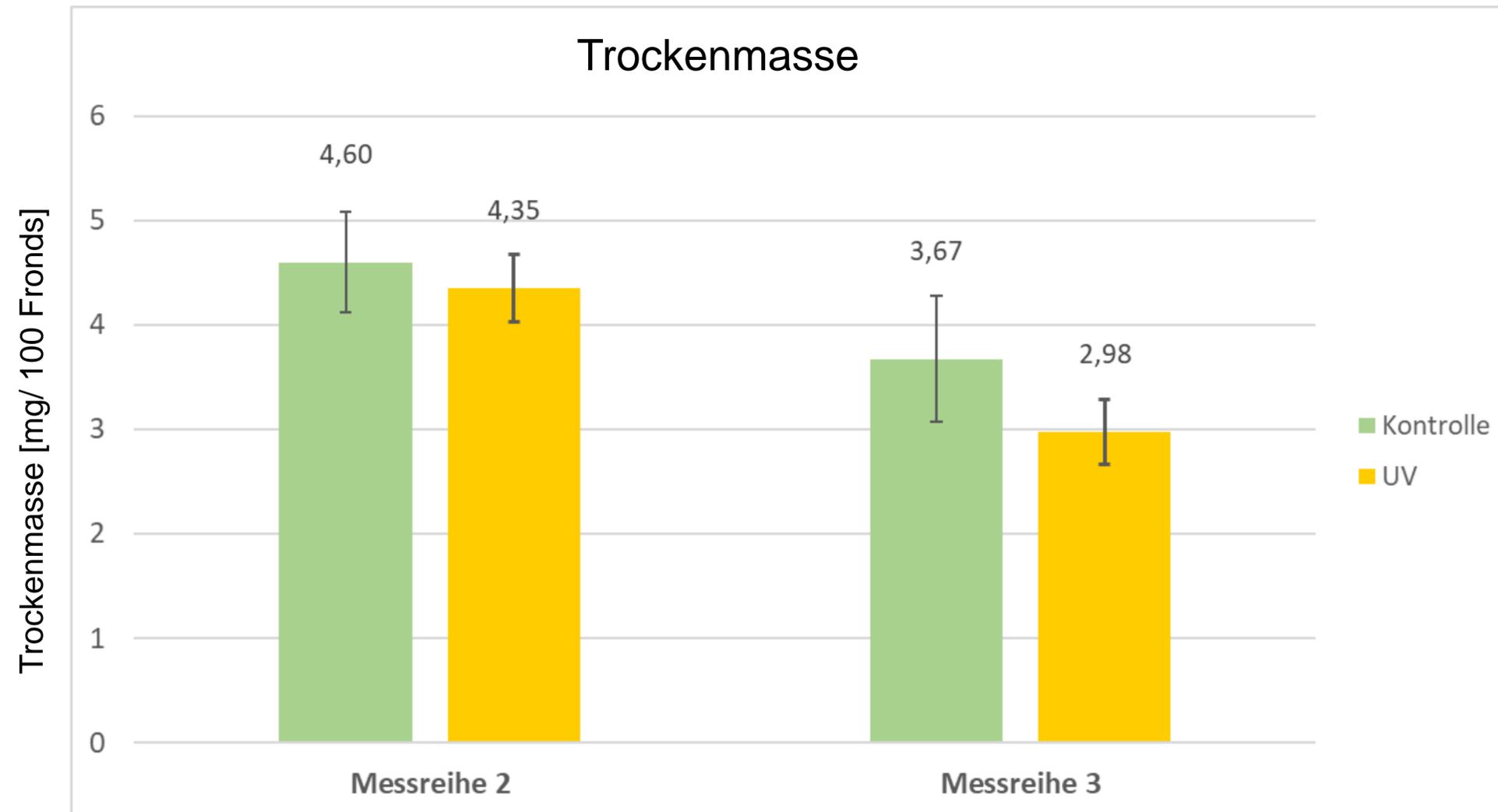
– keine sign. Unterschiede (t-Test)



