

**Fachgebiet Bodenbiologie  
am Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften  
der Universität Kassel**

**Die mikrobielle Besiedlung von  
Wurzeloberfläche und Rhizosphäre  
in ihrer Bedeutung für Stoffumsätze in Böden**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

vorgelegt von: Astrid Appuhn  
aus Northeim

1. Gutachter: Prof. Dr. R.G. Jörgensen
2. Gutachter: Prof. Dr. T. Müller

Witzenhausen, Dezember 2004

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>11</b>
1.1	Die Bedeutung der Rhizosphäre .....	11
1.2	Methoden zur Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse.....	12
1.2.1	Direkte Mikroskopie .....	12
1.2.2	Indirekte Verfahren zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse .....	13
1.2.3	Ermittlung der mikrobiellen Biomasse durch die quantitative Bestimmung mikrobieller Zellkomponenten.....	14
1.3	Zusammensetzung der mikrobiellen Besiedlung an Wurzeloberflächen, im Rhizosphärenboden und im Restboden.....	17
1.4	Problemstellung .....	18
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>20</b>
2.1	Methoden zur Bestimmung der mikrobiellen Gesamtbio­masse bzw. bakterieller und pilzlicher Biomasse und Nekromasse .....	20
2.1.1	Chloroform-Fumigations-Extraktions-Methode (CFE).....	20
2.1.2	Ergosterol.....	21
2.1.3	Aminozucker.....	22
2.1.4	Bodenatmung .....	22
2.1.5	Gesamtkohlenstoff und -stickstoff.....	23
2.2	Berechnung der mikrobiellen Biomasse an Wurzeln sowie der Bakterien- bzw. Pilzbiomasse und Nekromasse.....	23
2.2.1	Mikrobieller Kohlenstoff an den Wurzeln.....	23
2.2.2	Mikrobieller Stickstoff an den Wurzeln .....	24
2.2.3	Kohlenstoffgehalte der Bakterienbiomasse und Nekromasse aus den Muraminsäurewerten .....	24
2.2.4	Kohlenstoffgehalte der Pilzbiomasse und Nekromasse aus den Glucosaminwerten .....	25
2.3	Zusätzliche Kriterien bei der Auswertung der Ergebnisse.....	26
2.4	Statistik .....	27

<b>3</b>	<b>METHODENANPASSUNG in der Aminosuckeranalytik</b>	<b>29</b>
3.1	Herkunft und Bedeutung der Aminosucker im Boden .....	29
3.2	Aminosuckeranalyse mittels HPLC.....	31
<b>4</b>	<b>VERSUCH 1: Die mikrobielle Besiedlung von Wurzeln in Abhängigkeit von der Pflanzenart</b>	<b>37</b>
4.1	Versuchsbeschreibung .....	37
4.2	Ergebnisse .....	39
4.2.1	Verteilung der Bodenfraktionen .....	39
4.2.2	Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse und Nekromasse .....	40
4.2.3	Berechnung des Gehalts an bakteriellem und pilzlichem Kohlenstoff in mikrobieller Biomasse an Wurzeln.....	47
4.3	Diskussion .....	48
4.3.1	Betrachtung des Versuchsaufbaus und der Probenfraktionen .....	48
4.3.2	Indikatoren der mikrobiellen Biomasse.....	49
4.3.3	Mykorrhizaeinfluss auf die Ergosterolgehalte.....	51
4.3.4	Aminosucker in Rhizosphärenboden und Wurzeln.....	52
4.3.5	Berechnung des bakteriellen und pilzlichen Kohlenstoffs.....	54
4.3.6	Betrachtung einzelner Pflanzen und Familien .....	57
<b>5</b>	<b>VERSUCH 2: Die mikrobielle Besiedlung von Wurzeln in Abhängigkeit von der mikrobiellen Besiedlung des Gesamtbodens</b>	<b>59</b>
5.1	Versuchsbeschreibung .....	59
5.2	Ergebnisse .....	61
5.2.1	Verteilung der Bodenfraktionen .....	61
5.2.2	Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse .....	61
5.3	Diskussion .....	68
5.3.1	Betrachtung der untersuchten Bodentypen.....	68
5.3.2	Indikatoren der mikrobiellen Biomasse.....	69
5.3.3	Aminosucker in den Probenfraktionen .....	70

5.3.4	Pilzlicher und bakterieller Kohlenstoff an den Wurzeln.....	72
<b>6</b>	<b>VERSUCH 3: Die Bedeutung der mikrobiellen Besiedlung für den Abbau von Wurzeln nach teilweise oder vollständigem Entfernen der oberirdischen Biomasse</b>	<b>74</b>
6.1	Versuchsbeschreibung .....	74
6.2	Ergebnisse .....	76
6.2.1	Verteilung der Bodenfraktionen .....	76
6.2.2	Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse und Nekromasse am Wurzelmaterial.....	76
6.2.3	Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse und Nekromasse im Rest- und Rhizosphärenboden.....	84
6.2.4	Organischer Kohlenstoff und Gesamtstickstoff.....	87
6.2.5	CO <sub>2</sub> -Emission .....	87
6.3	Diskussion .....	88
6.3.1	Veränderung der untersuchten Indikatoren im Versuchsverlauf .....	88
6.3.2	Betrachtung der CO <sub>2</sub> -Emission im Versuchsverlauf .....	91
6.3.3	Betrachtung der Quotienten aus den untersuchten Messgrößen.....	91
6.3.4	Vergleiche der Gesamtbiomasse mit bakterieller und pilzlicher Biomasse und Nekromasse in den Probenfraktionen .....	92
6.3.5	Schlussbemerkung .....	93
<b>7</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNGEN &amp; AUSBLICK</b>	<b>95</b>
<b>8</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>98</b>
<b>9</b>	<b>LITERATUR</b>	<b>100</b>
<b>10</b>	<b>ANHANG</b>	<b>108</b>

## TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 2.1:	Mittelwerte verschiedener Muraminsäurekonzentrationen in Bakterien.....	25
Tab. 2.2:	Mittelwerte verschiedener Glucosaminkonzentrationen in Pilzen .....	26
Tab. 4.1:	Bodencharakteristika .....	38
Tab. 4.2:	Aufteilung der Probenfraktionen .....	39
Tab. 4.3:	Kohlenstoff-, Stickstoff- und Ergosterolgehalte der Wurzeln.....	41
Tab. 4.4:	Indikatoren der mikrobiellen Biomasse im Rhizosphärenboden.....	42
Tab. 4.5:	Ergosterolgehalte mykorrhizierter und nicht-mykorrhizierter Pflanzen .....	43
Tab. 4.6:	Aminozuckergehalte im Wurzelmaterial.....	44
Tab. 4.7:	Ermittelte Messgrößen im Vergleich der Pflanzenfamilien .....	47
Tab. 4.8:	Kohlenstoff aus Bakterien und Pilzen an Wurzeln.....	48
Tab. 5.1:	Verwendete Böden .....	59
Tab. 5.2:	Charakteristika der verwendeten Böden.....	60
Tab. 5.3:	Aufteilung der Proben in die Fraktionen Restboden, Wurzelmaterial und Rhizosphärenboden .....	61
Tab. 5.4:	Kohlenstoff, Stickstoff und Ergosterol an Wurzeln .....	62
Tab. 5.5:	C- und N-Gehalte der mikrobiellen Biomasse und Ergosterol im Restboden und Rhizosphärenboden .....	63
Tab. 5.6:	F-Werte einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den verschiedenen Böden (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) und der Nutzung (Ackerland, Grünland) als Faktoren und den Bodenfraktionen RZB und Restboden als repeated measures .....	64
Tab. 5.7:	Muraminsäure und Glucosamin in Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln .....	66
Tab. 5.8:	Quotienten der ermittelten Messgrößen in den drei Probenfraktionen.....	67

Tab. 5.9:	F-Werte einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den verschiedenen Böden (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) und der Nutzung (Ackerland, Grünland) als Faktoren und den Fraktionen Rhizosphärenboden und Restboden als repeated measures.....	67
Tab. 5.10:	Pilz-Bakterien-Verhältnis an Wurzeln.....	68
Tab. 6.1:	Aufteilung der Proben in die Fraktionen Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln .....	76
Tab. 6.2:	Schiefelösungs-Primärmuster-Matrix einer Hauptkomponentenanalyse für die unterschiedlichen Wurzelindikatoren pilzlicher, pflanzlicher und bakterieller Herkunft (Orthotran/Varimax Transformation) .....	83
Tab. 6.3:	F-Werte einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit dem Probentermin und Schnitt als Faktoren und den Fraktionen Rhizosphärenboden und Restboden als repeated measures .....	86
Tab. A-4.1:	Aminozuckergehalte: Muraminsäure, Glucosamin und Galactosamin im Rhizosphärenboden .....	108
Tab. A-4.2:	Quotienten der ermittelten Messgrößen im Rhizosphärenboden und in den Wurzeln .....	109
Tab. A-5.1:	(C/N) <sub>mik</sub> -Gehalte in den Bodenfraktionen und oberirdische Biomasse der Pflanzen .....	110
Tab. A-5.2:	C <sub>org</sub> - und N <sub>t</sub> -Gehalte sowie C <sub>org</sub> /N <sub>t</sub> -Verhältnis im Rest- und Rhizosphärenboden .....	110
Tab. A-5.3:	Galactosamin und Mannosamin in Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln .....	110
Tab. A-5.4:	Kohlenstoffgehalte der Biomasse und Nekromasse von Bakterien und Pilzen in den Probenfraktionen.....	111
Tab. A-5.5:	C-Verhältnis von Bakterien und Pilzen und Biomasseanteil in den Probenfraktionen; C-Gehalte der Pilz- und Bakterienbiomasse an Wurzeln ..	111
Tab. A-6.1:	Ergosterol, C <sub>mik</sub> und N <sub>mik</sub> in den Bodenfraktionen (Restboden und Rhizosphärenboden) und im Wurzelmaterial, an sechs Probenterminen, bei zwei Schnittvarianten ( <i>ab</i> und <i>2 cm</i> ) .....	112

Tab. A-6.2: Aminozuckergehalte (Muraminsäure, Glucosamin, Galactosamin und Mannosamin) in den Bodenfraktionen (Restboden und Rhizosphärenboden) und im Wurzelmaterial, an sechs Probenterminen, bei zwei Schnittvarianten ( <i>ab</i> und <i>2 cm</i> ).....	113
Tab. A-6.3: (C/N) <sub>mik</sub> -Verhältnis und Quotienten von Ergosterol zu C <sub>mik</sub> (%), sowie von C <sub>mik</sub> zu Glucosamin und Muraminsäure in den Bodenfraktionen und im Wurzelmaterial, an sechs Probenterminen, bei zwei Schnittvarianten ( <i>ab</i> und <i>2 cm</i> ).....	114
Tab. A-6.4: Quotienten von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure und Ergosterol im Wurzelmaterial, an sechs Probenterminen, bei zwei Schnittvarianten ( <i>ab</i> und <i>2 cm</i> ). .....	115
Tab. A-6.5: CO <sub>2</sub> -Emission an acht Messtagen, aus den Böden der zwei Schnittvarianten ( <i>ab</i> und <i>2 cm</i> ) und der Kontrolle .....	115
Tab. A-6.6: Organischer Kohlenstoff und Gesamtstickstoff sowie C <sub>org</sub> /N <sub>t</sub> -Verhältnisse in Restboden, Rhizosphärenboden und im Wurzelmaterial .....	116
Tab. A-6.7: Kohlenstoffgehalte von Pilzen (berechnet aus den Glc-N-Gehalten) in Wurzeln, RZB und Restboden.....	117
Tab. A-6.8: Kohlenstoffgehalte von Bakterien (berechnet aus den Mur-Gehalten) in Wurzeln, RZB und Restboden.....	117
Tab. A-6.9: Summe der C-Gehalte von Bakterien und Pilzen (berechnet aus den Gehalten von Glc-N & Mur) in Wurzeln, RZB und Restboden.....	117
Tab. A-6.10: Anteil der C-Gehalte von lebenden Bakterien und Pilzen in den Probenfraktionen .....	118
Tab. A-6.11: Pilz-Bakterien-Verhältnis an Wurzeln, RZB und Restboden.....	118

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 3.1: Chemische Struktur von Glucosamin, Galactosamin, Muraminsäure und Mannosamin .....	30
Abb. 3.2: Schematische Darstellung der OPA-Reaktion .....	31
Abb. 3.3: Chromatogramm Glc-N-Standard: Aufbewahrungszeit im Sampler frisch, 2, 4 und 8 Stunden.....	33
Abb. 3.4: Chromatogramm Standard-Mix: Aufbewahrungszeit im Sampler 13, 14, 44, 45 Stunden.....	33
Abb. 3.5: Chromatogramm eines Bodenhydrolysats, (a) vollständiger Lauf über 25 Minuten, (b) Vergrößerung der Periode zwischen 10 und 15 Minuten, für Mannosamin und Muraminsäure.....	35
Abb. 4.1: Quotienten von $C_{\text{mik}}$ zu Glucosamin bzw. von $C_{\text{mik}}$ zu Muraminsäure im Rhizosphärenboden (farblos) und im Wurzelmaterial (grau).....	45
Abb. 4.2: Quotienten Pilz-Glucosamin zu Ergosterol bzw. zu Muraminsäure im Rhizosphärenboden (farblos) und im Wurzelmaterial (grau).....	45
Abb. 6.1: $\text{CHCl}_3$ -labiler C [Variante ab ( $\diamond$ ), 2 cm ( $\blacklozenge$ )] und $\text{CHCl}_3$ -labiler N [Variante ab ( $\circ$ ), 2 cm ( $\bullet$ )] der Wurzeln an 6 Probenterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen.....	78
Abb. 6.2: $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte der Wurzeln an 6 Probenterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab ( $\circ$ ), Variante 2 cm ( $\bullet$ ).....	78
Abb. 6.3: Ergosterolgehalte der Wurzeln an 6 Probenterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab ( $\circ$ ), Variante 2 cm ( $\bullet$ ).....	78
Abb. 6.4: Muraminsäuregehalte an den Wurzeln bei 6 Probenterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab ( $\circ$ ), 2 cm ( $\bullet$ ). .....	80
Abb. 6.5: Pilz-Glucosamin an den Wurzeln bei 6 Probenterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab ( $\circ$ ), 2 cm ( $\bullet$ ). .....	80



Abb. 6.6: Galactosamin- und Mannosamingehalte an den Wurzeln bei 6 Probestermeninen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. ....	80
Abb. 6.7: Verhältnis von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure an den Wurzeln bei 6 Probestermeninen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (◇), 2 cm (◆).....	82
Abb. 6.8: Verhältnis von $C_{mik}^*$ zu Glucosamin an den Wurzeln bei 6 Probestermeninen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), Variante 2 cm (●).....	82
Abb. 6.9: Verhältnis von $C_{mik}^*$ zu Muraminsäure an den Wurzeln bei 6 Probestermeninen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), Variante 2 cm (●).....	82
Abb. 6.10: Ergosterol- (a), $C_{mik}$ - (b) und $N_{mik}$ -Gehalte (c) im Rest- und Rhizosphärenboden an 6 Probestermeninen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen.....	85
Abb. 6.11: CO <sub>2</sub> -Emission an 8 Messtagen bei den Varianten 2 cm (○), ab (◆) und den Kontrollböden ohne Bepflanzung (Δ).....	87

# ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
AEC	Adenylate-Energy-Charge
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
Bv	Bv-Material einer Parabraunerde
Bakt-C	bakterieller Kohlenstoff
CHCl <sub>3</sub>	Chloroform
C <sub>mik</sub>	Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse
C <sub>mik</sub> *	reeller mikrobieller Kohlenstoff an Wurzeln
C <sub>org</sub>	Organischer Kohlenstoff
C <sub>t</sub>	Gesamtkohlenstoff
Ergo	Ergosterol
Gal-N	Galactosamin
Glc-N	Glucosamin
Gris u Acker	Griserde unter Ackerland
Gris u Grünl	Griserde unter Grünland
h	Stunde(n)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IR-Detektor	Infrarot-Detektor
KAK	Kationenaustauschkapazität
Man	Mannosamin
min	Minute(n)
Mur	Muraminsäure
MW	Mittelwerte
Myk-Pflanzen	Pflanzen die eine Mykorrhiza ausbilden
n-Myk-Pflanzen	Pflanzen die eine natürliche Resistenz gegen die Ausbildung einer Mykorrhiza besitzen
N <sub>mik</sub>	Stickstoff der mikrobiellen Biomasse
N <sub>t</sub>	Gesamtstickstoff

OPA	O-Phthaldialdehyd
Para u Acker	Parabraunerde unter Ackerland
Para u Grünl	Parabraunerde unter Grünland
Pilz-C	pilzlicher Kohlenstoff
PLFA	Phospholipidfettsäuren
Pr-Termin	Probenahmetermin
Tab.	Tabelle
TB	Trockenboden
TM	Trockenmasse
Rest	Restboden
RZB	Rhizosphärenboden
Schw u Acker	Schwarzerde unter Ackerland
Schw u Grünl	Schwarzerde unter Grünland
W	Wurzeln
WHK	Wasserhaltekapazität

# 1 EINLEITUNG

Alle Lebewesen, ob Pflanzen, Tiere oder Mikroorganismen sind von ihrer Umwelt abhängig und beeinflussen sie ihrerseits. Eine Einheit von Lebensraum und darin lebenden Organismen wird als Ökosystem bezeichnet. Es gibt verschiedenste Ökosysteme auf der Erde (z.B. Wälder, Seen und Kulturpflanzenbestände wie Ackerland und Grünland). Die darin lebenden Organismen lassen sich in der Regel drei Hauptgruppen zuordnen: Primärproduzenten, Konsumenten und Reduzenten. Alle heterotrophen Organismen sind auf die von den Primärproduzenten (überwiegend grüne Pflanzen) vorgefertigten organischen Verbindungen angewiesen. Zum Aufbau der organischen Biomasse benötigen die Pflanzen neben Sonnenenergie, Kohlendioxid und Wasser anorganische Mineralstoffe aus dem Boden. Der Boden hat eine zentrale Bedeutung für die Funktion der terrestrischen Ökosysteme. Dort laufen die wesentlichen Teile der Stoffkreisläufe ab. Pflanzenwurzeln beeinflussen durch die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten die Lebensbedingungen der Mikroorganismen in ihrer Umgebung und mit dem Absterben der Pflanzen setzt der Abbau der organischen Substanz ein. Eine bedeutende Rolle in den Stoffkreisläufen spielen die Bodenmikroorganismen. Ihre wichtigsten Aufgaben sind der Abbau pflanzlicher und tierischer Substanzen sowie die Mobilisierung und Immobilisierung von Nähr- und Spurenelementen, auf welche die Pflanzen für ihre Ernährung essentiell angewiesen sind. Pflanzen sind also zum Überleben auf die Stoffwechselleistungen der Bodenmikroflora angewiesen und auch die Bodenmikroorganismen sind u.a. abhängig vom Pflanzenbewuchs, der Bodenart, der Bodenbearbeitung und dem Makro- und Mikroklima des jeweiligen Standortes (SCHINNER & SONNLEITNER, 1996).

## 1.1 Die Bedeutung der Rhizosphäre

Für den Übergangsbereich von Pflanze und Boden prägte Lorenz Hiltner (1862-1923) den Begriff der Rhizosphäre. Diese bildet den Bereich des Bodens, der von Pflanzenwurzeln physikalisch, chemisch und biologisch beeinflusst wird. Ein Merkmal des Rhizosphärenbodens ist die hohe mikrobielle Besiedlungsdichte verglichen mit dem übrigen Bodenbereich (MÜLLER, 1965). In die Rhizosphäre wird ein Großteil des von Pflanzen in der Photosynthese gewonnenen Kohlenstoffs abgegeben. Dadurch steht den hier lebenden Mikroorganismen eine bedeutende Energiequelle zur Verfügung, die in vielen anderen Teilen

des Bodens fehlt (CHENG et al., 1996; HELAL & SAUERBECK, 1986; NORTON et al., 1990). Die Rhizosphäre ist somit ein Bereich intensiver mikrobieller Aktivität, welche Pflanzen in ihrem Wachstum positiv oder negativ beeinflussen kann (GISI et al., 1997). Da Pflanzen in der Rhizosphäre Nährstoffe für ihr Wachstum aufnehmen, kann es unter Umständen zur Konkurrenz um Nährstoffe zwischen Pflanzen und Mikroorganismen kommen (MARSCHNER et al., 1986; OWEN & JONES, 2001). Die Rhizosphäre ist somit von besonderem Interesse in der Bodenbiologie, doch viele Verfahren zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse in Böden sind für die Rhizosphäre und auch die Rhizoplane nicht geeignet. Daher gibt es nach wie vor wenig Informationen über die quantitative Beteiligung der Rhizosphären- und Rhizoplanenorganismen an den mikrobiellen Stoffumsetzungen und deren Anteil an der Gesamtbiomasse im Boden.

Die Anwendung und der Vergleich verschiedener Methoden zur Messung der mikrobiellen Biomasse und bestimmter Zellinhaltsstoffe könnte wichtige Hinweise bei der Quantifizierung der Mikroorganismen in der Rhizosphäre und der Rhizoplane liefern.

## **1.2 Methoden zur Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse**

### **1.2.1 Direkte Mikroskopie**

Ein direktes Verfahren zur Bestimmung von Mikroorganismen im Boden ist die Mikroskopie. Die Organismen werden meist in Bodensuspensionen angefärbt und durch Ausstriche (FREY et al., 1999; POSTMA & ALTEMÜLLER, 1990), in Agarfilmen (JENKINSON et al., 1976; LIN & BROOKS, 1999a) oder mit Hilfe der Membranfiltermethode (WEST, 1988) fixiert. Durch anschließende licht- oder fluoreszenzmikroskopische Betrachtung können sie ausgezählt und vermessen werden. Doch trotz neuer Färbetechniken, vor allem im Bereich der Fluoreszenz-Mikroskopie (ALTEMÜLLER, 1989 & 1991), sowie der Möglichkeit der computergestützten Bildauswertung (BLOEM et al., 1995; MORGAN et al., 1991), ist die Mikroskopie ein sehr aufwendiges Verfahren, das eine Vielzahl von Fehlerquellen birgt. Die Zellen können durch Bodenteilchen verdeckt sein und oft ist es schwierig, die Zellwände lebender und toter Organismen zu unterscheiden. Selbst bei erfahrenen Beobachtern sind subjektive Einflüsse groß (JENKINSON & LADD, 1981; STAHL et al., 1995). Ferner ist der große Zeitaufwand für die Anfertigung der Präparate und die anschließende Messung ein weiteres Hindernis. Die heterogene Verteilung der Organismen im Boden macht zusätzlich

eine große Anzahl von Parallelen notwendig und gerade bei mehrfaktoriellen Experimenten können sehr viele Proben in relativ kurzer Zeit anfallen.

