

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Schwermetalltoleranz von Bryophyten und die mögliche
Aufnahme und Akkumulierung über das Rhizoid“

verfasst von / submitted by

Georg Oswald

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magister der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2019 / Vienna, 2019

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 190 313 445

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Lehramtstudium UF Biologie und Umweltkunde
und UF Geschichte, Sozialkunde und Politische
Bildung

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Ingeborg Lang

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die mich während des Studiums und während der Diplomarbeit motiviert und unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt meiner Freundin Helena, welche mir während der gesamten Studienzeit zur Seite gestanden ist, mich immer unterstützt und viele meiner Arbeiten Korrektur gelesen hat und mir bei der Diplomarbeit geholfen hat, den roten Faden nicht zu verlieren.

Herzlicher Dank gilt auch meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht und mich in all meinen Entscheidungen unterstützt haben.

Weiters möchte ich auch meiner Mitstudentin Katharina Petschinger danken. Da wir ähnliche Themen bearbeitet haben, war ich mit der Arbeit nie alleine und hatte immer eine Ansprechperson, mit der ich mich austauschen konnte.

Ein besonders großer Dank gilt meiner Betreuerin Dr. Ingeborg Lang, die mir diese Arbeit erst ermöglicht hat. Sie war immer motivierend, nahm sich immer Zeit für meine vielen Fragen und hatte bei anfälligen Problemen stets eine gute Lösung parat. Kurzum - eine bessere und nettere Betreuung hätte ich mir nicht wünschen können.

Weiters möchte ich auch dem restlichen CIUS Team danken, welches mir bei Fragen im Labor stets zur Seite stand und das Arbeiten am Institut zu einer schönen Erfahrung machte.

Wien am 23.04.2019

Georg Oswald

Inhalt

1. Zusammenfassung	1
2. Abstract.....	3
3. Einleitung	5
3.1. Einführung Schwermetalle.....	5
3.1.1. Definition.....	5
3.1.2. Schwermetalle in der Umwelt.....	5
3.1.3. Aufnahme von Schwermetallen	7
3.1.4. Verwendete Schwermetalle	8
3.1.4.1. Cadmium.....	8
3.1.4.2. Kupfer	9
3.1.4.3. Nickel	10
3.2. Biomonitoring	11
3.2.1. Moosmonitoring.....	12
3.2.2. Aktuelle Situation des Moosmonitorings.....	13
3.3. Moose	16
3.3.1. Allgemeine Informationen zu Moosen.....	16
3.3.2. Verwendete Moose.....	19
3.3.2.1. <i>Physcomitrella patens</i>	19
3.3.2.2. <i>Pleurozium schreberi</i>	20
3.3.2.3. <i>Pohila drummondii</i>	20
3.3.2.4. <i>Plagiomnium affine</i>	20
3.3.2.5. <i>Mielichhoferia elongata</i>	21
4. Ziel der Arbeit.....	22
5. Material und Methoden.....	23
5.1. Vorbereitung der Moose	23
5.2. Behandlung der Moose mit Schwermetallen	24
5.3. Behandlung für die Plasmolysereaktion	24
5.4. Auswertung.....	25
6. Ergebnisse	26
6.1. Cadmium.....	26
6.2. Nickel	27

6.3.	Kupfer	27
6.4.	<i>Pohlia drummondii</i>	28
6.5.	<i>Pleurozium schreberi</i>	30
6.6.	<i>Mielichhoferia elongata</i>	32
6.7.	<i>Physcomitrella patens</i>	34
6.8.	<i>Plagiomnium affine</i>	36
6.9.	Isolierung der Rhizoide	38
7.	Diskussion	39
7.1.	Schwermetallbindung an der Zellwand	39
7.2.	Auswirkungen der Schwermetalle in den Zellen	41
7.3.	Isolierung des Rhizoids	44
7.4.	Schutzmechanismen	45
8.	Resümee.....	47
	Literaturverzeichnis.....	48
	Abbildungsverzeichnis.....	54

1. Zusammenfassung

Schwermetalle sind natürlich vorkommende Elemente, welche in verschiedenen Gebieten der Erde im Gestein oder im Boden vorkommen (Prasad und Hagemeyer 1999). Viele von ihnen sind in geringen Mengen als Spurenelemente für die Zellfunktion notwendig. Sie sind jedoch in großen Mengen toxisch. Durch einen Überschuss werden Zellfunktionen geblockt oder sie führen durch eine antagonistische Wirkung zu vorgetäuschten Mangelerscheinungen. Diese und andere Wirkungen von Schwermetallen können zu nachhaltigen Störungen der Zellfunktion führen und damit auch den Menschen schaden (Stottmeister 2003). Neben den essentiellen Spurenelementen gibt es Schwermetalle, welche nicht essentiell sind und für keine zellphysiologischen Vorgänge benötigt werden. Dazu gehören zum Beispiel Cd, Hg, As, Pb, Tl oder U welche besonders toxisch für Organismen sind (Alloway 1999). Der Großteil der Schwermetalle gelangt durch anthropogene Aktivitäten in die Umwelt, insbesondere seit Beginn der Industrialisierung Anfang des 20. Jahrhunderts (Krachler 2010). Um die Schwermetallkonzentration in der Umwelt zu messen, werden hauptsächlich Moose verwendet, denn diese sind durch einige Eigenschaft für das Monitoring von Schwermetallen sehr gut geeignet.

Moose nehmen Wasser und Nährstoffe fast ausschließlich direkt über die Atmosphäre auf. Das wird durch eine sehr dünne oder nicht vorhandene Cuticula möglich, weshalb Ionen direkt von den Zellwänden aufgenommen werden können. Die Aufnahme von Ionen ist passiv und ist deshalb unabhängig vom Stoffwechsel. Die dichte Beblätterung von Moosen ist ebenfalls gut geeignet um die Luft zu filtern und durch ihre jährlichen Zuwächse lassen sich gemessene Schwermetallkonzentrationen zeitlich zuzuordnen (Umweltbundesamt 2015). In Europa kommt es seit 1990 in fünf-Jahresabständen zu einer flächendeckenden Datenerhebung mittels Moosen. Ab 2005 wurde zusätzlich die Stickstoffanreicherung in Moosen gemessen (Harmens et al. 2013). In Österreich werden für die Auswertung die Moose *Pleurozium schreberi*, *Hylocomium splendens*, *Hypnum cupressiforme*, *Abietinella abietina* und *Scleropodium purum* verwendet (Umweltbundesamt 2015). Es gibt aber auch weitere Moose, welche für Schwermetalldepositionsmessungen verwendet werden können (Frahm 1998). Deren Aufnahmefähigkeit von Schwermetallen ist dabei von vielen Faktoren, wie Alter der Pflanze, Verfügbarkeit des Elements, Klima, Topographie, Geologie und den

edaphischen und hydrologischen Bedingungen, und natürlich auch von der Art des Moores und dessen Morphologie abhängig. Damit ein Moos als Bioindikator verwendet werden kann, braucht es detailliertes Wissen über die jeweilige Art und wie diese auf spezifische Schwermetalle reagiert (Jorma 2015). In dieser Diplomarbeit soll weiteres Wissen hierfür generiert werden.

Ziel der Arbeit ist die Auswirkungen von Kupfer, Cadmium und Zink auf *Mielichhoferia elongata*, *Plagiomnium affine*, *Pohila drummondii*, *Pleurozium schreberi* und *Physcomitrella patens* zu untersuchen. Zusätzlich soll geklärt werden, ob durch die Isolation des Rhizoms bei *P. drummondii*, *M. elongata* und *P. patens* die Toleranz verändert wird. Alle Moose wurden dafür 24 Stunden den Schwermetalllösungen Kupfersulfat, Cadmiumsulfat und Nickelsulfat ausgesetzt. Dabei wurden Konzentrationen von 0,001 mM bis 100 mM verwendet. Danach wurden die Proben in eine Zuckerlösung gegeben und anschließend auf ihre Plasmolysefähigkeit unter dem Mikroskop beobachtet. Durch die Plasmolyse und die genaue Analyse der Zellen, insbesondere der Chloroplasten und Zellwände, wurde festgestellt, ab welcher Konzentration die Schwermetalle für die verschiedenen Arten schädlich, beziehungsweise tödlich sind.

Durch die Auswertung der Daten wurden folgende Fragen beantwortet:

1. Wie wirken sich welche Schwermetalllösungen auf die unterschiedlichen Moose und ihre Zellen aus - gibt es Unterschiede in der Toxizität?
2. Sind Biomonitoring Moose und Indikator Moose, toleranter gegenüber Kupfersulfat, Nickelsulfat und Cadmiumsulfat als andere Moose?
3. Ändert die Isolierung der Rhizoide die Toleranzgrenze gegenüber Schwermetallen bei *P. drummondii*, *M. elongata* und *P. patens*?

2. Abstract

Heavy metals are naturally occurring elements found in rocks or soil in different parts of the world (Prasad und Hagemeyer 1999). Many of them are needed in small amounts as trace elements for cell function, but are toxic in large quantities. If there is an overage of heavy metals, they block cellular functions or lead to simulated deficiency symptoms through antagonistic effects. These and other effects of heavy metals can lead to long-lasting disruption of cell function and also harm humans (Stottmeister 2003). In addition to the essential trace elements, there are heavy metals that are not essential and are not needed for any cell physiological processes. These include for example Cd, Hg, lead, As, Pb, Tl or U, which are particularly toxic to organisms (Alloway 1999). Most of the heavy metals are released into the environment through anthropogenic activities. Especially since the beginning of the 20th century, a large amount of trace elements has been released into the environment since the beginning of industrialization (Krachler 2010). In order to measure the heavy metal concentration in the environment, especially mosses are used because they are very well suited for monitoring of heavy metals due to some characteristics.

Mosses absorb water and nutrients almost exclusively directly through the atmosphere. This is made possible by a very thin or non-existent cuticle, which is why ions can be absorbed directly by the cell walls. The uptake of ions is passive and therefore independent of the metabolism. The dense arrangement of the moss leaves is also well suited to filter the air and their annual growth allows a temporal allocation of measured concentrations of heavy metals (Umweltbundesamt 2015). In Europe, data have been collected with mosses in five-year intervals since 1990. From 2005 on, nitrogen enrichment in mosses was additionally measured (Harmens et al. 2013). In Austria the mosses *Pleurozium schreberi*, *Hylocomium splendens*, *Hypnum cupressiforme*, *Abietinella abietina* and *Scleropodium purum* are used for the evaluation (Umweltbundesamt 2015).

Also other mosses can be used for heavy metal deposition measurements (Frahm 1998). The absorption capacity of heavy metals in mosses depends on many factors, such as age of the plant, availability of the element, climate, topography, geology, edaphic and hydrological conditions and of course on the type of moss and its morphology. To be used as a bioindicator, it needs detailed knowledge of how a moss reacts to specific heavy metals

(Jorma 2015). In this diploma thesis further knowledge concerning this matter should be generated.

The aim of this work is to investigate the effects of copper, cadmium and zinc on *Mielichhoferia elongata*, *Plagiomnium affine*, *Pohlia drummondii*, *Pleurozium schreberi* and *Physcomitrella patens*. In addition, it is to be clarified, whether the tolerance is changed by the isolation of the rhizome in *P. drummondii*, *M. elongata* and *P. patens*. All mosses were exposed to the heavy metal solutions copper sulfate, cadmium sulfate and nickel sulfate for 24 hours. Concentrations of 0.001 mM to 100 mM were used. After that, the samples were placed in a sugar solution and then observed under the microscope for their ability to plasmolyze. Through the plasmolysis and the exact analysis of the cell, especially the chloroplasts and cell walls, it was determined from which concentration on the used heavy metals are harmful or fatal for the different types of mosses.

Through the analysis of the received data the following questions were clarified:

1. Which heavy metal solutions affect the different mosses and their cells in which way and are there differences in the toxicity between the heavy metals?
2. Are known indicator mosses or biomonitoring species more tolerant to copper sulphate, nickel sulphate and cadmium sulphate, than conventional species?
3. Does isolation of the rhizoid increase the tolerance to heavy metals in *P. drummondii*, *M. elongata* und *P. patens*?

3. Einleitung

3.1. Einführung Schwermetalle

3.1.1. Definition

Schwermetalle sind jene Elemente des Periodensystems, welche eine Dichte über 5g/cm^3 aufweisen. Dazu gehören Ag, As, Au, Bi, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, No, Pb, Pt, Sb, Sn, Ti, Tl, U, V, Zn, Zr (Brunold 1996). Ein weiteres Merkmal der Schwermetalle ist, dass die meisten in verschiedenen Oxidationsstufen vorkommen. Deshalb kommen sie in vielen Elektronen übertragenden Enzymen vor und sind von großer Bedeutsamkeit für Organismen (Schulze et al. 2002). Metalle, welche für Pflanzen essentiell sind, gehören zu den Mikronährstoffen. Dazu gehören zum Beispiel Cu, Fe, Mn, Mo, und Zn. Zusätzlich gibt es weitere Schwermetalle, welche nur für bestimmte Pflanzengruppen notwendig sind. Sind nicht ausreichend essentielle Schwermetalle für die Pflanze verfügbar, kann dieser Mangel auch zum Absterben der Pflanze führen (Brunold 1996). Andere Schwermetalle wie Cd, Tl, Pb oder Hg werden vom Organismus nicht benötigt. Sowohl die essentiellen Metalle als auch die nicht essentiellen Metalle, wirken für Tiere und Pflanzen bei zu hoher Konzentration toxisch (Heintz und Reinhardt 1990). Schwermetalle können schon bei sehr geringen Mengen toxisch wirken, weshalb bei essentiellen Schwermetallen die Konzentrationsbereiche für Mangel, optimale Versorgung und Toxizität nah beieinander liegen (Schulze et al. 2002).

3.1.2. Schwermetalle in der Umwelt

Schwermetalle kommen in Böden in geringen Konzentrationen natürlich vor, wobei die Konzentration zwischen den verschiedenen Metallen in verschiedenen Gebieten auf der Erde stark schwankt. Die Konzentrationsunterschiede beruhen auf dem Gestein, über welchem sich die Böden bilden, und werden weiter modifiziert durch natürlichen Eintrag über Staubpartikel aus Gesteinen, Böden und vulkanischer Asche, sowie massiv durch anthropogenes Einwirken (Alloway 1999). Bereits in der Antike gelangten Schwermetalle durch den Abbau von Erzen wie Fe, Cu, Pb und Zn vermehrt in Luft, Boden und Gewässer. Mit der industriellen Revolution steigerte sich der anthropogene Eintrag von Schwermetall in

die Umwelt. Durch die Verbrennung von Kohle, welche Schwermetalle in hohen Mengen enthält, stieg die Schwermetallemission stark (Heintz und Reinhardt 1990).

Umwelt. So zeigten Untersuchungen an kanadischen Gletschern, dass die Bleieinträge im Eis zwischen den 1949er und 1980er Jahren extrem gestiegen sind. In der jüngsten Vergangenheit ging der Wert durch das Verbot von bleihaltigem Benzin in Nordamerika und Europa zurück. Dennoch sind weiterhin 90 % des Bleieintrags in die Umwelt auf anthropogene Einflüsse zurückzuführen. Auch über Klärschlamm gelangen Schwermetalle in die Umwelt. Als Klärschlamm fasst man alle Siedlungsabfälle, die über die Abwasserreinigung anfallen, zusammen. Quellen für die Verunreinigung sind dabei menschliche Ausscheidungen, Korrosion von Leitungen, Reinigungswasser industrieller Betriebe und Schmutz- und Niederschlagswasser (Blume et al. 2011). Aber auch die Landwirtschaft bringt Schwermetalle über Düngemittel und Pestizide in die Umwelt ein (Krebs et al. 2017). (Düngemittel teilt man dabei in organische und mineralische Düngemittel ein. Organische Düngemittel beinhalten Wirtschaftsdünger (Jauche, Gülle, Stallmist, Stroh), organische Handelsdünger (Guano, Torf und tierische Reste) und Sekundärrohstoffe (Siedlungsabfälle). Quellen der Schwermetalle im Wirtschaftsdünger sind Futtermittel, Ausscheidungen aber auch Desinfektionsmittel. Mineralische Düngemittel enthalten sowohl erwünschte, als auch unerwünschte Spurenelemente wie zum Beispiel Cadmium. Hauptsächlich dienen sie der Zufuhr von N, P, und K. Sie können aber gewollt essentielle Schwermetalle wie Cu, Zn, Co und Mo enthalten (Krebs et al. 2017). Die verschiedenen Schwermetalle gelangen zum Großteil in den Boden. Dort können sie von Pflanzen aufgenommen und vorübergehend gespeichert werden (Blume et al. 2011). Der Anteil, welcher von Pflanzen aufgenommen wird, gelangt dann in die Nahrungskette. Doch auch in der Luft befinden sich Schwermetalle in Form von Staub, welcher auch direkt von Organismen aufgenommen werden kann (Heintz und Reinhardt 1990). Dieser Feinstaub kann gut über die Lungen aufgenommen werden, und führt zu zahlreichen Erkrankungen (Umweltbundesamt 2016).

3.1.3. Aufnahme von Schwermetallen

Die für Pflanzen lebenswichtigen Schwermetalle sind Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo und Co. Sie sind für viele zellphysiologischen Aufgaben essentiell (Schulze et al. 2002). So wird alleine für die Photosynthese eine Reihe von diesen Metallen benötigt: Mg als Zentralatom für Chlorophyll, Fe in Ferredoxin und Cytochrom, Cu im Plastocyanin, Zink und Cu in der Zn-Cu-Superoxid-Dismutase, welche Sauerstoffradikale verhindert und Mn in wasserspaltenden Enzymen (Brunold 1996). Auch abseits der Photosynthese werden Schwermetalle benötigt. Besonders die Fähigkeit zum Valenzwechsel, macht die Schwermetalle wichtig für viele Enzyme. Im Zusammenhang mit dem Valenzwechsel ist auch die Fähigkeit von Schwermetall zur Chelatbildung wichtig. Chelate sind Verbindungen aus einem Zentralatom und mehreren Liganden. Schwermetalle eignen sich besonders gut dazu mehrere Liganden an sich zu binden (Prasad und Hagemeyer 1999). Ein prominentes Beispiel für einen Chelatkomplex ist das Chlorophyll, bei welchem Mg als Zentralatom dient.

Die Fähigkeit von Pflanzen Schwermetalle aufzunehmen, wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Einerseits ist die Art des Metalls ausschlaggebend, aber auch in welcher Form ein bestimmtes Element im Boden vorliegt. Um von Pflanzen aufgenommen werden zu können, muss das Metall in wasserlöslicher Form vorhanden sein. Zusätzlich spielt auch die Größe des Metallkomplexes eine Rolle. Je größer ein Komplex ist, desto geringer ist die Aufnahmewahrscheinlichkeit (Brunold 1996). Außerdem gilt, je größer die Adsorption der Metalle im Boden ist, desto wichtiger ist die Größe der Oberfläche des Wurzelgeflechts (Alloway 1999). Weiters spielen der pH-Wert des Bodens und das Redoxpotential des Bodens eine Rolle für die Schwermetallverfügbarkeit (Brunold 1996).

Für die Metallaufnahme gibt es zwei Absorptionsmechanismen - passiv und aktiv. Bei der passiven Aufnahme diffundieren die Ionen in die Endodermis der Wurzel. Bei der aktiven Absorption muss Energie aufgewendet werden um die Ionen gegen den Konzentrationsgradienten in das Innere der Pflanze zu pumpen. Die Mechanismen der Aufnahme variieren dabei zwischen den Metallen, können sich aber auch überschneiden, was zu einer Konkurrenz führt. So beeinflussen verschiedene Ionen, die Absorption anderer Ionen durch die Pflanze (Alloway 1999). Ungünstige Faktoren zwischen pH-Wert, Redoxpotential des Bodens und Wurzelaktivität können bei ähnlichem Gesamtgehalt an Schwermetallen, zu einem Mangel oder zu Toxizität führen (Schulze et al. 2002). Pflanzen

können diese Faktoren zu einem gewissen Grad steuern um an stark adsorbierte Schwermetalle im Boden zu gelangen. Sie können über die Rhizosphäre den Boden ansäuern, Redoxveränderung im Boden verursachen oder mit organischen Komplexen Schwermetalle mobilisieren (Schulze et al. 2002).