– sign. Unterschied Tag 7 (t-Test) *

Ergebnisse - Markertestung

TROCKENMASSE

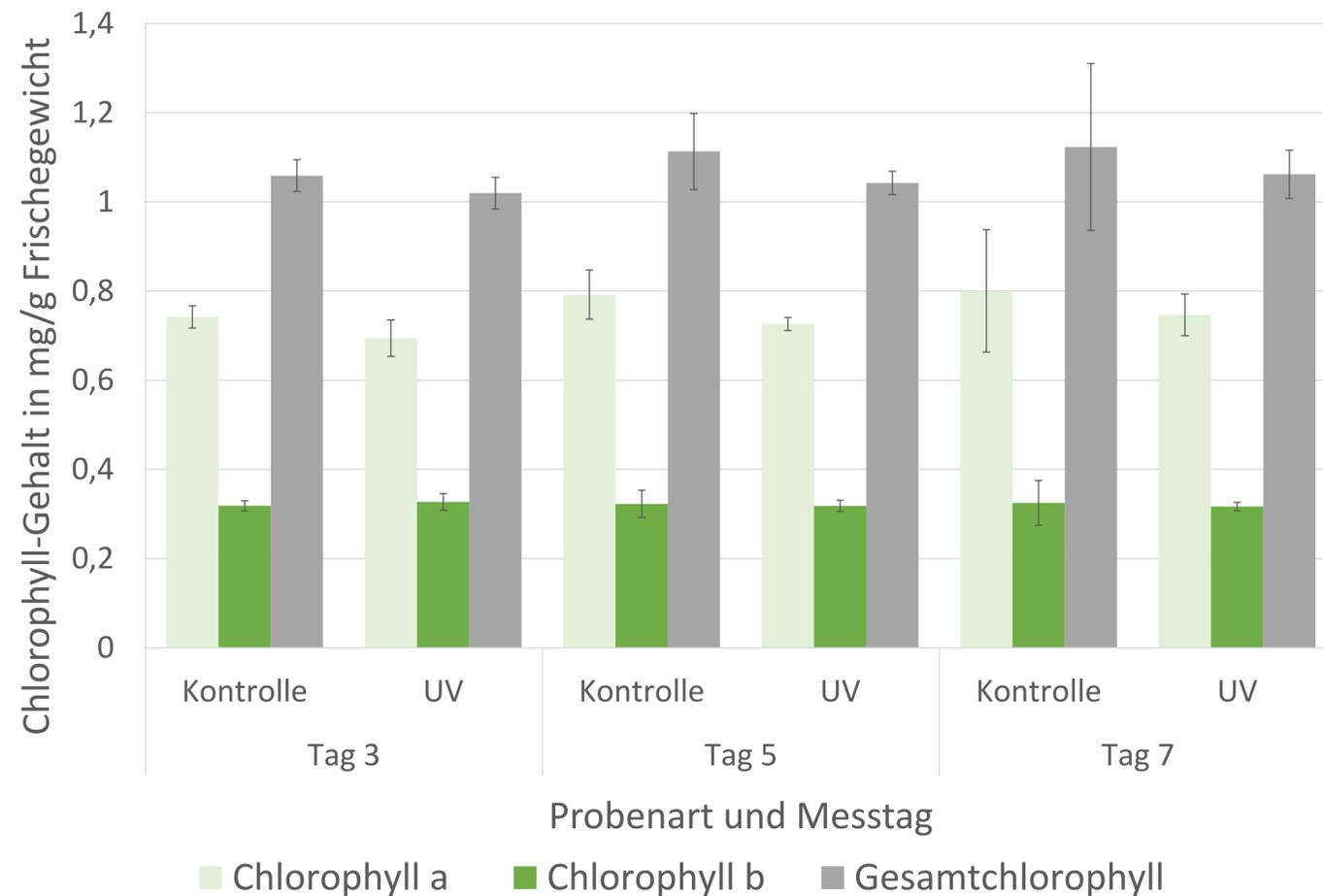


– keine sign.
Unterschiede
(t-Test)