### **1.2.2 Indirekte Verfahren zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse**

Es wurden mehrere indirekte Verfahren zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse entwickelt, z.B. die Fumigations-Inkubations-Methode, Fumigations-Extraktions-Methode und die substratinduzierte Respiration.

Die Fumigations-Inkubations-Methode (CFI) (JENKINSON et al., 1976) beruht auf dem Prinzip, dass durch die Fumigation einer Bodenprobe mit Chloroform ein hoher Prozentsatz der mikrobiellen Biomasse abgetötet wird. Nach der Fumigation wird der so behandelte Boden mit einer unbehandelten Bodenprobe inokuliert und im Anschluss für 10 Tage bei 25 °C inkubiert. Während der Inkubation wird die abgetötete Biomasse mineralisiert, wobei das dabei freiwerdende CO<sub>2</sub> gemessen werden kann. Parallel dazu wird eine unbehandelte Bodenprobe unter gleichen Bedingungen inkubiert. Unter Verwendung eines Proportionalitätsfaktors kann dann aus der Differenz der fumigierten und unfumigierten Probe die mikrobielle Biomasse berechnet werden.

Auf den Grundlagen der CFI-Methode basierend wurde die Fumigations-Extraktions-Methode entwickelt. Wie bei der CFI-Methode wird eine Bodenprobe mit Chloroform begast. Der durch die Lyse der Zellen freigewordene Kohlenstoff, Stickstoff oder Phosphor ist nach der Fumigation mittels einer K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung extrahierbar (JOERGENSEN et al., 1996c). Parallel wird eine unfumigierte Probe mit K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> extrahiert. Im Anschluss kann in den Extrakten der organische Kohlenstoff, Stickstoff oder Phosphor bestimmt werden. Aus der Differenz zwischen den Extrakten der fumigierten und nicht fumigierten Probe kann unter Berücksichtigung eines Korrekturfaktors (BROOKES et al., 1982 & 1985; JÖRGENSEN, 1995a; WU et al., 1990) der Kohlenstoff, Stickstoff oder Phosphor der mikrobiellen Biomasse bestimmt werden. Das Prinzip der Methode beruht darauf, dass die Zunahme der extrahierten Substanzen durch Fumigation proportional der mikrobiellen Biomasse ist, die im Boden vorhanden war (BROOKES et al., 1985; VANCE et al., 1987). Vorteile der CFE-Methode gegenüber der CFI-Methode sind, dass die Messung in einem weiten pH-Bereich möglich ist und der Gehalt von organischer Substanz und Ton im Boden für die Messung kaum eine Rolle spielt (KAISER et al., 1992).

Bei der substratinduzierten Respiration (SIR) wird einer Bodenprobe eine leicht verfügbare Substanz (Glucose) zugegeben. Die Atmung der Mikroorganismen wird daraufhin maximal angeregt und zeigt einen typischen Verlauf, der in Beziehung zur mikrobiellen Biomasse des Bodens steht. Vor dem Beginn des Wachstums der Mikroorganismen ist die initiale maximale Respirationsrate proportional der Biomasse und kann zur Berechnung des Kohlenstoffs der mikrobiellen Biomasse eingesetzt werden (ANDERSON & DOMSCH, 1978). Bei der selektiven Inhibierung können Bakterien und Pilze durch die Zugabe wachstumshemmender Substanzen, z.B. Streptomycin oder Cycloheximid (BEARE et al., 1990; LIN & BROOKES, 1999a & 1999b), unterschieden werden.

### **1.2.3 Ermittlung der mikrobiellen Biomasse durch die quantitative Bestimmung mikrobieller Zellkomponenten**

Adenosintriphosphat (ATP) kommt als Energieträger in allen lebenden Zellen vor und wird nach dem Tod der Zellen schnell abgebaut. Es kann zur Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse in Böden dienen (JENKINSON & LADD, 1981). Dazu wird ATP aus Böden extrahiert und mit verschiedenen Methoden, z.B. mit Hilfe des Luciferin-Luciferase-Systems (JENKINSON & OADES, 1979) oder mittels HPLC-Analyse (DYCKMANS & RAUBUCH, 1997), bestimmt. In Gegenwart von Pflanzenwurzeln ist eine Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse in Böden durch die Messung des ATP-Gehalts allerdings nicht möglich, da Wurzelzellen ebenfalls ATP enthalten.

Phospholipidfettsäuren (PLFA) sind Membranbestandteile aller lebenden Zellen und werden nach dem Tod des Organismus schnell abgebaut. Die Summe der PLFA in Böden kann zur Ermittlung der mikrobiellen Biomasse dienen. PLFA haben eine hohe Artspezifität und werden zur Bestimmung spezifischer Organismengruppen im Boden genutzt (TUNLID & WHITE, 1992). Für die Bestimmung der Pilzbiomasse in Böden wird oftmals PLFA 18:2 $\omega$ 6,9 genutzt (BÅÅTH & ANDERSON, 2003; BARDGETT & McALISTER, 1999). Nachteilig für eine Quantifizierung ist u.a. die variable Konzentration der PLFA in verschiedenen Pilzarten sowie die Abhängigkeit von den Wachstumsbedingungen, dem Alter des Myceliums und dem Volumen der Hyphen. Ein zusätzlicher Nachteil der PLFA 18:2 $\omega$ 6,9 ist ihr Vorkommen in anderen eucaryotischen Organismen, z.B. Pflanzen (KLAMER & BÅÅTH, 2004). Dadurch ist eine Quantifizierung der Pilzbiomasse durch die PLFA 18:2 $\omega$ 6,9 in Gegenwart von Pflanzenwurzeln nicht möglich.

Der Ergosterolgehalt eines Bodens kann zur Bestimmung der pilzlichen Biomasse genutzt werden (DAVIS & LAMAR, 1992; MONTGOMERY et al. 2000). Sterole sind Bestandteile von Zellmembranen, sie steuern ihre Permeabilität, Mikroviskosität und die Aktivität membrangebundener Enzyme (PEACOCK & GOOSEY, 1989). Ergosterol ist das dominante Sterol der meisten Pilze und kommt nicht in höheren Pflanzen vor (WEETE & WEBER, 1980). Dies bedeutet, dass die Anwesenheit von Wurzeln keinerlei Störung bei der Messung verursacht. Nach dem Absterben der Pilze wird Ergosterol schnell abgebaut (NEWELL, 1992), wodurch es sich gut als Indikator für die lebende pilzliche Biomasse im Boden eignet. Da Ergosterol ein Membranbestandteil ist, hat es auch einige Nachteile, die schon bei den Phospholipidfettsäuren beschrieben wurden, z.B. die Variabilität bei verschiedenen Pilzarten sowie der Einfluss von Alter und Volumen der Hyphen auf die Konzentration (KLAMER & BÅÅTH, 2004). Uneinigkeit herrscht über das Vorkommen von Ergosterol in Mykorrhiza bildenden Pilzen. Während FREY et al. (1992) Hinweise auf Ergosterol fanden, konnten bei GRANDMOUGIN-FERJANI et al. (1999), OLSSON et al. (2003) und SCHMITZ et al. (1991) in keiner der untersuchten Spezies der arbuskulären Mykorrhizapilze Ergosterol nachgewiesen werden. Es besteht also weiterer Forschungsbedarf hinsichtlich der Frage, ob die quantitative Bestimmung pilzlicher Biomasse an Wurzeln mit Ergosterol möglich ist.

Aminozucker wurden oftmals zur Abschätzung des mikrobiellen Beitrags an der organischen Substanz im Boden eingesetzt (AMELUNG et al., 2001; ZHANG et al., 1999). Sie sind unterschiedlichen mikrobiellen Ursprungs und kommen in höheren Pflanzen nicht vor (STEVENSON, 1982; ZHANG et al., 1998). Aminozucker sind für die Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse in Böden nicht geeignet. Als Zellwandbestandteile haben sie den Nachteil, dass sie nach dem Absterben eines Organismus nicht sofort abgebaut werden, sondern sich in der organischen Substanz anreichern. Außerdem variiert der Glucosamingehalt in Pilzen und der Muraminsäuregehalt in Bakterien bei den unterschiedlichen Arten und mit dem Alter der Organismen (AMELUNG, 2001; COELHO et al., 1997). Die Quotienten von Glucosamin zu Galactosamin, sowie Glucosamin zu Muraminsäure wurden zur Bewertung des relativen Beitrags von Pilzen und Bakterien auf den Umsatz und die Anreicherung der organischen Substanz in Böden genutzt (SOLOMON et al., 2001; ZHANG & AMELUNG, 1996). CHANTIGNY et al. (1997) nutzten Muraminsäure und Glucosamin erfolgreich zur Unterscheidung des bakteriellen und pilzlichen Beitrags zur Bodenaggregation. Da Aminozucker in höheren Pflanzen nicht vorkommen, müsste es auf frisch besiedelten Substraten wie Wurzeln noch möglich sein, die pilzliche Biomasse mit



Glucosamin (EKBLAD & NÄSHOLM, 1996) und die bakterielle Biomasse mit Muraminsäure (RÖNKKÖ et al., 1994) zu bestimmen.

Muraminsäure kommt ausschließlich in Prokaryoten vor und wurde zur Bestimmung der Biomasse von Bakterien und Cyanobakterien genutzt (ZELLES & ALEF, 1995). Sie ist Bestandteil des Peptidoglycans in Bakterienzellwänden, welches sich aus geraden unverzweigten Ketten von N-acetyl-Glucosamin und N-acetyl-Muraminsäure zusammensetzt. Die beiden Bestandteile sind in alternierender Reihenfolge miteinander verknüpft, wobei an den Muraminsäuregliedern Aminosäuren peptidisch gebunden sind (SCHLEGEL, 1992).

Glucosamin kommt wie die Muraminsäure im Peptidoglycan von Bakterien vor. Außerdem ist es als Hauptbestandteil des Chitins, welches vorwiegend aus unverzweigten N-acetyl-Glucosaminketten besteht, ein wesentlicher Bestandteil der Zellwände großer Pilzgruppen. Auch das Exoskelett von Wirbellosen enthält Chitin (TUNLID & WHITE 1992). Um den Beitrag von pilzlichem Glucosamin zu ermitteln, wurde von der Annahme ausgegangen, dass das molare Verhältnis von Muraminsäure zu Glucosamin in der Bakterienzellwand 1:1 ist (ZELLES & ALEF, 1995). Der Anteil des bakteriellen Glucosamins kann damit vom Gesamtglucosamin abgezogen werden. Der Beitrag des aus Wirbellosen stammenden Glucosamins ist unbedeutend, da ihre Biomasse im Vergleich zu der der Mikroorganismen sehr gering ist (AMELUNG, 2001).

Es wird angenommen, dass das meiste Galactosamin im Boden bakteriellen Ursprungs ist. Galactosamin kommt häufig in kapselförmigen und extrazellulären Polysacchariden vor, kann aber auch Bestandteil der Bakterienzellwand sein. In einigen Pilzgruppen wurden geringe Mengen Galactosamin gefunden (AMELUNG, 2001).

Über die Herkunft von Mannosamin im Boden ist wenig bekannt. Meist wurde ihm ein bakterieller Ursprung zugeschrieben, doch COELHO et al. (1997) konnten auch geringe Mengen im Pilzmelanin nachweisen. Desgleichen fanden GLASER et al. (2004) eine kleinere Menge in Pilzen, während sie nur unbedeutende Mengen Mannosamin und Galactosamin in Aktinomyceten entdeckten.

### **1.3 Zusammensetzung der mikrobiellen Besiedlung an Wurzeloberflächen, im Rhizosphärenboden und im Restboden**

Die mikrobielle Biomasse im Boden wird allgemein von Pilzen dominiert. Das Verhältnis von Pilzen zu Bakterien variiert in unterschiedlichen Böden, es ist u.a. abhängig vom Bodentyp und der Bearbeitungsform. Bei ANDERSON & DOMSCH (1978) lag der Quotient in verschiedenen Braunerden bei 4 : 1 (Pilze : Bakterien) und in einer Schwarzerde bei 9 : 1. LIN & BROOKES (1999 b) fanden Quotienten von 4 : 1 bzw. 3 : 1 unter einem Grünlandboden und einer Grünland - Acker - Rotation. Bei BARDGETT und McALISTER (1999) war das Verhältnis von Pilzen zu Bakterien etwas geringer. Sie ermittelten einen Quotienten von 2 : 1 in verschiedenen Grünlandböden.

Im Gegensatz zum Restboden (Nicht-Rhizosphärenboden) spielen die Bakterien bei der Besiedlung des Rhizosphärenbodens eine größere Rolle als die Pilze (VANČURA & KUNC, 1977). In der Rhizosphäre wird die Zusammensetzung der Mikroorganismen durch die Nähe zur Wurzel beeinflusst. Durch die Abgabe von Wurzelexsudaten und abgestoßenem Wurzelgewebe wird das mikrobielle Wachstum stimuliert. Allgemein wird angenommen, dass die Pilze in der Rhizosphäre eine geringere Förderung erfahren als die Bakterien und damit relativ weniger wichtig sind (SCHINNER & SONNLEITNER, 1996; KILHAM, 1994). Auch an den Wurzeloberflächen werden die Bakterien als dominierend gegenüber den Pilzen angegeben. SPARLING (1985) und SCHINNER & SONNLEITNER (1996) erwähnen, dass die Besiedlung der Wurzeloberflächen durch Bakterien etwa zwei- bis dreimal so hoch sein kann wie die Besiedlung durch Pilze.

Verglichen mit dem Restboden gibt es nur wenige Informationen über die Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse im Rhizosphärenboden und vor allem an den Wurzeloberflächen. Auch über die Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse bei der Alterung von Wurzeln bzw. in der Absterbephase und eine damit einhergehende mögliche Verschiebung der Relationen von Bakterien zu Pilzen gibt es keine genaueren Angaben.

## 1.4 Problemstellung

Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung der mikrobiellen Besiedlung von Wurzeloberfläche und Rhizosphäre für Stoffumsätze in Böden zu erfassen. Im Vordergrund stand das Überprüfen und Verifizieren folgender Hypothesen:

1. Die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen lässt sich mit Ergosterol (Pilze) und Muraminsäure (Bakterien) quantitativ erfassen.
2. Die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen unterscheidet sich in Größe und Zusammensetzung von der mikrobiellen Zersetzergemeinschaft eines Bodens.
3. Beim Absterben von Wurzeln spielen die Interaktionen von Rhizopflanzen-, Rhizosphären- und Bodenmikroorganismen eine entscheidende Rolle für den Abbau der Wurzeln und die Freisetzung der in ihnen enthaltenen Nährstoffe.

Zu diesem Zweck wurden drei Gefäßversuche im Gewächshaus durchgeführt:

Im ersten Versuch wurde der Einfluss der Pflanzenart auf die mikrobielle Besiedlung der Wurzeln und des Rhizosphärenbodens untersucht. Dabei wurde die Eignung von Ergosterol und Muraminsäure zur Quantifizierung von Pilz- und Bakterienbiomasse auf Wurzeloberflächen überprüft (Hypothese 1).

Im zweiten Versuch wurden verschiedene Böden untersucht, die sich hinsichtlich des Bodentyps und der Nutzungform (Ackerland, Grünland) unterschieden. Es sollte überprüft werden, inwieweit sich die Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse im Boden von der an Wurzeloberflächen unterscheidet (Hypothese 2).

Aufbauend auf den Ergebnissen der ersten beiden Versuche sollte im dritten Versuch das Verhalten der rhizopflanzen Organismen während des Absterbens der Wurzel beobachtet werden. Gleichzeitig sollte untersucht werden inwieweit sich die Größe und Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse an der Wurzel verändert und welche Auswirkungen dies auf die Mikroorganismen der Rhizosphäre und des Restbodens hat. Es wurde davon ausgegangen, dass die Interaktionen zwischen Pflanze, mikrobieller Biomasse und mikrobiellen Residuen eine wichtige Funktion für die Mobilisierung und Immobilisierung von Pflanzennährstoffen haben (Hypothese 3).

Die drei Gefäßversuche werden nacheinander in den Kapiteln vier, fünf und sechs dargestellt. Durch die Anwendung einiger der zuvor beschriebenen Methoden sollte versucht werden, die mikrobielle Biomasse bzw. Residualmasse an der Wurzeloberfläche, im Rhizosphärenboden

und im umgebenden Restboden zu vergleichen. Dabei wurde die CFE-Methode zur Erfassung der mikrobiellen Biomasse eingesetzt, Ergosterol diente als Indikator für die pilzliche Biomasse und die Aminosucker sollten Aufschluss geben über die mikrobielle Biomasse und Nekromasse in den drei Probenfraktionen.

Für die Bestimmung der Aminosucker sollte die von ZELLES (1988) beschriebene Methode insoweit modifiziert werden, dass die vier wichtigsten Aminosucker in Böden, Glucosamin, Galactosamin, Muraminsäure und Mannosamin gleichzeitig gemessen werden konnten. Dies sollte sowohl in Boden- als auch Wurzelhydrolysaten als automatisiertes Standardverfahren mit Hilfe der Hochleistungs-Umkehr-Phasen-Chromatographie erfolgen. Eine genaue Beschreibung der Methodenanpassung in der Aminosuckeranalytik erfolgt in Kapitel drei.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Methoden zur Bestimmung der mikrobiellen Gesamtbio­masse bzw. bakterieller und pilzlicher Bio­masse und Nekromasse

Für die Analysen wurden die Boden- und Wurzelproben in feuchtem Zustand verwendet. Die Ergebnisse werden pro Gramm Trockensubstanz angegeben. Ergosterol und mikrobielle Bio­masse (CFE-Methode) wurden innerhalb von vier Tagen nach der Ernte gemessen. Für die Aminosucker (Glucosamin, Muraminsäure, Galactosamin, Mannosamin) wurden Teilproben eingefroren, um sie zu einem späteren Zeitpunkt zu analysieren.

#### 2.1.1 Chloroform-Fumigations-Extraktions-Methode (CFE)

Die Bestimmung von  $C_{\text{mik}}$  und  $N_{\text{mik}}$  erfolgte mittels der Chloroform-Fumigations-Extraktions-Methode (CFE) nach VANCE et al. (1987) und JOERGENSEN (2000). Es wurden Teilproben der Wurzeln (2 g), des Rhizosphärenbodens (4 g) bzw. des Restbodens (10 g) mit 30, 16 bzw. 40 ml 0,5 M  $K_2SO_4$ -Lösung versetzt und daraus die extrahierbaren Mengen an C und N gewonnen. In parallel eingewogenen Proben wurden durch Fumigation mit  $CHCl_3$  über 24 h die Zellmembranen lebender Mikroorganismen zerstört, wodurch das in ihnen vorhandene C und N freigesetzt wurde. Die fumigierten Proben wurden nach 24 h ebenfalls mit 0,5 M  $K_2SO_4$ -Lösung extrahiert. Der organische Kohlenstoff und der Gesamtstickstoff in den Extrakten wurden an einem Dimatoc 100 gemessen. Dabei wird der organische Kohlenstoff durch thermisch-katalytische Oxidation bei 850 °C zu  $CO_2$  umgewandelt, welches mittels Infrarot-Spektrometrie erfasst wird. Im Anschluss werden die in der Probe vorhandenen stickstoffhaltigen Oxide bei einer Temperatur von 330 °C in reines Stickstoffmonoxid (NO) überführt. Durch Zugabe von Ozon ( $O_3$ ) bildet sich angeregtes Stickstoffdioxid ( $NO_2^*$ ), welches sofort nach seiner Bildung wieder zu Stickstoffmonoxid und Sauerstoff ( $O_2$ ) zerfällt. Die hierbei abgegebene Energie kann durch Chemolumineszenzdetektion erfasst werden.

Aus der Differenz zwischen den Extrakten der fumigierten und der nicht fumigierten Probe kann der mikrobielle Kohlenstoff und Stickstoff nach den folgenden Formeln berechnet werden:

$$C_{\text{mik}} = E_C / k_{\text{EC}}$$

$E_C$  = (organischer Kohlenstoff, extrahiert aus fumigierten Böden) – (organischer Kohlenstoff, extrahiert aus nicht fumigierten Böden)

$$k_{\text{EC}} = 0,45$$

$$N_{\text{mik}} = E_N / k_{\text{EN}}$$

$E_N$  = (Gesamt-N, extrahiert aus fumigierten Böden) – (Gesamt-N, extrahiert aus nicht fumigierten Böden)

$$k_{\text{EN}} = 0,54$$

Die Korrekturfaktoren  $k_{\text{EC}}$  und  $k_{\text{EN}}$  entsprechen dem extrahierbaren Teil des in der mikrobiellen Biomasse gebundenen Kohlenstoffs (JÖRGENSEN, 1995a; JOERGENSEN, 1996a; WU et al., 1990) bzw. dem extrahierbaren Teil des in der mikrobieller Biomasse gebundenen Stickstoffs (BROOKES et al., 1985; JOERGENSEN & MUELLER, 1996b) im Boden. Sie wurden bei der Berechnung des  $C_{\text{mik}}$  bzw.  $N_{\text{mik}}$  im Rhizosphärenboden und Restboden verwendet. Da im Gegensatz zum Boden für Wurzelmaterial keine Korrekturfaktoren existieren, entsprechen die Gehalte des  $\text{CHCl}_3$ -labilen C und N der Wurzeln den berechneten  $E_C$  bzw.  $E_N$ -Werten.

### 2.1.2 Ergosterol

Die Ergosterolbestimmung erfolgte nach DJAJAKIRANA et al. (1996). Teilproben von Wurzeln (1 g), Rhizosphärenboden (3 g) und Restboden (3 g) wurden mit 100 ml Ethanol auf einem Horizontalschüttler extrahiert (30 min, 250 rev. min<sup>-1</sup>). Extrakt und Probenmaterial wurden anschließend mit einem Glasfaserfilter (Whatmann GF/A) in einer Absauganlage getrennt. Das Extrakt wurde bis zur Trockenheit eingengt und dann in 10 ml Methanol aufgenommen. Nach erneuter Reinigung des Extraktes mit einem Spritzenmembranfilter (Cellulose-Acetat-Filter, 2 cm Durchmesser, Porengröße 0,45 µm) wurde eine Teilprobe zur Messung an der HPLC in ein Braunglas HPLC-Vial überführt. Das Methanolextrakt wird von einem Probengeber (Gynkotek GINA 50) der HPLC (Gynkotek 480) über eine 200 µl Probenschleife (Rheodyne) auf die Trennsäule (Spherisorb ODS II, 5 µm; Vorsäule: Phenomenex C18, ODS, 4 mm Länge, 2 mm Durchmesser) gegeben, welche durch ein Säulentermostat (Dionex) auf 26 °C temperiert war. Die Trennung auf der Säule erfolgte isokratisch mit 100 % Methanol als mobile Phase bei einer Flussrate von 1,0 ml min<sup>-1</sup>, die Detektion mit einem Diodenarray-Detektor (Dionex 170 S) bei 282 nm.