Schwermetalle können aber nicht nur aus dem Boden aufgenommen werden, sondern auch über die Luft. Diesen Effekt macht man sich auch in der Landwirtschaft zunutze, denn dort kann man mit wasserlöslichen Kupfer- und Mangansalzen die Pflanze über die Blattoberfläche düngen (Merian 1984). Diese Fähigkeit von Pflanzen führt aber unter anderem dazu, dass auch nicht essentielle Schwermetalle, wie Cadmium über die Luft aufgenommen werden können und damit in die Nahrungskette gelangen. Für die Aufnahme über die Blätter spielen Art und Ernährungszustand der Pflanze, Dicke der Cuticula, Alter der Blätter, Vorhandensein von Schließzellen, Feuchtigkeit der Blattoberfläche und Art des gelösten Stoffes eine Rolle (Alloway 1999). Um sich vor den schädlichen Wirkungen von zu hohen Konzentrationen von Schwermetallen zu schützen, haben manche Pflanzen einige Resistenzmechanismen entwickelt. Dabei werden Schwermetalle entweder aus der Pflanze ausgeschlossen oder akkumuliert. Bei der Akkumulation werden die Metalle in der Pflanze isoliert, damit es zu keinen Störungen von chemischen Reaktionen im Zellmetabolismus kommen kann (Prasad und Hagemeyer 1999).

3.1.4. Verwendete Schwermetalle

3.1.4.1. Cadmium

Cadmium ist für Organismen toxisch und im Vergleich zu vielen anderen Schwermetallen in keiner Konzentration nützlich und gehört deshalb zu den Xenobiotika. Meist tritt Cadmium mit einem zweiten Schwermetall wie Zink oder Kupfer auf (Schulze et al. 2002). Die Konzentration ist in natürlichen, nicht verunreinigten Böden normalerweise sehr gering, weshalb die Zufuhr durch den Menschen von besonderer Bedeutung ist (Alloway 1999). Cadmium wird vor allem bei der Zinkproduktion gewonnen, da es dort als Nebenprodukt anfällt. Es wird für Nickel-Cadmium Akkumulatoren benötigt und kommt in der Kunststoffproduktion vor (Hilberg 2015). Es gelangt über die metallverarbeitende Industrie, durch Verbrennung von Müll und fossilen Brennstoffen, durch Klärschlamm und durch

Dünger in die Umwelt (Nentwig 2005). Cadmium ist bereits in geringen Konzentrationen für Tiere und Pflanzen toxisch (Blume et al. 2011). Bei Menschen kann Cadmium zu Blutarmut, den Verlust des Geruchssinnes und krankhaften Veränderung des Skeletts führen. In Japan kam es im Bereich von Kuper- und Zinkminen durch Cadmium zu chronischen Nieren- und Knochenschädigungen. Das Schwermetall gelangte über Abwasser in die Reisfelder und damit in die Nahrungskette der Menschen und führte zu Cadmiumvergiftungen (Hilberg 2015). Cadmium ist in Pflanzen sehr mobil und kann über das Xylem in alle Pflanzenteile transportiert werden (Schulze et al. 2002). Es wird zusätzlich auch gut über die Blätter aufgenommen und kann in der Pflanze die Photosynthese hemmen, in dem es zum Schließen der Stomata führt (Alloway 1999).

3.1.4.2. Kupfer

Kupfer ist ein wichtiges essentielles Spurenelement für Tiere und Pflanzen (Alloway 1999). Die Konzentration an Kupfer in der Erdkruste ist hoch. Wie viel davon in den Boden gelangt, hängt vor allem vom pH-Wert des Bodens ab. Bei niedrigem pH-Wert ist die Kupferlöslichkeit erhöht, bei alkalischer Umgebung wird Kupfer ausgefällt. Deshalb kommt es vor allem in basischen Böden zu Kupfermangel, aber auch in extrem sauren, da dort das Kupfer schnell ausgewaschen wird. Kupfer ist für Tiere und Pflanzen lebensnotwendig, weil es ein wichtiger Bestandteil vieler Enzyme ist. In zu starker Konzentration wirkt es jedoch toxisch. Der Hauptgrund dafür ist, dass sich freie Kupferionen, an andere Proteine, welche eigentlich kein Kupfer benötigen, binden und damit deren Funktion stören (Merian 1984). Der geringe Bedarf an Kupfer bei höheren Pflanzen führt dazu, dass Mangelercheinungen nur sehr selten auftreten. Kupfertoxizität tritt hingegen deutlich häufiger auf. Dies liegt vor allem an anthropogenen Einflüssen, wobei sich die Folgen von Kupfertoxizität teilweise erst nach längerem Einwirken zeigen (Schulze et al. 2002). Kupfer wird schon seit über 9000 Jahren vom Menschen genutzt (Exner et al. 2016). Heute wird es in vielen Industrien benötigt. Es wird in der Elektroniktechnologie gebraucht, ist ein wichtiger Bestandteil zahlreicher Legierungen, wird für Wasserleitungen und in der Landwirtschaft verwendet und ist auch ein wichtiges Element für die Chemieindustrie (Merian 1984). Der hohe Bedarf an Kupfer führt auch zu Kupferstress in der Umwelt, welcher über Klärschlamm, Landwirtschaft und Abraumhalden entsteht (Schulze et al. 2002). Brian J. Alloway beschreibt, dass bis 1995

bereits 307 t Millionen Kupfer abgebaut wurden. Das ist doppelt so viel Kupfer wie in den obersten 2 cm im Boden der gesamten Erde ist. Der Großteil davon wurde erst im 20. Jahrhundert abgebaut (Alloway 1999).

3.1.4.3. Nickel

Nickel ist für Archea, Bakterien, einzellige Eukaryoten, Tiere und Pflanzen essentiell. Dort katalysiert es in Enzymen chemische Reaktionen (Zambelli et al. 2016; Ekmekcioglu und Marktl 2006). Nickel kommt in einer Vielzahl von Oxidationsstufen vor, doch nur Ni^{2+} ist in größeren Mengen in Böden stabil. Der Nickelgehalt schwankt stark zwischen verschiedenen Gesteinsschichten, dabei ist der Gehalt in basischen Gesteinen hoch und in sauren Erstarrungsgesteinen, Sedimenten und alkalischen Gesteinen niedrig. Dementsprechend schwankt der Nickelgehalt auch stark zwischen den verschiedenen Böden (Alloway 1999). Da Nickel nur in sehr geringen Dosen von Pflanzen benötigt wird, kommt es sehr selten zu Mangelerscheinungen (Kaim und Schwederski 2010). Im Vergleich zu anderen Schwermetallen ist die Spanne zwischen essentieller Menge und Menge, die toxisch ist, sehr breit. Auch die Toxizität ist im Vergleich zu anderen Schwermetallen deutlich schwächer, besonders im Vergleich zu Kupfer. Eine zu hohe Menge an Nickel führt bei Pflanzen zu einem geschwächten Stoffwechsel. So wird die Aufnahme der Wurzeln und die Photosynthese gestört. Zusätzlich kommt es, wie bei anderen Schwermetallen, zu oxidativem Stress. Oft tritt Nickel mit anderen Schwermetallen gemeinsam auf, weshalb die Pflanzen eher unter anderen Schwermetallen leiden (Sigel 2007). Es wird in der Industrie für viele Legierungen, Batterien, elektronische Bauteile und Katalysatoren benötigt (Alloway 1999). Nickel gelangt durch den Menschen in großen Mengen in die Umwelt - einerseits über den Bergbau durch den Abbau, aber auch beim Verhütten gelangt Nickel in die Luft. Auch über Klärschlamm und durch Verbrennung fossiler Brennstoffe wird Nickel in die Umwelt eingebracht (Merian 1984).

3.2. Biomonitoring

Beim sogenannten Biomonitoring versucht man, mit Hilfe biologischer Studien von Organismen und Analyseverfahren, die gegenwärtige und zukünftige Umwelt zu bewerten. Mit Hilfe von Organismen können verschiedene Variablen wie Elementverschmutzung in bestimmten Gebieten und deren Veränderung über Raum und Zeit, der Verschmutzungslevel oder auch der Nährstoffgehalt in einer Umgebung gemessen werden. Organismen mit denen diese Variablen beobachtet werden, nennt man Bioindikatoren. Bioindikatoren zeigen die Anwesenheit eines bestimmten Umwelteinflusses. Dabei reagiert der Organismus mit morphologischen oder physiologischen Veränderungen, je nach Länge und Stärke des Umwelteinflusses (Jorma 2015).

Beim Biomonitoring gibt es zwei Methoden, die aktive und die passive Methode. Beim passiven Biomonitoring werden Organismen verwendet, welche in einer bestimmten Umgebung vorkommen. Damit lassen sich vor allem große Gebiete gut untersuchen. Das aktive Biomonitoring, lässt sich in Transplantations- und Moss-bag-Methode unterteilen. Bei der Transplantationsmethode werden Organismen, meist Moose und Flechten, von unverschmutzten Habitaten in verschmutzte Habitate eingesetzt. Der Vorteil daran ist, dass man die Zeit, welche die Pflanze am neuen Standort verbringt, genau kontrollieren kann. Dennoch können beobachtbare Veränderungen des Organismus auf mehreren Faktoren beruhen und verschiedene Faktoren können sich gegenseitig beeinflussen. Bei der Moss-bag-Methode, werden Moose in luftdurchlässige Beutel gesteckt und in verschmutzte Gebiete eingebracht. Dadurch werden die Einflussfaktoren auf das Moos verringert und es kann zum Beispiel die Luftverschmutzung durch Schwermetalle gut gemessen werden. Für das terrestrische Monitoring haben sich vor allem Moose, Flechten und Nadelbäume als gute Indikatoren für Luft, Wasser und Bodenverschmutzung bewährt (Jorma 2015). Da in dieser Diplomarbeit mit Moosen gearbeitet wird, beschränken sich weitere Ausführungen auf diese.

3.2.1. Moosmonitoring

Damit ein Moos als Bioindikator für Schwermetalle funktionieren kann, braucht es eine hohe Toleranz gegenüber Schwermetallen. Die meisten Moose sind in der Lage hohe Konzentrationen von diesen Metallen zu akkumulieren (Frahm 2001). Moosmonitoring wird bereits seit den 1990er Jahren als Schwermetallindikator verwendet. Seit dem gibt es ein Monitoringprogramm in Europa, bei welchem alle 5 Jahre Untersuchungen durchgeführt werden (Harmens et al. 2013). Das Moosmonitoring hat dabei viele Vorteile, denn durch dieses kann einfach über Ländergrenzen hinweg ein Umweltmessnetz für Schwermetalle erstellt werden, über welches die verschiedenen Schwermetallkonzentrationen gemessen und kartiert werden können, um zu beobachten in welchem Maße Umweltschutzmaßnahmen funktionieren (Kratz und Schröder 2009).

Moose eignen sich durch mehrere morphologische Eigenschaften als Bioindikatoren. Ihre Cuticula ist stark reduziert oder fehlt oft gänzlich, weshalb Ionen direkt über die Zellwand aufgenommen werden können. Weiters können die Blätter von Moosen oft nur eine Zellschicht dick sein, weshalb ein Großteil der Nährstoff- und Wasserversorgung über die Blätter abläuft. Dadurch gelangen auch Schadstoffe aus der Atmosphäre leicht über die Blätter in die Pflanze. Zusätzlich sind die meisten Moose dicht beblättert, was die Aufnahme über die Luft zusätzlich verbessert. Die Aufnahme von Nährstoffen über den Untergrund ist hingegen deutlich geringer und findet bei manchen Moosen gar nicht statt (Zechmeister 1994). Die Schwermetalldeposition findet deshalb größtenteils über die Oberfläche statt, wodurch Moose einen großen Teil der Schmutzbelastung akkumulieren (Lichtfouse et al. 2013). Zusätzlich besitzen sie eine hohe Kationenaustauschkapazität zur Aufbewahrung und zum Transport vieler Elemente (Jorma 2015). Sie können durch diese Eigenschaften höhere Konzentrationen von Schwermetallen aufnehmen als die meisten Gefäßpflanzen. Dabei lassen sich Schwermetalle in der Zellwand und in vielen Zellorganellen nachweisen (Frahm 1998). Weitere Eigenschaften, welche Moose für Biomonitoring ideal machen, sind eine langsame Wachstumsrate, ein Vorkommen meist in Gruppen und nur kleine morphologische Änderungen über die Lebenszeit. Dabei lassen sich Schwermetallaufnahmen in den jährlich wachsenden Segmenten erkennen (Lichtfouse et al. 2013). Dies führt dazu, dass man mit der Sammlung eines Mooses die Deposition von Schwermetallen aus mehreren Jahren erfassen

kann (Zechmeister 1994). Ein besonders großer Vorteil ist auch, dass das Biomonitoring mittels Moosen deutlich günstiger ist, als konventionelle Verfahren (Frahm 1998).

3.2.2. Aktuelle Situation des Moosmonitorings

Wie bereits erwähnt, gibt es in Europa seit 1990 in fünf-Jahres-Intervallen Messungen mit Moosen um die Schwermetalldeposition aus der Luft zu messen. Seit 2005 wird mit ihnen auch die Deposition von Stickstoff gemessen. In den Jahren 2010/2011 wurden an 4.500 Standorten Messungen für die Schwermetallbelastung genommen. Für die Auswertung wurden vor allem die Moose *Pleurozium schreberi* und *Hylocomium splendens* verwendet. Weiters wurden aber auch die Moose *Hypnum cupressiforme* und *Pseudoscleropodium purum* genutzt. Andere Moose wurden zwar auch verwendet um verschiedene Habitate abzudecken, machten aber weniger als 10 % der gesammelten Proben aus. Generell war die Deposition von Schwermetallen im Nordeuropa am geringsten und in Südosteuropa am höchsten. Europaweit haben die Konzentrationen von Blei (77 %), Vanadium (57 %), Eisen (52 %) und Cadmium (51 %) am stärksten abgenommen, während die Kupferkonzentration nur um 11 % sank. Der Cadmiumgehalt war in Nordwestskandinavien, Island und Westfrankreich am niedrigsten. Die höchsten Konzentrationen wurden in Rumänien, in der Slowakei, in Kroatien, der Ukraine und Belgien gemessen. Wie bei Cadmium waren die Kupfer Konzentrationen in Skandinavien am niedrigsten. Eine Ausnahme bildet dabei die Grenzregion im Norden zu Russland, denn dort gibt es stark verschmutzende Kupfer-Nickelschmelzen. Ansonsten findet man die höchsten Kupferkonzentrationen in osteuropäischen Ländern wie Ukraine, Rumänien, Slowakei und Bulgarien. Gesamt gesehen ging der durchschnittliche Median der Kupferkonzentration seit 1990 um 11 % zurück. Die niedrigste Nickelkonzentration gab es, wie bereits bei Cadmium und Kupfer, in den skandinavischen Ländern, mit Ausnahme der Grenzregion zu Russland. Wie bei Cadmium und Kupfer, findet man die höchsten Konzentrationen in Südosteuropa. Gesamt gesehen ging der durchschnittliche Median der Nickelkonzentration seit 1990 um 12 % zurück (Harmens et al. 2013).

Auch in Österreich gingen seit den ersten Messungen die Schwermetallemission zurück. Besonders um die 1990er Jahre kam es durch gesetzliche Beschränkungen und Verbote, insbesondere bei Cadmium, Blei und Quecksilber, zu einem starken Rückgang. Auch wenn es insgesamt gesehen im Vergleich zu 1995 einen Rückgang der Belastung gab, haben seit 2010

bestimmte Elemente (Co, Fe, Al) wieder zugenommen. Wenn man international die Gebiete mit den gemessenen Höchstwerten vergleicht, liegen manche österreichischen Höchstwerte im europäischen Vergleich an der Spitze und die Schwermetallbelastung steigt in diesen Gebieten teilweise trotz dieses Wissens weiter. Besonders stark von Schwermetall belastet sind in Österreich die Region um die Industriestandorte Treibach/Althofen, Reutte, Leoben und Bad Sauerbrunn.

Auch für Cadmium waren zwar bei der Probensammlung von 2015, die durchschnittlichen Belastungswerte in Österreich signifikant geringer als 1995, die gemessenen Höchstwerte blieben jedoch konstant. Höher belastete Gebiete waren, wie schon bei den Messungen davor, das Unterinntal, die Region um Bad Sauerbrunn und Zöbelboden. Bei letzterem stammen die Einträge vermutlich aus dem Ferntransport. Die Kupferkonzentration war ebenfalls auffällig hoch im unteren Inntal. Alle Standorte in dieser Region hatten Werte die weit über dem nationalen Durchschnitt liegen. Auch im Nordosten Österreichs gab es höhere Konzentrationen, welche auf die kupferhaltigen Pestizide zurückzuführen sind, die im Weinbau benutzt werden. Die erhöhten Werte im Alpenvorland sind wahrscheinlich auf die Schweinemast der dortigen Region zurückzuführen. Insgesamt geht die Kupferkonzentration jedoch zurück. Der Nickelwert ging österreichweit ebenfalls zurück, auch wenn bekannte Standorte wie Treibach/Althofen, Leoben und Baden Sauerbrunn noch immer deutlich über dem Durchschnitt liegen.

Bei all diesen Messungen handelt es sich um das weitverbreitete passive Biomonitoring (Zechmeister 2016). Das passive Biomonitoring hat jedoch den Nachteil, dass keine Messungen in Städten durchgeführt werden können, da dort deutlich seltener Moose wachsen. Wie bereits in der Einführung erwähnt, ist dafür die Moos-bag-Methode deutlich besser geeignet. Sie hat außerdem den Vorteil, dass die Expositionsdauer genau bekannt ist und kontrolliert werden kann. Weiters kennt man bei dieser Methode auch die genaue Vorgeschichte des Moores und welchen Depositionen die Pflanze davor ausgesetzt war. Weitere positive Faktoren sind, die Flexibilität bei der Standortauswahl und die Möglichkeit mehrere Arten zu testen. Ein Nachteil der Moos-bag-Methode ist, dass die Moose zur Austrocknung neigen und die Aufnahme von Metallen abhängig von den Begebenheiten der Umwelt ist. Außerdem ist wenig darüber bekannt, wie mehrere Schwermetalle gleichzeitig wirken und wie deren Wechselwirkung sind. Diese Faktoren sind im städtischen Bereich von

größerer Relevanz als in der Natur. Damit die Wirkungen von einzelnen Metallen auf die Biomonitoringpflanzen getestet werden können, müssen also Studien im Labor durchgeführt werden. Dadurch können gezielt bestimmte Konzentrationen von einzelnen Schwermetallen auf Pflanzen untersucht werden (Aničić et al. 2009; Sassmann et al. 2015a).

Im Review von Aboal et al. (2010) wird die Moosmonitoring-Methode kritisch gesehen. In dem Review gibt es drei Punkte, welche die Autoren am gegenwärtige Moosmonitoring bemängeln. Zum einen gibt es keine signifikante Korrelationen zwischen den Schadstoffkonzentrationen in Moosen und dem Großteil der Freilanddeposition. Eine signifikante Korrelation gab es nur in 40,1 % der beobachteten Fälle. Weiters identifizierten sie einige methodenbedingte Probleme wie zu kleine Stichprobengrößen, Eliminierung einiger Daten aus den Regressionsanalysen, große Abstände zwischen den Probeentnahmestellen der Moose und Unterschiede in den Expositionszeiten der Moosproben, sodass die Ergebnisse der Studien möglicherweise nicht vollständig gültig sind. Als letzten Punkt verwiesen sie darauf, dass in der einschlägigen Literatur nachgewiesen wurde, dass die Ablagerungen im Moos nicht die atmosphärische Deposition widerspiegeln. Weiters wird in der Literatur darüber diskutiert, wieso die Freilanddeposition nicht unbedingt mit der Konzentration in Organismen korreliert. Gründe dafür sind das Vorhandensein verschiedener Kontaminationsquellen mit unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften und die biologischen Prozesse im Organismus selbst. In Anbetracht dessen kommen die Autoren zu dem Schluss, dass, mit Ausnahme bestimmter Elemente, wie zum Beispiel Blei und Cadmium, die Schwermetallanreicherung in Moosen nicht die genaue atmosphärische Deposition von Schwermetallen in der Umwelt widerspiegelt. Dennoch räumen die Autoren ein, dass das Moosmonitoring zumindest Aufschluss darüber gibt, ob es eine Verunreinigung der Umwelt gibt. Weiters zeichnet das Moosmonitoring für sie auch ein grobes Bild über die zeitliche und räumliche Komponente der Belastung, weshalb laut ihnen diese Methode auch weiterhin durchgeführt werden sollte, aber eher als Ergänzung zu konventionellen Analysemethoden (Aboal et al. 2010). Ebenfalls Kritik zur Moos-bag-Methode in Europa gab es in der Studie von Gombert et al. (2004). Die Autoren kritisieren vor allem die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Studien. Denn es wurden in Europa einerseits verschiedene analytischen Methoden (AAS, ICP-AES, ICP-MS) zur Auswertung benutzt, aber auch insgesamt 25 verschiedene Moosarten verwendet. Das

schränkt die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien ein, denn die Akkumulationsmenge ist bei den verschiedenen Moosen unterschiedlich (Gombert et al. 2004). Dies kann durch unterschiedlichen morphologischen Aufbau und Wachstum erklärt werden. Kleine Moose bilden kleine Konglomerate und können durch ihre Blätterpolster besser Metalle binden. Weiters besitzen die verschiedenen Moose unterschiedliche Membranzusammensetzungen mit unterschiedlicher Kationenaustauschkapazität (González und Pokrovsky 2014). Dies verdeutlicht die Notwendigkeit von Laboruntersuchungen an einzelnen Moosen um die Akkumulationseigenschaften der einzelnen Moose besser zu verstehen und damit auch die Ergebnisse besser vergleichbar zu machen. Die meisten Autoren sind sich darüber einig, dass das Moosmonitoring durch die große Verbreitung der Moose, durch die große Anzahl an wissenschaftlichen Artikeln und die Kostengünstigkeit bis jetzt die effizienteste Methode ist, um große Gebiete auf ihre Schadstoffbelastung zu kontrollieren. Denn nur dadurch lässt sich erst überprüfen, ob die Reduktion der Emissionen auch zu einer Verringerung der Schadstoffdeposition führt (Kratz und Schröder 2009; Harmens et al. 2013; Aničić et al. 2009; Stanković et al. 2018). Trotz des Zuspruchs für das Moosmonitoring wurden in Österreich aus Kostengründen die Probeentnahmepunkte von 220 auf 75 verringert (Zechmeister 2016).