Ergebnisse - Markertestung

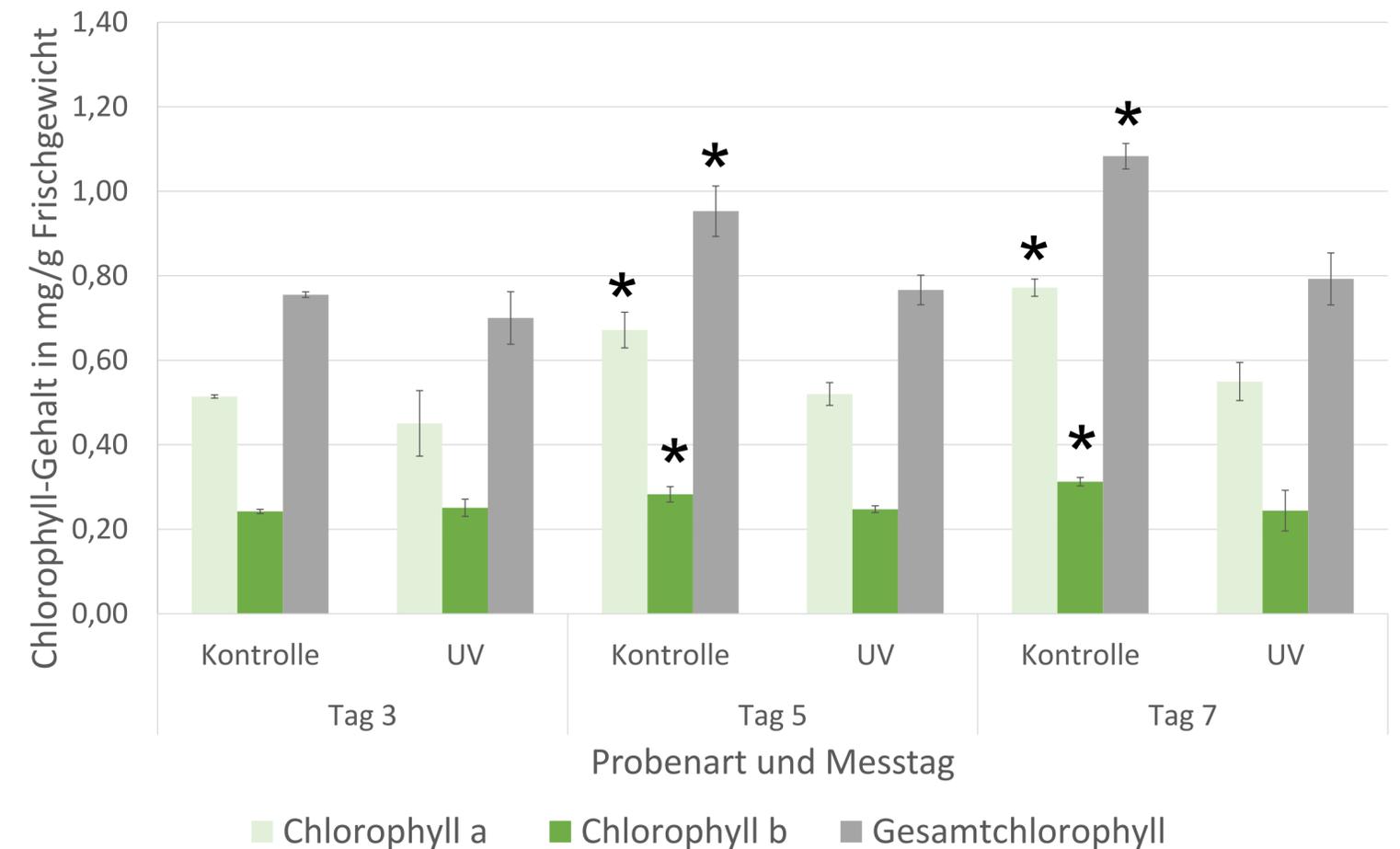
CHLOROPHYLL-GEHALT (N = 4)

Veränderung des Chlorophyll-Gehalts Messreihe 2



– keine sign. Unterschiede (t-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test)