### 2.1.3 Aminosucker

Die Aminosucker Muraminsäure, Glucosamin, Galactosamin und Mannosamin wurden mit einigen Modifikationen (siehe Kapitel 3) nach der Methode von ZELLES (1988) bestimmt. Proben von Wurzeln, Rhizosphärenboden und Restboden (jeweils 500 mg) wurden zunächst mit 6 M HCl unter Rückflusskühlung 3 h (Wurzeln), 4 h (Rhizosphärenboden) bzw. 6 h (Restboden) bei 105 °C hydrolysiert. Nach Abkühlung wurden Hydrolysat und Boden durch einen Glasfaserfilter (Whatmann GF/A) in einer Absauganlage voneinander getrennt. Ein Aliquot des Hydrolysats (Wurzeln 1 ml, Rhizosphärenboden und Restboden 0,5 ml) wurde in Reagenzgläsern bei 40 °C unter einem permanenten Luftstrom eingedampft. Die Proben wurden mit 0,5 ml H<sub>2</sub>O nachgespült und wiederholt eingedampft. Der Rückstand wurde anschließend in 1 ml H<sub>2</sub>O aufgenommen, in Eppendorfgläser überführt und 10 min bei 13 000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen, in kleine Probengefäße überführt und bis zur Messung tiefgefroren.

Zur Quantifizierung der Aminosucker wurden die Proben mit O-Phthaldialdehyd derivatisiert und mittels Hochleistungs-Umkehr-Phasen-Chromatographie mit fluoreszenzphotometrischer Detektion bestimmt.

### 2.1.4 Bodenatmung

Die CO<sub>2</sub>-Freisetzung wurde zweimal täglich, morgens und abends, an den Versuchsgefäßen mit völlig entfernter oberirdischer Biomasse und auf 2 cm gekürzten Blattlängen (Versuch 3), sowie an einigen Kontrollen (Gefäße mit Boden ohne Bepflanzung) gemessen. Die Messungen wurden mit einem CIRAS-1 (Combined Infrared Gas Analysis System) durchgeführt. Bei dem Gerät von PPSystems (Hitchin, Großbritannien) handelt es sich um einen tragbaren Kohlenstoffdioxid-Wasser-Infrarot-Gasanalysator. Es ist konstruiert als Absorptionsmeter mit Mikroprozessorkontrolle, automatischer Kalibrierung (alle 60 Sekunden), eingebauter Ansaugpumpe für die Luft, Bodenthermometer, Datenlogger und automatischem Datentransfer zu einem Computer (BLANKE, 1996). Eine zylindrische Bodenatmungskammer mit 1,1 l Rauminhalt ist über Kunststoffschläuche mit einem Infrarot-Gasanalysator verbunden. Das durch die Bodenatmung entstehende CO<sub>2</sub> wird in der Kammer angereichert und in einem geschlossenen System mit dem Infrarot-Gasanalysator bestimmt. Dabei wird über einen definierten Messzeitraum von bis zu zwei Minuten auf vier Kanälen gleichzeitig der absolute CO<sub>2</sub>- und Wassergehalt der Gasfraktion in der Bodenatmungskammer und die Differenzkonzentration zur umgebenden Außenluft gemessen. Der Messbereich der Bodenatmung liegt zwischen 0,01 und 9,99 g CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> (KIRSCH et

al., 2000). Der Infrarot-Gasanalysator misst in einem Bereich von 0 bis 2000 ppm CO<sub>2</sub> mit einer Präzision von ± 1 % FSD und einer Auflösung bis 1 ppm CO<sub>2</sub>. Vor jeder Messung kalibriert sich der Infrarot-Gasanalysator automatisch mit Umgebungsluft.

### **2.1.5 Gesamtkohlenstoff und -stickstoff**

Die Bestimmung des Gesamtkohlenstoffs und Gesamtstickstoffs erfolgte gaschromatographisch nach Verbrennung bei 900 °C in einem Elementaranalysator (VarioMAX) am Institut für Bodenkunde der Universität Göttingen. Die Proben wurden vor der Bestimmung mindestens 24 Stunden bei 45 °C (Wurzeln) bzw. 105 °C (Boden) getrocknet und anschließend in einer Schwingmühle homogenisiert.

Die Karbonatgehalte wurden gegebenenfalls manometrisch mittels einer Scheibler-Apparatur bestimmt. Der organische Kohlenstoff wurde anschließend aus der Differenz von Gesamtkohlenstoff minus Karbonat-C ermittelt.

## **2.2 Berechnung der mikrobiellen Biomasse an Wurzeln sowie der Bakterien- bzw. Pilzbiomasse und Nekromasse**

### **2.2.1 Mikrobieller Kohlenstoff an den Wurzeln**

Bei der Begasung von Wurzelmaterial mit Chloroform werden Zellmembranen lebender Organismen zerstört. Neben den Mikroorganismen werden auch die Membranen der lebenden bzw. gerade abgetöteten Wurzeln durch das Chloroform angegriffen. Damit werden die Zellinhalte teilweise extrahierbar (MUELLER et al. 1992). Der aus den Wurzelproben gewonnene Kohlenstoff stammt daher größtenteils aus den Wurzeln selbst und wird folglich als Chloroform-labiler Kohlenstoff bezeichnet. Der Gehalt des mikrobiellen Kohlenstoffs an den Wurzeln kann nach einer Formel von JOERGENSEN (2000) berechnet werden. Da das Verhältnis von Ergosterol zu C<sub>mik</sub> im Restboden und im Rhizosphärenboden fast identisch ist, kann man von der Annahme ausgehen, dass das Gleiche für das Wurzelmaterial gilt. Der aus der mikrobiellen Biomasse stammende CHCl<sub>3</sub>-labile C der Wurzelfraktion kann dann nach der folgenden Formel berechnet werden:

$$D = C / (A + B) \times 2 \times 100,$$

wobei A das Ergosterol – C<sub>mik</sub>-Verhältnis (%) im Restboden, B das Ergosterol – C<sub>mik</sub>-Verhältnis (%) im Rhizosphärenboden, C die Ergosterolkonzentration im Wurzelmaterial und D die reelle C<sub>mik</sub>-Konzentration an den Wurzeln darstellt. Bei den folgenden Ergebnissen



wurde der durch diese Formel berechnete, mikrobielle Kohlenstoff an den Wurzeln als  $C_{\text{mik}}^*$  dargestellt.

Zur Berechnung des wurzelbürtigen Kohlenstoffs wurde der  $C_{\text{mik}}^*$ -Wert mit dem Korrekturfaktor  $k_{\text{EC}}$  multipliziert, da dieser Faktor sowohl im Ergosterol -  $C_{\text{mik}}$ -Verhältnis des Rhizosphärenbodens als auch des Restbodens enthalten ist. Der so ermittelte  $E_{\text{C}}$ -Wert der mikrobiellen Biomasse wurde im Anschluss vom  $\text{CHCl}_3$ -labilen C der Wurzelfraktion subtrahiert, um den  $E_{\text{C}}$ -Wert der Wurzeln abzuschätzen.

### **2.2.2 Mikrobieller Stickstoff an den Wurzeln**

Bei der Begasung der Wurzeln mit Chloroform kann neben Kohlenstoff auch Stickstoff aus den Wurzelzellen freigesetzt werden. Unter der Annahme, dass das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse im Rhizosphärenboden etwa dem der mikrobiellen Biomasse an den Wurzeln entspricht, kann der mikrobielle Stickstoff ( $N_{\text{mik}}^*$ ) berechnet werden. Dafür wurde der  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt der Wurzeln durch das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse im Rhizosphärenboden geteilt. Der im Folgenden als  $N_{\text{mik}}^*$  bezeichnete mikrobielle Stickstoff an den Wurzeln wurde nach dieser Formel berechnet.

Zur Berechnung des wurzelbürtigen Stickstoffs wurde, ähnlich wie zuvor beim Kohlenstoff, der  $N_{\text{mik}}^*$ -Wert mit dem Korrekturfaktor  $k_{\text{EN}}$  multipliziert. Der so ermittelte  $E_{\text{N}}$ -Wert der mikrobiellen Biomasse wurde im Anschluss vom  $\text{CHCl}_3$ -labilen N der Wurzelfraktion subtrahiert, um den  $E_{\text{N}}$ -Wert der Wurzeln abzuschätzen.

### **2.2.3 Kohlenstoffgehalte der Bakterienbiomasse und Nekromasse aus den Muraminsäurewerten**

Muraminsäure kommt hauptsächlich in Bakterien vor. Auch in Aktinomyzeten und einigen Cyanobakterien wurde sie nachgewiesen (AMELUNG, 2001; JENDINSON & LADD, 1981). Das Stützskelett der Bakterienzellwand bildet das Peptidoglycan Murein. Hauptbestandteile des Mureins sind N-acetyl-Glucosamin und N-acetyl-Muraminsäure, die in alternierender Reihenfolge miteinander verknüpft sind (SCHLEGEL, 1992).

Die Muraminsäuregehalte in verschiedenen Bakterienarten variieren stark. Eine Auswahl der Muraminsäurekonzentrationen wird in Tabelle 2.1 gezeigt. Der durchschnittliche Muraminsäuregehalt von Bakterien würde nach dieser Rechnung bei  $8 \text{ mg g}^{-1}$  Trockenmasse liegen.

Unter der Annahme, dass der C-Gehalt von Bakterienzellen etwa 50 % beträgt, hätten wir 16 mg Muraminsäure pro g Bakterien-C. Der Umrechnungsfaktor von  $\mu\text{g}$  Muraminsäure in  $\mu\text{g}$  Bakterien-C würde dann 60 betragen ( $\mu\text{g}$  Muraminsäure  $\times$  60 =  $\mu\text{g}$  Bakterien-C).

Tab. 2.1: Mittelwerte verschiedener Muraminsäurekonzentrationen in Bakterien

Bakterienart	mg g <sup>-1</sup> Trockenmasse
Gram + Bakterien (2 Spezies) <sup>a</sup>	14,1
Gram - Bakterien (2 Spezies) <sup>a</sup>	3,9
Gram + Bakterien (5 Spezies) <sup>b</sup>	9,4
Gram - Bakterien (7 Spezies) <sup>b</sup>	3,4
Gram + Bakterien (7 Spezies) <sup>c</sup>	14,1
Gram - Bakterien (13 Spezies) <sup>c</sup>	3,8
Bodenbakterien <sup>d</sup>	6,6
Mittelwert	7,9

<sup>a</sup> Jørgensen et al. (1995), <sup>b</sup> Millar & Casida (1970),

<sup>c</sup> Moriarty (1977), <sup>d</sup> Glaser et al. (2004)

#### 2.2.4 Kohlenstoffgehalte der Pilzbiomasse und Nekromasse aus den Glucosaminwerten

Glucosamin ist neben der Muraminsäure Hauptbestandteil des Mureins und damit ein spezifischer Bestandteil der Zellwand von Prokaryonten. Außerdem ist das Glucosamin Hauptbestandteil des Chitins, welches überwiegend aus unverzweigten N-acetyl-Glucosamin-Ketten besteht. Die Zellwände einer großen Anzahl von Pilzen sowie das Exoskelett von wirbellosen Tieren enthalten Chitin. Das von Wirbellosen produzierte Glucosamin kann vernachlässigt werden, da die Biomasse von Aminozucker produzierenden Wirbellosen im Vergleich zu der der Mikroorganismen sehr gering ist (AMELUNG, 2001). Zur Ermittlung des pilzlichen Glucosamins wurde von der Annahme ausgegangen, dass das molare Verhältnis von Muraminsäure zu Glucosamin in der Bakterienzellwand 1:1 ist (ZELLES & ALEF, 1995). Folglich kann der Anteil des bakteriellen Glucosamins über den Muraminsäuregehalt berechnet und vom Gesamtglucosamin abgezogen werden.

Die Glucosamingehalte variieren stark bei verschiedenen Pilzarten und unterschiedlichen Mycelaltern (NEWELL, 1992; TUNLID & WHITE, 1992). Eine Auswahl der Glucosamingehalte verschiedener Pilze wird in Tabelle 2.2 gezeigt. Der durchschnittliche Glucosamingehalt von Pilzen würde nach dieser Rechnung bei 56 mg g<sup>-1</sup> Trockenmasse liegen.

Unter der Annahme, dass der C-Gehalt von Pilzzellen etwa 50 % beträgt, hätten wir ca. 112 µg Glucosamin pro mg Pilz-C. Der Umrechnungsfaktor von µg Glucosamin in µg Pilz-C würde dann etwa 10 betragen (µg Glucosamin x 10 = µg Pilz-C).

Tab. 2.2: Mittelwerte verschiedener Glucosaminkonzentrationen in Pilzen

Pilze	µg mg <sup>-1</sup> Trockenmasse
22 Stämme (Deuteromycotina) <sup>a</sup>	80
versch. Spezies <sup>b</sup>	39
Fusarium spp. <sup>b</sup>	80
VA-Mykorrhiza (4 Arten, externe Mycelien) <sup>c</sup>	30
Fruchtkörper <sup>d</sup>	77
Bodenpilze (kultiviert) <sup>c</sup>	27
Mittelwert	56

<sup>a</sup> Roche et al. (1993), <sup>b</sup> Hicks & Newell (1984), <sup>c</sup> Hepper (1977),  
<sup>d</sup> Jörgensen (1987), <sup>e</sup> Glaser et al. (2004)

### 2.3 Zusätzliche Kriterien bei der Auswertung der Ergebnisse

Bei der Betrachtung der Ergebnisse sollte man einige Aspekte berücksichtigen, die auch dazu beitragen, die teilweise relativ hohen Standardabweichungen zu erklären.

In den ersten beiden Versuchen wurde mit einer sechsfachen Probenwiederholung, im dritten Versuch mit einer fünffachen Wiederholung gearbeitet. Hierbei wurden nicht die Wurzeln und der Boden aus dem gleichen Gefäß mehrfach untersucht, sondern für jede Probe wurden in sechs bzw. fünf Gefäßen Pflanzen unter gleicher Behandlung angezogen, zum gleichen Zeitpunkt geerntet, das Probenmaterial aufgearbeitet und untersucht. Die Ergebnisse sind dementsprechend Mittelwerte, die sich aus den Untersuchungen unterschiedlicher pflanzlicher Individuen zusammensetzen.

Bei jeder Methode gibt es sogenannte Messfehler, die in die Ergebnisse mit einfließen. Meist sind diese Fehler unbedeutend im Verhältnis zum Umfang der gemessenen Werte, doch sollte man berücksichtigen, dass z.B. bei der CFE-Methode pro Ergebnis zwei Messungen durchgeführt werden, die der fumigierten und die der unfumigierten Probe, während bei der Ergosterol-Methode eine Messung ausreichend ist.

Um aus dem gemessenen Chloroform-labilen C der Wurzeln die reellen Kohlenstoffgehalte der mikrobiellen Biomasse an den Wurzeln ( $C_{\text{mik}}^*$ ) zu ermitteln, wurde, wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben, der mikrobielle Kohlenstoff der Wurzeln über das Verhältnis von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  in den Bodenfraktionen und die Ergosterolgehalte der Wurzeln berechnet. Hierdurch haben die Ergosterolgehalte der Wurzeln einen weitreichenden Einfluss auf die Größe der  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte der Wurzeln. Dabei wird angenommen, dass der Quotient von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  an den Wurzeln dem in den Bodenfraktionen gleicht.

Es wurden Faktoren für die Umrechnung von Glucosamin und Muraminsäure in pilzlichen bzw. bakteriellen Kohlenstoff erstellt. Dazu wurden die Glucosamin- bzw. Muraminsäuregehalte verschiedener Pilz- und Bakterienarten anhand von Literaturdaten aufgelistet. Aus den Mittelwerten dieser Daten wurden anschließend die Umrechnungsfaktoren ermittelt. Die Gehalte von Glucosamin in Pilzen und Muraminsäure in Bakterien haben aber eine sehr große Schwankungsbreite. Daher ist es möglich, dass die C-Gehalte von Bakterien und Pilzen mit den Umrechnungsfaktoren überschätzt oder auch unterschätzt werden. Unwahrscheinlich ist jedoch, dass der C-Gehalt von Bakterien überbewertet wird, während gleichzeitig der C-Gehalt der Pilze unterschätzt wird und umgekehrt. Die Gefahr der Überbewertung bzw. Unterschätzung wird relativiert, wenn der Quotient aus beiden C-Gehalten gebildet wird.

## 2.4 Statistik

Die Datenverarbeitung, statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte mit StatView 5.0 (SAS Inst.) und Excel 4.0 (Windows NT).

Wenn nicht anders angegeben, wurde davon ausgegangen, dass die Grundgesamtheit der Daten normalverteilt war. Es wurden einfaktorielle Varianzanalysen mit anschließendem Tukey-Kramer-Test zum Vergleich der einzelnen Proben (Pflanzenarten, Bodentypen und Untersuchungstermine) angewendet. Im Folgenden wurden Differenzen zwischen zwei Proben als signifikant angesehen, wenn sie größer waren als die im Tukey-Kramer-Test errechnete Grenzdifferenz (HSD-Wert = honestly significant difference) für  $\alpha = 0,05$ . Zweifaktorielle Varianzanalysen wurden zur Berechnung der F-Werte durchgeführt, um neben den festen Effekten der einzelnen Größen die Wechselwirkungen einzubeziehen.

Mit der Hauptkomponentenanalyse wurde eine größere Anzahl abhängiger Merkmale auf eine kleinere Anzahl unabhängiger echter Einflussgrößen (Faktoren) zurückgeführt, wobei diejenigen Merkmale, die untereinander stark korreliert sind, zusammengefasst wurden.

In Versuch Nummer eins variierte die Streuung der Daten stark. Bei unterschiedlichen Varianzen müsste eigentlich mit einem nichtparametrischen Test gerechnet werden, da es aber keine multiplen nichtparametrischen Tests gibt, wurden Varianzanalysen mit anschließendem Tukey-Kramer-Test durchgeführt. Auch wenn die Voraussetzung der Normalverteilung der Grundgesamtheit nicht gegeben ist, ist die Varianzanalyse unter Beachtung bestimmter Bedingungen anwendbar. BACKHAUS et al. (1989) beschrieben, dass die Varianzanalyse verhältnismäßig robust gegenüber Verletzungen der Prämissen ihres linearen Grundansatzes ist. Da die materielle Aufgabe der Varianzanalyse lediglich darin besteht, die Tatsache des Vorliegens eines Zusammenhangs zu testen und nicht eine Aussage über die Stärke des Zusammenhangs zu machen, ist der Raum für Fehlinterpretationen verhältnismäßig klein: die Nullhypothese zu verwerfen, obwohl sie richtig ist, bzw. sie nicht zu verwerfen, obwohl in Wirklichkeit ein Zusammenhang gegeben ist.

### **3 METHODENANPASSUNG in der Aminosuckeranalytik**

#### **3.1 Herkunft und Bedeutung der Aminosucker im Boden**

Aminosucker können als Marker für lebende und tote mikrobielle Biomasse im Boden verwendet werden. Sie spielen bei Bakterien und Pilzen als Bestandteile der Polysaccharide die gleiche Rolle wie Cellulose bei Pflanzen. Da Pflanzen keine signifikanten Mengen an Aminosuckern synthetisieren, sind sie im Boden meist mikrobiellen Ursprungs. Die häufigsten Aminosucker in Böden sind Glucosamin, Galactosamin und Muraminsäure.

Glucosamin und Galactosamin machen 5 – 10 % vom Boden-N aus, während die Muraminsäurekonzentration gewöhnlich 10 – 30 mal und die Mannosaminkonzentration bis zu 50 mal geringer ist als die von Glucosamin (AMELUNG, 2001).

Glucosamin kommt in vielen Bodenorganismen vor. Es ist der Hauptbestandteil des Chitins, welches aus unverzweigten N-acetyl-Glucosaminketten besteht, die  $\beta$ -1,4-glycosidisch miteinander verknüpft sind. Die Zellwände vieler Pilze (Basidiomyceten, Ascomyceten und Zygomyceten) enthalten Chitin ebenso wie das Exoskelett wirbelloser Tiere. Ein relativ spezifischer Bestandteil der Prokaryontenzellwand ist das Peptidoglycan Murein. Es enthält ein Rückgrat aus N-acetyl Glucosamin und N-acetyl Muraminsäure, die in alternierender Reihenfolge  $\beta$ -1,4-glycosidisch miteinander verknüpft sind. Das Vorhandensein einer Peptidoglycanschicht in den Zellwänden ist ein durchgängiges Merkmal aller Eubakterien unter den Prokaryoten, nur Archaeobakterien und wenige andere Gruppen und Arten bilden kein Peptidoglycan der beschriebenen Art. In der Zellwand gram-positiver Bakterien ist das Peptidoglycan zu 30 – 70 % (SCHLEGEL, 1992), laut BROCK and MADIGAN (1988) sogar zu 90 % an der Trockenmasse der Zellwand beteiligt. Bei den gram-negativen Bakterien ist das Mureinnetz einschichtig und zu weniger als 5 - 20 % an der Trockenmasse der Zellwand beteiligt (BROCK and MADIGAN, 1988). Zusätzliches N-acetyl-Glucosamin wurde in Teichonsäuren der gram-positiven Bakterien, in Lipopolysacchariden der gram-negativen Bakterien und in Zellwand- und Kapsel-Polysacchariden gefunden (AMELUNG, 2001).

Muraminsäure findet man nur in Prokaryoten, neben den Bakterien (inklusive Aktinomyceten) enthalten auch die Zellwände der Cyanobakterien Konzentrationen bis zu 50 % ihres Trockengewichts.