3.3. Moose

3.3.1. Allgemeine Informationen zu Moosen

Unter Moosen versteht man drei Gruppen kleiner, krautiger Pflanzentaxa. Diese sind Hornmoose (Klasse der Anthocerophytina), Lebermoose (Klasse der Marchantiophytina) und Laubmoose (Klasse der Bryophytina). Molekularbiologische Untersuchungen haben aber gezeigt, dass diese drei Gruppen keine monophyletische Gruppe darstellen, sondern eine paraphyletische (Campbell et al. 2011). Frahm (2018) unterteilt die Lebermoose zusätzlich in die Klasse der Marchantiopsida und die Klasse der Jungermanniopsida. Er räumt weiters ein, dass bei der Einteilung der Moose morphologische und anatomische Untersuchungen nicht eindeutig sind. Weiters sind auch die molekularen Ergebnisse widersprüchlich. Vergleicht man den Bau des Sporophyten und die Organisation des Gametophyten, so gibt es auch große Unterschiede innerhalb der Moosgruppen, welche eine weitere Auftrennung der Gruppen rechtfertigen würde. Wie bei allen Organismen ist die Klassifikation nicht statisch,

sondern ständig im Wandel und wird sich durch neue Forschungsergebnisse weiter verändern (Frahm 2018).

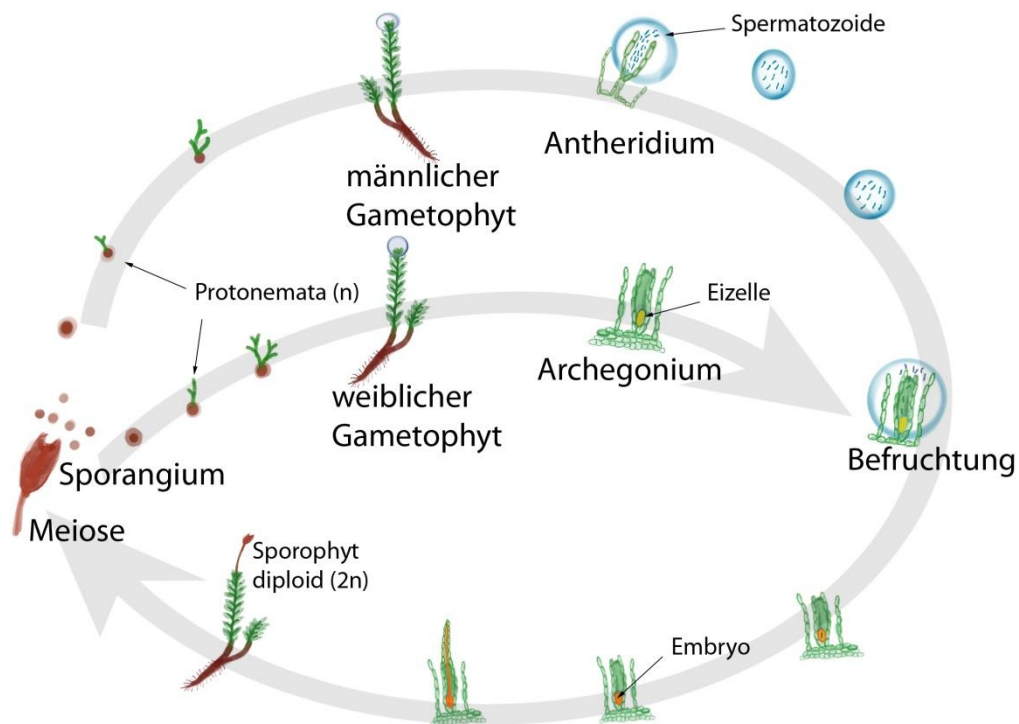


Abb.1: Mooszyklus (Campbell et al. 2011)

Alle Moose verbindet ein dominanter Gametophyt. Dieser ist deutlich größer als der Sporophyt und lebt länger. Wenn Sporen eines Mooses in ein geeignetes Habitat mit genügend Wasser gelangen, keimen sie aus und bilden ein haploides Protonema. Protonemata sind verzweigte Zellfäden, welche gut Wasser und Nährstoffe aufnehmen. Aus diesem Protonema können sich dann bei geeigneten Bedingungen männliche oder weibliche Gametophyten bilden (Campbell et al. 2011). Der Gametophyt ist bei den Hornmoosen und manchen Lebermoosen lappig. Bei den meisten Lebermoosen und allen Laubmoosen ist er beblättert. Bei den letzten beiden ist der Gametophyt in Blättchen (Phylloide), Stämmchen (Cauloide) und wurzelartige Strukturen (Rhizoide) unterteilt. Dabei ist zu beachten, dass diese Organe nicht mit den Strukturen der höheren Pflanzen gleichzusetzen sind. Blätter, Stamm und Wurzeln sind bei den Kormophyten Organe des Sporophyten und damit des diploiden Stadiums (Frahm 2018). Der Gametophyt bildet bei Moosen Gametangien, welche die Gameten hervorbringen und mit einem Gewebe schützen. Dabei kann ein Gametophyt

mehrere Gametangien bilden. Eine einzelne Eizelle entsteht dabei in einem Archegonium. Im Vergleich dazu können viele Spermatozoide von einem Antheridium gebildet werden. Manche Moose sind zweigeschlechtlich, so liegen bei den Laubmoosen Archegonien und Antheridien meist getrennt auf unterschiedlichen Gametophyten. Die Befruchtung der Eizelle über die Spermatozoide kann nur in Anwesenheit von Wasser passieren. Spermatozoide besitzen Geißeln, mit welchen sie durch das Wasser schwimmen können. Sie werden durch chemische Stoffe zur Eizelle gelockt. Die Zygote entwickelt sich dann im Archegonium zum Embryo und wird durch Transferzellen des Gametophyten mit Nährstoffen versorgt. Der Embryo entwickelt sich dann zum reifen Sporophyt. Dieser bleibt, obwohl er auch selbst Photosynthese betreiben kann am mütterlichen Gametophyt. Moose haben von allen lebenden Pflanzen den kleinsten und einfachsten Sporophyt. Erst im Verlauf der Evolution haben sich bei anderen Pflanzen größere und komplexere Sporophyten gebildet (Campbell et al. 2011). Bei Hornmoosen ist der Sporophyt schotenförmig. Bei den Laub- und Lebermoosen besteht der ausgewachsene Sporophyt aus einem Stiel (Seta) und einer Sporenkapsel (Sporangium). Innerhalb des Sporangiums werden Archesporen gebildet, welche durch Meiose zu Meiosporen werden. Diese sind dann die Sporen, welche durch verschiedene Mechanismen in die Umwelt gelangen und neue Protonemata bilden und damit neue Moospflanzen (Frahm 2018). Viele Moosarten können sich auch ungeschlechtlich fortpflanzen. So können zum Beispiel manche Laubmoose Brutkörper bilden, welche sich von der Mutterpflanze lösen. Die Moose, die sich daraus bilden, sind dann Kopien der Mutterpflanze (Campbell et al. 2011).

Die Gametophyten der Moose bilden in der Regel dichte Teppiche. Durch ihren dünnen und ungestützten Pflanzenkörper fehlt es ihnen an Festigkeit für einen hohen Wuchs. Zusätzlich wird die Wuchshöhe der meisten Bryophyten durch ein fehlendes Leitgewebe eingeschränkt. Moose gelangen direkt über ihre Oberfläche an Nährstoffe und Wasser. Dünne Zellschichten erlauben es, gelöste Substanzen auch ohne Leitgewebe zu verteilen. Bei manchen Moosen hat sich eine Art Leitgewebe parallel zum Leitgewebe der Gefäßpflanzen gebildet (Campbell et al. 2011). Bei den Hornmoosen können Leitgewebe beispielsweise nur in Form von einer Columella im Inneren des Sporophyten auftreten. Bei Lebermoosen können sie in Form von wasserleitenden Hydroiden auch im Gametophyten vorkommen. Auch bei den Laubmoosen kann es Hydroiden geben. Diese können sowohl in der Seta als auch im Gametophyten

auftreten, insbesondere bei den aufrecht wachsenden Arten. Bei den Polytrichidae gibt es zusätzlich noch Assimilat leitende Gewebe namens Leptoide (Frahm 2018).

Die Gametophyten sind durch Rhizoide im Boden verankert. Die Rhizoide der Leber- und Hornmoose bestehen aus einer einzigen langen Zelle. Die Rhizoide der Laubmoose bestehen im Gegensatz dazu aus mehreren fadenförmigen Zellen. Im Vergleich zu Wurzeln spielen Rhizoide nur eine geringe Rolle bei der Aufnahme von Nährstoffen und Wasser (Campbell et al. 2011). Durch ihren geringen Wuchs können sich Moose nur schwer gegen höhere Pflanzen durchsetzen, weshalb sie vor allem ökologische Nischen besetzen (Wirth und Düll 2000).

3.3.2. Verwendete Moose

3.3.2.1. *Physcomitrella patens*

Physcomitrella patens ist ein Modellorganismus. Durch seine effiziente homologe Rekombination ist gezielte Genmodifikation an der Pflanze möglich. Dies ermöglicht es, Funktionen von Genen zu erforschen (Prigge und Bezanilla 2010). Die Pflanze war auch das erste Moos, welches vollständig sequenziert wurde. Durch genetische Vergleiche mit aquatischen Algen und vaskulären Pflanzen, war eine Rekonstruktion der genetischen Veränderungen, welche die Besiedelung des Landes für Pflanzen mit sich brachte, möglich (Rensing et al. 2008).

P. patens wächst auf verschlammten oder tonigen Böden, insbesondere an abgelassenen Teichen und abgefallenen Flussufern. Die Pflanze kommt in Eurasien und Nordamerika vor. Die Art ist bis zu 5 mm hoch und wächst in lockeren Herden. Die oberen Blätter sind vergrößert, breit lanzettlich und am Rand stumpf gezähnt. Die Blattrippe endet kurz unterhalb der Blattspitze. Das Moos ist kleistokarp (Frahm et al. 2004). Das bedeutet, dass die Kapsel keinen abgegliederten Deckel hat. Dadurch können die Sporen erst durch den Zerfall des umschließenden Gewebes frei gesetzt werden (Schubert und Wagner 1993). Die Kapsel ist kugelig, mit kurzem Spitzchen und sitzt auf einer kurzen Seta und ist von Blättchen umschlossen (Frahm et al. 2004).

3.3.2.2. *Pleurozium schreberi*

Pleurozium schreberi ist in hell- bis dunkel-, oder bräunlich-grünen, glänzenden Decken zu finden (Wirth und Düll 2000). Die Stämmchen sind regelmäßig gefiedert und bis zu 15 cm lang (Frahm et al. 2004), die Blättchen 2 mm lang eiförmig, stumpflich und schwach faltig. Sie besitzen fast keine Rippe und liegen bei Feuchtigkeit locker und bei Trockenheit eng an. Der Stängel scheint rotbraun durch die Blätter durch. Die horizontale Kapsel sitzt auf einer langen Seta. Verbreitet ist das Moos in der nördlichen Hemisphäre und in Südamerika auf sauren, trockenen bis feuchten Wald-, Heide- und Moorböden (Wirth und Düll 2000). *P. schreberi*, dient auch als Bioindikator um die Verschmutzung der Umwelt durch Schwermetalle zu überprüfen (Kosior et al. 2008).

3.3.2.3. *Pohlia drummondii*

Die Blätter von *Pohlia drummondii* sind lanzettlich, flachrandig mit einer Rippe, die bis zur gezähnten Blattspitze reicht. Sie haben eine Bulbille (Brutkörper) pro Blattachsel (Frahm et al. 2004). Die Stämmchen und die Bulbillen sind rötlich (Buback 2014). Wie alle *Pohlia* Arten bevorzugt das Moos offene, feuchte Sandböden. Das Verbreitungsgebiet reicht von Nordamerika über Mittel- und Nordeuropa bis nach Asien (Frahm et al. 2004). *P. drummondii* kann dabei auch auf metallreichen Böden wachsen. Durch die Metalltoleranz und die Fähigkeit auch in stärker belichteten Gebieten zu überleben, kann die Pflanze ein breites Spektrum an Habitaten kolonisieren (Adlassnig et al. 2016). Das verwendete Moos für die Versuche wurde auf der Schwarzwand in Salzburg gesammelt.

3.3.2.4. *Plagiomnium affine*

Die Pflanze wird bis zu 10 cm lang und ist niederliegend oder herabgekrümmt. Die Blätter sind rundlich oder eiförmig und besitzen eine Rippe, welche bis zur Blattspitze gehen kann. Die Blattbasis ist schmal und kurz herablaufend. Die sterilen Pflanzenteile sind am Substrat angedrückt. Das Moos wächst auf feuchtschattigen Waldböden, an Böschungen, Wegrändern und auf Felsen, welche bereits leicht vererdet sind. An günstigen Standorten ist es weitverbreitet und häufig (Frahm et al. 2004). *P. affine* ist in Nordeuropa beheimatet (Cronberg et al. 2013).

3.3.2.5. *Mielichhoferia elongata*

M. elongata wird bis zu 15mm groß und formt dicht bewachsene Rasen. Die ovalen, leicht glänzenden, überlappenden Blätter haben ein dickes Nervenende unterhalb der fein gezahnten Blattspitze. Es ist eines der sogenannten Kupfermoose oder Metallophyten, die in stark sauren Lithosolen mit hohen Konzentrationen sowohl von Schwermetallsulfiden, als auch von seltenen Erden auftreten. Die Zellwand ist sehr wirksam bei der Immobilisierung von Schwermetallionen und ist der Hauptmechanismus für die Schwermetalltoleranz. Das Moos hat ein weitläufiges aber sehr zerstreutes Habitat. Das Verbreitungsgebiet erstreckt sich über Teile von Eurasien und Nordamerika (Porley 2013). Das verwendete Moos für die Versuche wurde auf der Schwarzwand in Salzburg gesammelt.

4. Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit ist es, zu untersuchen, wie sich die Metalllösungen Cadmiumsulfat, Nickelsulfat und Kupfersulfat auf die Moose *Mielichhoferia elongata*, *Plagiomnium affine*, *Pohlia drummondii*, *Pleurozium schreberi* und *Physcomitrella patens* auswirken und welche Rolle die Rhizoide bei der Aufnahme und Akkumulierung von Schwermetallen spielen. Durch die Plasmolyse und das Beobachten der Zellorganellen soll die Vitalität der Pflanzen und deren Zellen untersucht werden. Anschließend sollen die Ergebnisse der verschiedenen Moose und Metalllösungen verglichen werden. Durch das Auswerten der Ergebnisse sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Wie wirken sich welche Schwermetalllösungen auf die unterschiedlichen Moose und ihre Zellen aus - gibt es Unterschiede in der Toxizität?
2. Sind Biomonitoring Moose und Indikator Moose, toleranter gegenüber Kupfersulfat, Nickelsulfat und Cadmiumsulfat als andere Moose?
3. Ändert die Isolierung der Rhizoide die Toleranzgrenze gegenüber Schwermetallen bei *P. drummondii*, *M. elongata* und *P. patens*?

5. Material und Methoden

5.1. Vorbereitung der Moose

Die untersuchten Moose *Physcomitrella patens*, *Pohlia drummondii* und *Mielichhoferia elongata* wurden in Sterilkulturen gezüchtet. *Pleurozium schreberi* und *Plagiomnium affine* kamen aus Kärnten. Alle verwendeten Moose wurden vom Core Facility Cell Imaging and Ultrastructure Research (CIUS) der Universität Wien bereitgestellt. Mit den ersten drei Moosproben wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt. Beim ersten Mal blieben die Rhizoide unbehandelt und beim zweiten Versuch wurde die Rhizoide mit Wachs versiegelt. Dafür wurde das Rhizoid des Mooses in geschmolzenes Fett gedippt (Abb. 3.). Die Moose aus der Umwelt mussten vor der Verwendung zurechtgeschnitten werden, da sie bereits einen hohen Wuchs hatten. Aus diesem Grund kamen sie für das Isolieren der Rhizoide nicht in Frage und es wurde nur eine Versuchsreihe durchgeführt. Damit die Metalllösung nicht durch die Schnittstellen in die Pflanze eindringen konnte, wurden diese mit Wachs versiegelt.

Abb.2. *P. patens* mit freiem Rhizoid

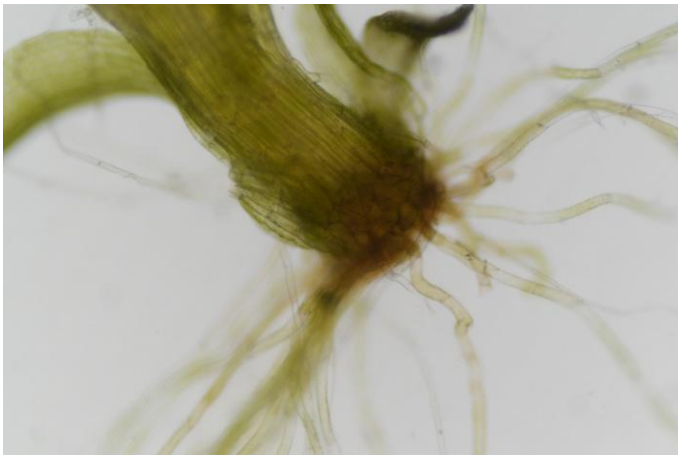
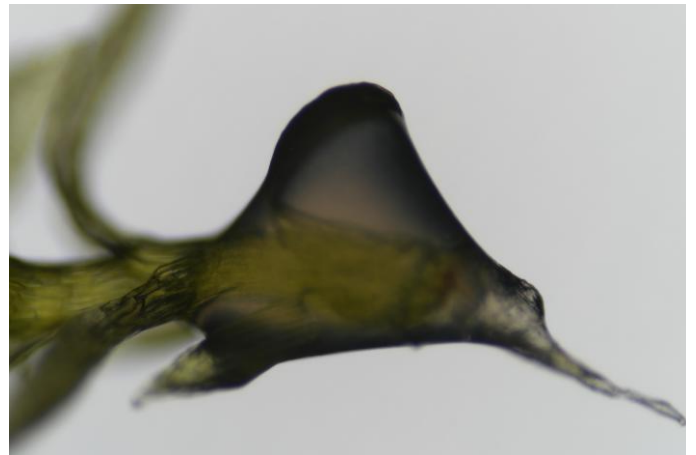


Abb.3. *P. patens* mit isoliertem Rhizoid



5.2. Behandlung der Moose mit Schwermetallen

Die Behandlung der Moose mit den flüssigen Schwermetallen CdSO_4 , CuSO_4 und NiSO_4 fand in einer 96-well Mikrotiterplatte statt und wurde mit Konzentrationen von 0,001mM bis 100mM durchgeführt. Bei jedem Moos gab es zu jedem Metall eine Kontrollgruppe. Die Moose wurden zunächst in die verschiedenen Konzentrationen der Metalllösungen eingelegt. Bis auf *P. affine* waren alle Moose sehr dicht beblättert, weshalb sich viele Luftbläschen zwischen den Blättchen und den Stämmchen sammelten. Durch die Luftblasen trieben die Proben auf der Oberfläche der Flüssigkeiten. Um die Luftbläschen zu beseitigen wurde die Mikrotiterplatte in einem Exsikkator behandelt. Dieser beseitigte durch das erzeugte Vakuum viele der Luftbläschen in den Proben. Die übrigen Luftbläschen wurden mit Seziernadeln durch Anheben der Blättchen und weitere Feinarbeit aus der Moospflanze entfernt. Nachdem die Proben vollständig von Flüssigkeit bedeckt waren, kam die Mikrotiterplatte mit einem feuchten Küchenrolle in eine Keimschale. Nach circa 48 Stunden wurden die Proben für die Plasmolyse vorbereitet, eingelegt und anschließend ausgewertet.