Veränderung des Chlorophyll-Gehalts Messreihe 3

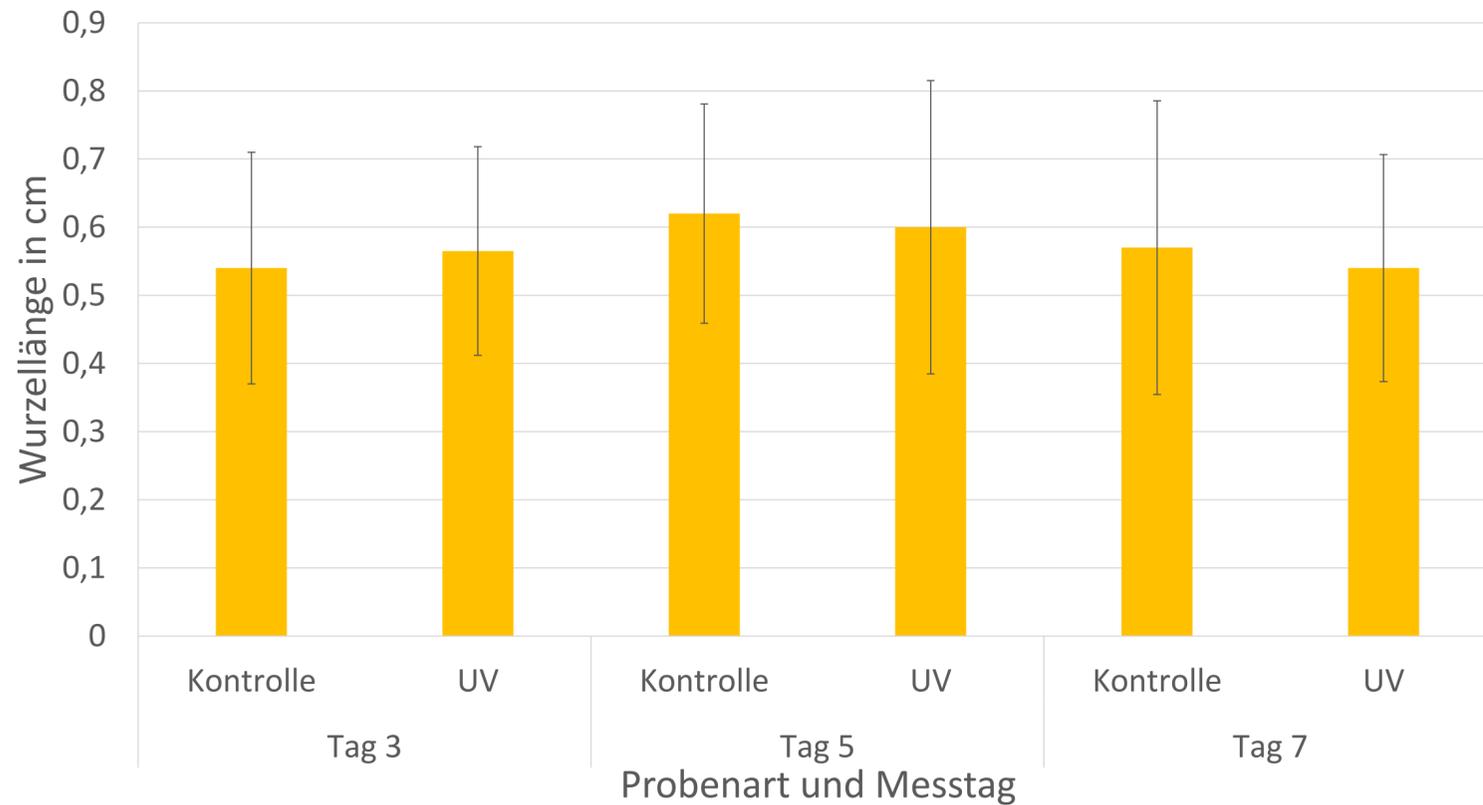


– sign. Unterschiede nach 5 und 7 Tagen (t-Test)