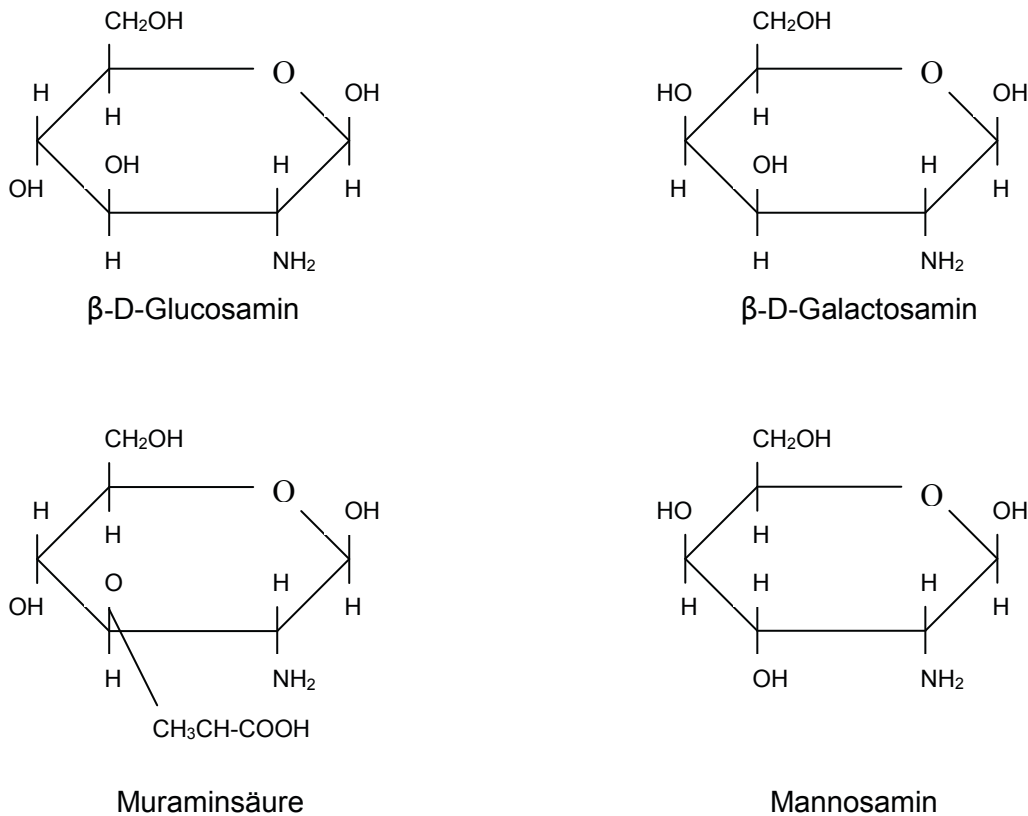


Abb. 3.1: Chemische Struktur von Glucosamin, Galactosamin, Muraminsäure und Mannosamin

Die Herkunft von Galactosamin ist nicht klar definiert. Es wird angenommen, dass das meiste Galactosamin im Boden aus Bakterien stammt. Galactosamin kommt häufig in kapselartigen und extrazellulären Polysacchariden von Bakterien vor, kann aber auch Bestandteil der Bakterienzellwand sein, speziell in Aktinomyceten. Es kann an Lipopolysaccharide und Teichonsäuren gebunden sein. Auch einige taxonomische Klassen von Pilzen (Trichomyceten und Myxomyceten) können kleine Mengen Galactosamin produzieren (AMELUNG, 2001).

Laut GLASER et al. (2004) enthalten aus Bodenmaterial isolierte Pilzkulturen etwa 30 % der Galactosaminkonzentration, die in Bakterienkulturen gefunden wurde. In Aktinomyceten konnten nur sehr geringe Mengen nachgewiesen werden.

Über die Herkunft von Mannosamin im Boden ist wenig bekannt. Während es gewöhnlich in Bakterienprodukten gefunden wurde (AMELUNG, 2001), entdeckten es COELHO et al. (1997) im Pilzmelanin. GLASER et al. (2004) fanden in aus Bodenmaterial isolierten Bakterienkulturen eine Mannosaminkonzentration von umgerechnet 7 g C kg<sup>-1</sup> TOC. Im Vergleich dazu enthielten die Kulturen von Pilzen weniger als 50 % und Aktinomyceten keinerlei Mannosamin.

### 3.2 Aminozuckeranalyse mittels HPLC

Die Analyse der Aminozucker sollte angelehnt an die von ZELLES (1988) beschriebene Methode erfolgen, mit der es möglich ist, sehr niedrige Konzentrationen nachzuweisen. Es wurden einige Modifikationen an der beschriebenen Methode vorgenommen, um die Reproduzierbarkeit der Daten ausreichend zu sichern und die Methode als automatisiertes Standardverfahren einzusetzen. Eine Stabilisierung der Fluoreszenzderivate ist dringend erforderlich, da sonst die Werte einer Messreihe ein akzeptables Streuungsmaß überschreiten. Voraussetzung für eine erfolgreiche Messung ist eine kontinuierliche Kühlung der OPA-Reagenz vor der Derivatisierung der Probe. Bei modernen HPLC-Anlagen ist daher ein Autosampler mit gekühltem Probensteller förderlich.

Derivatisierung von Aminozuckern mit OPA-Reagenz:

OPA (O-Phthaldialdehyd) bildet mit einer primären Aminoverbindung in Gegenwart einer Thiolverbindung (z.B. 2-Mercaptoethanol) ein fluoreszierendes Isoindolringsystem. Bei der Reaktion wird der Aminostickstoff in einen Pyrrolring umgewandelt.

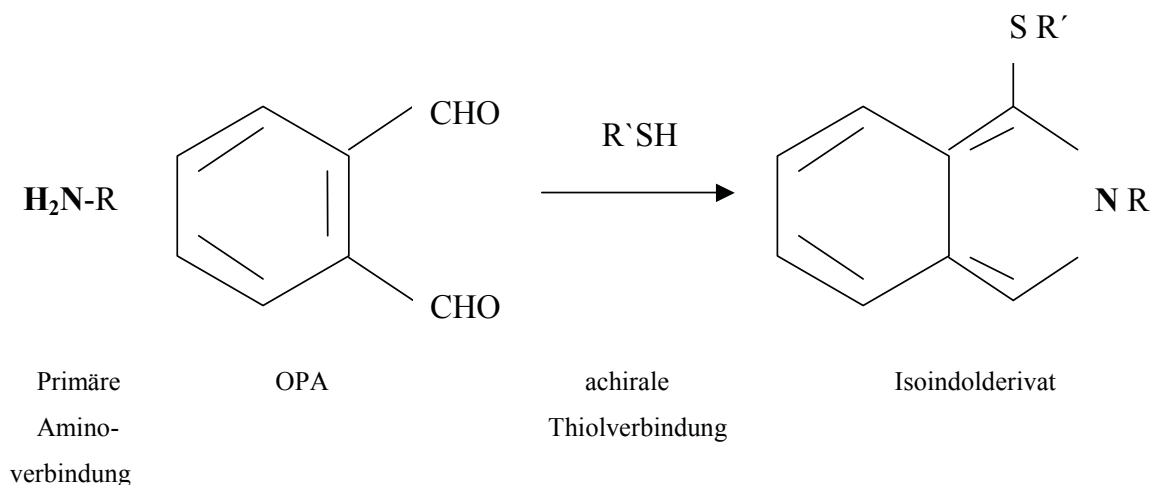


Abb. 3.2: Schematische Darstellung der OPA-Reaktion

Es gibt unterschiedliche Reaktionsmöglichkeiten des O-Phthaldialdehyds:

- Es zerfällt durch Hydrolyse.
- Es bildet einen stabilen Komplex durch Zugabe einer Thiolverbindung.
- Durch Zugabe einer Aminoverbindung und einer Thiolverbindung (z.B. 2-Mercaptoethanol) kommt es zur Bildung eines fluoreszierenden Derivates, welches spontan zerfallen kann.



Die Komplexität des Reaktionsmechanismus macht es laut DORRESTEIJN et al. (1996) schwierig, die optimalen Derivatisierungsbedingungen vorauszusagen.

Drei Bedingungen sind äußerst wichtig für eine optimale Derivatisierung:

- Das Konzentrationsverhältnis von 2-Mercaptoethanol in der OPA-Reagenz: Ohne die Zugabe einer Thiolverbindung zur OPA-Reagenz kann kein fluoreszierendes Derivat gebildet werden. Aber durch eine hohe Zugabe von 2-Mercaptoethanol bleibt das Gleichgewicht auf der Seite des stabilen Komplexes, wodurch kaum eine Reaktion mit einer Aminoverbindung erfolgt. Daraus folgt, dass mit steigender 2-Mercaptoethanolkonzentration die Fluoreszenzausbeute sinkt.
- Der pH-Wert des Reaktionsgemisches: Die Reaktionsraten sind höchstwahrscheinlich pH-abhängig, d.h. es gibt einen optimalen pH-Wert, bei dem die Menge der fluoreszierenden Derivate entscheidend höher ist als ihre Zerfallrate. Außerdem reagiert das OPA bei sinkendem pH eher mit der Thiolverbindung als mit der Aminoverbindung. Die Folge ist wiederum eine sinkende Fluoreszenzausbeute.
- Die Reaktionszeit der OPA-Reagenz mit der Probe: Die Reaktionszeit muss lang genug sein, um die Bildung eines fluoreszierenden Derivates aus OPA-Reagenz und Aminoverbindung zu erlauben. Sie darf aber auch nicht zu lang sein, da das fluoreszierende Derivat dann wieder zerfällt.

Neben diesen drei Bedingungen ist ein weiterer Faktor bedeutungsvoll für ein gutes Messergebnis: die Lagerungstemperatur von Proben und OPA-Reagenz vor der Derivatisierung. Wird an einer HPLC ohne Kühlung des Probenellers gearbeitet, kann es zu einem rapiden Verlust der Fluoreszenzintensität kommen. In Abbildung 3.3 ist ein Chromatogramm einer solchen Messung dargestellt. Die Probe (ein Glucosamin-Standard) und das OPA-Reagenz wurden bei Raumtemperatur auf dem Probeneller (Dionex, ASI 100) bis zur Derivatisierung gelagert. Die Derivatisierung und anschließende Messung erfolgte direkt nach dem Bestücken der HPLC (frisch) nach zwei, vier und acht Stunden.

Es ist zu erkennen, dass die Peakfläche, die proportional der Fluoreszenzintensität ist, innerhalb von acht Stunden stark abnimmt.

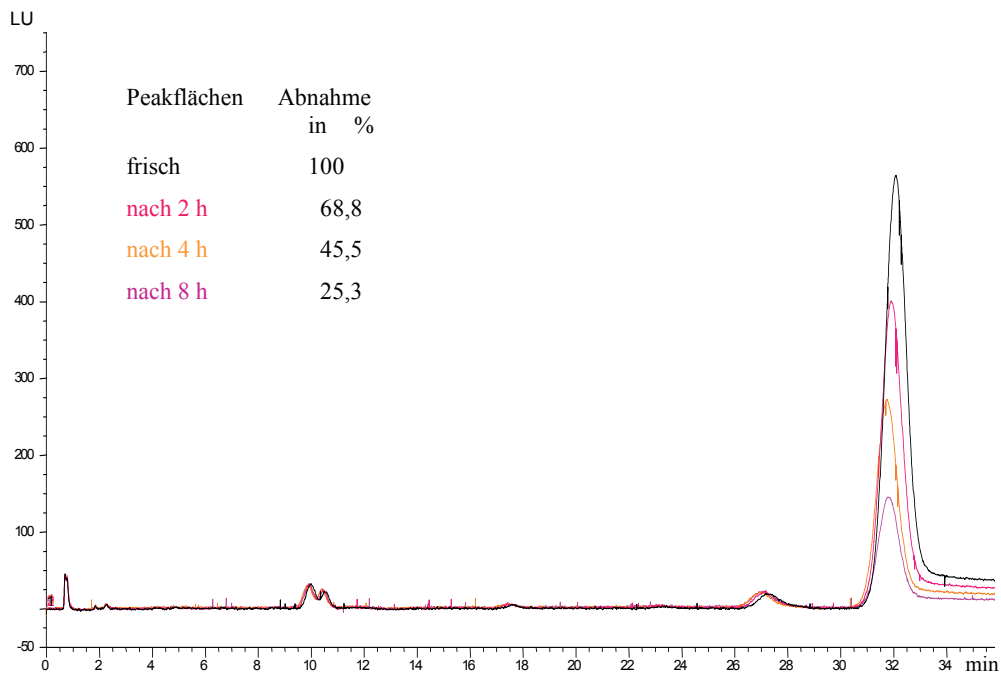


Abb. 3.3: Chromatogramm Glc-N-Standard: Aufbewahrungszeit im Sampler frisch, 2, 4 und 8 Stunden

In Abbildung 3.4 ist ein Chromatogramm dargestellt, bei dem an einer HPLC (Agilent 1100) mit gekühltem Probenhalter gemessen wurde. Die Aufbewahrungszeit der Probe (Standard-Mix aus Mannosamin, Muraminsäure, Galactosamin und Glucosamin) und OPA-Reagenz vor Derivatisierung und Messung betrug bis zu 45 Stunden. Es ist keine signifikante Abnahme der Peakflächen zu erkennen.

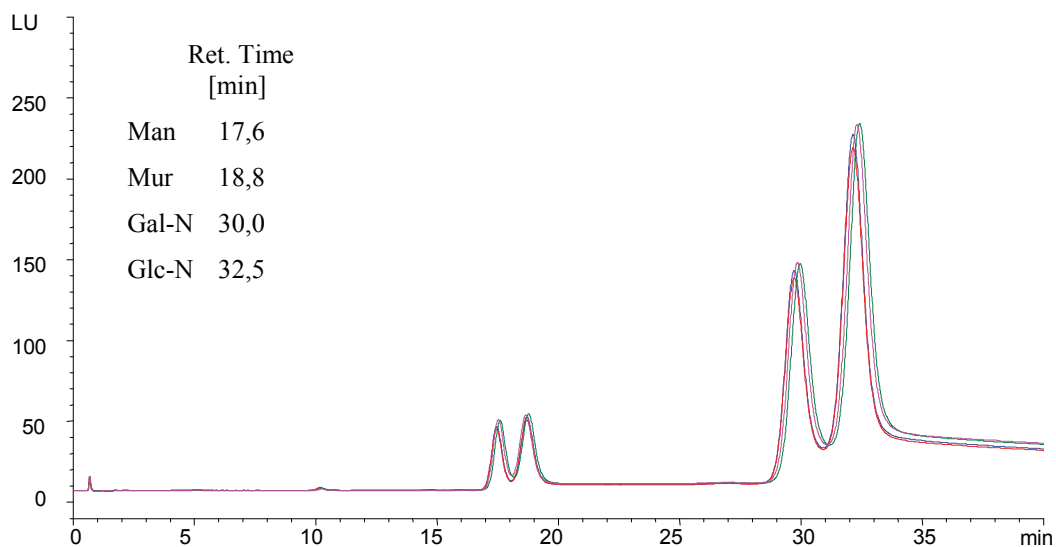


Abb. 3.4: Chromatogramm Standard-Mix: Aufbewahrungszeit im Sampler 13, 14, 44, 45 Stunden

## Derivatisierung und Messung

Für die Messung an der HPLC wurde die mobile Phase wie folgt hergestellt:

0,05 M Na-Citrat + 0,05 M Na-Acetat + Methanol + Tetrahydrofuran wurden im Verhältnis 90 : 8,5 : 0,75 : 0,75 (Vol %) gemischt. Das heißt, es wurden 13,436 g Na-Citrat und 354 mg Na-Acetat in 800 ml Millipore-H<sub>2</sub>O gelöst, mit 1 M HCl auf einen pH-Wert von 5,3 eingestellt und dann auf 1000 ml aufgefüllt. Anschließend wurden 7,62 ml Methanol und 7,62 ml Tetrahydrofuran zugegeben.

Für das OPA-Reagenz wurden 68 mg O-Phthaldialdehyd unter Zugabe von 50 µl Mercaptoethanol in 1,4 ml Methanol gelöst und anschließend mit Boratpuffer (pH 10,4) auf 10 ml aufgefüllt. Das OPA-Reagenz war nach etwa 1,5 h gebrauchsfertig. Es wurde bei 4 °C im Dunkeln gelagert und war mindestens vier Tage haltbar.

Die Messung der Aminosuckerderivate erfolgte nach Derivatisierung der Probe mit OPA-Reagenz an einem Fluoreszenzspektrometer (Agilent FLD 1100G 1321A) bei einer Wellenlänge von 340 nm und einer Anregungswellenlänge von 445 nm. Proben und OPA-Reagenz wurden in einem Probengeber mit gekühltem Probenhalter (Agilent 1100) bei 4 °C aufbewahrt. 5 µl Probe und 20 µl OPA-Reagenz wurden in der Probenschleife gemischt. Die Inkubationszeit betrug vier Minuten. Die 25 µl Mischprobe wurden auf die Trennsäule (Phenomenex C18 Hypersil 5 µm ODS, 125 x 4 mm; Vorsäule: Phenomenex C18, ODS, 4 mm Länge, 2 mm Durchmesser) injiziert, die in einem Säulentermostat auf 35 °C temperiert war. Die Flussrate der mobilen Phase betrug 1,5 ml min<sup>-1</sup>. Die Bestimmung der Konzentrationen erfolgte durch Korrelation der Fluoreszenzintensität mit der Konzentration nach Vorsäulenderivatisierung mit OPA. Die Aminosuckerderivate sind nach der Auftrennung als Einzelpeaks sichtbar. Die Aminosäurestandards (Muraminsäure, Glucosamin, Galactosamin und Mannosamin gelöst in Millipore-H<sub>2</sub>O) wurden entsprechend der Probenhydrolysate mit OPA-Reagenz versetzt, vier Minuten inkubiert und anschließend gemessen.

Nach jeder Probe (Laufzeit 40 Minuten) wurde die Säule 17 Minuten mit einem Spülprogramm gesäubert. Dabei wurde ein Methanol - H<sub>2</sub>O - Gemisch (50 : 50 Vol %) 8 Minuten als Gradient (0 – 80 %) zur mobilen Phase zugegeben und die Säule anschließend wieder neun Minuten mit der mobilen Phase konditioniert.

Im Laufe der Versuchszeit wurde die Messung an der HPLC etwas modifiziert, um die Laufzeit je Probe zu verkürzen. Bei der Probenmessung wurde der mobilen Phase als Gradient (7 %) ein Methanol - H<sub>2</sub>O - Gemisch (50 : 50 Vol %) zugegeben. Die Flussrate blieb bei 1,5 ml min<sup>-1</sup>. Die Retentionszeiten der einzelnen Aminosucker verminderten sich dadurch

um fünf bis zehn Minuten. Mannosamin erschien nach 12,3 min, Muraminsäure nach 13,1 min, Galactosamin nach 20,4 min und Glucosamin nach 21,8 min (Abb. 3.5). Dies verkürzte die Probenlaufzeit auf 25 Minuten. Das Spülprogramm wurde auf 12 Minuten reduziert. Der Gradient des Methanol - H<sub>2</sub>O - Gemischs in der mobilen Phase wurde in 3 Minuten von 7 % auf 80 % erhöht, 5 Minuten bei 80 % gefahren und anschließend wieder auf 7 % gesenkt. Durch diese Modifikation konnte ein kompletter Probenlauf (mit Spülprogramm) von 57 auf 37 Minuten reduziert werden. Zusätzlich wurde eine andere Trennsäule (Phenomenex C 18 HyerClone 5 µm ODS, 125 x 4 mm) verwendet.

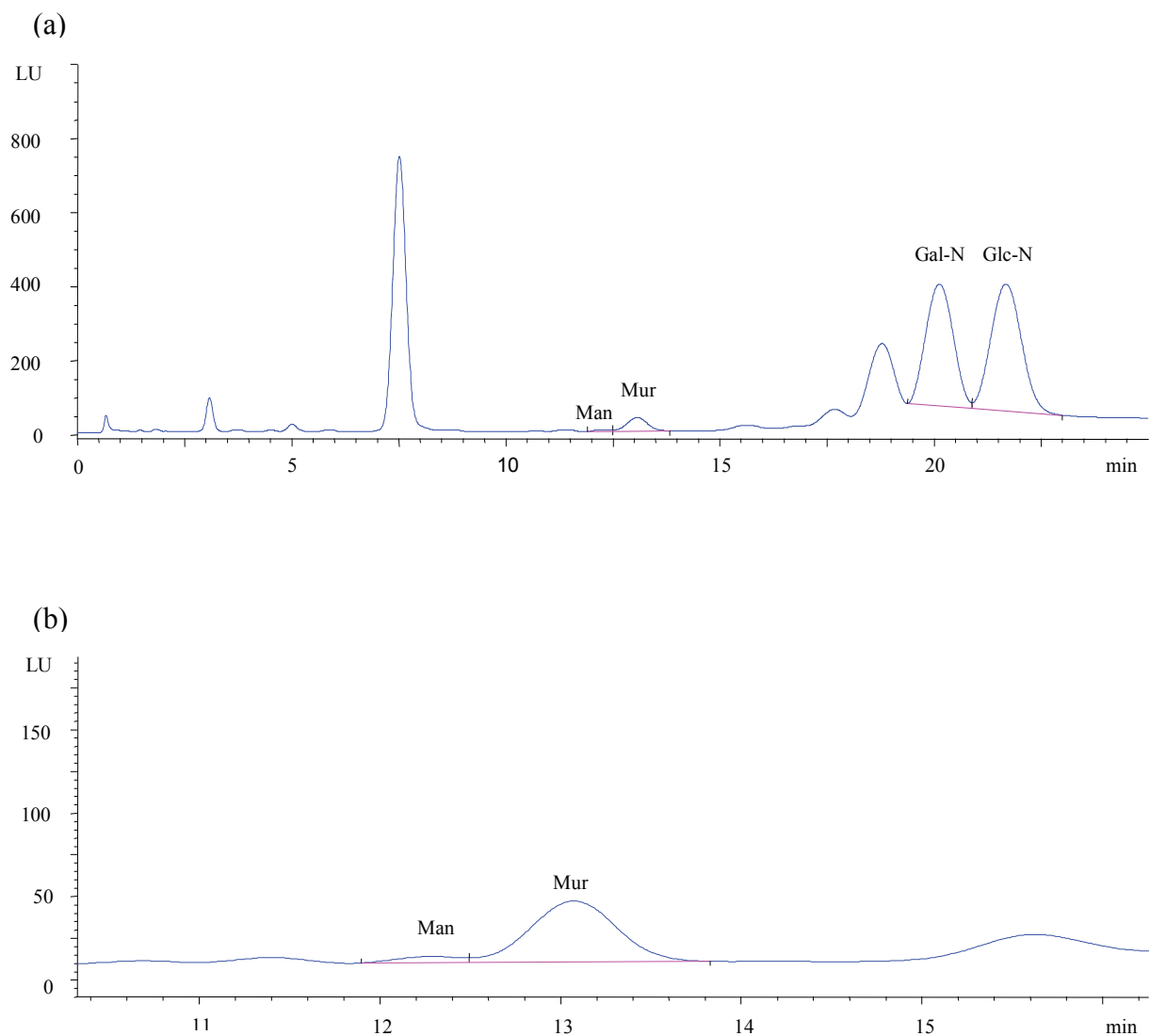


Abb. 3.5: Chromatogramm eines Bodenhydrolysats, (a) vollständiger Lauf über 25 Minuten, (b) Vergrößerung der Periode zwischen 10 und 15 Minuten, für Mannosamin und Muraminsäure.

Mit den oben beschriebenen Modifikationen konnten, im Gegensatz zu der Methode von ZELLES (1988), neben Muraminsäure und Glucosamin auch Mannosamin und Galactosamin gleichzeitig mit Hilfe der Hochleistungs-Umkehr-Phasen-Chromatographie in Standardlösungen, Boden- und Wurzelhydrolysaten bestimmt werden. Die Trennung der einzelnen Aminozucker gelang vollständig. Sie wurde nicht durch andere Komponenten in den Hydrolysaten (z.B. Aminosäuren, siehe Kapitel 4.3.4) gestört, die ebenfalls mit OPA fluoreszierende Derivate bilden.