5.3. Behandlung für die Plasmolysereaktion

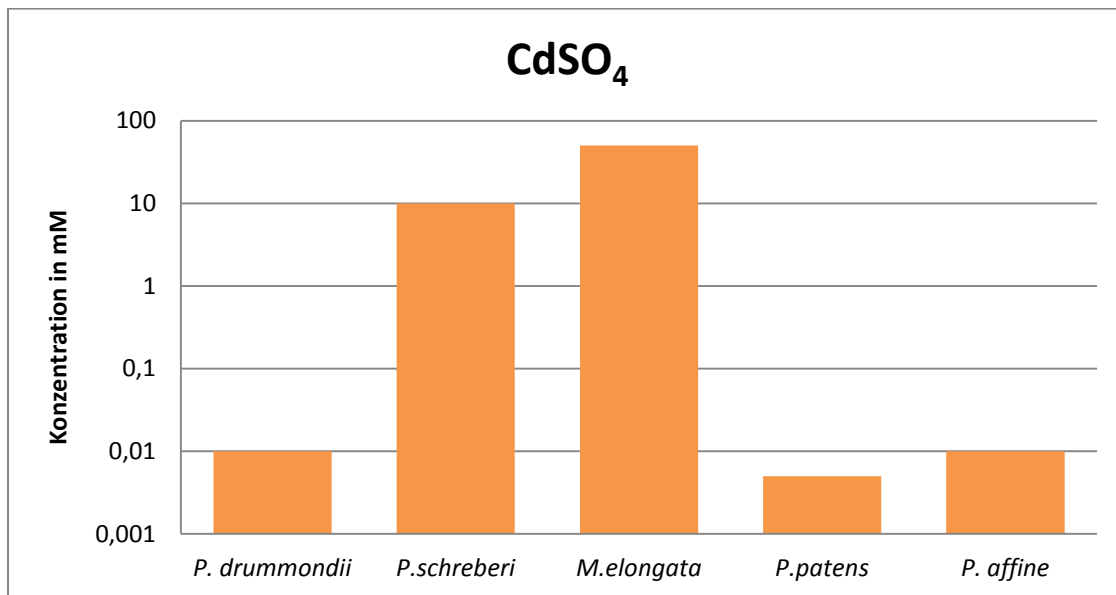
Unter normalen Bedingungen kann die Pflanze Wasser aus der Umgebung aufnehmen. Das ist möglich, weil die Vakuolenflüssigkeit in der Zelle durch gelöste Stoffe einen höheren osmotischen Wert hat, als das Wasser der Umwelt. Durch das Ansaugen von Flüssigkeit aus der Außenwelt in die Vakuole, drückt sich diese gegen die Zellwand und sorgt durch ihren Turgordruck für Stabilität. Hat die Umgebung aber eine höhere Konzentration an gelösten Stoffen als die Vakuole, verliert diese Wasser und schrumpft, wobei die Zellwand aber stabil bleibt (Reißer et al. 2016). Nur lebende Zellen besitzen die Fähigkeit zur Plasmolyse (Sassmann et al. 2010), denn tote Zellen haben eine zerstörte Biomembran und können deshalb keine Plasmolysereaktion zeigen (Kutschera 2019). Um zu erkennen, ob und wie stark die Metalllösung die verwendeten Moose angegriffen hatte, wurden die Proben für 30 Minuten in eine 0,8 molare Manitol-Lösung eingelegt. Durch die Zuckerlösung plasmolysierten die noch lebenden Zellen in den Pflanzen.

5.4. Auswertung

Die Auswertung der Zellen fand unter dem Mikroskop Olympus BX41 statt. Dieses besitzt Okulare mit einer zehnfach Vergrößerung. Die Objektive besaßen Maßstabszahlen und numerischen Aperturen von 4x/0.10, 10x/0.25, 20x/0.40, 40x/0.65, 40x/1.00 und 100x/1.25. Die letzten zwei waren Ölimmersionsobjektive. Das Mikroskop war über eine Kamera mit dem PC verbunden, um Fotos machen zu können. Um die Zellviabilität zu beurteilen, wurde die Fähigkeit zur Plasmolyse überprüft. Zusätzlich wurde der Zustand der Zellen und der Zellorganellen im Allgemeinen überprüft. Dabei konnten insbesondere Schädigungen an den Chloroplasten gut beobachtet werden.

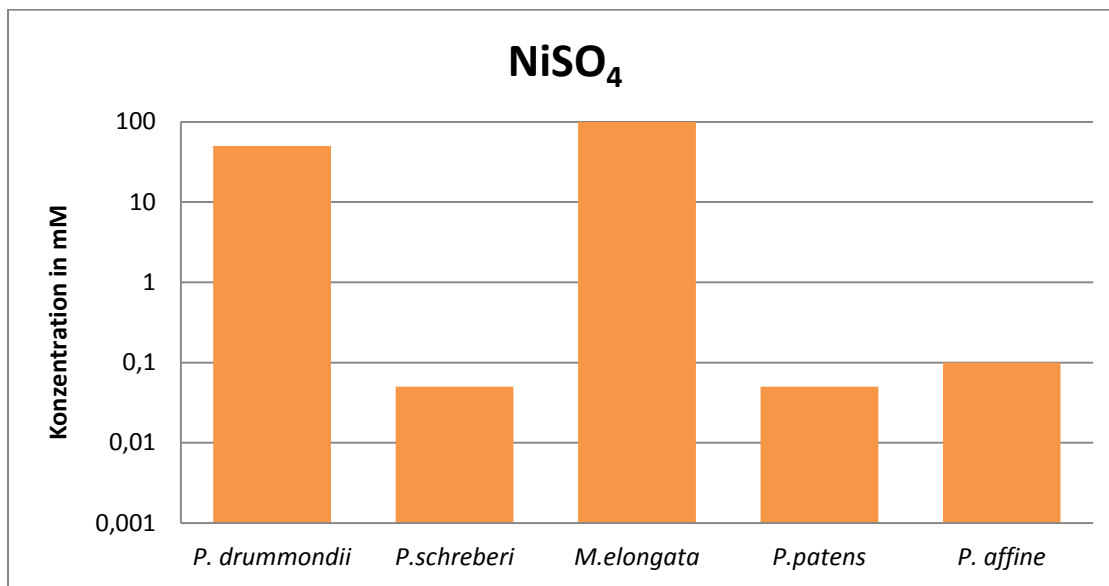
6. Ergebnisse

6.1. Cadmium



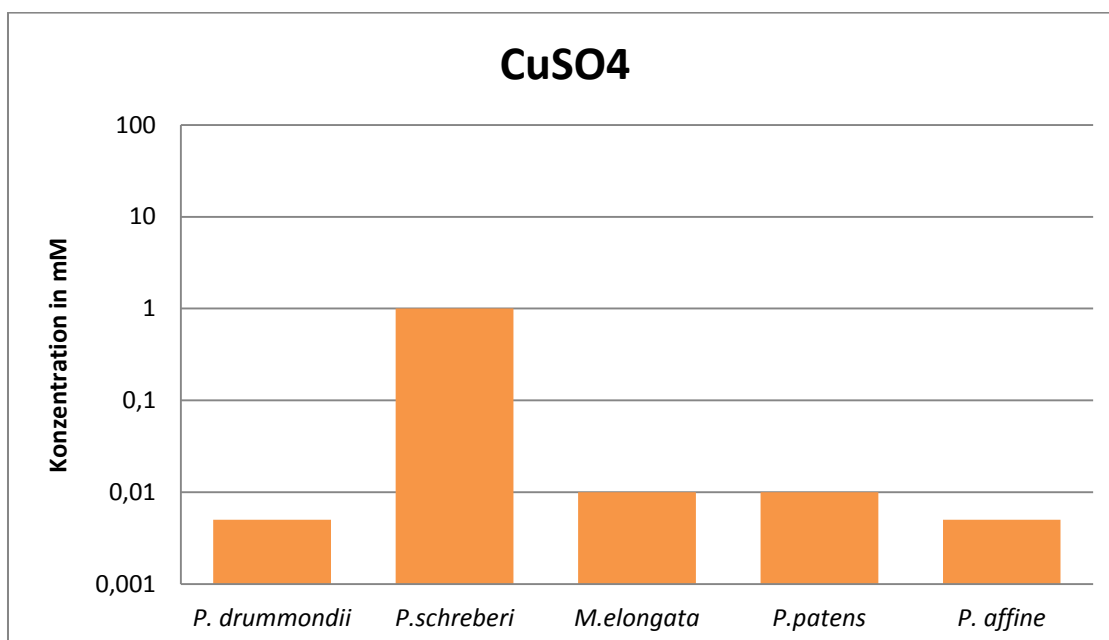
Am tolerantesten gegen Cadmiumsulfat waren in der Auswertung das Kupfermoos *M. elongata* und das Biomonitoringmoos *P. schreberi*. Die Moose *P. patens* und *P. affine*, welche nicht als Schwermetallmoose gelten, vertrugen, wie *P. drummondii*, das für Biomonitoring verwendet wird, deutlich weniger Cadmiumsulfat.

6.2. Nickel



Von den getesteten Schwermetalllösungen war Nickelsulfat das Schwermetall mit der geringsten Toxizität für die getesteten Moose. Besonders die Moose *P. drummondii* und *M. elongata*, tolerierten hohe Konzentrationen von Nickelsulfat.

6.3. Kupfer



Kupfersulfat wirkte für fast alle getesteten Moose bereits in sehr geringen Mengen toxisch, obwohl Kupfer zu den essentiellen Schwermetallen gehört. Auch die Moose *P. drummondii* und *M. elongata*, welche auf kupferhaltigen Böden wachsen, vertrugen nur wenig von der

Kupferlösung. Ausschließlich das Biomonitoringmoos *P. schreberi* überlebte deutlich höhere Konzentrationen an Kupfersulfat.

6.4. *Pohlia drummondii*

Die Pflanze wuchs in Polstern in Petrischalen. Die tiefer liegenden Blätter, welche von höher wüchsigen überdeckt waren, hatten wenig bis keine Chloroplasten. Diese Blätter wurden bei der Auswertung nicht beachtet, denn ohne Chloroplasten ist die Vitalität durch Beobachtung von Plasmolyse schwer erkennbar.

Cadmiumsulfat war bereits in geringen Dosen toxisch und führte bereits bei der Konzentration von 0,01 mM teilweise zu einer Verformung und bräunlichen Verfärbung der Chloroplasten. Bei höheren Konzentrationen von Cadmiumsulfat verloren die Chloroplasten ihre Form noch stärker, wurden asymmetrisch und verloren ihre Farbe komplett. Auch die Plasmolyse trat nach einer Konzentration von 0,1 mM nur noch vereinzelt auf (Abb. 3).

Nickelsulfat war für *P. drummondii* erst ab einer Konzentration von 100 mM toxisch. Auch bei dieser hohen Konzentration behielten die Chloroplasten in circa der Hälfte der Blätter ihre Form und die Zellen waren zur Plasmolyse fähig (Abb. 7.). In der anderen Hälfte führte das Schwermetall zur Veränderung der Chloroplasten und es kam nur noch in vereinzelter Zellen zu Plasmolyse (Abb. 6). Alle niedrigeren Konzentrationen führten zu keinen unter dem Mikroskop sichtbaren Veränderungen der Pflanze. In den Vorversuchen kam es zu einem Bruch in der Spitze des Mooses in der 100 mM Lösung. Bei dieser Pflanze konnte die Schwermetalllösung ungehindert in das Stämmchen eindringen, welches sich dadurch rot verfärbte (Abb. 8.).

Obwohl *P. drummondii* ein Moos ist, welches auf Kupferstandorten gut wächst (Antreich et al. 2016), war es in den Toleranztests dennoch anfällig gegenüber Kupfersulfat. Dabei färbten sich vor allem die Zellwände rötlichbraun. Verfärbungen traten verstärkt an der Blattbasis und am Stämmchen an der Blattbasis auf. Ab einer Konzentration von 0,001 mM verformten sich Chloroplasten und verloren ihre Farbe und es kam nicht in allen Zellen zur Plasmolyse. Bei 1 mM verloren die Blätter vollkommen ihre Farbe und die Zellwände färbten sich rötlichbraun (Abb. 9.).

Abb. 4. Kontrollprobe von *P. drummondii*

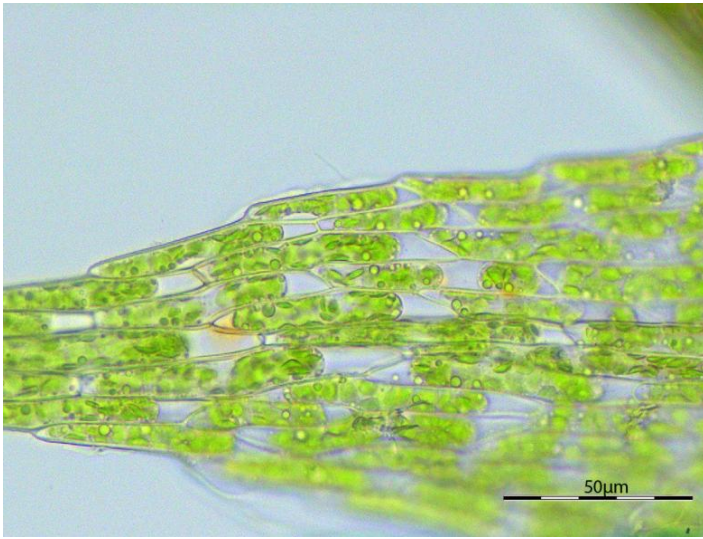


Abb.5. *P. drummondii* in 0,1 mM CdSO₄

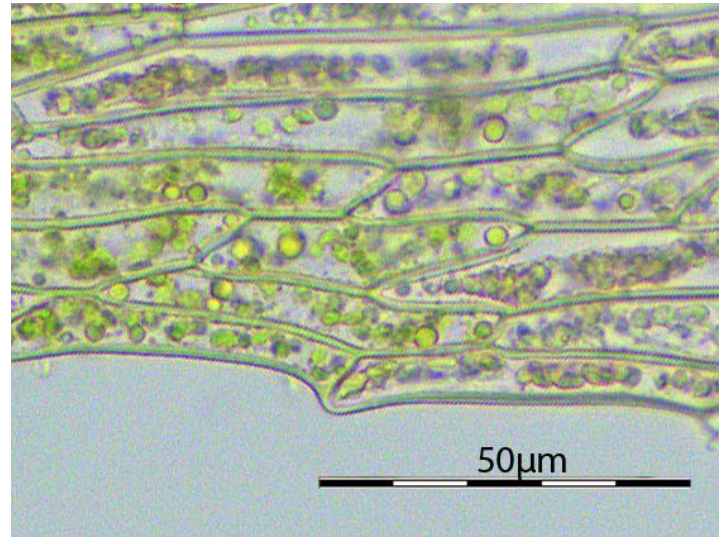


Abb.6. *P. drummondii* in 100 mM NiSO₄

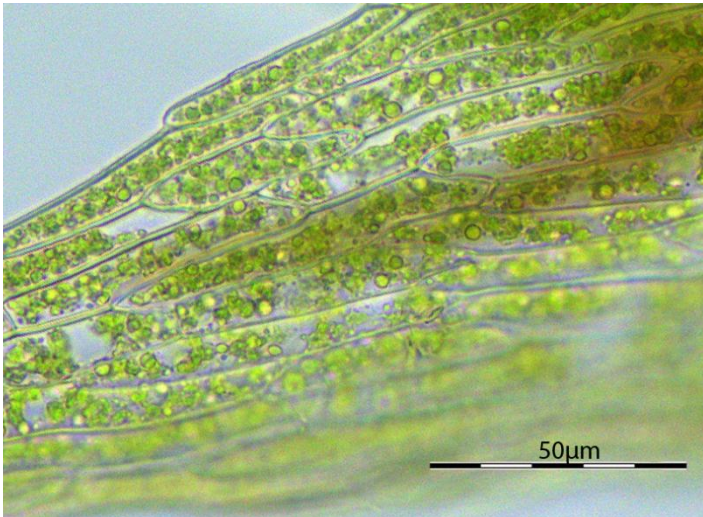


Abb.7. *P. drummondii* in 100 mM NiSO₄

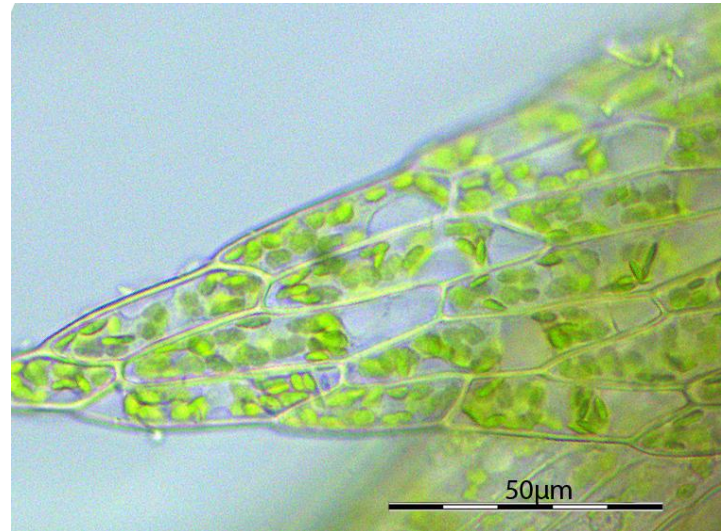


Abb.8. *P. drummondii* in 100 mM NiSO₄

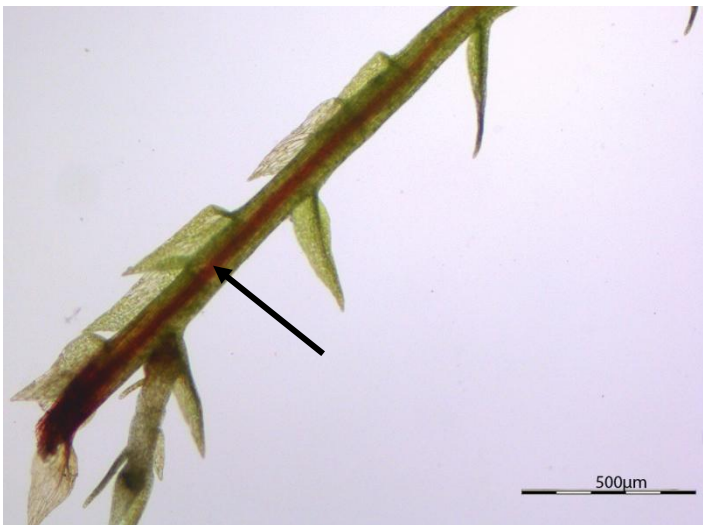
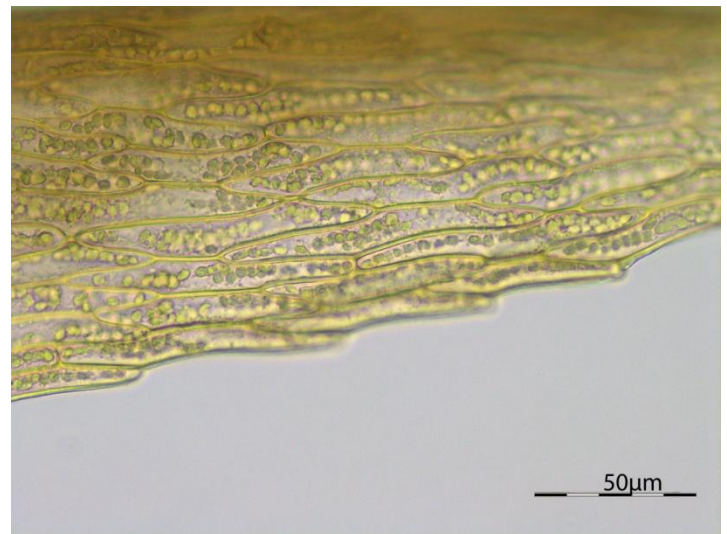


Abb.9. *P. drummondii* in 1 mM CuSO₄



6.5. *Pleurozium schreberi*

Pleurozium schreberi hat besonders schmale und langgezogene Zellen und die Plasmolyse war deutlich schlechter zu sehen, als bei den anderen Moosen. Auch dauerte es 15 Minuten länger bis die Plasmolyse sichtbar war, als bei den anderen Moosen.