Ergebnisse - Markertestung

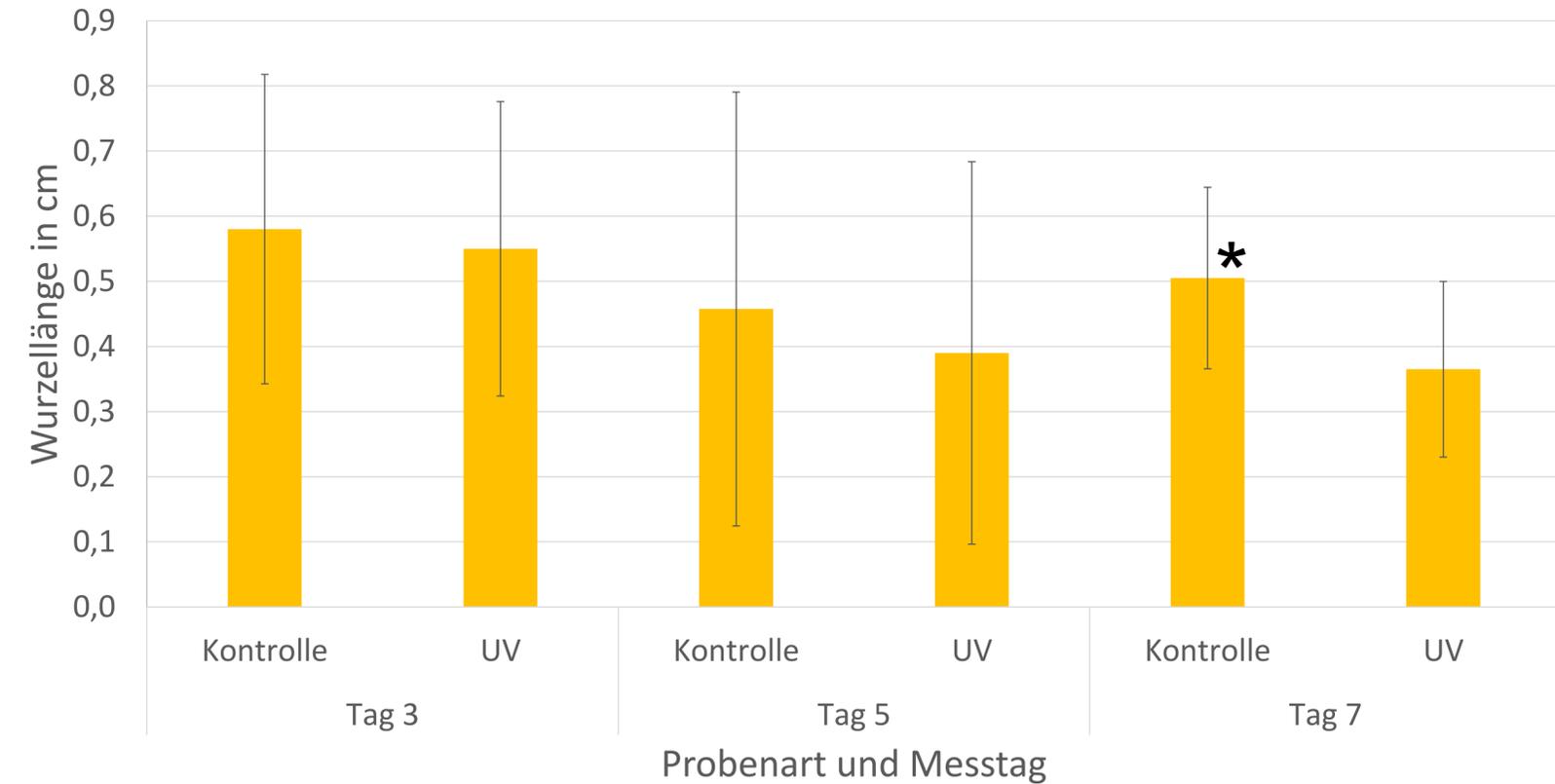
WURZELLÄNGE (N = 20)