## 4 VERSUCH 1: Die mikrobielle Besiedlung von Wurzeln in Abhängigkeit von der Pflanzenart

Im ersten Versuch wurde der Einfluss von verschiedenen Pflanzenarten auf die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen untersucht. Hierzu wurden die Gehalte von mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff, Ergosterol und verschiedenen Aminoszuckern an den Wurzeln und im Rhizosphärenboden quantifiziert und miteinander verglichen. Mit Hilfe der ermittelten Werte sollte zusätzlich der Frage nachgegangen werden, ob sich die mikrobiellen Indikatoren Ergosterol und Muraminsäure zur Quantifizierung der Pilz- und Bakterienbiomasse auf Wurzeloberflächen eignen (Hypothese 1).

### 4.1 Versuchsbeschreibung

15 verschiedene Pflanzenarten wurden im Gewächshaus auf einem Lössboden (Tabelle 3.1) angezogen.

1. Deutsches Weidelgras (*Lolium perenne* L.)
2. Knautgras (*Dactylis glomerata* L.)
3. Wiesenrispengras (*Poa pratensis* L.)
4. Sommerweizen (*Triticum aestivum* L.)
5. Sommergerste (*Hordeum vulgare* L.)
6. Weißklee (*Trifolium repens* L.)
7. Saatwicke (*Vicia sativa* L.)
8. Gelbe Lupine (*Lupinus luteus* L.)
9. Sommerraps (*Brassica napus* L.)
10. Weißer Senf (*Sinapis alba* L.)
11. Phacelia (*Phacelia tanacetifolia* Benth)
12. Blaumohn (*Papaver somniferum* L.)
13. Lein (*Linum usitatissimum* L.)
14. Hanf (*Cannabis sativa* L.)
15. Spinat (*Spinacia oleracea* L.)

Die Pflanzen wurden Ende April 2001 ausgesät. Dabei wurden jeweils sechs Gefäße mit gleichen Pflanzen als Parallelen angelegt. Bis Ende Mai wurden sie im Gewächshaus angezogen und anschließend in eine Freilandhalle befördert. Die Ernte der Pflanzen erfolgte bei Blüte, was je nach Pflanzenart zwischen Ende Juni und Mitte Oktober 2001 war.

Von den bodenfreien Wurzeln und vom feuchten Rhizosphärenboden wurden Teilproben für die Analysen entnommen. Ergosterol, mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff wurden innerhalb von vier Tagen nach der Ernte gemessen. Für die Aminosäuren (Muraminsäure, Glucosamin und Galactosamin) wurden Teilproben eingefroren, um sie an einem späteren Zeitpunkt zu analysieren.

Der im Versuch verwendete Lössboden ist eine Parabraunerde unter landwirtschaftlicher Nutzung vom Versuchsgut der Universität Kassel in Frankenhäusen. Die dem Versuch vorausgegangenen Untersuchungen der Bodenkennwerte sind in Tabelle 4.1 dargestellt.

Tab. 4.1: Bodencharakteristika

Herkunft	Frankenhäusen Hasenloch
Bodentyp	Parabraunerde
Bodenart	Ut4
Bis 35 cm	Apl
Sand [%]	3
Ton [%]	17
Schluff [%]	80
pH [CaCl <sub>2</sub> ]	7,1
pH [H <sub>2</sub> O]	7,4
WHK [%]	49
N <sub>t</sub> [%]	0,14
C <sub>org</sub> [%]	1,23
KAK [ $\mu\text{mol}_c \text{g}^{-1}$ ]	134,5
Ergosterol [ $\mu\text{g g}^{-1}$ ]	0,54
C <sub>mik</sub> [ $\mu\text{g g}^{-1}$ ]	201
N <sub>mik</sub> [ $\mu\text{g g}^{-1}$ ]	43
(C/N) <sub>mik</sub>	4,7

Vor der Aussaat wurde der Boden durch ein Gittersieb mit einer Maschenweite von 1 x 1 cm geworfen, um grobe Pflanzenrückstände und Steine zu entfernen. Anschließend wurden die Gefäße befüllt.

Bei der Ernte wurden die oberirdischen Pflanzenteile entfernt und zur Bestimmung der Trockenmasse verwendet. Der Boden wurde auf 2 mm gesiebt. Dabei wurden die Wurzeln mit dem anhaftenden Rhizosphärenboden als Versuchsmaterial gewonnen. Die gesiebte Fraktion des Bodens ist der sogenannte Restboden. Die Wurzeln mit dem anhaftenden Rhizosphärenboden wurden in Wasser gewaschen, um die Wurzeln vom Boden zu trennen. Das Boden-Wasser-Gemisch wurde anschließend zentrifugiert (20 Minuten, 500g), um Rhizosphärenboden und Wasser zu trennen (JOERGENSEN, 2000).

## 4.2 Ergebnisse

### 4.2.1 Verteilung der Bodenfraktionen

Der Anteil des gesiebten Bodens (Restboden) entsprach nach der Ernte durchschnittlich 95,1 % des Gesamtprobentrockengewichts (= Summe Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln). Der Rhizosphärenboden machte 4,7 % und die Wurzelmasse nur 0,2 % in einem Bereich von 0,02 bis 0,84 % aus (Tabelle 4.2).

Tab. 4.2: Aufteilung der Probenfraktionen

Pflanze	Restboden (% Probe <sup>a</sup> )	Wurzelmasse (% Probe <sup>a</sup> )	Rhizosphärenboden (% Probe <sup>a</sup> )
Weidelgras	<b>85,5</b>	<b>0,84</b>	<b>13,64</b>
Knaulgras	88,2	0,63	11,17
Wiesenrispe	88,3	0,67	11,07
Sommerweizen	95,9	0,05	4,06
Sommergerste	95,3	0,05	4,69
Weißklee	97,0	0,19	2,77
Saatwicke	96,1	0,19	3,68
Lupine	<b>98,5</b>	0,06	<b>1,48</b>
Raps	97,0	0,05	2,97
Ackersenf	97,1	0,03	2,84
Phacelia	97,9	<b>0,02</b>	2,08
Mohn	97,5	<b>0,02</b>	2,49
Lein	96,6	0,08	3,28
Hanf	98,1	0,03	1,86
Spinat	97,3	<b>0,02</b>	2,72
MW	95,1	0,20	4,72

<sup>a</sup> Gesamtprobengewicht = Summe Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzelmaterial. Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt.



#### 4.2.2 Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse und Nekromasse

Die  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte im Rhizosphärenboden lagen im Mittel bei  $0,41 \text{ mg g}^{-1}$  Trockenboden. Den höchsten Wert hatte die Lupine mit  $0,64 \text{ mg g}^{-1}$  TB und der niedrigste Wert mit  $0,26 \text{ mg g}^{-1}$  TB wurde bei Phacelia gemessen (Tab. 4.4). In den Wurzeln lag der Mittelwert des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Kohlenstoffs bei  $47 \text{ mg g}^{-1}$  Trockenmasse (Tab. 4.3). Die höchsten Werte mit  $110 \text{ mg g}^{-1}$  TM wurden bei der Wicke gemessen, die niedrigsten mit  $15 \text{ mg g}^{-1}$  TM bei Phacelia. Die  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte an den Wurzeln (siehe Kapitel 2.2.1) lagen im Mittel bei  $11 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Bei der Wicke wurde mit ca.  $31 \text{ mg g}^{-1}$  TM der höchste Wert gefunden, der niedrigste beim Raps mit  $3 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Für Phacelia konnte kein Ergebnis angegeben werden, da die  $C_{\text{mik}}^*$ -Werte über das Verhältnis zu Ergosterol berechnet wurden und an den Phacelia-Wurzeln kein Ergosterol nachgewiesen werden konnte. Der Anteil des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Kohlenstoffs aus den Wurzelzellen lag zwischen 80 und 96 %. Im Mittel waren ca. 10 % des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Kohlenstoffs mikrobiellen Ursprungs und 90 % waren nicht-mikrobieller aus den Wurzeln stammender organischer Kohlenstoff.

Die  $N_{\text{mik}}$ -Gehalte im Rhizosphärenboden lagen durchschnittlich bei  $55 \mu\text{g g}^{-1}$  TB. Die Werte schwankten zwischen 31 TB (Phacelia) und  $96 \mu\text{g g}^{-1}$  (Klee). Der im Wurzelmaterial gemessene  $\text{CHCl}_3$ -labile Stickstoff lag im Mittel bei  $2,2 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Den höchsten Wert hatte die Wicke mit  $7,7 \text{ mg g}^{-1}$  TM und den niedrigsten die Phacelia mit  $0,2 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Der mikrobielle Stickstoff ( $N_{\text{mik}}^*$ ) an den Wurzeln wurde aus dem Quotienten von  $C_{\text{mik}}^*$  zum  $(\text{C/N})_{\text{mik}}$ -Verhältnis im Rhizosphärenboden berechnet (siehe Kapitel 2.2.2). Die  $N_{\text{mik}}^*$ -Gehalte schwankten zwischen 0,5 (Raps) und  $5,0 \text{ mg g}^{-1}$  TM (Wicke), der Durchschnitt lag bei  $1,4 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Für Phacelia konnte kein Ergebnis angegeben werden, da wie schon erwähnt, die  $C_{\text{mik}}^*$ -Werte über das Verhältnis zu Ergosterol berechnet wurden. Entsprechend der Berechnung von  $N_{\text{mik}}^*$  in Kapitel 2.2.2 ist der Anteil des wurzelbürtigen  $\text{CHCl}_3$ -labilen N (%) bei den einzelnen Pflanzenarten sehr unterschiedlich. Es ergab sich, dass durchschnittlich 45 % des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Stickstoffs mikrobiellen Ursprungs waren und 55 % nicht-mikrobieller aus den Wurzeln stammender Stickstoff.

Tab. 4.3: Kohlenstoff-, Stickstoff- und Ergosterolgehalte der Wurzeln

	CHCl <sub>3</sub> -labiler C (E <sub>c</sub> )	C <sub>mik</sub> <sup>*</sup>	Wurzelbürtiger CHCl <sub>3</sub> -labiler C	CHCl <sub>3</sub> -labiler N (E <sub>N</sub> )	N <sub>mik</sub> <sup>*</sup>	Wurzelbürtiger CHCl <sub>3</sub> -labiler N	Ergosterol
	[mg g <sup>-1</sup> TM]	[mg g <sup>-1</sup> TM]	(% E <sub>c</sub> )	[mg g <sup>-1</sup> TM]	[mg g <sup>-1</sup> TM]	(%)	[µg g <sup>-1</sup> TM]
Weidelgras	53,12	8,20	92,8	0,66	1,26	-6,19	9,78
Knautgras	37,42	8,77	89,2	0,94	1,25	27,46	2,53
Wiesenrispe	52,51	7,17	93,8	0,89	0,81	48,31	1,93
Weizen	45,17	19,38	79,8	1,52	2,13	22,66	21,04
Gerste	58,83	21,16	82,4	2,53	2,11	53,72	19,45
Klee	48,45	3,87	96,3	5,80	0,65	94,17	5,79
Wicke	<b>109,86</b>	<b>30,81</b>	87,1	<b>7,68</b>	<b>4,98</b>	64,23	<b>45,54</b>
Lupine	81,15	17,04	90,3	1,00	1,25	32,25	27,88
Raps	20,20	<b>3,00</b>	92,9	1,61	<b>0,48</b>	83,00	6,38
Senf	20,69	5,30	85,7	1,49	0,78	66,20	14,48
Phacelia	<b>15,11</b>	-	-	<b>0,21</b>	-	-	<b>0,00</b>
Mohn	32,01	3,53	95,1	2,55	0,56	87,54	10,02
Lein	54,36	10,93	90,9	1,65	1,70	42,67	13,09
Hanf	16,23	7,33	80,3	1,31	0,75	69,29	7,78
Spinat	57,85	6,38	94,8	2,92	0,91	82,03	9,91
MW	46,86	10,92	89,4	2,18	1,40	54,81	13,04
HSD	21,82	10,11	11,3	0,99	1,29	49,65	11,18

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ); Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt;

E<sub>c</sub> = (organischer C extrahiert aus fumigierten Proben) - (organischer C extrahiert aus nicht fumigierten Proben);

E<sub>N</sub> = (Gesamt-N, extrahiert aus fumigierten Proben) - (Gesamt-N extrahiert aus nicht fumigierten Proben);

C<sub>mik</sub><sup>\*</sup> = reeller mikrobieller Kohlenstoff an Wurzeln; N<sub>mik</sub><sup>\*</sup> = reeller mikrobieller N an Wurzeln.

Der durchschnittliche Ergosterolgehalt im Rhizosphärenboden betrug  $0,6 \mu\text{g g}^{-1}$  TB (Tab. 4.4). Die Werte lagen zwischen  $1,1$  (Lupine) und  $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$  TB (Wiesenrispe). An den Wurzeln wurden im Mittel  $13,0 \mu\text{g g}^{-1}$  TM gemessen (Tab. 4.3). Bei der Wicke wurden die höchsten Werte ( $45,5 \mu\text{g g}^{-1}$  TM) gemessen. An den Phaceliawurzeln konnte kein Ergosterol nachgewiesen werden.

Das  $(\text{C/N})_{\text{mik}}$ -Verhältnis im Rhizosphärenboden lag im Durchschnitt bei  $7,9$  und das Verhältnis von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  bei  $0,15$  (Tab. 4.4).

Tab. 4.4: Indikatoren der mikrobiellen Biomasse im Rhizosphärenboden

	$C_{\text{mik}}$ [ $\text{mg g}^{-1}$ TM]	$N_{\text{mik}}$ [ $\mu\text{g g}^{-1}$ TM]	Ergosterol [ $\mu\text{g g}^{-1}$ TM]	$(\text{C/N})_{\text{mik}}$	Ergo / $C_{\text{mik}}$ [%]
Weidelgras	0,43	65,9	0,52	6,47	0,13
Knautgras	0,58	83,9	0,17	6,96	<b>0,03</b>
Wiesenrispe	0,50	56,3	<b>0,14</b>	8,83	<b>0,03</b>
Weizen	0,40	44,0	0,44	9,28	0,11
Gerste	0,38	37,7	0,36	10,13	0,10
Klee	0,59	<b>95,9</b>	0,85	6,29	0,15
Wicke	0,47	74,8	0,71	6,23	0,16
Lupine	<b>0,64</b>	46,9	<b>1,09</b>	<b>13,84</b>	0,18
Raps	0,31	50,3	0,66	<b>6,22</b>	0,21
Senf	0,30	43,2	0,82	6,93	0,28
Phacelia	<b>0,26</b>	<b>31,3</b>	0,36	8,25	0,14
Mohn	0,30	47,5	0,85	6,35	<b>0,29</b>
Lein	0,35	53,5	0,42	6,46	0,12
Hanf	0,35	37,8	0,41	9,22	0,12
Spinat	0,35	52,1	0,58	6,67	0,20
MW	0,41	54,75	0,56	7,88	0,15
HSD	0,15	20,7	0,17	2,22	0,05

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ )

Die Ergosterolgehalte wurden zusätzlich nach der Eigenschaft der Pflanzen zur Ausbildung einer Mykorrhiza eingeteilt. Dazu wurden die 15 Pflanzenarten in zwei Gruppen unterteilt: Pflanzen, die eine Mykorrhiza ausbilden (Myk) und Pflanzen, die eine natürliche Resistenz dagegen besitzen (n-Myk). Der Gruppe der n-Myk Pflanzen wurden die vier Arten Raps, Senf, Spinat und Lupine zugeteilt. Die Ergosterolgehalte an den Wurzeln unterschieden sich nicht signifikant (Tab. 4.5), die Gehalte der Myk-Pflanzen waren aber tendenziell etwas geringer als die der n-Myk-Pflanzen. Im Rhizosphärenboden waren die Ergosterolgehalte der n-Myk-Pflanzen signifikant höher als die der Myk-Pflanzen.

Tab. 4.5: Ergosterolgehalte mykorrhizierter und nicht-mykorrhizierter Pflanzen

	Ergosterol [ $\mu\text{g g}^{-1}$ TM]	
	Wurzel	RZB
Myk	12,5 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>
n-Myk	14,7 <sup>a</sup>	0,79 <sup>b</sup>
HSD	6,0	0,11

Werte mit gleichen Buchstaben (a,b) sind nicht signifikant unterschiedlich; HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ).

Die Ergebnisse der Aminozuckeranalysen im Rhizosphärenboden sind in Tabelle A-4.1 dargestellt. Es wurden durchschnittlich  $40 \mu\text{g g}^{-1}$  TM Muraminsäure gemessen, Glucosamin lag bei etwa  $0,5 \text{ mg g}^{-1}$  TM und Galactosamin bei  $1,0 \text{ mg g}^{-1}$  TM. An den Wurzeln (Tab. 4.6) waren die Unterschiede zwischen den einzelnen Pflanzenarten weitaus größer als im Rhizosphärenboden. Muraminsäure lag im Mittel bei  $161 \mu\text{g g}^{-1}$  TM. Die Werte schwankten zwischen  $37 \mu\text{g g}^{-1}$  TM bei der Lupine und  $480 \mu\text{g g}^{-1}$  TM bei der Wicke. Glucosamin lag im Mittel bei  $1,8 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Die geringsten Werte hatte die Wiesenrispe mit  $0,9 \text{ mg g}^{-1}$  TM und die höchsten der Mohn mit  $3,0 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Die Galactosaminwerte an den Wurzeln waren extrem hoch. Sie lagen im Mittel bei  $19,4 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Die niedrigsten Werte hatte erneut die Wiesenrispe mit  $6,4 \text{ mg g}^{-1}$  TM, die höchsten Werte wurden bei der Wicke ( $53,3 \text{ mg g}^{-1}$  TM) gemessen.

Tab. 4.6: Aminosuckergehalte im Wurzelmaterial

	Mur		Glc-N		Gal-N	
	[ $\mu\text{g g}^{-1}$ TM]		[ $\text{mg g}^{-1}$ TM]		[ $\text{mg g}^{-1}$ TM]	
Weidelgras	60,5	(16,0)	1,24	(0,63)	9,9	(1,2)
Knautgras	104,5	(35,5)	1,15	(0,20)	10,8	(0,8)
Wiesenrispe	75,5	(13,7)	<b>0,85</b>	(0,10)	<b>6,4</b>	(0,7)
Weizen	103,1	(19,1)	1,71	(0,41)	13,6	(2,1)
Gerste	269,9	(76,6)	2,55	(0,60)	15,9	(3,5)
Klee	371,3	(97,2)	2,19	(0,54)	17,2	(2,6)
Wicke	<b>480,2</b>	(132,7)	2,93	(0,36)	<b>53,3</b>	(5,4)
Lupine	<b>37,4</b>	(15,3)	1,64	(0,31)	24,5	(3,3)
Raps	123,4	(35,6)	1,70	(0,30)	20,4	(3,1)
Senf	120,0	(76,2)	1,61	(0,34)	17,9	(4,9)
Phacelia	155,2	(27,0)	1,19	(0,36)	12,8	(2,6)
Mohn	126,5	(23,3)	<b>2,97</b>	(0,53)	35,2	(2,1)
Lein	84,3	(10,0)	1,91	(0,34)	19,2	(3,2)
Hanf	149,6	(45,0)	1,53	(0,20)	20,3	(2,5)
Spinat	148,8	(25,9)	2,22	(0,53)	13,8	(7,3)
MW	160,7		1,83		19,4	
HSD	112,9		0,84		7,0	

Standardabweichung in Klammern; Minimum und Maximum sind fett gedruckt; HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ).

Die Quotienten von mikrobiellem Kohlenstoff zu Muraminsäure waren etwa dreizehnmal höher als die Quotienten von mikrobiellem Kohlenstoff zu Glucosamin. Dabei waren die Werte im Wurzelmaterial jeweils etwa siebenmal größer als im Rhizosphärenboden (Abb. 4.1; Tab. A-4.2). Das Verhältnis von Pilz-Glucosamin zu Ergosterol war im Wurzelmaterial durchschnittlich fünfmal kleiner als im Rhizosphärenboden. Die Verhältnisse von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure hatten sowohl im Rhizosphärenboden, als auch im Wurzelmaterial einen Medianwert von etwa 13 (Abb. 4.2). Im Rhizosphärenboden waren kaum Abweichungen zwischen den Werten aller Pflanzen zu erkennen. Im Wurzelmaterial lagen die Werte weiter auseinander. Es wurden Schwankungen zwischen 5 und 48 ermittelt.

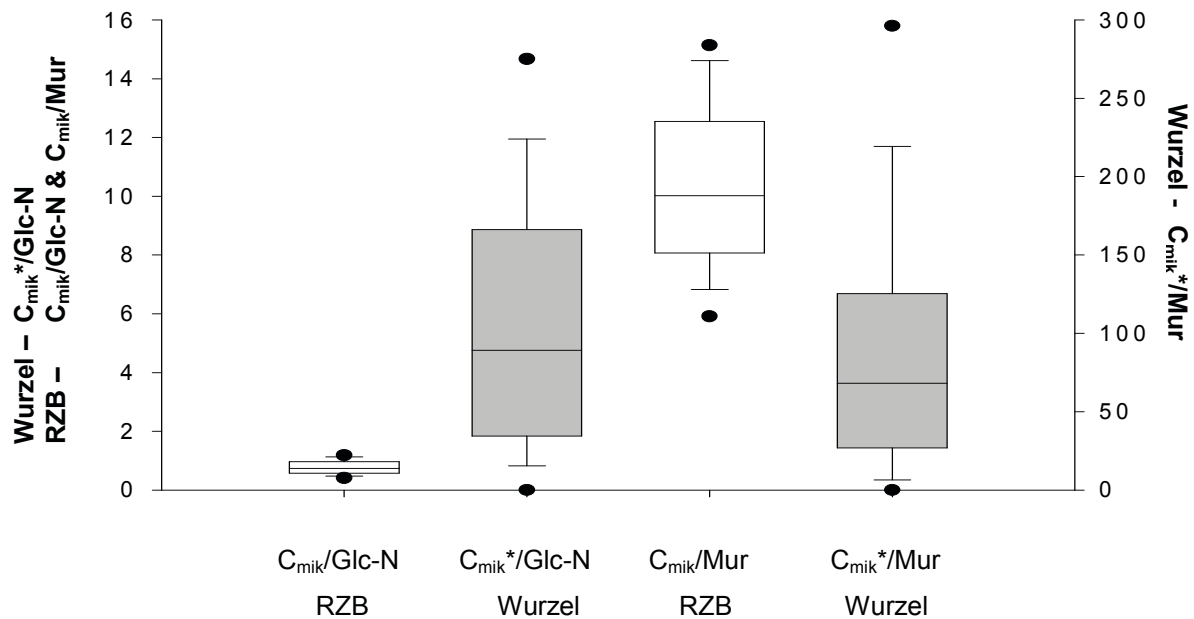


Abb. 4.1: Quotienten von  $C_{mik}$  zu Glucosamin bzw. von  $C_{mik}$  zu Muraminsäure im Rhizosphärenboden (farblos) und im Wurzelmaterial (grau).