Bei Cadmiumsulfat reagierte die Pflanze erst ab einer Konzentration von 1 mM auf die Schwermetalllösung. Teilweise verformten sich die Chloroplasten und verloren auch an Farbe. Die Zellen waren jedoch trotzdem zur Plasmolyse fähig. Bei einer Konzentration von 10mM war weiterhin der Großteil der Zellen intakt. Ab 100 mM kam es nur noch vereinzelt zur Plasmolyse und die Chloroplasten verloren ihre Form und Farbe (Abb. 11.).

Nickelsulfat wirkte sich bereits in geringeren Konzentrationen auf die Zellen aus. Es kam bereits bei einer Konzentration von 0,1 mM zu Verformung der Chloroplasten und in den höheren Konzentrationen kam es auch zu keiner Plasmolyse mehr (Abb. 13.). Bei der Konzentration von 100 mM verfärbten sich zusätzlich die Zellwände rotbräunlich.

Bei Kupfersulfat kam es erst ab einer Konzentration von 1mM zu einer sichtbaren Beeinflussung der Zellen, denn die Chloroplasten verloren an manchen Stellen ihre Farbe. Ab einer Konzentration von 10 mM kam es in der Pflanze zu keiner Plasmolyse mehr und der Großteil der Chloroplasten verlor ihre Farbe.

Abb.10. *P. schreberi* in 0,01 mM CdSO₄

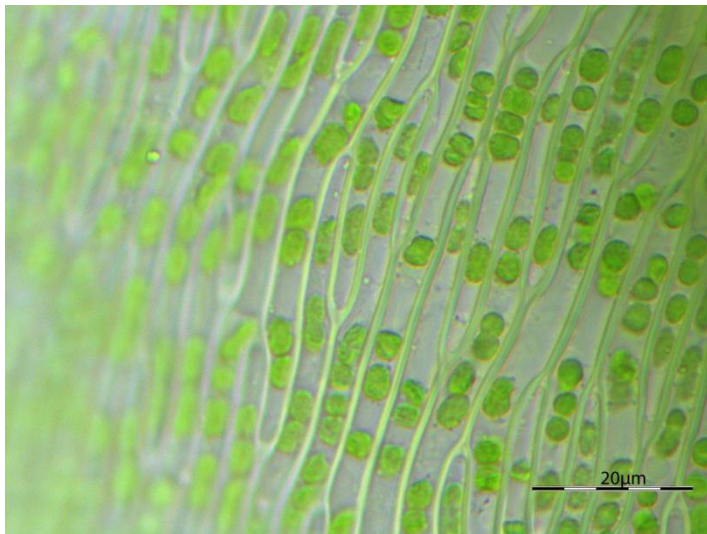


Abb.11. *P. schreberi* in 100 mM CdSO₄

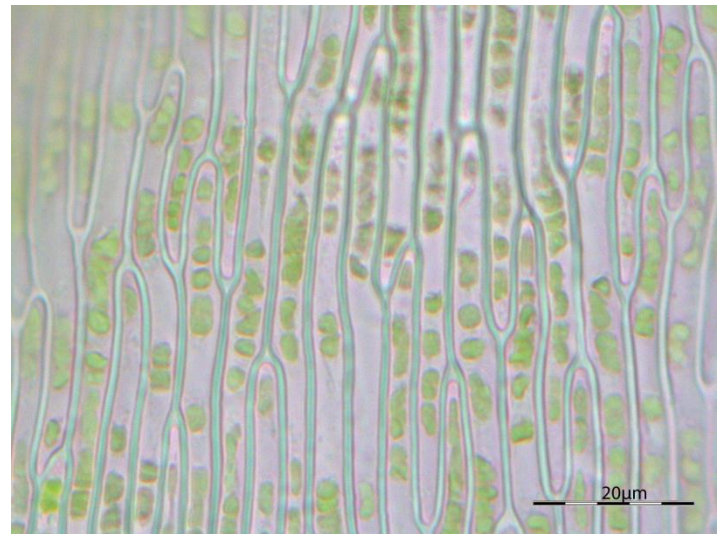


Abb.13. *P. schreberi* in 0,01 mM NiSO₄

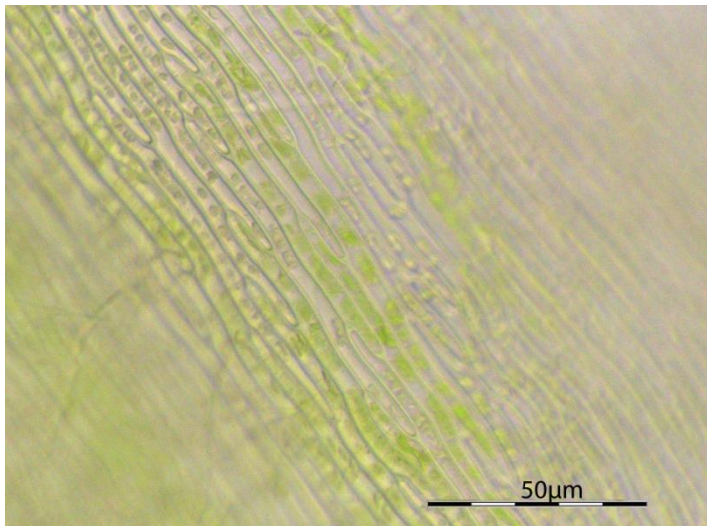
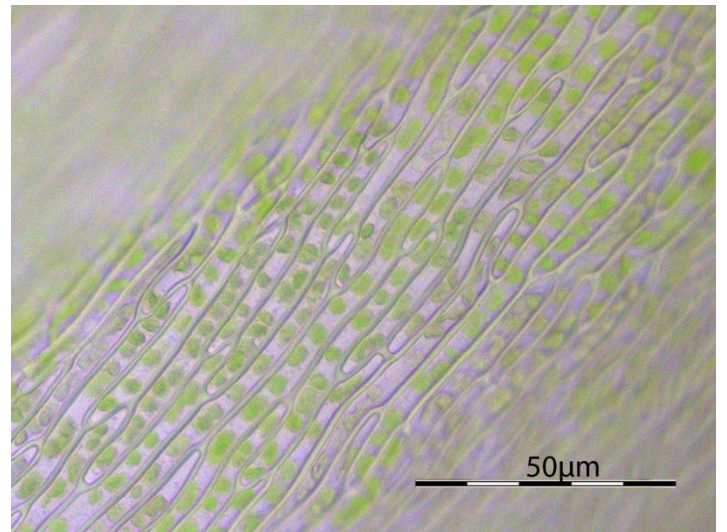


Abb.14. *P. schreberi* in 0,01 mM CuSO₄



6.6. *Mielichhoferia elongata*

Die Moosart überlebte die höchste Cadmiumsulfat Konzentration von den getesteten Moosen. An den Spitzen mancher Blätter waren Schäden durch die Schwermetalllösung an der Pflanze zu sehen. Dort fehlten ab einer Konzentration von 10 mM die Chloroplasten und es kam zu keiner Plasmolyse (Abb. 15.). Bei der höchsten Konzentration kam es jedoch im Großteil der Zellen zur Plasmolyse und auch die Chloroplasten blieben in den Zellen in Form (Abb. 16.).

Die Pflanze zeigte sich auch sehr tolerant gegenüber Nickelsulfat. Erst ab einer Konzentration von 10 mM waren die Chloroplasten in wenigen Zellen verformt (Abb. 17.). Auch bei der höchsten Konzentration war der Großteil der Zellen nicht sichtbar beschädigt (Abb. 18.).

Wie *P. drummondii* ist *M. elongata* ein Moos, welches auch auf Boden mit hohem Kupferanteil wächst. Trotzdem waren auch geringe Dosen von Kupfersulfat für die Pflanze toxisch. Bei einer Konzentration von 0,1 mM kam es bereits in manchen Zellen zu Verfärbungen der Zellwand. Auch die Chloroplasten verloren bei dieser geringen Konzentration schon ihre Farbe und Form (Abb. 19.). Die Zellen waren bei dieser Konzentration auch nicht mehr zur Plasmolyse fähig. Ab einer Konzentration von 1 mM fehlten in vielen Zellen die Zellorganellen. Dies war besonders in den Blattspitzen zu sehen (Abb. 20.).

Abb.15. *M. elongata* in 10 mM CdSO₄

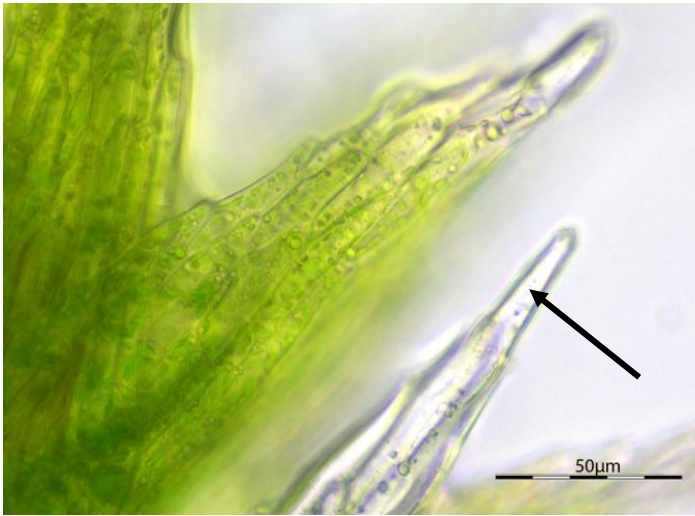


Abb.16. *M. elongata* in 100 mM CdSO₄

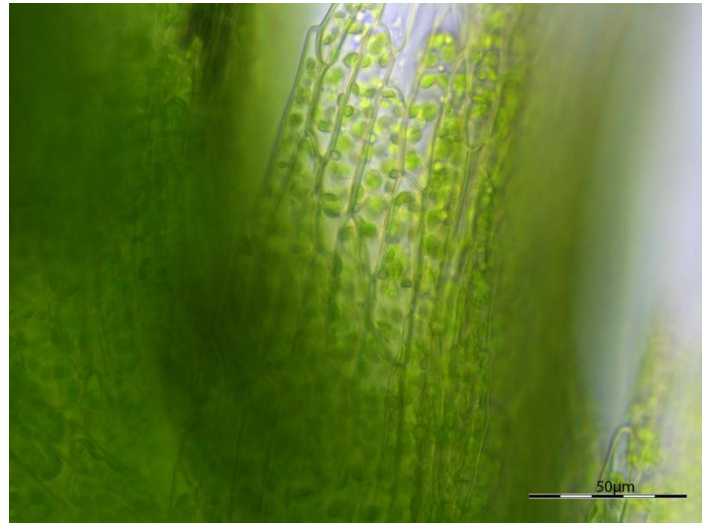


Abb.17. *M. elongata* in 10 mM NiSO₄

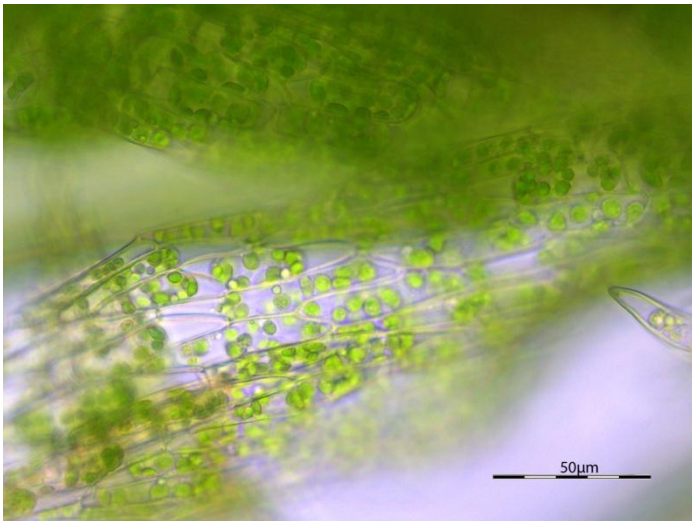


Abb.18. *M. elongata* in 100 mM NiSO₄

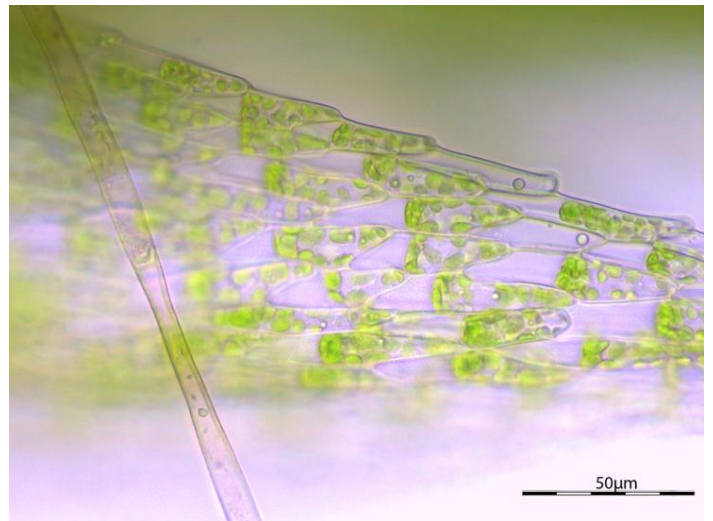


Abb.19. *M. elongata* in 0,1 mM CuSO₄

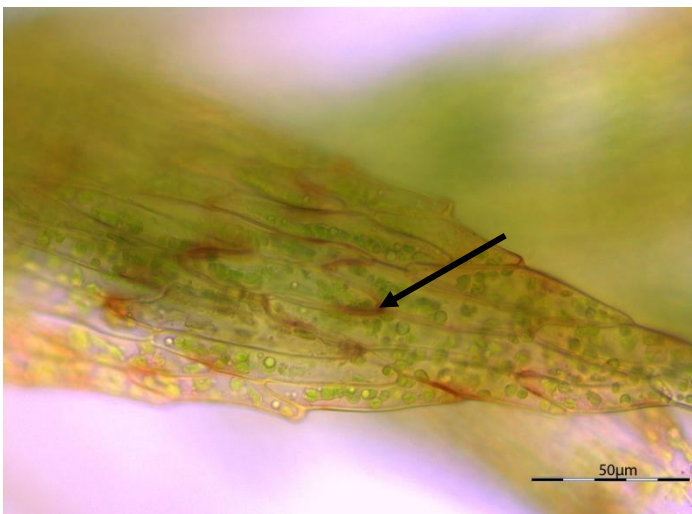
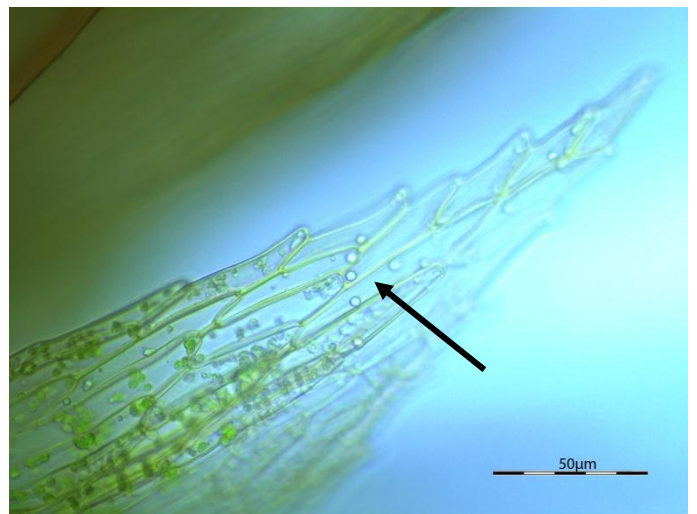


Abb.20. *M. elongata* in 1 mM CuSO₄



6.7. *Physcomitrella patens*

Physcomitrella patens war besonders empfindlich gegenüber allen Schwermetalllösungen. Die Pflanze hat große Zellen und plasmolysierte stark und schnell. Teilweise konnten die Zellen auch noch plasmolysieren, wenn die Chloroplasten schon sehr unförmig aussahen.

In der Cadmiumsulfat Lösung zeigte sich bereits bei 0,01 mM eine Veränderung an den Chloroplasten. In den Zellen häuften sich oft die verformten Chloroplasten zu einem Konglomerat. Die meisten Zellen waren bei einer 0,01 mM Lösung nicht mehr zu Plasmolyse fähig (Abb. 22.).

Nickelsulfat wirkte sich auch ähnlich toxisch für *P. patens* aus. Bei einer Konzentration von 0,1 mM kam es in vielen Zellen zu keiner Plasmolyse. Bei den höheren Konzentrationen verformten sich auch zusätzlich die Chloroplasten und es kam in keinen Zellen mehr zur Plasmolyse (Abb. 24.).

Kupfersulfat wirkte sich auf *P. patens* ebenfalls sehr toxisch aus. Bei der 0,01 mM Lösung begannen sich die Zellwände zu verfärben und teilweise waren die Chloroplasten zerstört (Abb. 25.). In den höheren Konzentrationen fand keine Plasmolyse mehr statt und die Chloroplasten verloren ihre Form und Farbe vollkommen (Abb. 26.).