Veränderung der Wurzellänge Messreihe 2



– keine sign. Unterschiede (t-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test)

Veränderung der Wurzellänge Messreihe 3



– sign. Unterschiede an Tag 7 (Mann-Whitney-U-Test)

Fazit - Markertestung

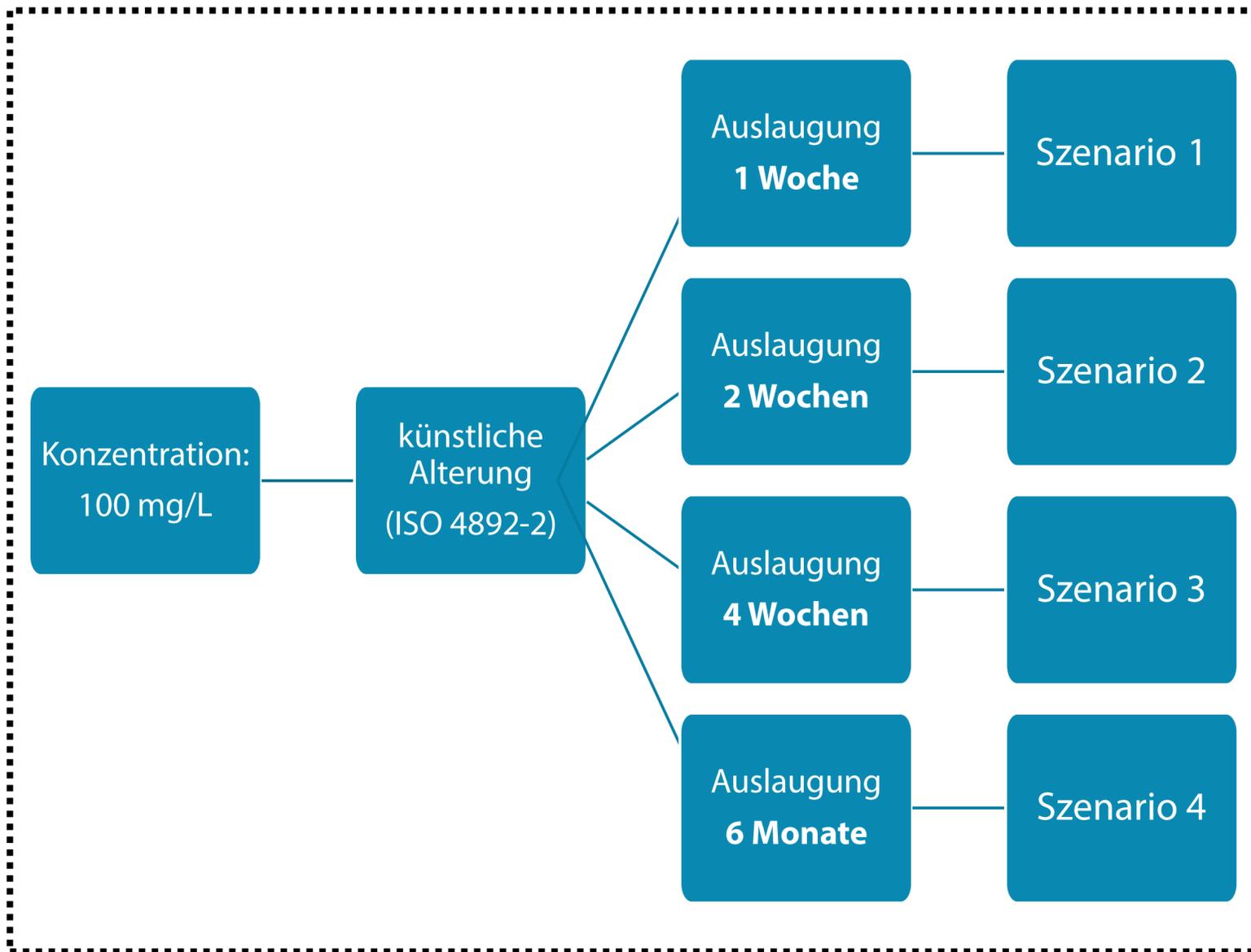
- Frondanzahl **signifikant** → beibehalten → Versuchsdauer verlängern für stärkeren Unterschied
- Trockenmasse **nicht signifikant** → dennoch beibehalten
- Chlorophyll-Gehalt **signifikant** → beibehalten
- Wurzellänge **signifikant** → starke Schwankung trotz größerer Stichprobe → beibehalten und Stichprobenumfang erhöhen (Rozman and Kalcikova, 2022)
- Physiologischer Zustand → **keine Veränderungen** → verworfen
- Weitere Erkenntnisse: Kultivierungsbedingungen konstant halten, Versuchsdauer verlängern
- Testung biochemischer/biotechnologischer Marker noch ausstehend