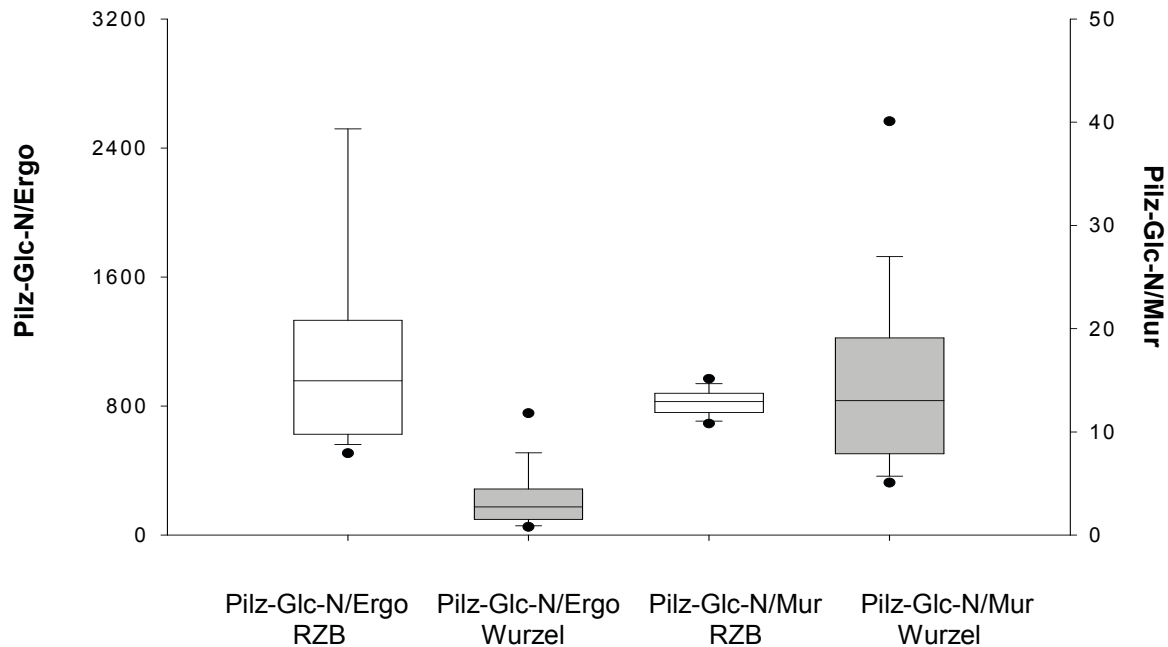


Abb. 4.2: Quotienten Pilz-Glucosamin zu Ergosterol bzw. zu Muraminsäure im Rhizosphärenboden (farblos) und im Wurzelmaterial (grau).

Die Boxplots zeigen den Median (Querstreifen), den Bereich der 25 %- und 75 %-Quartile (Box), den Bereich der 10 %- und 90 %-Quartile (Whiskers) sowie die 5 %- und 95 %-Quartile (Punkte).

Teilt man die verschiedenen Pflanzenarten nach ihrer Familienzugehörigkeit ein, ergibt sich folgendes Bild:

- |                     |  |  |
|---------------------|--|--|
| 1. Poaceae:         | Deutsches Weidelgras ( <i>Lolium perenne</i> L.)<br>Knaulgras ( <i>Dactylis glomerata</i> L.)<br>Wiesenrispengras ( <i>Poa pratensis</i> L.)<br>Sommerweizen ( <i>Triticum aestivum</i> L.)<br>Sommergerste ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) |  |
| 2. Fabaceae:        | Weißklee ( <i>Trifolium repens</i> L.)<br>Saatwicke ( <i>Vicia sativa</i> L.)<br>Gelbe Lupine ( <i>Lupinus luteus</i> L.)  |  |
| 3. Brassicaceae:    | Sommerraps ( <i>Brassica napus</i> L.)<br>Weißer Senf ( <i>Sinapis alba</i> L.)  |  |
| 4. Restliche Arten: | Phacelia ( <i>Phacelia tanacetifolia</i> Bentham)<br>Blaumohn ( <i>Papaver somniferum</i> L.)<br>Lein ( <i>Linum usitatissimum</i> L.)<br>Hanf ( <i>Cannabis sativa</i> L.)<br>Spinat ( <i>Spinacia oleracea</i> L.)                     | Hydrophyllaceae<br>Papaveraceae<br>Linaceae<br>Cannabaceae<br>Chenopodiaceae |

Vergleicht man den Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse, die Ergosterolgehalte und die Aminosäuren Glucosamin und Muraminsäure der Pflanzenfamilien ohne Beachtung der Restgruppe (Tab. 4.7), wurde das Maximum fast aller Messgrößen bei den Leguminosen gemessen. Die geringsten  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte wurden bei den Brassicaceen ermittelt. Die Ergosterolgehalte waren im Rhizosphärenboden bei den Poaceen am niedrigsten, bei den Wurzeln wurde kein Unterschied zwischen Brassicaceen und Poaceen gefunden. Glucosamin und Muraminsäure waren im Wurzelmaterial bei den Poaceen und Brassicaceen gleich. Im Rhizosphärenboden war beim Glucosamin kein Unterschied zwischen den drei Familien zu erkennen. Bei der Muraminsäure waren die Poaceen und Leguminosen etwa gleich, während bei den Brassicaceen niedrigere Werte gemessen wurden.

Tab. 4.7: Ermittelte Messgrößen im Vergleich der Pflanzenfamilien

Pfl.-Familien	$C_{\text{mik}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ TB)		Ergosterol ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TB)		Mur ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TB)		Glc-N ( $\text{mg g}^{-1}$ TB)	
	RZB	W*	RZB	W	RZB	W	RZB	W
Poaceae	0,46 <sup>b</sup>	12,9 <sup>b</sup>	0,33 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	41,1 <sup>b</sup>	122,7 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>
Leguminosen	0,57 <sup>c</sup>	17,2 <sup>b</sup>	0,88 <sup>b</sup>	26,4 <sup>b</sup>	44,6 <sup>b</sup>	296,3 <sup>b</sup>	0,55 <sup>a</sup>	2,26 <sup>b</sup>
Brassicaceae	0,30 <sup>a</sup>	4,2 <sup>a</sup>	0,74 <sup>b</sup>	10,4 <sup>a</sup>	35,3 <sup>a</sup>	121,7 <sup>a</sup>	0,54 <sup>a</sup>	1,66 <sup>a</sup>
MW	0,45	11,4	0,65	15,9	40,3	180,2	0,54	1,79

Werte mit gleichen Buchstaben (a,b,c) sind nicht signifikant unterschiedlich;

W\* steht für Berechnung mit  $C_{\text{mik}}^*$  (= reeller mikrobieller Kohlenstoff an Wurzeln).

#### 4.2.3 Berechnung des Gehalts an bakteriellem und pilzlichem Kohlenstoff in mikrobieller Biomasse an Wurzeln

Aus den Gehalten des Pilz-Glucosamins (Gesamtglucosamin abzüglich bakterielles Glucosamin) wurde mittels eines Umrechnungsfaktors von 10 (Kapitel 2.2.4) der Kohlenstoff der Pilzbiomasse berechnet. Die Werte lagen zwischen 8 (Wiesenrispe) und 29 (Mohn)  $\text{mg g}^{-1}$  TM, mit einem Durchschnitt von 17  $\text{mg g}^{-1}$  TM.

Der Kohlenstoff der bakteriellen Biomasse wurde aus den Muraminsäuregehalten unter Verwendung eines Umrechnungsfaktors von 60 berechnet (Kapitel 2.2.3). Die Werte lagen zwischen 2,2 (Lupine) und 28,8 (Wicke)  $\text{mg g}^{-1}$  TM mit einem Durchschnitt von knapp 10  $\text{mg g}^{-1}$  TM.

Im Mittel stammten 26 mg Kohlenstoff pro g Wurzelmasse aus Pilzen und Bakterien.

Das Verhältnis von pilzlichem zu bakteriellem Kohlenstoff an den Wurzeln, berechnet aus den Pilz-Glucosamin- bzw. Muraminsäuregehalten, lag im Mittel bei 2,6 (Tab. 4.8). Bei den meisten Pflanzen war pilzlicher Kohlenstoff tendenziell vorherrschend. Bei einigen war das Verhältnis ausgeglichen. Die höchsten Werte wurden bei der Lupine (7,9), Mohn (3,8) und Lein (3,7) ermittelt. Ein ausgewogenes Verhältnis lag u.a. bei Phacelia (1,1), Wicke (1,0) und Klee (0,9) vor, wobei beim Klee der bakterielle Kohlenstoff leicht überwog.



Tab. 4.8: Kohlenstoff aus Bakterien und Pilzen an Wurzeln

	mg Pilz-C g <sup>-1</sup> W	mg Bakt-C g <sup>-1</sup> W	mg Pilz+Bakt-C g <sup>-1</sup> W	Pilz-C / Bakt-C
	(aus Glc-N)	(aus Mur)	(aus Glc-N+Mur)	(Glc-N/Mur)
Weidelgras	12,0 (6,2)	3,6 (1,0)	15,6 (6,6)	3,35 (1,53)
Knautgras	10,7 (2,1)	6,3 (2,1)	17,0 (2,6)	1,90 (0,80)
Wiesenrispe	<b>7,9</b> (1,1)	4,5 (0,8)	<b>12,5</b> (1,2)	1,81 (0,43)
Weizen	16,4 (4,0)	6,2 (1,1)	22,6 (4,8)	2,68 (0,63)
Gerste	23,6 (5,7)	16,2 (4,6)	39,8 (9,1)	1,51 (0,41)
Klee	19,3 (4,7)	22,3 (5,8)	41,6 (10,4)	<b>0,87</b> (0,08)
Wicke	25,9 (4,1)	<b>28,8</b> (8,0)	<b>54,7</b> (6,3)	0,99 (0,40)
Lupine	16,1 (3,0)	<b>2,2</b> (0,9)	18,4 (3,6)	<b>7,91</b> (2,58)
Raps	16,1 (3,0)	7,4 (2,1)	23,5 (3,4)	2,30 (0,65)
Senf	15,3 (3,0)	7,2 (4,6)	22,5 (7,1)	2,64 (1,17)
Phacelia	10,8 (3,4)	9,3 (1,6)	20,1 (4,9)	1,14 (0,18)
Mohn	<b>28,8</b> (5,2)	7,6 (1,4)	36,4 (6,2)	3,83 (0,58)
Lein	18,5 (3,3)	5,1 (0,6)	23,5 (3,6)	3,66 (0,65)
Hanf	14,2 (1,8)	9,0 (2,7)	23,2 (3,8)	1,75 (0,68)
Spinat	21,1 (5,3)	8,9 (1,6)	30,0 (5,3)	2,44 (0,75)
MW	17,1	9,6	26,1	2,59
HSD	8,14	6,8	11,7	1,97

Standardabweichung in Klammern; HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ); Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt.

### 4.3 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung der mikrobiellen Besiedlung von Wurzeloberfläche und Rhizosphäre für Stoffumsätze in Böden zu erfassen.

Im ersten Versuch wurde der Einfluss der Pflanzenart auf die mikrobielle Besiedlung der Wurzeloberfläche untersucht. Es sollte die Eignung von Ergosterol und Muraminsäure zur Quantifizierung von Pilz- und Bakterienbiomasse auf Wurzeloberflächen überprüft werden (Hypothese 1).

#### 4.3.1 Betrachtung des Versuchsaufbaus und der Probenfraktionen

Bei der Anlage eines Gefäßversuchs stellt sich anfangs die Frage nach den Vor- und Nachteilen der verschiedenen Methoden zur Probengewinnung. Um Wurzelmaterial, Rhizosphärenboden und Restboden voneinander zu separieren, gibt es unterschiedliche Möglichkeiten. Man kann die Pflanzen in „normalen“ Gefäßen anziehen, wobei sich die

Wurzeln im vorhandenen Boden uneingeschränkt ausbreiten können. Bei der späteren Probenaufbereitung werden Wurzeln und anhaftender Rhizosphärenboden durch Sieben und manuelle Selektion vom Restboden getrennt. Anschließend wird der Rhizosphärenboden durch Waschen von den Wurzeln abgelöst. Bei diesen Aufarbeitungsschritten kann es unter Umständen zum Verlust von Feinwurzeln und Wurzelhaaren kommen. Eine andere Möglichkeit wäre die Aufteilung der Versuchsgefäße in unterschiedliche Zonen, die durch eine Gaze oder ähnliches voneinander getrennt sind (CHENG et al., 1996; HELAL & SAUERBECK, 1986). Hierbei wird das Wurzelwachstum auf eine bestimmte Zone im Versuchsgefäß, die sogenannte Wurzelzone, beschränkt. Der Boden außerhalb der Wurzelzone könnte als Restboden bezeichnet werden, während sich innerhalb der Wurzelzone nur Wurzeln und Rhizosphärenboden befinden. Bei dieser Methode wäre ein arbeitsintensiver Trennungsschritt, die Isolierung von Wurzeln und Rhizosphärenboden vom übrigen Restboden, eingespart. Ein Nachteil ist allerdings die eingeschränkte Ausbreitung der Wurzeln im Gefäß, die sich deutlich von den Bedingungen im Freiland unterscheidet. In dieser Arbeit wurde die erste der beiden vorgestellten Methoden angewandt, die zwar arbeitsintensiver bei der Trennung der Probenfraktionen ist, den natürlichen Wachstumsbedingungen von Pflanzen im Freiland aber näher kommt.

Ausgehend vom Gesamtprobengewicht machte der Restboden etwa 95 %, der Rhizosphärenboden 4,7 % und die Wurzelmasse im Mittel 0,2 % aus. Der Anteil der Wurzelmasse lag zwischen 0,02 und 0,84 %, wobei die drei Gräser Weidelgras, Wiesenrispe und Knautgras die höchsten Anteile von 0,63 bis 0,84 % hatten. Diese Werte gleichen denen von JOERGENSEN (2000), der in verschiedenen Grünlandböden einen Wurzelanteil von 0,7 % ermittelte. Die Durchwurzelungsintensität von Gräsern ist generell ausgeprägter als bei vielen anderen Pflanzen, so waren auch hier die Wurzelanteile der anderen Pflanzen weitaus geringer.

#### **4.3.2 Indikatoren der mikrobiellen Biomasse**

Die Ergosterolgehalte an den Wurzeln wiesen auf große Unterschiede bei der pilzlichen Besiedlung der einzelnen Pflanzenarten hin. Die gemessenen Werte lagen zwischen 0,0 und 45,5  $\mu\text{g g}^{-1}$  TM (Tab. 4.3) und waren signifikant korreliert ( $r = 0,55$ ;  $P < 0,05$ ) mit den Gehalten des pilzlichen Kohlenstoffs (berechnet aus Pilz-Glucosamin). Im Rhizosphärenboden waren die Schwankungen zwischen den Pflanzen nicht so ausgeprägt wie an den Wurzeln, was offenbar auf den Einfluss des umgebenden Bodens zurückzuführen ist. Die Ergosterolgehalte des Rhizosphärenbodens reichten von 0,1 bis 1,1  $\mu\text{g g}^{-1}$  TM (Tab. 4.4)

und lagen damit im Bereich der von WEST und GRANT (1987) ermittelten Werte für Ackerland (0,2 bis 1,6  $\mu\text{g g}^{-1}$  TM). Wobei zu beachten ist, dass im Rhizosphärenboden gewöhnlich höhere Werte gefunden werden als im übrigen Boden. Dies zeigen auch die von JOERGENSEN (2000) ermittelten Werte, der in verschiedenen Grünlandböden die drei Probenfraktionen Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln untersuchte. Er fand im Rhizosphärenboden Ergosterolgehalte von 6,0  $\mu\text{g g}^{-1}$  TM und  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte von 1,55  $\text{mg g}^{-1}$  TM, wogegen die Gehalte im Restboden etwa 40 % niedriger waren. An den Wurzeln fand er 74  $\mu\text{g Ergosterol g}^{-1}$  TM und durchschnittlich 73  $\text{mg CHCl}_3$ -labilen C  $\text{g}^{-1}$  TM, woraus er auf eine mikrobielle Biomasse der wurzelbesiedelnden Organismen von 19  $\text{mg C g}^{-1}$  TM schloss. Die bei ihm gemessenen Werte sind im Vergleich zu diesem Versuch relativ hoch. Hauptgrund hierfür sind die für die Untersuchung verwendeten Böden. Die mikrobielle Besiedlung durch Pilze ist in einem ackerbaulich genutzten Boden allgemein weitaus niedriger als in einem Grünlandboden, was sich sowohl an den Ergosterol-, als auch an den  $C_{\text{mik}}$ -Gehalten bemerkbar macht. DJAJAKIRANA et al. (1996) fanden in Ackerland Ergosterolgehalte um 2,1 und  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte um 352  $\mu\text{g g}^{-1}$  TM, in Böden unter Grünland dagegen waren die Werte etwa 60 % höher.

Die  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte der 15 Pflanzen lagen im Rhizosphärenboden bei durchschnittlich 0,4  $\text{mg g}^{-1}$  TM und an den Wurzeln wurden 47  $\text{mg CHCl}_3$ -labiler C  $\text{g}^{-1}$  TM gemessen. Die hohen Gehalte des  $\text{CHCl}_3$ -labilen-C an den Wurzeln legen nahe, dass ein großer Anteil des Kohlenstoffs aus den Wurzelzellen stammte. Bei der Begasung von Wurzelmaterial mit Chloroform werden Zellmembranen lebender Organismen zerstört. Daher werden neben den Mikroorganismen auch die Membranen der lebenden bzw. gerade abgetöteten Wurzeln durch das Chloroform angegriffen (MUELLER et al. 1992). Die Berechnung des realen Kohlenstoffs der mikrobiellen Biomasse ( $C_{\text{mik}}^*$ ) an den Wurzeln erfolgte über den Ergosterolgehalt der Wurzeln und das Verhältnis von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  im Rhizosphärenboden (Kapitel 2.2.1). Nach dieser Rechnung lag der  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt der Wurzeln im Mittel bei 11  $\text{mg g}^{-1}$  TM. Nach der Eliminierung des in die Rechnung eingegangenen Korrekturfaktors für Böden stammten etwa 10 % des  $\text{CHCl}_3$ -labilen C aus der mikrobiellen Biomasse und 90 % waren nicht mikrobieller, organischer Kohlenstoff aus den Wurzeln.

Da bei der Begasung von Wurzelmaterial mit Chloroform neben Kohlenstoff auch Stickstoff aus den Wurzelzellen freigesetzt werden kann, wurde der mikrobielle Stickstoff an den Wurzeln aus den  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalten und dem  $(\text{C/N})_{\text{mik}}$ -Verhältnis im Rhizosphärenboden berechnet (Kapitel 2.2.2). Der so ermittelte mikrobielle Stickstoff an den Wurzeln ( $\text{N}_{\text{mik}}^*$ ) lag

durchschnittlich bei  $1,4 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Es zeigte sich, dass etwa 55 % des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Stickstoffs aus den Wurzelzellen stammten und 45 % mikrobiellen Ursprungs waren.

Der Gehalt des mikrobiellen Stickstoffs im Rhizosphärenboden lag im Mittel bei  $55 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  TM, woraus sich ein C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse von durchschnittlich 7,9 ergab (Tab. 4.4). Dies ist etwas erhöht im Vergleich zu dem durchschnittlichen C/N-Verhältnis von 6,7 für Mikroorganismen (JENKINSON, 1988). ANDERSON und DOMSCH (1980) zeigten in Untersuchungen, dass der C-Gehalt des Pilzmyceliums abhängig von der C-Konzentration der Umgebung ist. Je höher das C-Angebot des umgebenden Mediums, desto höher war das C/N-Verhältnis der Zellen.

### **4.3.3 Mykorrhizaeinfluss auf die Ergosterolgehalte**

Die Mykorrhiza ist wohl die weitverbreitetste Symbiose auf der Erde. Man vermutet, dass bei über 90 % aller Gefäßpflanzenfamilien eine enge symbiontische Beziehung zwischen den Pflanzenwurzeln und Pilzen besteht (RAVEN et al., 1988). Nur wenige Pflanzenfamilien bilden keine oder nur selten Mykorrhizen. Hierzu gehören die Brassicaceae, Cyperaceae, Caryophyllaceae und Chenopodiaceae, sowie Pflanzen der Gattung *Lupinus*.

Der Nachweis von Mykorrhizapilzen erfolgt meist durch Anfärben der Wurzeln und anschließende mikroskopische Betrachtung, wobei der Grad der Kolonisierung vorwiegend mit der „gridline intersection“-Methode (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980) bestimmt wird. Eine Quantifizierung der Mykorrhizapilze ist schwierig und sehr arbeitsaufwändig. Dazu müssen z.B. die Bodenhyphe ausgewaschen und berechnet werden. Zusätzlich muss man zwischen toten und lebenden Zellstrukturen unterscheiden. Neben den Mykorrhizapilzen kommen noch viele andere Pilzarten im Boden vor, deren Hyphen nur schwer abzugrenzen sind. Das Auszählen der Sporen von AM-Pilzen ist eine weitere Möglichkeit der Quantifizierung, die aber fehlerbehaftet und eher willkürlich in ihrer Aussagekraft ist. Auch der Nachweis von Mykorrhizapilzen durch biochemische Marker wie Ergosterol und PLFA ist umstritten. OLSSON et al. (2003) stellten fest, dass ein Vergleich der Biomasse verschiedener Pilzgruppen mit den zur Zeit verfügbaren Biomarkern sehr schwierig ist.

Das Vorkommen von Ergosterol in Mykorrhizapilzen ist umstritten, während FREY et al. (1992) Hinweise auf Ergosterol fanden, wurden bei GRANDMOUGIN-FERJANI et al. (1999), OLSSON et al. (2003) und SCHMITZ et al. (1991) in keiner der untersuchten Spezies der AM-Pilze Ergosterol nachgewiesen.