Abb.21. *P. patens* Kontrollgruppe

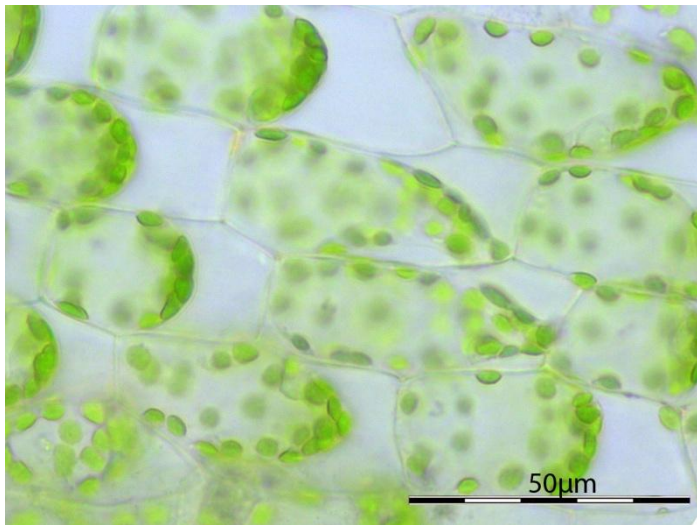


Abb.22. *P. patens* in 0,1 mM CdSO₄

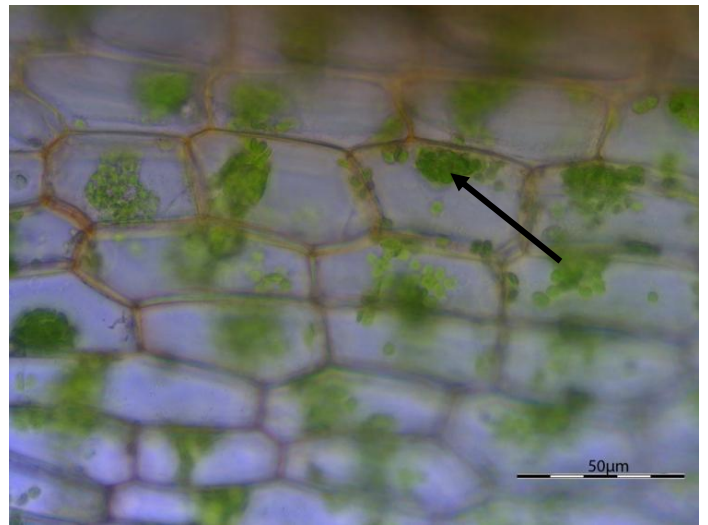


Abb.23. *P. patens* in 10 mM CdSO₄

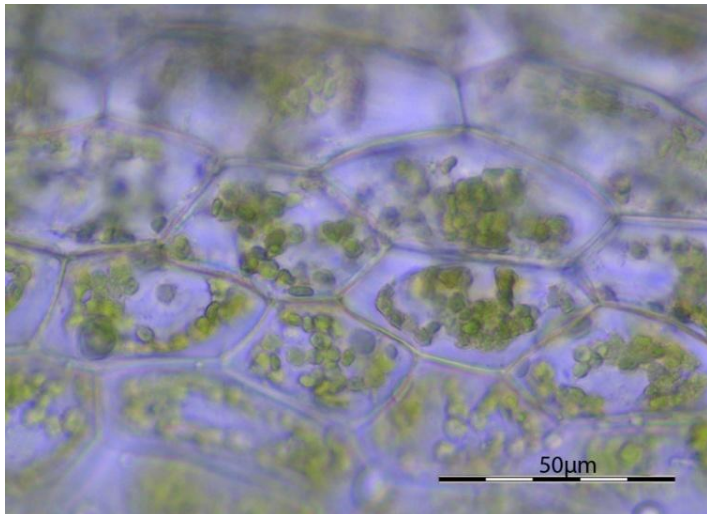


Abb.24. *P. patens* in 1 mM NiSO₄

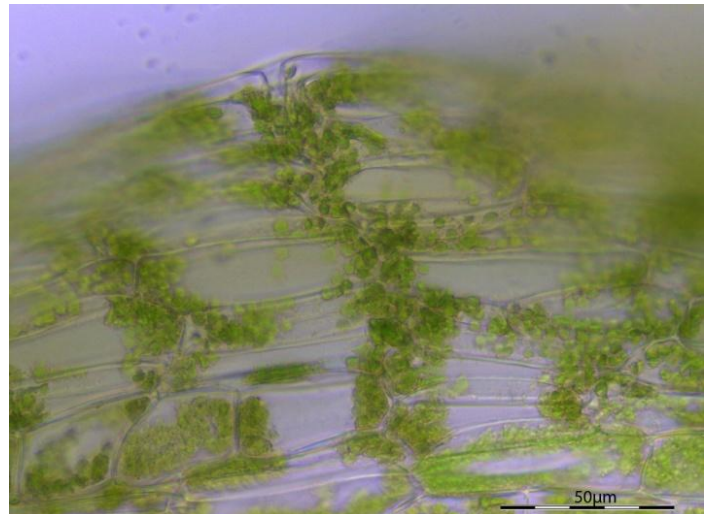


Abb.25. *P. patens* in 0,01 mM CuSO₄

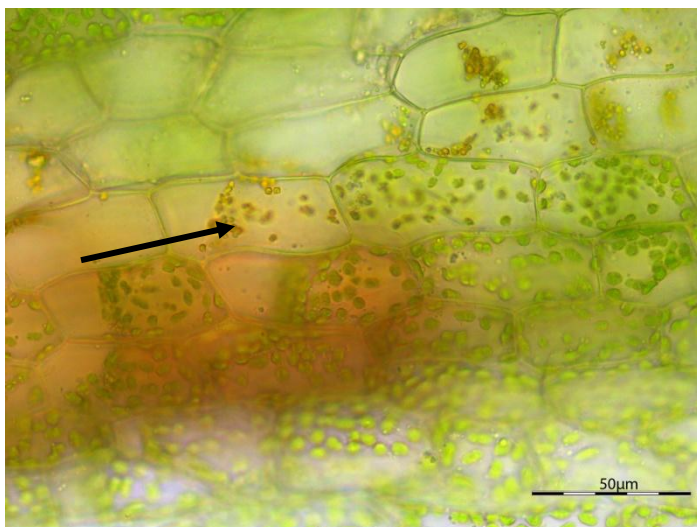
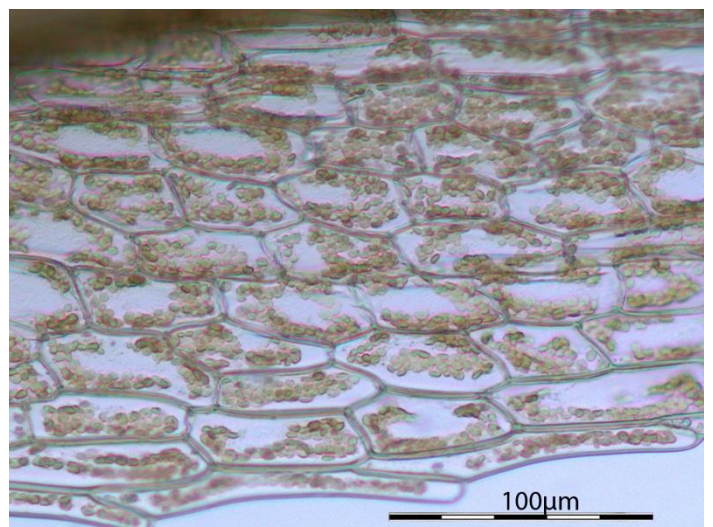


Abb.26. *P. patens* in 0,01 mM CuSO₄



6.8. *Plagiomnium affine*

Plagiomnium affine war gegen alle drei Metalllösungen nicht sehr tolerant. Bei Cadmiumsulfat plasmolysierten die Zellen zwar auch in der höchsten Konzentration, doch verloren die Chloroplasten auch schon bei einer Konzentration von 0,01 mM ihre Form und wurden kugelig (Abb. 28.).

Bei Nickelsulfat kam es ab einer Konzentration von 1 mM bei der Mehrheit der Zellen zu einer Verformung der Chloroplasten. Bei einer Konzentration von 10 mM kam es zu einer Verfärbung an den Zellwänden am Blattansatz (Abb. 30.). Die Verfärbungen führten nicht automatisch zu einer Verformung der restlichen Chloroplasten, jedoch war der Großteil der Chloroplasten kugelig und teilweise fehlten in den Zellen die Chloroplasten bei dieser Konzentration (Abb. 31.).

Kupfersulfat führt bereits ab einer Konzentration von 0,001 mM zu einer Veränderung der Chloroplasten. Diese verloren ihre Form und Farbe. In den höheren Konzentrationen fand nur noch in wenigen Zellen Plasmolyse statt und die Zellwände verfärbten sich rotbräunlich (Abb. 32.).

Abb.27. *P. affine* Kontrollgruppe

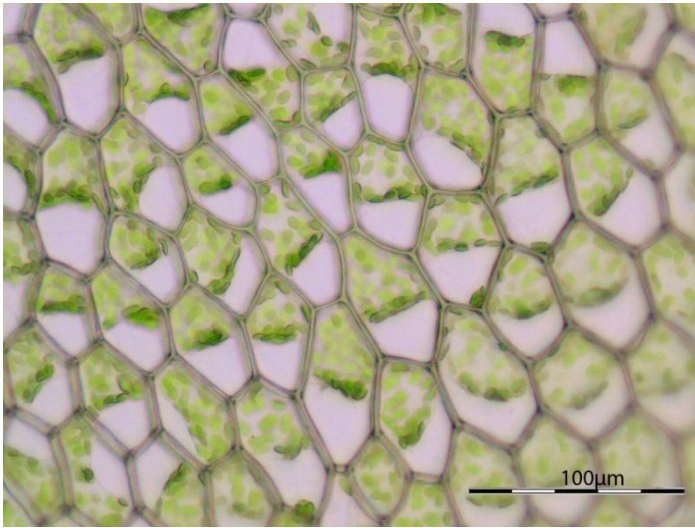


Abb.28. *P. affine* in 0,01 mM CdSO_4

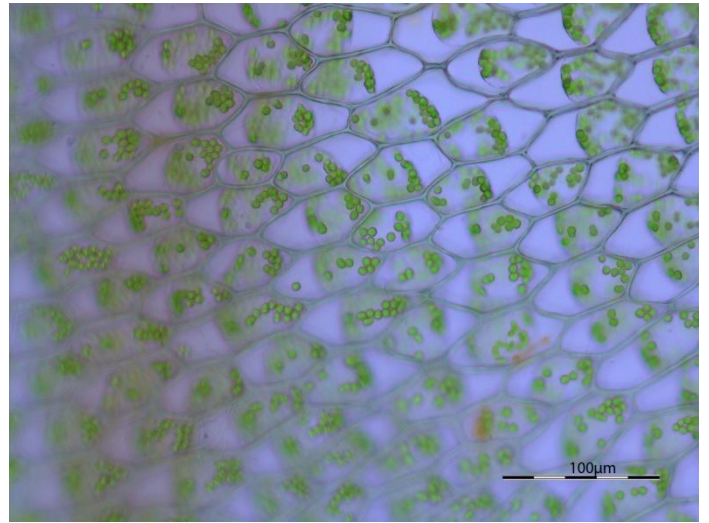


Abb.29. *P. affine* in 0,01 mM NiSO_4

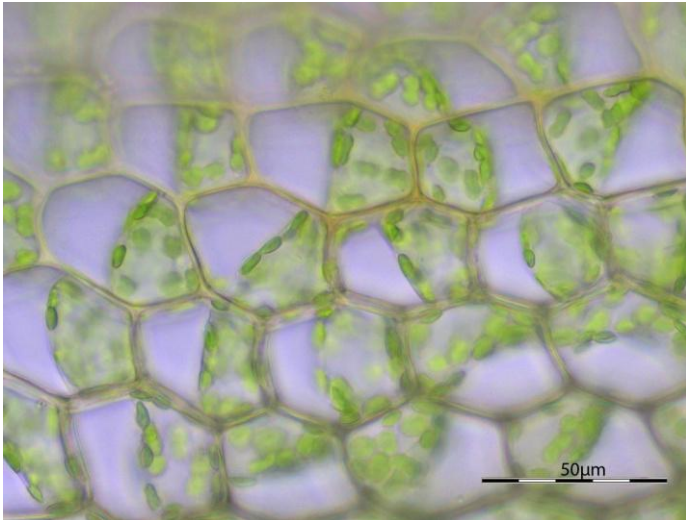


Abb.30. *P. affine* in 10 mM NiSO_4

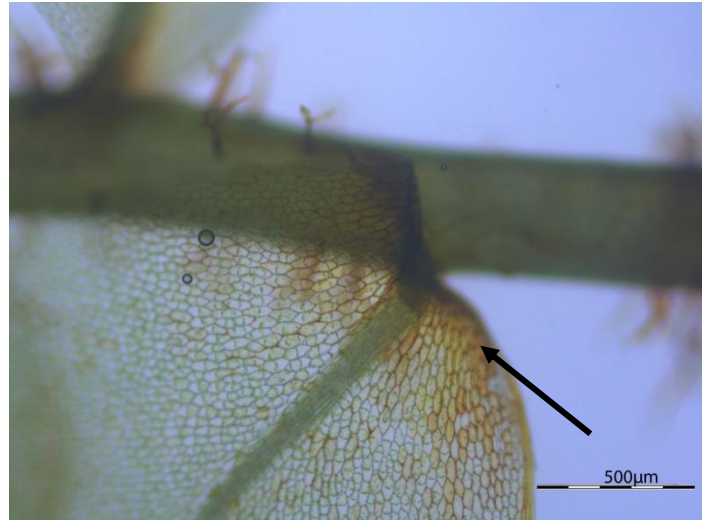


Abb.31. *P. affine* in 10 mM NiSO_4

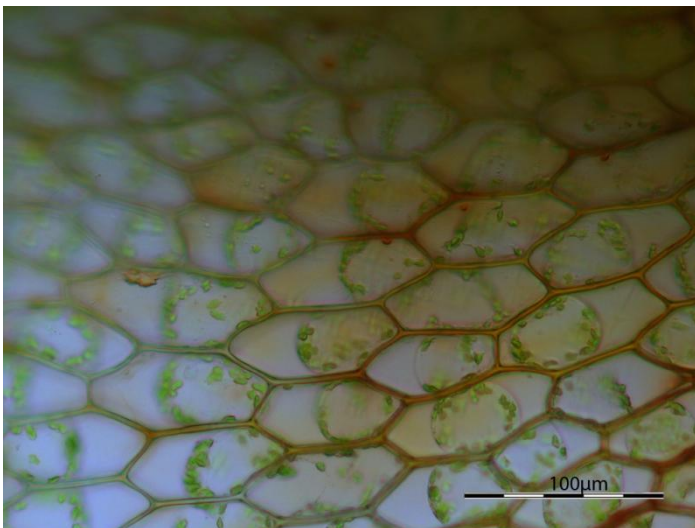
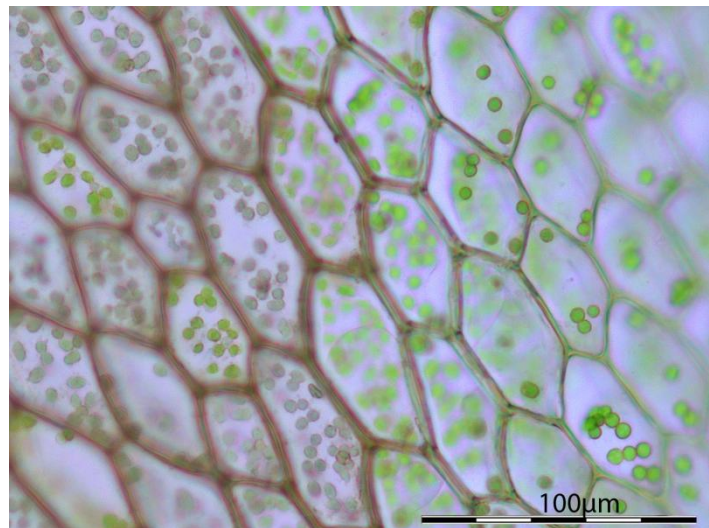
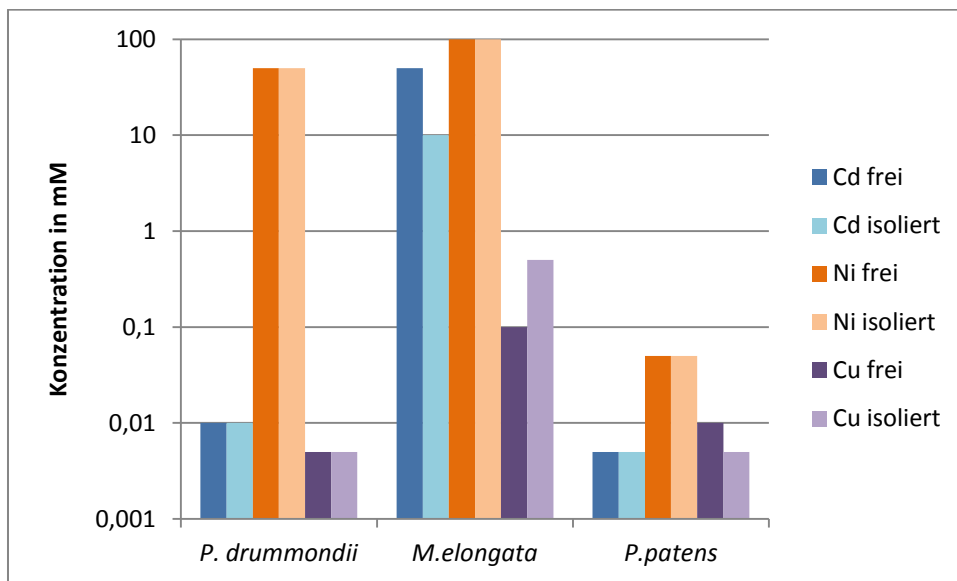


Abb.32. *P. affine* in 0,01 mM CuSO_4



6.9. Isolierung der Rhizoide



Die Moose *Pohlia drummondii*, *Mielichhoferia elongata* und *Physcomitrella patens* wurden auch mit isolierten Rhizoid mit den Schwermetalllösungen behandelt. Bei *M. elongata* war dadurch die Kupfertoleranz leicht erhöht, aber die Cadmiumtoleranz verringerte sich etwas. Bei *P. patens* senkte die Isolation des Rhizoides die Toleranz gegenüber Kupfer leicht. Bei *P. drummondii* blieben die Ergebnisse bei allen Metallen gleich.

7. Diskussion

7.1. Schwermetallbindung an der Zellwand

Bei allen behandelten Moosen kam es zumindest bei einem der Schwermetalle zur Verfärbung der Zellen der Moospflanze, insbesondere der Zellwand. Bereits bei anderen Untersuchungen kam es bei Cadmiumlösungen (Leinweber et al. 2009; Fatoba und Udoh 2008), Nickellösungen (Motyka et al. 2014) und Kupfer (Fatoba und Udoh 2008) zu Verfärbungen der Moosproben. Aber auch in anderen Schwermetalllösungen kann es zu Verfärbungen der Pflanzenzellen kommen (Mersch und Reichard 1998). Fatoba und Udoh (2008) wurde vor allem die Verfärbung an den Chloroplasten beobachtet. Dies konnte bei den Moosen, welche für diese Arbeit benutzt worden sind, auch gesehen werden, aber Verfärbungen der Zellwand waren oft deutlicher und früher zu sehen. Das lässt sich möglicherweise darauf zurückführen, dass die Nährstoffaufnahme von Moosen über den Kationenaustausch der Zellwände funktioniert. Dabei können die Ionen von allen Zellwänden eines Blattes aufgenommen werden, da die Blätter von Moosen nur eine Zellschicht dick sind (Zechmeister 1994). Die hohe Kationenaustauschkapazität beruht auf der hohen Konzentration an nicht veresterten Pektinen, hauptsächlich Zuckersäuren, in den Zellwänden. Zuckersäuren haben eine Carboxylgruppe (COOH), die an der äußeren Oberfläche der Zellwand hervorsteht. Diese Carboxylgruppe tauscht das H^+ gegen andere Kationen in ihrer Umgebung aus. Wenn also Kationen wie K^+ , Mg^{++} und Ca^{++} durch die Bryophytenschicht gefiltert werden, werden diese Ionen an diese Zellwandaustauschstellen gebunden. Diese Austauschstellen sind also für die Aufnahme von Nährstoffen wesentlich (Glime 2017). Von allen Landpflanzen besitzen Moose die höchste Konzentration von Zuckersäuren in ihren Zellwänden (Popper und Fry 2003). Da Pflanzen eine begrenzte Anzahl von Kationen-Austauschstellen haben, müssen Ionen um diese Orte miteinander konkurrieren. Wenn also ein Kation im Übermaß vorhanden ist, kann dies zu einem Mangel anderer Kationen in der Zelle führen, die keinen Zugang zu den Austauschstellen erhalten. Nährstoffe die an der Zellwand haften, stehen der Zelle nicht sofort zur Verfügung und spiegeln auch nicht die Bedürfnisse der Zelle.

Wie auch bei höheren Pflanzen spielt bei der Aufnahme von Ionen auch der pH-Wert eine Rolle. Denn bei einer hohen Anzahl an H^+ Ionen können seltener andere Kationen an der

Zelloberfläche ansetzen, wodurch die Pflanze zu weniger Nährstoffen kommt (Glime 2017). Moose können durch ihre Kationenaustauschkapazität viele Nährstoffe an der Zellwand für längere Zeit binden und haben einen Wettbewerbsvorteil gegenüber anderen Pflanzen. Untersuchungen haben gezeigt, dass das Torfmoos *Sphagnum sp.* durch das Anreichern von Nährstoffen, andere Tracheophyten am Wachstum hindern kann (van Breemen 1995). Obwohl dieses Kationenaustauschverfahren bei Bryophyten vorteilhaft für die Gewinnung von Nährstoffen ist, kann es auch zu einer Anhäufung von toxischen Schwermetallen wie Cadmium führen, da dem Moos eine ausreichende Selektivität für die Bindung oder Aufnahme dieser Nicht-Nährstoffe fehlt (Glime 2017). Ein weiterer wichtiger Faktor ist, dass verschiedene Elemente mit unterschiedlichen Affinitäten an die Ionenaustauschstellen binden (Vázquez et al. 1999). In einem Versuch wurden die Selektivität von *Sphagnum sp.* gegenüber verschiedenen Metallionen getestet. Dabei zeigte sich, dass das Moos bei gleichen Metallkonzentrationen unterschiedlich stark bestimmte Ionen bindet: $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{NH}_4^+$ (Breuer und Melzer 1990).