Hauptversuch

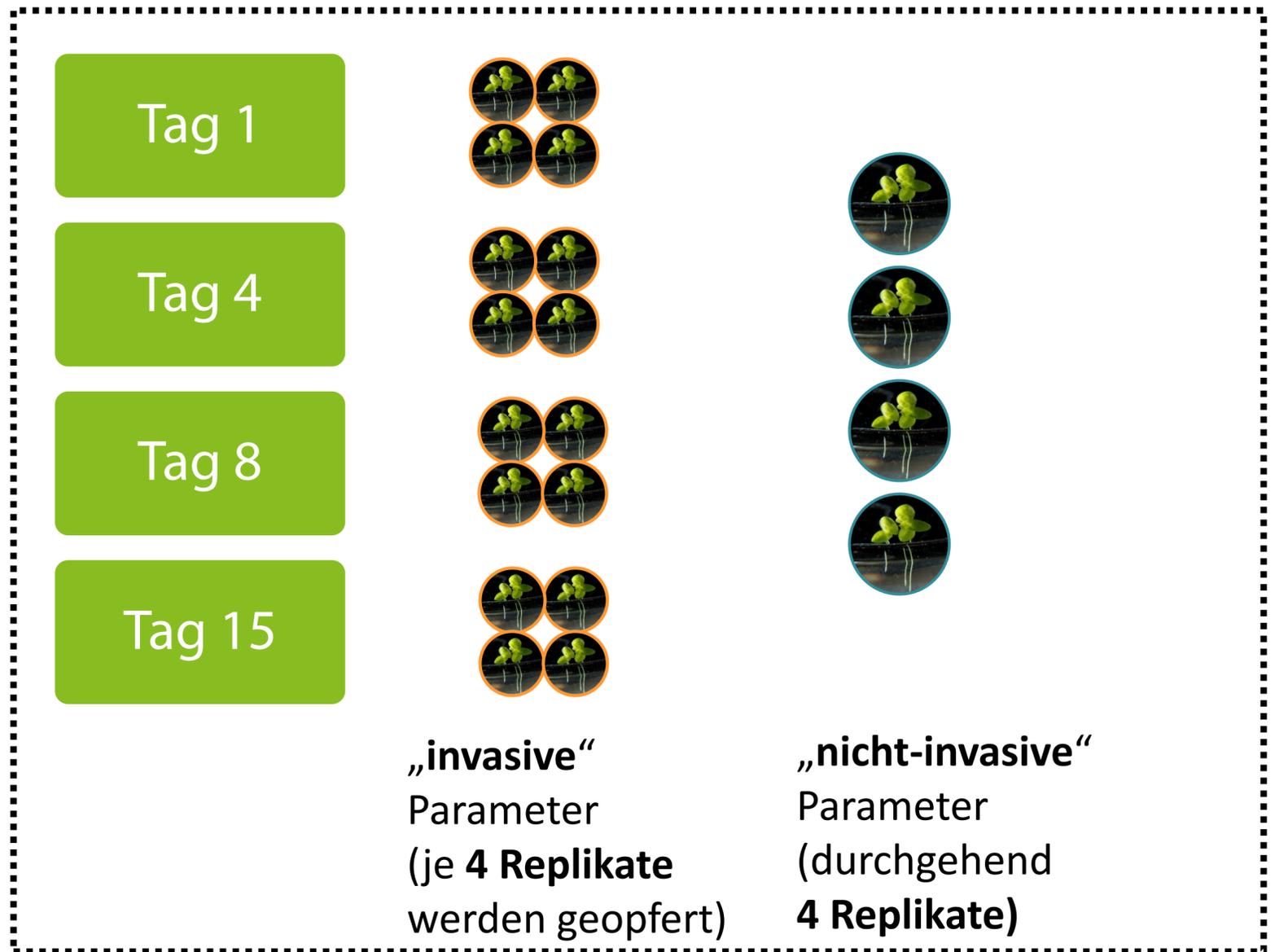


Versuchsplan - Hauptversuch

Szenarien



Aufbau (je Szenario und Kontrolle)





Gibt es Fragen?

Quellen und Referenzen

Abbildungen:

Titelfolie und Zwischenfolien: *Lemna minor*, aufgenommen von T. Krause, ZIRKON

Abb. 1, 4: Rozman and Kalcikova 2022

Abb. 2: <https://www.sigmaaldrich.com/DE/de/product/aldrich/407607>; <https://www.sigmaaldrich.com/DE/de/product/aldrich/d207756>

Abb. 3: Wagner et al. 2018

Abb. 5: https://bgflora.net/families/lemnaceae/lemna/lemna_minor/lemna_minor_3_en.html;

Abb. 6: https://de.wikipedia.org/wiki/Bucklige_Wasserlinse#/media/Datei:Lemna_gibba_sl8.jpg Von Stefan Lefnaer- Eigenes Werk

Abb. 7, 8, 9: *Lemna minor* in verschiedenen Gefäßen, aufgenommen durch J. Radloff, HSZG

Inhalte:

[1] Jekel M., (17. Juli, 2019): Scientific Report on Tyre and Road Wear Particles, TRWP, in the aquatic environment. Hg. v. European TRWP Platform

[2] Rozman U., Kalčíková G.; (2022); The Response of Duckweed *Lemna minor* to Microplastics and Its Potential Use as a Bioindicator of Microplastic Pollution. In: *Plants (Basel, Switzerland)* 11 (21)

[3] Wagner et al. (2018): Tire wear particles in the aquatic environment - A review on generation, analysis, occurrence, fate and effects. In: *Water research* 139, S. 83–100.

[4] Castan et al. (2023): Uptake, Metabolism, and Accumulation of Tire Wear Particle-Derived Compounds in Lettuce. In: *Environmental science & technology* 57 (1), S. 168–178