Die Pflanzen in diesem Versuch wurden hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Ausbildung einer Mykorrhiza eingeteilt. In die Gruppe der Pflanzen, die eine natürliche Resistenz gegen die

Ausbildung einer Mykorrhiza besitzen (n-Myk), kamen die zwei Brassicaceae Senf und Raps, die Chenopodiaceae Spinat sowie die Lupine. Alle anderen Pflanzen wurden der Gruppe der Mykorrhiza bildenden Pflanzen (Myk) zugewiesen. Es zeigte sich, dass die Ergosterolgehalte an den n-Myk-Pflanzen, deren Wurzeln von nicht Mykorrhiza bildenden Pilzen besiedelt werden, höher waren als an den Myk-Pflanzen. Während an den Wurzeln die Gehalte der n-Myk-Pflanzen nur tendenziell höher waren als die der Myk-Pflanzen, war der Unterschied im Rhizosphärenboden signifikant. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Ergosterolgehalt in Mykorrhizapilzen niedriger ist als in anderen Pilzarten. Wenn sie aber, wie mehrfach beschrieben, gar kein Ergosterol enthalten, müssten neben den Mykorrhizapilzen noch eine Vielzahl anderer Pilzarten die Wurzeln besiedeln, aus denen das nachgewiesene Ergosterol stammt. EKBLAD und NÄSHOLM (1996) gehen von der Annahme aus, dass an mykorrhizierten Wurzeln die Biomasse von Nicht-Mykorrhizapilzen sehr gering ist. Dies würde wiederum bedeuten, dass auch Mykorrhizapilze Ergosterol enthalten.

#### **4.3.4 Aminosucker in Rhizosphärenboden und Wurzeln**

Die Gehalte der Aminosucker Muraminsäure und Glucosamin lagen im Rhizosphärenboden durchschnittlich bei  $40 \mu\text{g g}^{-1}$  TM bzw. bei  $0,5 \text{ mg g}^{-1}$  TM (Tab. A-4.1) und waren bei allen Pflanzen sehr ähnlich. Die Werte lagen im Bereich der von MILLAR und CASIDA (1970), SOLOMON et al. (2001) und ZHANG et al. (1996 & 1997) ermittelten Aminosucker-Gehalte in unterschiedlichen Böden. Im Wurzelmaterial zeigten sich weitaus größere Schwankungen zwischen den 15 Pflanzenarten. Die Gehalte von Muraminsäure an Wurzeln schwankten zwischen  $37$  und  $480 \mu\text{g g}^{-1}$  TM, die von Glucosamin zwischen  $0,9$  und  $3,0 \text{ mg g}^{-1}$  TM (Tab. 4.6). Die gemessenen Galactosamingehalte waren im Vergleich zu den Glucosamingehalten ungewöhnlich hoch. Im Rhizosphärenboden waren sie, mit durchschnittlich  $1,0 \text{ mg g}^{-1}$  TM, etwa zweimal so hoch wie die Glucosamingehalte. An den Wurzeln überragten sie das Glucosamin etwa um das Zehnfache. In der Literatur wird das Verhältnis von Glucosamin zu Galactosamin in verschiedenen Böden im Allgemeinen mit größer als eins angegeben. ZHANG et al. (1996 & 1997) ermittelten Glucosamingehalte zwischen  $160$  und  $1850 \text{ mg kg}^{-1}$  TM und Galactosamingehalte von  $70$  bis  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  TM. Bei SOWDEN (1959) waren die Gehalte weitaus höher, hatten aber auch ein Verhältnis von Glucosamin zu Galactosamin, das bei zwei zu eins lag. Wurden die gemessenen Galactosamingehalte durch die begrenzten Verhältnisse im Gefäßversuche beeinflusst, die sich von den natürlichen Bedingungen im Feld unterscheiden? Die hohen Galactosamingehalte könnten auf eine Anreicherung von kapselbildenden und Schleim abgebenden Bakterien an den Wurzeln

hindeuten. Auffällig ist das verhältnismäßig geringe Vorkommen von Galactosamin im Vergleich zu Muraminsäure und Glucosamin in den Bodenfraktionen. Während bei der Muraminsäure und dem Glucosamin die Gehalte an den Wurzeln durchschnittlich drei- bis viermal so hoch waren wie in den Bodenfraktionen, war der Unterschied beim Galactosamin mit einem Faktor von zwanzig weitaus größer. Es ist unwahrscheinlich, dass Galactosamin nach dem Absterben der Organismen wesentlich schneller abgebaut wird als Glucosamin. Da die beiden Aminozucker strukturell sehr viele Ähnlichkeiten besitzen (Abb. 3.1), ist es eher wahrscheinlich, dass die Umsatzzeiten einander entsprechen (AMELUNG, 2001). Der Anlass für weitere Überlegungen hinsichtlich der Zuverlässigkeit der Galactosamingehalte waren einige Messungen, die im Vorfeld der Versuche an einigen Proben von Wurzeln und Rhizosphärenboden vorgenommen wurden. Hierbei wurden im Rhizosphärenboden weitaus geringere Gehalte gemessen und an den Wurzeln wurde gar kein Galactosamin gefunden. Falls die hohen Galactosamingehalte nicht durch eine abweichende Zusammensetzung der Bakterienflora im Vergleich zu Freilandproben bedingt waren, stellt sich die Frage, was die Ursache der hohen Gehalte sein könnte. Da die Proben bis zur Hydrolyse und im Anschluss bis zur Messung tiefgefroren waren, ist es unwahrscheinlich, dass es in dieser Zeit zu einer Anreicherung von Galactosamin kommen konnte. Gab es bei der Derivatisierung der Proben und der anschließenden Trennung durch HPLC eine Überlagerung des Galactosamins durch eine andere Substanz? Wurde vielleicht von den Wurzeln eine Substanz ausgeschieden, die nach einer Derivatisierung mit OPA bei der Trennung zusammen mit dem Galactosamin eluierte? Die Grundlage der Derivatisierung mit OPA beruht auf der Reaktion mit einer primären Aminoverbindung zu einem fluoreszierenden Isoindolderivat, welches anschließend an einem Fluoreszenzspektrometer gemessen werden kann (siehe Kapitel 3.2). Neben den Aminozuckern werden vor allem Aminosäuren mit der OPA-Methode bestimmt. Die drei Aminosäuren Asparagin, Histidin und Serin wurden hinsichtlich ihrer Retentionszeiten zusammen mit den Standards der Aminozucker gemessen, um eventuelle Überschneidungen zu überprüfen. Es wurde eine klare Trennung der einzelnen Fluoreszenzderivate beobachtet. Die Retentionszeiten der Aminosäuren waren: 15,4 min (Asparagin), 17,8 min (Histidin) und 18,8 min (Serin). Die Peaks von Galactosamin und Glucosamin erschienen nach den Aminosäuren, Galactosamin nach 20,4 min und Glucosamin nach 21,8 min. Falls es beim Galactosamin zu einer Überlagerung mit einer anderen Substanz gekommen ist, so ist diese unbekannt.

Bei der Betrachtung der Quotienten von mikrobiellem Kohlenstoff zu Glucosamin bzw. zu Muraminsäure (Abb. 4.1) ist ein deutlicher Unterschied zwischen dem Wurzelmaterial und

dem Rhizosphärenboden zu erkennen. Im Wurzelmaterial waren die Verhältnisse durchschnittlich siebenmal höher als im Rhizosphärenboden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Zahl der mikrobiellen Residuen im Rhizosphärenboden um ein vielfaches höher ist als am Wurzelmaterial. Dementsprechend war das Verhältnis von Pilz-Glucosamin zu Ergosterol (Abb. 4.2) an den Wurzeln durchschnittlich fünfmal kleiner als im Rhizosphärenboden. Dies zeigt an, dass der Anteil lebender Pilze (Biomasse) an der Gesamt-Pilzmasse (Biomasse und Nekromasse) im Wurzelmaterial um ein Vielfaches höher ist als im Rhizosphärenboden. Die Quotienten von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure waren in Rhizosphärenboden und Wurzelmaterial im Mittel sehr ähnlich. Während die Werte der einzelnen Pflanzen im Rhizosphärenboden nahezu konstant waren, wurden im Wurzelmaterial große Schwankungen beobachtet. Die Kontinuität im Rhizosphärenboden deutet darauf hin, dass hier die mikrobiellen Residuen überwiegen. Kleine Veränderungen der mikrobiellen Biomasse werden kaum registriert, da sie gegenüber der Residualmasse quantitativ von geringerer Bedeutung ist. Im Wurzelmaterial zeigen die Schwankungen dagegen eine gewisse Dynamik an, die nur durch eine Dominanz der mikrobiellen Biomasse zu erklären ist.

#### **4.3.5 Berechnung des bakteriellen und pilzlichen Kohlenstoffs**

Aminozucker reichern sich nach dem Absterben des jeweiligen Organismus im Boden an (AMELUNG, 2001) und können daher eher zur Abschätzung der mikrobiellen Nekromasse (JOERGENSEN et al., 1995b) als der mikrobiellen Biomasse im Boden genutzt werden. Auf frisch besiedelten Substraten wie Wurzeln müsste es aber möglich sein, die bakterielle Biomasse mit Muraminsäure (RÖNKKÖ et al., 1994) und die pilzliche Biomasse mit Glucosamin (EKBLAD & NÄSHOLM, 1996) zu bestimmen.

Die Umrechnung von Muraminsäure in bakteriellen Kohlenstoff und von Glucosamin in pilzlichen Kohlenstoff wird erschwert durch die große Variabilität der Aminozucker in verschiedenen Pilz- und Bakterienarten (TUNLID & WHITE, 1992; COELHO et al., 1997). Daher wurden Umrechnungen der Chitin- bzw. Glucosamingehalte in Pilzbiomasse (SWIFT, 1973; MATCHAM, et al., 1985; ROCHE et al., 1993) bisher nur bei einzelnen Pilzarten vorgenommen.

Boden und Wurzeln werden von einer Vielzahl unterschiedlicher Bakterien und Pilze besiedelt. Trotz der Variabilität von Muraminsäure in Bakterien und Glucosamin in Pilzen sollte es möglich sein Umrechnungsfaktoren zu erstellen, mit deren Hilfe annähernd realistische Gehalte von bakteriellem und pilzlichem Kohlenstoff berechnet werden können. In den Kapiteln 2.2.3 und 2.2.4 wurden Faktoren zur Berechnung des bakteriellen

Kohlenstoffs aus den Muraminsäuregehalten und des pilzlichen Kohlenstoffs aus den Glucosamingehalten vorgestellt. Mit Hilfe dieser Umrechnungsfaktoren wurden an den Wurzeln Kohlenstoffgehalte von durchschnittlich  $9,6 \text{ mg g}^{-1}$  TM aus Bakterien und  $17,1 \text{ mg g}^{-1}$  TM aus Pilzen ermittelt (Tab. 4.8). Da Aminosucker nach dem Absterben eines Organismus im Boden nicht sofort abgebaut werden, sondern sich in der organischen Substanz akkumulieren (AMELUNG, 2001), kann man davon ausgehen, dass auch auf frisch besiedelten Substraten wie Wurzeln ein Teil der gemessenen Aminosucker aus der mikrobiellen Nekromasse stammen. Um den Anteil der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse zu bestimmen, wurde die Summe des bakteriellen und pilzlichen Kohlenstoffs ins Verhältnis zum mikrobiellen Kohlenstoff ( $C_{\text{mik}}^*$ ) gesetzt. Bei einem Kohlenstoffgehalt von ca.  $26,1 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse aus Pilzen und Bakterien (berechnet aus den Gehalten von Glucosamin und Muraminsäure) und einem  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt von  $10,9 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse ergab sich ein Anteil der Biomasse von etwas mehr als 40 %. Das heißt, dass knapp 60 % des pilzlichen und bakteriellen Kohlenstoffs, der aus den Gehalten von Glucosamin und Muraminsäure ermittelt wurde, aus der mikrobiellen Nekromasse stammte, während ca. 40 % aus der mikrobiellen Biomasse hervorgingen.

Durch die unterschiedliche Struktur von Glucosamin und Muraminsäure ist es wahrscheinlich, dass die Umsatzzeiten der Aminosucker im Boden nicht gleich sind. Generell wird davon ausgegangen, dass Muraminsäure im Boden schneller abgebaut wird als Glucosamin. Niedrigere Konzentrationen von Muraminsäure im Boden könnten z.B. einen schnelleren Umsatz widerspiegeln, da auch Muraminsäure-Standardlösungen in Wasser im Vergleich zu anderen Aminosucker-Standardlösungen nicht so lange haltbar sind und unter  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  gelagert werden müssen. Außerdem könnten bakterielle Zellwandbestandteile empfänglicher für den mikrobiellen Abbau sein als pilzliche, da das pilzliche Chitin durch eine Glucan- oder Melaninschicht vor dem Abbau geschützt sein könnte (AMELUNG, 2001). GUGGENBERGER und FREY (1999) zeigten dagegen, dass in Mikroaggregaten das Pilzchitin anfälliger für den mikrobiellen Abbau ist als das bakterielle Peptidoglycan. Grund dafür könnte die Carboxylgruppe der Muraminsäure sein, die eine Sorption von organischen Substanzen an mineralische Bodenpartikel begünstigt. Dadurch kann es zu einer Anlagerung von Tonpartikeln um die Bakterienzelle kommen, die dann vor dem Abbau geschützt wäre.

Über den Abbau von Aminosuckern an Wurzeloberflächen gibt es keine genaueren Angaben. Kann man auch hier generell davon ausgehen, dass Muraminsäure schneller abgebaut wird als Glucosamin? Betrachtet man die Quotienten von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure



(Abb. 4.2), so sind die Mittelwerte im Rhizosphärenboden und im Wurzelmaterial sehr ähnlich. Bei einer schnelleren Umsatzzeit der Muraminsäure müsste der Wert im Rhizosphärenboden theoretisch größer sein als im Wurzelmaterial. Vergleicht man zusätzlich die Verhältnisse von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Glucosamin bzw. von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Muraminsäure, so ist bei beiden zu erkennen, dass die Quotienten im Wurzelmaterial etwa siebenmal größer sind als im Rhizosphärenboden. Unter der Annahme, dass Muraminsäure schneller abgebaut wird, müsste der Unterschied zwischen Wurzeln und Rhizosphärenboden bei dem Quotienten von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Muraminsäure theoretisch größer sein als bei dem Quotienten von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Glucosamin, da sich die Aminosucker im Boden höchstwahrscheinlich stärker akkumulieren als am Wurzelmaterial. Die ermittelten Quotienten weisen darauf hin, dass die Umsatzzeiten beider Aminosucker an der Wurzel ähnlich sind. Ausgehend von dieser Annahme würde sich der durchschnittliche  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt von  $10,9 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse zusammensetzen aus etwa  $7,0 \text{ mg C g}^{-1}$  TM aus der Pilzbiomasse und ca.  $3,9 \text{ mg C g}^{-1}$  TM aus der Bakterienbiomasse.

Allgemein wird angenommen, dass bei den wurzelbesiedelnden Mikroorganismen die Bakterien gegenüber Pilzen dominieren (KILLHAM, 1994; SCHINNER & SONNLEITNER, 1996; SPARLING, 1985). Die Ergebnisse aus diesem Versuch würden dem widersprechen. Das Verhältnis von pilzlichem zu bakteriellem Kohlenstoff lag hier im Mittel bei 2,6 (Tab. 4.8). Bei der Betrachtung der Quotienten aller Pflanzenarten könnte man von einem ausgeglichenem Verhältnis von Bakterien und Pilzen an Wurzeln sprechen oder eher noch von einer tendenziellen Dominanz der Pilze gegenüber den Bakterien. Erkennbar ist aber vor allem ein ausgeprägter Einfluss der Pflanzenart auf die Anteile der Pilze und Bakterien an der Biomasse der wurzelbesiedelnden Mikroorganismen.

Es wurden mehrfach Umrechnungsfaktoren für Ergosterol zur Berechnung des C-Anteils der Pilzbiomasse am Gesamtkohlenstoff der mikrobiellen Biomasse in Böden beschrieben (SCHEU & PARKINSON, 1994; MONTGOMERY et al., 2000). DJAJAKIRANA et al. (1996) berechneten einen Ergosterolgehalt von durchschnittlich  $5,1 \text{ mg g}^{-1}$  Pilztrockenmasse. Bei der Annahme von 46 % C in der Pilzbiomasse gaben sie einen Umrechnungsfaktor von 90 für  $\mu\text{g}$  Ergosterol in  $\mu\text{g}$  C der Pilzbiomasse an. Würde man die im Versuch gemessenen Ergosterolgehalte an den Wurzeln mit diesem Faktor in C-Gehalte der Pilzbiomasse umrechnen, so wäre der C-Anteil der Pilzbiomasse am C-Gehalt der Gesamtbio­masse viel zu gering. Man kann daraus schließen, dass dieser Faktor zur Berechnung des C-Gehalts der Pilzbiomasse an Wurzeln nicht geeignet ist.

Wahrscheinlich ist der Ergosterolgehalt in wurzelbesiedelnden Pilzen niedriger als im Boden. Wie in Kapitel 4.3.3 diskutiert, ist das Vorkommen von Ergosterol in Mykorrhizapilzen ungewiss. Falls es dort vorkommt, ist die Konzentration höchstwahrscheinlich niedriger als in anderen Pilzen. Dies würde zu einem größeren Umrechnungsfaktor von Ergosterol in Pilzbiomasse-C an den Wurzeln führen, als er für Boden verwendet wird. Vergleicht man die Ergosterolgehalte der Wurzeln mit den ermittelten C-Gehalten der Pilzbiomasse aus den Glucosamingehalten, ergibt sich ein Faktor von etwa 450 für die Umrechnung von  $\mu\text{g}$  Ergosterol in  $\mu\text{g}$  C der Pilzbiomasse. Während im Boden ein Umrechnungsfaktor von 90 (DJAJAKIRANA et al., 1996) verwendet wird, müsste dieser an den Wurzeln ca. fünfmal so hoch sein.

Um auf die anfangs aufgestellte Hypothese zurückzukommen, dass sich die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen mit Ergosterol und Muraminsäure quantitativ erfassen lässt, kann abschließend zusammengefasst werden, dass die Bestimmung der Pilz- und Bakterienbiomasse anhand der Gehalte von Glucosamin und Muraminsäure an Wurzeln möglich ist. Für die Bestimmung der Pilzbiomasse aus den Ergosterolgehalten der Wurzeln wurde ein neuer Umrechnungsfaktor vorgeschlagen, da die bekannten Faktoren, die für Ergosterolgehalte in Böden erstellt wurden, für die Wurzeln nicht geeignet sind.

#### **4.3.6 Betrachtung einzelner Pflanzen und Familien**

Von den 15 Pflanzen waren die bei Phacelia ermittelten Messgrößen der mikrobiellen Biomasse sehr auffällig. Sowohl im Rhizosphärenboden als auch an den Wurzeln wurden hier die niedrigsten  $C_{\text{mik}}$ - und  $N_{\text{mik}}$ -Gehalte gemessen. An den Wurzeln konnte keinerlei Ergosterol nachgewiesen werden und im Rhizosphärenboden lag der Wert an drittletzter Stelle. Bei den Aminosackern war die Abstufung nicht so eindeutig. Die Muraminsäuregehalte entsprachen sowohl im Rhizosphärenboden ( $39 \mu\text{g g}^{-1} \text{TM}$ ) als auch an den Wurzeln ( $155 \mu\text{g g}^{-1} \text{TM}$ ) den berechneten Mittelwerten ( $40$  bzw.  $161 \mu\text{g g}^{-1} \text{TM}$ ) aller 15 Pflanzenarten. Beim Glucosamin lagen im Rhizosphärenboden alle Werte nahe beieinander. An den Wurzeln war der Glucosamingehalt von Phacelia allerdings im unteren Bereich der gemessenen Werte. Während die bakterielle Besiedlung an den Wurzeln offenbar ungestört war, wirft die pilzliche Besiedlung einige Fragen auf. Der Glucosamingehalt weist auf eine mäßige Pilzbesiedlung der Wurzeln hin. Das fehlende Ergosterol hingegen würde das Vorhandensein lebender Pilze an den Wurzeln negieren. Für eine Erklärung kann man an dieser Stelle nur Vermutungen anstellen:

1. Ergosterol wurde bei der Messung durch eine unbekannte Substanz überlagert.
2. Es gab keine lebenden Pilze an den Wurzeln von Phacelia. Durch das Glucosamin wurde demzufolge nur die pilzliche Nekromasse bestimmt.
3. Die Wurzeln von Phacelia wurden vorwiegend von Pilzen besiedelt, die kein Ergosterol enthalten.

Falls Ergosterol an den Wurzeln von Phacelia vorhanden war und dieses durch eine andere Substanz überlagert wurde, so kann der Ergosterolgehalt nicht sehr groß gewesen sein. Das Vorkommen von Ergosterol in Mykorrhizapilzen ist, wie zuvor schon diskutiert, umstritten. Da aber auch der Glucosamingehalt im unteren Bereich der gemessenen Werte lag, ist es wahrscheinlich, dass die Pilzbesiedlung an den Wurzeln sehr gering war. Dies spiegelt sich auch in den  $\text{CHCl}_3$ -labilen C- und N-Gehalten wieder, die weitaus niedriger waren als bei den anderen Pflanzen. Eine Erklärung für die geringe mikrobielle Besiedlung der Phaceliawurzeln, deren Hauptursache offensichtlich eine extrem niedrige Pilzbesiedlung war, kann an dieser Stelle nicht gegeben werden. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der Menge und Zusammensetzung von mikrobiellen Organismen an Phaceliawurzeln wären sicherlich aufschlussreich und interessant.

Abschließend wurden die Pflanzenarten hinsichtlich ihrer Familienzugehörigkeit untersucht. Bei den drei Familien der Poaceae, Fabaceae und Brassicaceae wurden die Messgrößen der mikrobiellen Biomasse verglichen. Es zeigte sich, dass die Fabaceae oft signifikant höhere  $C_{\text{mik}}$ -,  $N_{\text{mik}}$ - und Ergosterolgehalte sowohl im Rhizosphärenboden als auch im Wurzelmaterial besaßen (siehe Tab. 4.7). Die Poaceae hatten signifikant höhere  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte als die Brassicaceae, bei den  $N_{\text{mik}}$ -Gehalten und beim Ergosterol an den Wurzeln zeigten sich dagegen keine Unterschiede. Auch bei den Aminosuktern wurden kaum Unterschiede zwischen Poaceae und Brassicaceae festgestellt. Bei allen gemessenen Indikatoren ( $C_{\text{mik}}$ ,  $N_{\text{mik}}$ , Ergosterol und Aminosucker) zeigten sich sehr große Schwankungen am Wurzelmaterial der unterschiedlichen Pflanzen. Im Rhizosphärenboden waren die Schwankungen dagegen weniger ausgeprägt. Die Ergebnisse zeigen, dass hinsichtlich der mikrobiellen Besiedlung von ganzen Pflanzenfamilien keine allgemeingültigen Aussagen gemacht werden können, während sich die einzelnen Pflanzenarten individuell in ihrer mikrobiellen Besiedlung unterscheiden. Dies bestätigt, dass der Einfluss der einzelnen Pflanzenart auf die Besiedlung der Wurzeln von entscheidender Bedeutung ist (MARSCHNER et al., 2001; MERBACH et al., 1999).