Unabhängig von der Art wird die Bindungsaffinität durch Konzentration, hydrierten Atomradius sowie Wertigkeit bestimmt. Nachdem Ionen die Oberfläche der Zelle erreicht haben, benötigen sie Energie, um in die Zelle einzudringen. Bei Bryophyten geschieht das, wie bei den Wurzeln von Tracheophyten, über eine Protonenpumpe und wie bei Tracheophyten verwenden sie ATP, um H^+ Ionen aus den Zellen zu pumpen (Glime 2017). Aus dem extrazellulären Raum gelangen die Metalle über verschiedene Transportwege in das Cytoplasma. Primär über Symports oder aktive Uniports und sekundär über aktive Symports. Die Metalle können auch zurück in den Zellzwischenraum gelangen, nachdem sie von anderen Elementen mit einer höheren Affinität ausgetauscht wurden (Fernández et al. 2013). Sobald sich die Nährstoffe in der Zelle befinden, werden sie in Lösung gehalten oder sie binden an Aminosäuren und Proteine. Wenn diese Bindungselemente die Nährstoffe aus der Lösung nehmen, beeinflussen sie den Konzentrationsgradienten zwischen dem Intrazellulärraum und Interzellulärraum. Dies führt dazu, dass weitere Nährstoffe die Membran durchqueren können und in die Zelle gelangen. Andere Nährstoffe sind an intrazelluläre Bindungsstellen gebunden, was wiederum die Aufnahmerate verändert (Glime 2017).

Generell lassen unterschiedliche Akkumulationslevel auf metallspezifische Transportmechanismen schließen, die durch spezifische Transportproteine bestimmt werden. In einer Untersuchung von Basile et al. (2012) wurde gezeigt, dass bei dem Moos *Scorpiurum circinatum*, welches mit Schwermetalllösungen (Cd, Cu, Pb und Zn) behandelt wurde, bei Kupfer und Zink eine Sättigung auftrat und die intrazelluläre Konzentration nicht über einen gewissen Wert stieg. Hingegen stieg die intrazelluläre Konzentration von Cadmium und Blei weiter an. Dies wird auf unterschiedliche Membrantransportproteine zurückgeführt. Transportproteine für essentielle Nährstoffe wie Kupfer und Zink sind spezifisch und werden reguliert, hingegen gibt es für die Schwermetalle Cadmium und Blei, welche schon in geringen Dosen toxisch sind, keine Regulierung. Schwermetalle, welche nicht aufgenommen werden, werden an der Zellwand immobilisiert, welches einer der Hauptmechanismen der Detoxifizierung von Schwermetallen ist (Basile et al. 2012). Dies würde die unterschiedlich starke Färbung der Zellwand in den verschiedenen Metalllösungen erklären, da sich die Moosproben vor allem in der Nickelsulfat- und Kupfersulfatlösung färbten; Nickel und Kupfer sind für Pflanzen essentiell.

7.2. Auswirkungen der Schwermetalle in den Zellen

Bei allen getesteten Schwermetalllösungen kam es ab bestimmten Konzentrationen zu Veränderungen der Zellorganellen, insbesondere der Chloroplasten. Diese Veränderungen traten bei Kupfer- und Cadmiumsulfat teilweise schon bei Konzentrationen von 0,01mM auf. Meist nahmen die Chloroplasten eine geschwollene, kugelige Form an und verloren bei höheren Konzentrationen auch diese kugelige Form und wurden unförmig geschwollen. Die Chloroplasten verloren ebenfalls ihre Farbe und waren entweder nur noch blass grün, oder verloren die Farbe komplett. Auch die Plasmolysefähigkeit der Zellen ging ab bestimmten Konzentrationen verloren.

Diese Effekte lassen sich auf die mannigfaltige Toxizität von Schwermetallen zurückführen. Schwermetalle können ein weites Spektrum an toxischen Effekten in Pflanzenzellen verursachen, wie zum Beispiel eine Störung der Photosynthese, Zellatmung, Membranstruktur und Proteinsynthese, was zu einer Verringerung des Proteingehalts führt. Weiters können sie zu Wachstumseinschränkungen, zum Ionenverlust und zum Sinken der Chlorophyllkonzentration führen. Viele Schäden passieren durch die Affinität von

Schwermetall zu Sulfhydrylgruppen. Diese führt zu Veränderung von Enzymen durch Inhibierung des aktiven Zentrums und/oder zur Konformationsänderung von Makromolekülen. So wird zum Beispiel Magnesium im Porphyrin-Ring des Chlorophylls durch ein Schwermetall ersetzt. Schwermetalle fördern zusätzlich die Produktion von verschiedenen reaktiven Sauerstoffen (ROS) (Santos et al. 2014; Shakya et al. 2008; Esposito et al. 2012). Zu diesen ROS gehören Superoxidradikale (O_2^-), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hydroxyl-Radikale (OH^-) und Singulett-Sauerstoff (1O_2). Singulett-Sauerstoff hat eine Halbwertszeit von weniger als einer Sekunde, bevor es zu Wasserstoffperoxid wird. Diese Protonation produziert stark toxische Hydroperoxylradikale. Diese sind stark oxydativ und wandeln Fettsäuren in toxische Lipidperoxide um, welche die biologische Membran zerstören und zu weiteren Peroxidationen von Lipiden führen. Sowohl Wasserstoffperoxide, als auch Superoxidradikale, können in Gegenwart von Metallionen Hydroxyl-Radikale erzeugen. Diese sind die toxischste Form von allen ROS. Sie können in der Zelle zum Entarten von biologischen Membranen führen. Um sich gegen ROS zu schützen, haben Pflanzen komplexe enzymatische und nichtenzymatische Verteidigungssysteme entwickelt, welche die ROS beseitigen (Choudhury und Panda 2005). Dieser oxydative Stress entsteht bei allen drei verwendeten Schwermetallen (Sigel 2007; Ares et al. 2018). Diese und andere Schwermetalle führen zu der bereits erwähnten Lipidperoxidation, Akkumulation von Malondialdehyd, einem Abbauprodukt von ungesättigten Fettsäuren, und einer voranschreitenden Zerstörung der Zellmembran (Stanković et al. 2018; Ebermann und Elmadfa 2011). In einer Untersuchung von Wu et al. (2009) wurde *Plagiomnium cuspidatum*, ein Moos aus der gleichen Gattung wie *P. affine*, welches in diesem Versuch verwendet wurde, mit einer Kupferlösung behandelt, um die Menge an Wasserstoffperoxid zu messen. Dabei wurde Wasserstoffperoxid vor allem in den Zellwänden und der Plasmamembran lokalisiert (Wu et al. 2009). Ein Schaden an der Plasmamembran führt dazu, dass die Zellen noch mehr Schwermetalle akkumulieren, denn wegen des Bruches der Zellmembranen können Schwermetalle auch innerhalb der Zellwand an Kationenaustauschstellen binden (Ares et al. 2018). Die Versuche für diese Arbeit stützen die oben beschriebenen Erkenntnisse, dass die Aufnahme von Schwermetallen die Zellmembranen bei Bryophyten beeinträchtigt. Bei den Plasmolysereaktionen zeigte sich deutlich, dass mit steigenden Schwermetallkonzentrationen die Fähigkeit der Zelle zu plasmolysieren gestört wird.

Der Schaden durch ROS an der Zellmembran beschränkt sich dabei aber nicht nur auf die Membran, welche die Zelle umgibt sondern betrifft auch Membranen um Zellorganellen wie Chloroplasten. Veränderungen der Chloroplastenform und Anordnung der Thylakoide sind bekannte Phänomene bei Bryophyten in Verbindung mit giftigen Substanzen. Bei einer Untersuchung von Basile et al. (2012) wurde das Moos *Scorpiurum circinatum* verschiedenen Schwermetalllösungen ausgesetzt. Bei Cadmium und Blei kam es zu Veränderung der Chloroplasten und zur einer veränderten Anordnung der Thylakoide. Bei den Versuchen wurde auch mit Kupfer gearbeitet, dabei kam es jedoch zu keinen Veränderungen der Zellorganellen (Basile et al. 2012). In einer Untersuchung von Eposito et al. wurde das aquatische Moos *Leptodictyum riparium* mit Cadmium, Kupfer, Nickel und Blei behandelt. Auch in dieser Studie kam es unter Cadmiumstress zur Veränderung der Chloroplasten. Diese waren geschwollen und irregulär aufgewölbt. Auch unter Kupferstress waren die Chloroplasten gewölbt (Esposito et al. 2012). In den Versuchen für diese Diplomarbeit konnten beschriebene Effekte an den Chloroplasten bei allen verwendeten Metalllösungen beobachtet werden.

Schwermetalle schaden dabei aber nicht nur der Membran der Chloroplasten. In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass unter Cadmium, Kupfer und anderen Schwermetallen die Synthese von Chlorophyll a und b und akzessorischen Pigmenten gestört wird. In einer Untersuchung von Shakya et al. (2008) wurde beobachtet, dass bei verschiedenen Moosen unter Kupferstress weniger Chlorophyll synthetisiert wird. Dies lässt sich auf die Inhibition, welche Kupfer auf Enzyme hat, die Chlorophyll produzieren, zurückführen. Dabei wurde die Chlorophyll-a Synthese stärker gestört als die Chlorophyll-b Synthese. Durch die von Schwermetallen verursachte Oxydation von Methylgruppen am zweiten Ring von Chlorophyll a zu einem Aldehyde, wird Chlorophyll a zu Chlorophyll b. Die generelle Reduzierung von Chlorophyll und das veränderte Verhältnis zwischen Chlorophyll a und b, stieg mit der Kupferakkumulierung in den Proben. In der Studie wurde auch der Einfluss von Zink und Blei gemessen, jedoch verursachte Kupferstress den größten Chlorophyllrückgang (Shakya et al. 2008). Cadmium beeinflusst ebenfalls die Effektivität des Photosystems II (Rother et al. 2006). Diese beschriebenen Einflüsse auf die Chlorophyllsynthese, könnten auch in den Versuchen für diese Arbeit für die Farbveränderungen, beziehungsweise die Entfärbung, der Chloroplasten verantwortlich sein.

7.3. Isolierung des Rhizoids

Im Großteil der Literatur wird das Rhizoid bei Bryophyten nicht mit der Nährstoffaufnahme in Verbindung gesetzt. Sein einzig beschriebener Zweck ist die Verankerung der Pflanze im Boden. Rhizoide dringen auch nicht tief in den Boden ein, wie die feinen Wurzeln der Tracheophyten um dort Nährstoffe aufzunehmen. Man geht davon aus, dass Nährstoffe und Wasser nur über die Oberfläche aufgenommen werden, weshalb die Rolle der Rhizoide bei der Schwermetallakkumulation fraglich ist (Sassmann et al. 2015b; Glime 2017; Sabovljević et al. 2018). In den Versuchen dieser Arbeiten führte die Isolation der Rhizoide zu keinen signifikanten Änderungen der Toleranz. Bei drei Proben kam es zu leichten Unterschieden, jedoch sowohl zu höherer als auch zu niedrigerer Toleranz. In einer Studie von Ares et al. (2018) wurde beschrieben, dass tote und lebende Zellen von Rhizoiden Metalle akkumulieren. Bei den Untersuchungen wurde beobachtet, dass Blei im Rhizoid und in der Epidermis stärker akkumuliert wird als in höher gelegenen Bereichen, in welchem die Photosynthese stattfindet. Diese Anlagerung in den unteren Bereichen könnte für die Toleranz der Pflanze gegenüber Blei von Vorteil sein (Ares et al. 2018). Auch in einer Studie von Pradhan et al. (2017) wurde bei Versuchen mit *P. patens* festgestellt, dass Quecksilber in den Rhizoiden deutlich stärker akkumuliert als in den Blättchen (Pradhan et al. 2017). Nach diesen Studien spielen die Rhizoide zumindest bei der Akkumulation eine Rolle und können helfen, andere Pflanzenteile vor Schwermetallen zu schützen. Denn auch manche Moose sind zum Teil fähig Nährstoffe über Hydroide und Leptoide in der Pflanze zu verteilen (Gibson und Gibson 2007; Baltisberger 2009). In den Hydroiden können auch gelöste Ionen durch die Pflanze transportiert werden. *P. patens*, *P. drummondii* und *M. elongata* besitzen alle solche Hydroiden (Mauseth 2009; Goruynov et al. 2018; Demko et al. 2016). Bei *P. drummondii* war das in den Vorversuchen gut zu erkennen, denn ein gebrochenes Stämmchen ermöglichte den Eintritt von Nikelsulfat in die Pflanze. Die Schwermetalllösung färbte die Zellwände rot und wurde tiefer in das Stämmchen hineingezogen. Ein Transport der Schwermetalle in die Rhizoide wäre deshalb bei allen drei getesteten Moosen möglich und könnte dabei helfen die Photosynthese treibenden Blättchen zu entlasten. Dies könnte erklären wieso bei *M. elongata* und *P. patens* die nicht isolierten Pflanzen etwas toleranter waren, als die isolierten Proben. In den Versuchsreihen dieser Diplomarbeit wurden möglicherweise durch das heiße Wachs, welches genutzt wurde um die Rhizoide zu isolieren, die Zellen in den Rhizoiden und im Stämmchen getötet. Möglicherweise wurde deshalb der

Transport zu den Rhizoiden verhindert und es kam es dort zu geringerer Akkumulierung und daher zu einer stärkeren Anreicherung in der restlichen Pflanze.

7.4. Schutzmechanismen

Trotz der zum Teil sehr hohen Konzentrationen der verschiedenen Schwermetalllösungen, waren einige Moose sehr tolerant gegenüber Metallen. Wie in anderen Studien kam es auch in dieser zu großen Toleranzunterschieden zwischen den Moosarten. Besonders tolerant zeigte sich bei den Versuchen *P. schreberi*, aber auch die Moose *P. drummondii* und *P. patens* wiesen gegen bestimmte Schwermetalle eine hohe Toleranz auf. Die Toleranz der Moose war dabei immer sehr von den unterschiedlichen Schwermetallen abhängig, jedoch zeigte sich, dass Nickelsulfat im Allgemeinen die geringste Toxizität aufwies. Die toxischen Wirkungen von Schwermetallen in Bryophyten finden vorwiegend intrazellulär statt, während die Metalle außerhalb der Zellen keine unmittelbaren Auswirkungen auf den Stoffwechsel der Zelle haben. Strategien von Bryophyten sind sowohl die Vermeidung, als auch die Toleranz dieses abiotischen Stresses. Vermeidung schließt alle Prozesse ein, die den Eintritt von Schwermetalle in den Protoplasten verhindern. Dabei spielt die Zellwand eine entscheidende Rolle. Über sie findet die Retention (Zurückhaltung von Stoffen) statt und die Kationenaustauschkapazität wird modifiziert, wodurch der Metalltransport in die Plasmamembran verändert wird und Schwermetalle ausgeschlossen werden können (Stanković et al. 2018). Die chemische Zusammensetzung der Zellwand kann zwischen verschiedenen Arten innerhalb einer Moosgruppe erheblich variieren. Dies kann ein Grund für die unterschiedliche Empfindlichkeit der verschiedenen Moosarten gegenüber bestimmten Schwermetallen sein (Shakya et al. 2008).

Im Gegensatz zu den Vermeidungsmechanismen, beruht die Toleranz gegenüber Metallstress auf der Neutralisierung der Metalle und ihrer toxischen Effekte, sowie der Translokation dieser Metalle aus dem Zytoplasma in Zellkompartimente, wie die Vakuole.

Die Chelatierung von Schwermetallen ist eine Möglichkeit der Homöostase von Schwermetallen. In dem Prozess der intrazellulären Chelatierung von Schwermetallen in Pflanzenzellen spielen Thiole mit einem niedrigen Molekulargewicht, wie Glutathion (GSH) und Cystein, eine entscheidende Rolle (Stanković et al. 2018). GSH ist eine wichtige Transport- und Lagerform von reduziertem Schwefel und kann direkt bei der Bindung von

Schwermetallen involviert sein oder indirekt als Substrat zur Synthese der Phytochelatine, die eine besonders hohe Affinität gegenüber einigen Schwermetallen aufweisen. Die gebildeten Komplexe zwischen den Schwermetallionen und Phytochelatinen können dann in die Vakuole transportiert werden, wodurch die Konzentration von freien Metallen im Zytoplasma abnimmt und die Pflanze vor der schädlichen Wirkung bewahrt wird (Yadav 2010). In einem Versuch von Carginale et al. (2004) konnte nachweisen, dass sich Cadmium im Moos *Lunularia cruciata*, vor allem in der Vakuole ansammelt. Dabei wurde auch festgestellt, dass das meiste intrazelluläre Cadmium an Thiol-reiche Komponenten gebunden wurde, welche ein ähnliches Molekulargewicht wie Phytochelatine hatten. Dies lässt darauf schließen, dass Phytochelatine wie bei anderen Pflanzen die Hauptmechanismen zur Schwermetallbindung sind (Carginale et al. 2004). Phytochelatine scheinen jedoch keine Rolle bei der Nickelresistenz zu spielen, denn diese haben eine eher geringe Affinität gegenüber Nickel (Sigel 2007). Ein weiteres Protein, welches bei Pflanzen bei abiotischem Stress die Toleranz erhöht, ist das Protein Hsp70. Dieses sorgt dafür, dass Proteine richtig gefaltet werden. In Studien, wird gezeigt, dass Moose, welche hohen Konzentrationen von Schwermetallen ausgesetzt sind, viel Hsp70 synthetisieren. Es ist jedoch noch nicht klar, wie stark die Toleranz durch dieses Enzym erhöht wird (Basile et al. 2013; Esposito et al. 2012).

Neben der Abwehr und der Neutralisierung von Schwermetallen sind auch antioxydative Mechanismen zur Bekämpfung von ROS ein wichtiger Bestandteil der Schwermetalltoleranz. Diese Mechanismen umfassen zahlreiche Enzyme und niedrigmolekulare Substanzen. Superoxiddismutase ist eines der wichtigsten Enzyme, die Pflanzen vor oxydativen Stress schützen. Sie kann Superoxide in weniger schädliches Wasserstoffperoxid umwandeln. Wasserstoffperoxid kann dann über Peroxidase, Katalase oder Ascorbat-Peroxidase entfernt werden. Zusätzlich können niedermolekulare Substanzen wie Ascorbinsäure, Glutathion, Nicht-Protein Thiol, Cystein, Prolin und andere niedermolekulare Substanzen direkt miteinander interagieren um ROS zu entgiften (Stanković et al. 2018).

8. Resümee

Ziel der Arbeit war es zu untersuchen wie sich die Metalllösungen Cadmiumsulfat, Nickelsulfat und Kupfersulfat auf die Moose *Mielichhoferia elongata*, *Plagiomnium affine*, *Pohlia drummondii*, *Pleurozium schreberi* und *Physcomitrella patens* auswirken und welche Rolle das Rhizoid bei der Aufnahme von Schwermetallen spielt.

Die Moose reagierten auf die verschiedenen Schwermetalllösungen sehr unterschiedlich und es konnten eindeutige Unterschiede in der Toxizität der verschiedenen Metalllösungen nachgewiesen werden. Nickelsulfat war dabei am wenigsten schädlich für die Pflanzen. *P. drummondii* zeigte sich besonders tolerant gegenüber Nickelsulfat, während *M. elongata* besonders tolerant gegenüber Cadmiumsulfat und Nickelsulfat war. Die Schäden der Schwermetalle zeigten sich vor allem in der nicht mehr funktionierenden Plasmolyse der Zellen, aber auch in Verformung und Verfärbung der Chloroplasten.

In der Bearbeitung der zweiten Forschungsfrage stellte sich heraus, dass das Biomonitoring-Moos *P. schreberi* besonders tolerant gegenüber Kupfersulfat und Cadmiumsulfat war, während *P. drummondii* und *M. elongata*, welche auf kupferreichen Böden wachsen, nicht besonders tolerant gegenüber Kupfer waren. *P. patens* und *P. affine*, welche interessanterweise nicht zum Biomonitoring verwendet werden und auch keine Indikatormoose sind, waren gegenüber allen Metalllösungen sehr empfindlich.

Die Isolierung des Rhizoms führte zu leichten Toleranzveränderungen bei *M. elongata* und *P. patens*, wobei sich die Isolierung sowohl negativ als auch positiv auf die Toleranz auswirkte.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass Schwermetalle auf Bryophyten vielfältige und teils gravierende Auswirkungen haben können, die jedoch zwischen den verschiedenen Moosarten und Schwermetallen deutlich variieren und Möglichkeiten für weitere Forschung bieten.