[5] Kalčíková G. (2020): Aquatic vascular plants - A forgotten piece of nature in microplastic research. In: *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 262, S. 114354.

[6] Ziegler et al. (2016) Duckweeds for water remediation and toxicity testing, *Toxicological & Environmental Chemistry*, 98:10, 1127-1154,

[7] DIN EN ISO 20079:2006-12: Wasserbeschaffenheit- Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (*Lemna minor*).

[8] Gupta und Prakash 2014

[9] Yannarelli et al. (2006): Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. In: *Environmental and Experimental Botany* 56 (2), S. 174–181.

[10] Xie et al. (2022): Ultraviolet B modulates gamma radiation-induced stress responses in *Lemna minor* at multiple levels of biological organisation. In: *The Science of the total environment* 846, S. 157457. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157457.

[11] Bokhari et al. (2016): Syeda Huma Bokhari, Iftikhar Ahmad, Muhammad Mahmood-UI-Hassan & Ashiq Mohammad (2016) Phytoremediation potential of *Lemna minor*L. for heavy metals, *International Journal of Phytoremediation*

[12] Klun et al. (2023): Barbara Klun, Ula Rozman, Gabriela Kalčíková, Environmental aging and biodegradation of tire wear microplastics in the aquatic environment, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Volume 11, Issue 5, 2023

[13] Turner und Rice (2010): Andrew Turner, Lynsey Rice, Toxicity of tire wear particle leachate to the marine macroalga, *Ulva lactuca*, *Environmental Pollution*, Volume 158, Issue 12, 2010