Literaturverzeichnis

- Aboal, J. R.; Fernández, J. A.; Boquete, T.; Carballeira, A. (2010): Is it possible to estimate atmospheric deposition of heavy metals by analysis of terrestrial mosses? In: *The Science of the total environment* 408 (24), S. 6291–6297. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.09.013.
- Adlassnig, Wolfram; Weiss, Yasmin S.; Sassmann, Stefan; Steinhauser, Georg; Hofhansl, Florian; Baumann, Nils et al. (2016): The copper spoil heap Knappenberg, Austria, as a model for metal habitats - Vegetation, substrate and contamination. In: *The Science of the total environment* 563-564, S. 1037–1049. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.179.
- Alloway, Brian J. (Hg.) (1999): Schwermetalle in Böden. Analytik, Konzentration, Wechselwirkungen ; mit 83 Tabellen. Berlin: Springer. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-58384-1>.
- Aničić, M.; Tasić, M.; Frontasyeva, M. V.; Tomašević, M.; Rajšić, S.; Strelkova, L. P. et al. (2009): Active biomonitoring with wet and dry moss. A case study in an urban area. In: *Environ Chem Lett* 7 (1), S. 55–60. DOI: 10.1007/s10311-008-0135-4.
- Antreich, Sebastian; Sassmann, Stefan; Lang, Ingeborg (2016): Limited accumulation of copper in heavy metal adapted mosses. In: *Plant physiology and biochemistry : PPB* 101, S. 141–148. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.02.005.
- Ares, Ángela; Itouga, Misao; Kato, Yukari; Sakakibara, Hitoshi (2018): Differential Metal Tolerance and Accumulation Patterns of Cd, Cu, Pb and Zn in the Liverwort *Marchantia polymorpha* L. In: *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 100 (3), S. 444–450. DOI: 10.1007/s00128-017-2241-0.
- Baltisberger, Matthias (2009): Systematische Botanik. Einheimische Farn- und Samenpflanzen. 3., korrigierte Aufl. Zürich: vdf Hochschulverl.
- Basile, A.; Sorbo, S.; Pisani, T.; Paoli, L.; Munzi, S.; Loppi, S. (2012): Bioaccumulation and ultrastructural effects of Cd, Cu, Pb and Zn in the moss *Scorpiurum circinatum* (Brid.) Fleisch. & Loeske. In: *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 166, S. 208–211. DOI: 10.1016/j.envpol.2012.03.018.
- Basile, Adriana; Sorbo, Sergio; Conte, Barbara; Cardi, Manuela; Esposito, Sergio (2013): Ultrastructural changes and Heat Shock Proteins 70 induced by atmospheric pollution are similar to the effects observed under in vitro heavy metals stress in *Conocephalum conicum* (Marchantiales–Bryophyta). In: *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 182, S. 209–216. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.07.014.
- Blume, Hans-Peter; Horn, Rainer; Thiele-Bruhn, Sören (Hg.) (2011): Handbuch des Bodenschutzes. Bodenökologie und -belastung ; vorbeugende und abwehrende Schutzmaßnahmen. 4., vollständig überarbeitete Auflage. Weinheim: Wiley-VCH.

- Breuer, K.; Melzer, A. (1990): Heavy metal accumulation (lead and cadmium) and ion exchange in three species of Sphagnaceae. II. Chemical equilibrium of ion exchange and the selectivity of single ions. In: *Oecologia* 82 (4), S. 468–473. DOI: 10.1007/BF00319787.
- Brunold, Christian (1996): Stress bei Pflanzen. Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie (UTB für Wissenschaft : Große Reihe).
- Buback, Ariel S. (Hg.) (2014): Flora of North America. North of Mexico. Flora of North America Editorial Committee. New York, NY: Oxford Univ. Press.
- Campbell, Neil A.; Reece, Jane B.; Kratochwil, Anselm (2011): Biologie. 8., aktualisierte Aufl. München: Pearson Studium (Pearson Studium - Biologie). Online verfügbar unter http://wps.pearsoned.com/ema_de_bc_campbell_biology_8_cw_2005.
- Carginale, V.; Sorbo, S.; Capasso, C.; Trinchella, F.; Cafiero, G.; Basile, A. (2004): Accumulation, localisation, and toxic effects of cadmium in the liverwort *Lunularia cruciata*. In: *Protoplasma* 223 (1), S. 53–61. DOI: 10.1007/s00709-003-0028-0.
- Choudhury, Shuvasish; Panda, Sanjib Kumar (2005): Toxic Effects, Oxidative Stress and Ultrastructural Changes in Moss *Taxithelium Nepalense* (Schwaegr.) Broth. Under Chromium and Lead Phytotoxicity. In: *Water Air Soil Pollut* 167 (1-4), S. 73–90. DOI: 10.1007/s11270-005-8682-9.
- Cronberg, Nils; Andersson, Kjell; Wyatt, Robert; Odrzykoski, Ireneusz J. (2013): Clonal distribution, fertility and sex ratios of the moss *Plagiomnium affine* (Bland.) T.Kop. in forests of contrasting age. In: *Journal of Bryology* 25 (3), S. 155–162. DOI: 10.1179/037366803235001625.
- Demko, Viktor; Ako, Eugene; Perroud, Pierre-François; Quatrano, Ralph; Olsen, Odd-Arne (2016): The phenotype of the CRINKLY4 deletion mutant of *Physcomitrella patens* suggests a broad role in developmental regulation in early land plants. In: *Planta* 244 (1), S. 275–284. DOI: 10.1007/s00425-016-2526-2.
- Ebermann, Robert; Elmadfa, Ibrahim (2011): Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. Zweite, korrigierte und erweiterte Auflage. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-0211-4>.
- Ekmekcioglu, Cem; Marktl, Wolfgang (2006): Essentielle Spurenelemente. Klinik und Ernährungsmedizin. 1. Aufl. s.l.: Springer-Verlag. Online verfügbar unter <http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=323499>.
- Esposito, S.; Sorbo, S.; Conte, B.; Basile, A. (2012): Effects of heavy metals on ultrastructure and HSP70s induction in the aquatic moss *Leptodictyum riparium* Hedw. In: *International journal of phytoremediation* 14 (4), S. 443–455. DOI: 10.1080/15226514.2011.620904.
- Exner, Andreas; Held, Martin; Kümmerer, Klaus (2016): Kritische Metalle in der Großen Transformation.

- Fatoba, Paul; Udoh, Emem (2008): Effects of Some Heavy Metals on Chlorophyll Accumulation in *Barbula lambarenensis*. In: *Ethnobotanical Leaflets* 12.
- Fernández, J. Ángel; Pérez-Llamazares, Alicia; Carballeira, Alejo; Aboal, Jesús R. (2013): Temporal Variability of Metal Uptake in Different Cell Compartments in Mosses. In: *Water Air Soil Pollut* 224 (3), S. 88. DOI: 10.1007/s11270-013-1481-9.
- Frahm, Jan-Peter (1998): Moose als Bioindikatoren. Wiesbaden: Quelle & Meyer (Biologische Arbeitsbücher, 57).
- Frahm, Jan-Peter (2001): Biologie der Moose. 1. Auflage. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
- Frahm, Jan-Peter (2018): Biologie der Moose. Berlin: Springer Spektrum (Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://www.springer.com/>.
- Frahm, Jan-Peter; Frey, Wolfgang; Döring, J. (2004): Moosflora. 4., neubearb. und erw. Aufl. Stuttgart: Ulmer (UTB, 1250).
- Gibson, J. Phil; Gibson, Terri R. (2007): Plant diversity. New York, NY: Chelsea House (The green world).
- Glime, J. M. (2017): Bryophyte Ecology Volume 1: Physiological Ecology. 8-4 Nutrient Relations: Uptake and Location. Michigan Technological University. Online verfügbar unter <https://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology1/>, zuletzt aktualisiert am 11.11.2017, zuletzt geprüft am 20.2.2019.
- Gombert, S.; Trautenberg, C. Rausch de; Losno, R.; Leblond, S.; Colin, J. L.; Cossa, D. (2004): Biomonitoring of Element Deposition Using Mosses in the 2000 French Survey. Identifying Sources and Spatial Trends. In: *J Atmos Chem* 49 (1-3), S. 479–502. DOI: 10.1007/s10874-004-1261-4.
- González, A. G.; Pokrovsky, O. S. (2014): Metal adsorption on mosses. Toward a universal adsorption model. In: *Journal of colloid and interface science* 415, S. 169–178. DOI: 10.1016/j.jcis.2013.10.028.
- Goruynov, Denis V.; Goryunova, Svetlana V.; Kuznetsova, Oxana I.; Logacheva, Maria D.; Milyutina, Irina A.; Fedorova, Alina V. et al. (2018): Complete mitochondrial genome sequence of the "copper moss" *Mielichhoferia elongata* reveals independent nad7 gene functionality loss. In: *PeerJ* 6, e4350. DOI: 10.7717/peerj.4350.
- Harmens, H.; Norris, D.; Mills, G. (2013): Heavy metals and nitrogen in mosses. Spatial patterns in 2010/2011 and long-term temporal trends in Europe. Bangor: Centre for Ecology & Hydrology.
- Heintz, Andreas; Reinhardt, Guido A. (1990): Chemie und Umwelt. Ein Studienbuch für Chemiker, Physiker, Biologen und Geologen ; mit 65 Tabellen. Braunschweig: Vieweg.

Hilberg, Sylke (2015): Umweltgeologie. Eine Einführung in Grundlagen und Praxis. Berlin: Springer Spektrum (Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-46948-4>.

Jorma, Mohamed (2015): Moss. Classification, development and growth and functional role in ecosystems. New York: Nova Publishers (Botanical research and practices).

Kaim, Wolfgang; Schwederski, Brigitte (2010): Bioanorganische Chemie. Zur Funktion chemischer Elemente in Lebensprozessen. 4., durchges. Aufl., unveränd. Nachdr. Wiesbaden: Teubner (Teubner Studienbücher Chemie).

Kosior, G.; Samecka-Cymerman, A.; Chmielewski, A.; Wierzchnicki, R.; Derda, M.; Kempers, A. J. (2008): Native and transplanted *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. as a bioindicator of N deposition in a heavily industrialized area of Upper Silesia (S Poland). In: *Atmospheric Environment* 42 (6), S. 1310–1318. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2007.10.086.

Krachler, Michael (2010): Schwermetalle in der Umwelt. Auf Ultra-Spurensuche. In: *Chem. Unserer Zeit* 44 (1), S. 50–61. DOI: 10.1002/ciuz.200900501.

Kratz, W.; Schröder, W. (2009): Moosmonitoring. In: *Umweltwiss Schadst Forsch* 22 (1), S. 1–6. DOI: 10.1007/s12302-009-0098-5.

Krebs, Rolf; Egli, Markus; Schulin, Heinz Rainer; Tobias, Silvia; Chervet, Andreas; Fry, Patricia; Funk, Roger (Hg.) (2017): Bodenschutz für die Praxis. Uni-Taschenbücher GmbH. 1. Auflage 2017. Bern: Haupt Verlag (utb Ökologie, 4820).

Kutschera, Ulrich (2019): Physiologie der Pflanzen: Sensible Gewächse in Aktion. Berlin: LIT Verlag.

Leinweber, G.; Stegen, S.; Diaz-Palma, P. (2009): Increase of total glutathione as a response to Cd induced stress in a chilean endemic bryophytes. In: *J. Chil. Chem. Soc.* 54 (4). DOI: 10.4067/S0717-97072009000400017.

Lichtfouse, Eric; Schwarzbauer, Jan; Robert, Didier (Hg.) (2013): Green Materials for Energy, Products and Depollution. Dordrecht, s.l.: Springer Netherlands (Environmental Chemistry for a Sustainable World, 3). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-6836-9>.

Mauseth, James D. (2009): Botany. An introduction to plant biology. 4th ed. Sudbury, Mass: Jones and Bartlett Publishers.

Merian, Ernest (1984): Metalle in der Umwelt. Weinheim usw., Basel: Verl. Chemie.

Mersch, J.; Reichard, M. (1998): In Situ Investigation of Trace Metal Availability in Industrial Effluents Using Transplanted Aquatic Mosses. In: *Archives of environmental contamination and toxicology* 34 (4), S. 336–341. DOI: 10.1007/s002449900327.

Motyka, Oldřich; Čecháková, Kateřina; Válová, Eliška; Macečková, Barbora; Stalmachova, Barbara (2014): Investigation of the influence of nickel in precipitation through the surface

properties of moss *Pleurozium schreberi*. In: *Carpathian journal of earth and environmental sciences* 9.

Nentwig, Wolfgang (2005): Humanökologie. Fakten - Argumente - Ausblicke. 2., völlig überarbeitete und aktualisierte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/b138755>.

Popper, Zoë A; Fry, Stephen, C (2003): Primary Cell Wall Composition of Bryophytes and Charophytes. In: *Annals of Botany* 91 (1), S. 1–12. DOI: 10.1093/aob/mcg013.

Porley, Ron D. (2013): England's rare mosses & liverworts. Their history, ecology and conservation. Princeton, N.J: Princeton University Press. Online verfügbar unter <http://www.jstor.org/stable/10.2307/j.ctt2jc908>.

Pradhan, Abanti; Kumari, Sony; Dash, Saktisradha; Biswal, Durga Prasad; Dash, Aditya Kishore; Panigrahi, Kishore C. S. (2017): Heavy Metal Absorption Efficiency of two Species of Mosses (*Physcomitrella patens* and *Funaria hygrometrica*) Studied in Mercury Treated Culture under Laboratory Condition. In: *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 225, S. 12225. DOI: 10.1088/1757-899X/225/1/012225.

Prasad, M. N. V.; Hagemeyer, J. (1999): Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Prigge, Michael J.; Bezanilla, Magdalena (2010): Evolutionary crossroads in developmental biology. *Physcomitrella patens*. In: *Development (Cambridge, England)* 137 (21), S. 3535–3543. DOI: 10.1242/dev.049023.

Reißer, Werner; Dux, Franz-Martin; Möschke, Monika (2016): Pflanzenanatomischer Grundkurs. Module für die differenzierte Gestaltung.

Rensing, Stefan A.; Lang, Daniel; Zimmer, Andreas D.; Terry, Astrid; Salamov, Asaf; Shapiro, Harris et al. (2008): The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. In: *Science (New York, N.Y.)* 319 (5859), S. 64–69. DOI: 10.1126/science.1150646.

Rother, Michael; Krauss, Gerd-Joachim; Grass, Gregor; Wesenberg, Dirk (2006): Sulphate assimilation under Cd²⁺ stress in *Physcomitrella patens*--combined transcript, enzyme and metabolite profiling. In: *Plant, cell & environment* 29 (9), S. 1801–1811. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2006.01557.x.

Sabovljević, Marko S.; Weidinger, Marieluise; Sabovljević, Aneta D.; Adlassnig, Wolfram; Lang, Ingeborg (2018): Is the Binding Pattern of Zinc(II) Equal in Different Bryophyte Species? In: *Microscopy and microanalysis : the official journal of Microscopy Society of America, Microbeam Analysis Society, Microscopical Society of Canada* 24 (1), S. 69–74. DOI: 10.1017/S143192761800003X.

Santos, Rodrigo W.; Schmidt, Éder C.; L Felix, Marthiellen R. de; Polo, Luz K.; Kreusch, Marianne; Pereira, Debora T. et al. (2014): Bioabsorption of cadmium, copper and lead by the red macroalga *Gelidium floridanum*. Physiological responses and ultrastructure features.

In: *Ecotoxicology and environmental safety* 105, S. 80–89. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.02.021.

Sassmann, Stefan; Adlassnig, Wolfram; Puschenreiter, Markus; Cadenas, Edwin Julio Palomino; Leyvas, Mario; Lichtscheidl, Irene K.; Lang, Ingeborg (2015a): Free metal ion availability is a major factor for tolerance and growth in *Physcomitrella patens*. In: *Environmental and Experimental Botany* 110, S. 1–10. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2014.08.010.

Sassmann, Stefan; Weidinger, Marieluise; Adlassnig, Wolfram; Hofhansl, Florian; Bock, Barbara; Lang, Ingeborg (2015b): Zinc and copper uptake in *Physcomitrella patens*. Limitations and effects on growth and morphology. In: *Environmental and Experimental Botany* 118, S. 12–20. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.003.

Sassmann, Stefan; Wernitznig, Stefan; Lichtscheidl, Irene K.; Lang, Ingeborg (2010): Comparing copper resistance in two bryophytes. *Mielichhoferia elongata* Hornsch. versus *Physcomitrella patens* Hedw. In: *Protoplasma* 246 (1-4), S. 119–123. DOI: 10.1007/s00709-010-0106-z.

Schubert, Rudolf; Wagner, Günther (1993): Botanisches Wörterbuch. Pflanzennamen und botanische Fachwörter ; mit einer "Einführung in die Terminologie und Nomenklatur", einem Verzeichnis der "Autorennamen" und einem Überblick über das "System der Pflanzen". 11. Aufl. (Uni-Taschenbücher).

Schulze, Ernst-Detlef; Beck, Erwin; Müller-Hohenstein, Klaus (2002): Pflanzenökologie. Heidelberg: Spektrum Akad. Verl. (Spektrum-Lehrbuch).

Shakya, K.; Chettri, M. K.; Sawidis, T. (2008): Impact of heavy metals (copper, zinc, and lead) on the chlorophyll content of some mosses. In: *Archives of environmental contamination and toxicology* 54 (3), S. 412–421. DOI: 10.1007/s00244-007-9060-y.

Sigel, Astrid (Hg.) (2007): Nickel and its surprising impact in nature. Chichester: Wiley (Metal ions in life sciences, 2). Online verfügbar unter <http://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy0740/2006022828-b.html>.

Stanković, Jelena D.; Sabovljević, Aneta D.; Sabovljević, Marko S. (2018): Bryophytes and heavy metals. A review. In: *Acta Botanica Croatica* 77 (2), S. 109–118. DOI: 10.2478/botcro-2018-0014.

Stottmeister, Ulrich (2003): Biotechnologie zur Umweltentlastung. Wiesbaden: Vieweg+Teubner Verlag (Teubner-Reihe Umwelt). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-322-80045-9>.

Umweltbundesamt (Hg.) (2015): Moos-Monitoring. Online verfügbar unter <http://www.umweltbundesamt.at/moose1/>, zuletzt geprüft am 26.03.2019.

Umweltbundesamt (Hg.) (2016): Schwermetalle. Online verfügbar unter <http://www.umweltbundesamt.at/umweltsituation/luft/luftschaedstoffe/schwermetalle/>, zuletzt geprüft am 26.03.2019.

van Breemen, Nico (1995): How Sphagnum bogs down other plants. In: *Trends in Ecology & Evolution* 10 (7), S. 270–275. DOI: 10.1016/0169-5347(95)90007-1.

Vázquez, M. D.; López, J.; Carballeira, A. (1999): Uptake of heavy metals to the extracellular and intracellular compartments in three species of aquatic bryophyte. In: *Ecotoxicology and environmental safety* 44 (1), S. 12–24. DOI: 10.1006/eesa.1999.1798.

Wirth, Volkmar; Düll, Ruprecht (2000): Farbatlas Flechten und Moose. Stuttgart (Hohenheim): Ulmer.

Wu, Yanfang; Chen, Yahua; Yi, Yanjun; Shen, Zhenguo (2009): Responses to copper by the moss *Plagiomnium cuspidatum*. Hydrogen peroxide accumulation and the antioxidant defense system. In: *Chemosphere* 74 (9), S. 1260–1265. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.10.059.

Yadav, S. K. (2010): Heavy metals toxicity in plants. An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. In: *South African Journal of Botany* 76 (2), S. 167–179. DOI: 10.1016/j.sajb.2009.10.007.

Zambelli, Barbara; Uversky, Vladimir N.; Ciurli, Stefano (2016): Nickel impact on human health. An intrinsic disorder perspective. In: *Biochimica et biophysica acta* 1864 (12), S. 1714–1731. DOI: 10.1016/j.bbapap.2016.09.008.

Zechmeister, Harald (1994): Biomonitoring der Schwermetalldepositionen mittels Moosen in Österreich. Wien: Umweltbundesamt (Monographien / Umweltbundesamt, 42).

Zechmeister, Harald (2016): Moos-Monitoring in Österreich. Aufsammlung 2015 (Report / Umweltbundesamt).

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Campbell, Neil A.; Reece, Jane B.; Kratochwil, Anselm (2011): Biologie. 8., aktualisierte Aufl. München: Pearson Studium (Pearson Studium - Biologie). Online verfügbar unter http://wps.pearsoned.com/ema_de_bc_campbell_biology_8_cw_2005.