## 5 VERSUCH 2: Die mikrobielle Besiedlung von Wurzeln in Abhängigkeit von der mikrobiellen Besiedlung des Gesamtbodens

Im zweiten Versuch wurde der Einfluss des Bodens auf die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen untersucht. Es wurden unterschiedliche Böden miteinander verglichen. Bei den Böden handelte es sich um verschiedene Oberböden, die sich hinsichtlich des Bodentyps und der Bewirtschaftungsform unterschieden und einen Unterboden. Die Gehalte von mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff, Ergosterol und verschiedenen Aminosuktern wurden an den Wurzeln, im Rhizosphärenboden und im Restboden quantifiziert und miteinander verglichen. Dabei wurde der Frage nachgegangen, ob sich die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen in Größe und Zusammensetzung von der mikrobiellen Zersetzergemeinschaft eines Bodens unterscheidet (Hypothese 2).

### 5.1 Versuchsbeschreibung

Deutsches Weidelgras (*Lolium perenne* L.) wurde im Gewächshaus auf sieben verschiedenen Böden angezogen. Die Böden (Tab. 5.1) stammten vom Versuchsgut der Universität Kassel in Frankenhausen (Hessen) und aus der Nähe von Göttingen (Niedersachsen).

Tab. 5.1: Verwendete Böden

Nr.	Boden	Herkunft
a	Bv-Material einer Parabraunerde	Frankenhausen, Kleines Feld a
b	Parabraunerde unter Ackerland	Frankenhausen, Kleines Feld a
c	Griserde unter Ackerland	Göttingen, Gänseanger
d	Schwarzerde unter Ackerland	Göttingen, Gänseanger
e	Parabraunerde unter Grünland	Frankenhausen, Mühlberg
f	Griserde unter Grünland	Göttingen, Gänseanger
g	Schwarzerde unter Grünland	Göttingen, Gänseanger

Die Aussaat erfolgte im April 2002. Es wurden jeweils sechs Gefäße pro Boden als Parallelen angelegt. Bis Ende Mai wurden die Pflanzen im Gewächshaus angezogen und anschließend in eine Freilandhalle befördert. Die Ernte fand 12 Wochen nach der Aussaat statt. Von den

bodenfreien Wurzeln, dem feuchten Rhizosphärenboden und dem Restboden wurden Teilproben für die Analysen entnommen. Ergosterol, mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff wurden innerhalb von vier Tagen nach der Ernte gemessen. Für die Aminosäuren (Muraminsäure, Glucosamin und Galactosamin) wurden Teilproben eingefroren, um sie an einem späteren Zeitpunkt zu analysieren. An getrockneten Teilproben von Restboden und Rhizosphärenboden wurden Karbonat-C, Gesamtkohlenstoff und Gesamtstickstoff bestimmt. Die dem Versuch vorausgegangenen Untersuchungen der Bodenkennwerte sind in Tabelle 5.2 dargestellt.

Tab. 5.2: Charakteristika der verwendeten Böden

Boden Nr.	a	b	c	d	e	f	g
Probentiefe [cm]	140 - 160	bis 35	bis 35	bis 35	bis 35	bis 35	bis 35
Sand [%]	2,6	2,5	6,2	5,6	5,9	5,5	10,6
Ton [%]	24,1	18,1	22,2	24,6	17,1	23,2	20,7
Schluff [%]	73,3	79,3	71,6	69,8	77,0	71,3	68,7
pH [CaCl <sub>2</sub> ]	7,32	6,8	6,63	7,08	6,5	6,75	7,21
pH [H <sub>2</sub> O]	8,40	7,71	7,01	7,95	6,87	7,45	8,13
WHK [%]	50,28	52,77	64,12	85,19	54,03	72,61	90,45
C <sub>t</sub> [%]	0,36	1,27	1,78	3,74	1,63	2,23	5,19
C <sub>org</sub> [%]	0,36	1,27	1,78	2,89	1,63	2,23	4,07
N <sub>t</sub> [%]	0,04	0,13	0,18	0,31	0,17	0,22	0,41
KAK [μmol <sub>c</sub> g <sup>-1</sup> ]	164,7	140,1	198,4	289,4	140,1	198,4	307,6
Summe AMP-ADP-ATP [nmol/g]	0,44	2,92	4,14	3,50	3,60	5,60	7,05
AEC	0,60	0,79	0,78	0,78	0,81	0,80	0,79
Ergosterol [μg g <sup>-1</sup> ]	0,11	0,98	1,45	0,95	0,82	2,78	1,69
C <sub>mik</sub> [μg g <sup>-1</sup> ]	8,7	292,6	455,6	538,6	344,7	608,0	964,3
N <sub>mik</sub> [μg g <sup>-1</sup> ]	2,1	52,0	52,2	85,7	56,5	100,0	169,4
C/N <sub>mik</sub>	4,1	5,6	8,7	6,3	6,1	6,1	5,7

Vor der Aussaat wurden die Böden auf 2 mm gesiebt, um Wurzeln, andere Pflanzenrückstände und Steine zu entfernen und anschließend in die Gefäße gefüllt.

Bei der Ernte wurden die oberirdischen Pflanzenteile entfernt und zur Bestimmung der Trockenmasse verwendet. Die Gewinnung der drei Probenfraktionen Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln erfolgte wie bereits in Versuch 1 (Kap. 4.1) beschrieben.

## 5.2 Ergebnisse

### 5.2.1 Verteilung der Bodenfraktionen

Der Anteil des Restbodens machte nach der Ernte durchschnittlich 93,6 % des Gesamtprobenrockengewichts (= Summe Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln), der Rhizosphärenboden 6,2 % und die Wurzelmasse nur 0,2 % aus (Tabelle 5.3).

Tab. 5.3: Aufteilung der Proben in die Fraktionen Restboden, Wurzelmaterial und Rhizosphärenboden

Bodentyp	Restboden %	Wurzelmasse %	RZB %
Bv	97,2	0,01	2,76
Para u Acker	93,0	0,14	6,85
Gris u Acker	92,2	0,23	7,61
Schw u Acker	93,0	0,19	6,84
Para u Grünl	93,3	0,18	6,50
Gris u Grünl	93,6	0,19	6,24
Schw u Grünl	93,3	0,22	6,51
MW	93,6	0,17	6,19

### 5.2.2 Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse

Sowohl bei den  $C_{\text{mik}}$ - und  $N_{\text{mik}}$ -Gehalten, dem Ergosterol als auch bei den Aminosuktern waren die gemessenen Werte in allen drei Probenfraktionen des Bv-Horizonts meist signifikant niedriger als in den Oberböden. Die Gehalte von Ergosterol, mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff waren in den Rhizosphärenböden allgemein höher als in den Restböden. Die Werte von Glucosamin und Muraminsäure waren dagegen im Rhizosphärenboden tendenziell niedriger als im Restboden.

Die  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte der Oberböden lagen im Mittel bei  $480 \mu\text{g g}^{-1}$  TM im Restboden und bei  $540 \mu\text{g g}^{-1}$  TM im Rhizosphärenboden. Die höchsten Werte wurden in beiden Bodenfraktionen bei der Schwarzerde unter Grünland gemessen (Tab. 5.5), die niedrigsten mit  $22 \mu\text{g g}^{-1}$  TM im Restboden und  $28 \mu\text{g g}^{-1}$  TM im Rhizosphärenboden des Bv-Horizonts. Der  $\text{CHCl}_3$ -labile Kohlenstoff der Wurzeln (Tab. 5.4) lag in den Oberböden bei etwa  $43 \text{ mg g}^{-1}$  TM und im Bv-Horizont bei  $19 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Die reellen Gehalte des mikrobiellen

Kohlenstoffs an den Wurzeln ( $C_{\text{mik}}^*$ ; siehe Kapitel 2.2.1) lagen in den Oberböden im Mittel bei  $8,6 \text{ mg g}^{-1} \text{ TM}$  und im Bv-Horizont bei  $0,9 \text{ mg g}^{-1} \text{ TM}$ . Der Anteil des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Kohlenstoffs, der aus den Wurzelzellen stammte, lag zwischen 87 und 98 %. Durchschnittlich waren knapp 10 % des  $\text{CHCl}_3$ -labilen Kohlenstoffs mikrobiellen Ursprungs und 90 % waren nicht-mikrobieller, aus den Wurzeln stammender, organischer Kohlenstoff.

Die Gehalte des mikrobiellen Stickstoffs waren in beiden Bodenfraktionen des Bv-Horizontes sehr niedrig. Sie lagen bei ca.  $3 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$ . In den Oberböden lagen die Gehalte im Restboden durchschnittlich bei  $64 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$  und im Rhizosphärenboden bei  $72 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$ . Die Gehalte in der Schwarzerde unter Grünland waren signifikant höher als in den anderen Oberböden. Der  $\text{CHCl}_3$ -labile Stickstoff im Wurzelmaterial lag im Bv-Horizont bei ca.  $0,3 \text{ mg g}^{-1} \text{ TM}$  und in den Oberböden bei durchschnittlich  $1,0 \text{ mg g}^{-1} \text{ TM}$ .

Die Ergosterolgehalte im Bv-Horizont lagen bei  $0,11 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$  im Restboden und bei  $0,15 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$  im Rhizosphärenboden. In den Oberböden wurden im Mittel  $0,92 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$  im Restboden und  $0,95 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$  im Rhizosphärenboden gemessen. An den Wurzeln wurden im Bv-Horizont  $5,6 \text{ } \mu\text{g Ergosterol g}^{-1} \text{ TM}$  und in den Oberböden im Mittel  $15,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1} \text{ TM}$  ermittelt. Im Gegensatz zu den Kohlenstoff- und Stickstoffgehalten wurden die höchsten Ergosterolgehalte in allen drei Probenfraktionen in der Griserde unter Grünland gemessen.

Tab. 5.4: Kohlenstoff, Stickstoff und Ergosterol an Wurzeln

Boden	$\text{CHCl}_3$ -labiler C ( $\text{mg g}^{-1} \text{ TB}$ )	$C_{\text{mik}}^*$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{ TB}$ )	Wurzelbürtiger $\text{CHCl}_3$ -labiler C (%)	$\text{CHCl}_3$ -labiler N ( $\text{mg g}^{-1} \text{ TB}$ )	Ergosterol ( $\mu\text{g g}^{-1} \text{ TB}$ )
Bv	<b>18,7</b> <sup>a</sup>	<b>0,85</b> <sup>a</sup>	97,9 <sup>c</sup>	<b>0,28</b> <sup>a</sup>	<b>5,6</b> <sup>a</sup>
Para u Acker	43,6 <sup>b</sup>	6,96 <sup>b</sup>	92,7 <sup>b</sup>	0,92 <sup>b</sup>	11,7 <sup>ab</sup>
Gris u Acker	39,3 <sup>b</sup>	7,93 <sup>bc</sup>	90,7 <sup>ab</sup>	0,98 <sup>b</sup>	16,5 <sup>bc</sup>
Schw u Acker	<b>49,1</b> <sup>b</sup>	8,80 <sup>bc</sup>	91,7 <sup>b</sup>	0,90 <sup>b</sup>	12,3 <sup>b</sup>
Para u Grünl	46,1 <sup>b</sup>	10,17 <sup>bc</sup>	89,7 <sup>ab</sup>	0,89 <sup>b</sup>	15,1 <sup>b</sup>
Gris u Grünl	41,4 <sup>b</sup>	7,01 <sup>b</sup>	92,4 <sup>b</sup>	<b>1,07</b> <sup>b</sup>	<b>22,2</b> <sup>c</sup>
Schw u Grünl	39,8 <sup>b</sup>	<b>11,02</b> <sup>c</sup>	87,4 <sup>a</sup>	1,06 <sup>b</sup>	15,2 <sup>b</sup>
MW	39,7	7,53	91,8	0,87	14,1
HSD	15,6	3,36	3,6	0,43	6,2

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ); Werte mit gleichen Buchstaben (a, b, c,) sind nicht signifikant unterschiedlich; Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt.

$C_{\text{mik}}^*$  = reeller mikrobieller Kohlenstoff an Wurzeln.

Tab. 5.5: C- und N-Gehalte der mikrobiellen Biomasse und Ergosterol im Restboden und Rhizosphärenboden

Boden	C <sub>mik</sub>		N <sub>mik</sub>		Ergosterol	
	Rest (µg g <sup>-1</sup> TB)	RZB (µg g <sup>-1</sup> TB)	Rest (µg g <sup>-1</sup> TB)	RZB (µg g <sup>-1</sup> TB)	Rest (µg g <sup>-1</sup> TB)	RZB (µg g <sup>-1</sup> TB)
Bv	<b>22,3</b> <sup>a</sup>	<b>28,0</b> <sup>a</sup>	<b>3,0</b> <sup>a</sup>	<b>3,1</b> <sup>a</sup>	<b>0,11</b> <sup>a</sup>	<b>0,15</b> <sup>a</sup>
Para u Acker	315,5 <sup>b</sup>	319,9 <sup>b</sup>	47,8 <sup>b</sup>	47,2 <sup>b</sup>	0,58 <sup>be</sup>	0,56 <sup>b</sup>
Gris u Acker	393,8 <sup>bc</sup>	440,6 <sup>bc</sup>	52,5 <sup>b</sup>	57,0 <sup>b</sup>	0,84 <sup>bc</sup>	0,82 <sup>b</sup>
Schw u Acker	481,7 <sup>bc</sup>	571,0 <sup>bc</sup>	60,0 <sup>b</sup>	76,5 <sup>b</sup>	0,64 <sup>be</sup>	0,74 <sup>b</sup>
Para u Grünl	324,8 <sup>b</sup>	379,8 <sup>b</sup>	47,0 <sup>b</sup>	51,0 <sup>b</sup>	0,45 <sup>ae</sup>	0,61 <sup>b</sup>
Gris u Grünl	521,9 <sup>c</sup>	654,2 <sup>cd</sup>	57,8 <sup>b</sup>	82,4 <sup>bc</sup>	<b>1,96</b> <sup>d</sup>	<b>1,81</b> <sup>d</sup>
Schw u Grünl	<b>833,7</b> <sup>d</sup>	<b>867,5</b> <sup>d</sup>	<b>119,1</b> <sup>c</sup>	<b>119,7</b> <sup>c</sup>	1,08 <sup>c</sup>	1,18 <sup>c</sup>
MW	413,4	465,8	55,3	62,4	0,81	0,84
HSD	172,0	255,8	28,0	38,9	0,39	0,35

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ); Werte mit gleichen Buchstaben (a, b, c,) sind nicht signifikant unterschiedlich; Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt.

Die Ergosterol-, C<sub>mik</sub>- und N<sub>mik</sub>-Gehalte, sowie die Aminosäure Muraminsäure, Glucosamin und Galactosamin in den beiden Bodenfraktionen Rhizosphärenboden und Restboden zeigten gemäß den F-Werten (Tab. 5.6) durchweg große Unterschiede, sowohl bei den verschiedenen Böden (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) als auch bei der Nutzung (Ackerland, Grünland). Daneben hatte die Nutzung auf die Mannosamingehalte keinerlei Einfluss. Der Bv-Horizont wurde aufgrund seiner Sonderstellung nicht mit in diese Rechnung einbezogen.



Tab. 5.6: F-Werte einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den verschiedenen Böden (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) und der Nutzung (Ackerland, Grünland) als Faktoren und den Bodenfraktionen RZB und Restboden als repeated measures

	Boden	Nutzung	Bodenfraktionen	Boden x Nutzung	Boden x Bodenfraktion	Nutzung x Bodenfraktion
C <sub>mik</sub>	50,7 ***	37,9 ***	3,4 <sup>+</sup>	8,5 **	0,3	0,2
N <sub>mik</sub>	30,1 ***	21,3 ***	3,2 <sup>+</sup>	9,1 ***	0,6	0,1
Ergosterol	53,5 ***	57,1 ***	0,5	24,7 ***	2,3	0,1
Muraminsäure	576,9 ***	85,9 ***	9,4 **	4,6 *	0,9	0,4
Glucosamin	399,4 ***	239,3 ***	14,7 ***	11,3 ***	1,4	0,8
Galactosamin	283,5 ***	75,3 ***	5,5 <sup>+</sup>	15,2 ***	0,3	0,3
Mannosamin	40,8 ***	0,2	109,2 ***	0,6	10,7 ***	0,3
Freiheitsgrade	2	1	1	2	2	1

<sup>+</sup> P < 0,1; \* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,001

Die Verhältnisse von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  waren im Restboden und Rhizosphärenboden (Tab. 5.8) fast identisch. Zwischen den verschiedenen Böden gab es mit Ausnahme des Bv-Horizonts keine signifikanten Unterschiede. Im Bv-Horizont lag das Verhältnis bei 0,7, in den Oberböden etwa bei 0,2.

Das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse lag in beiden Bodenfraktionen durchschnittlich bei 8,0 (Tab. A-5.1). Zwischen den verschiedenen Böden gab es keine signifikanten Unterschiede.

Die Muraminsäuregehalte im Restboden lagen im Mittel bei  $79 \mu\text{g g}^{-1}$  TM. Die Werte waren in allen Böden signifikant unterschiedlich und stiegen in folgender Reihenfolge: Bv-Horizont < Parabraunerde unter Acker < Parabraunerde unter Grünland < Griserde unter Acker < Griserde unter Grünland < Schwarzerde unter Acker < Schwarzerde unter Grünland. Im Rhizosphärenboden lagen die Werte im Mittel bei  $73 \mu\text{g g}^{-1}$  TM. Die Werte waren allgemein etwas niedriger als im Restboden, die Reihenfolge ähnlich (Tab. 5.7). An den Wurzeln wurden in allen Böden, mit Ausnahme der beiden Schwarzerden, höhere Werte gemessen als in den Bodenfraktionen. Sie lagen im Mittel bei  $85 \mu\text{g g}^{-1}$  TM. Die Werte unterschieden sich mit Ausnahme des Bv-Horizonts, dessen Muraminsäuregehalt bei  $18 \mu\text{g g}^{-1}$  TM lag, nicht signifikant voneinander.

Die Glucosamingehalte lagen im Restboden zwischen  $0,14$  und  $1,62 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Die Werte stiegen in folgender Reihenfolge: Bv-Horizont < Parabraunerde unter Acker < Griserde unter Acker, Parabraunerde unter Grünland < Griserde unter Grünland, Schwarzerde unter Acker < Schwarzerde unter Grünland. Die Werte im Rhizosphärenboden waren allgemein etwas niedriger als im Restboden. Die Reihenfolge war der im Restboden sehr ähnlich. An den Wurzeln lagen die Werte im Mittel bei  $1,2 \text{ mg g}^{-1}$  TM. Es wurden in allen Böden, mit Ausnahme der beiden Schwarzerden, höhere Werte gemessen als im Rhizosphärenboden und Restboden.

Tab. 5.7: Muraminsäure und Glucosamin in Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln

Boden	Muraminsäure [ $\mu\text{g g}^{-1}$ ]			Glucosamin [ $\text{mg g}^{-1}$ ]		
	Rest	RZB	Wurzel	Rest	RZB	Wurzel
Bv	<b>7,7</b> <sup>a</sup>	<b>7,2</b> <sup>a</sup>	<b>17,8</b> <sup>a</sup>	<b>0,14</b> <sup>a</sup>	<b>0,13</b> <sup>a</sup>	<b>0,66</b> <sup>a</sup>
Para u Acker	49,8 <sup>b</sup>	44,5 <sup>b</sup>	80,9 <sup>b</sup>	0,62 <sup>b</sup>	0,55 <sup>b</sup>	1,16 <sup>bc</sup>
Gris u Acker	77,2 <sup>d</sup>	63,6 <sup>bc</sup>	110,2 <sup>b</sup>	0,80 <sup>c</sup>	0,67 <sup>bc</sup>	1,20 <sup>bd</sup>
Schw u Acker	117,0 <sup>f</sup>	118,1 <sup>d</sup>	96,5 <sup>b</sup>	1,13 <sup>d</sup>	1,15 <sup>e</sup>	1,10 <sup>b</sup>
Para u Grünl	64,0 <sup>c</sup>	56,8 <sup>b</sup>	69,8 <sup>b</sup>	0,86 <sup>c</sup>	0,75 <sup>c</sup>	1,31 <sup>bd</sup>
Gris u Grünl	89,0 <sup>e</sup>	79,1 <sup>c</sup>	103,5 <sup>b</sup>	1,06 <sup>d</sup>	0,95 <sup>d</sup>	1,53 <sup>cd</sup>
Schw u Grünl	<b>147,8</b> <sup>g</sup>	<b>138,4</b> <sup>e</sup>	<b>114,1</b> <sup>b</sup>	<b>1,62</b> <sup>e</sup>	<b>1,53</b> <sup>f</sup>	<b>1,55</b> <sup>d</sup>
MW	78,9	72,5	84,7	0,89	0,82	1,22
HSD	8,3	20,1	45,3	0,07	0,20	0,37

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ); Werte mit gleichen Buchstaben (a, b, c,) sind nicht signifikant unterschiedlich; Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt.

Die Quotienten von Glucosamin zu Muraminsäure (Tab. 5.8) lagen in beiden Bodenfraktionen in den Oberböden bei 11,5 und im Bv-Horizont bei 17,8. Im Wurzelmaterial der Oberböden wurde ein durchschnittlicher Quotient von 14,6 ermittelt. Im Bv-Horizont lag das Verhältnis von Glucosamin zu Muraminsäure bei 39. Gemäß den F-Werten (Tab. 5.9) erkennt man, dass es keinen Unterschied zwischen den beiden Bodenfraktionen Restboden und Rhizosphärenboden gab. Dafür waren die Unterschiede zwischen den verschiedenen Böden und bei der Nutzung hochsignifikant ( $P < 0,001$ ). Die Quotienten der Böden stiegen signifikant in der Reihenfolge: Schwarzerde < Griserde < Parabraunerde. Bei der Nutzung war der Wert in den Böden unter Grünland signifikant höher als unter Ackerland.

Die Quotienten von mikrobiellem Kohlenstoff zu Muraminsäure lagen im Restboden bei 5,0, im Rhizosphärenboden bei 6,3 und in den Wurzeln bei 95. Anhand der F-Werte sieht man, dass die Unterschiede zwischen Restboden und Rhizosphärenboden hochsignifikant waren ( $P < 0,001$ ). Die Böden hatten einen geringen Einfluss auf die Quotienten ( $P < 0,05$ ). Die Nutzung zeigte dagegen keinerlei Einfluss auf die Quotienten.

Tab. 5.8: Quotienten der ermittelten Messgrößen in den drei Probenfraktionen

	Glc-N/Mur			C <sub>mik</sub> /Mur			C <sub>mik</sub> /Glc-N			Ergo/C <sub>mik</sub> (%)	
	Rest	RZB	W	Rest	RZB	W*	Rest	RZB	W*	Rest	RZB
Bv	17,8	17,8	39,0	2,95	3,70	50,1	0,16	0,21	1,33	0,71	0,73
Para u Acker	12,5	12,3	15,5	6,32	7,65	101,9	0,51	0,62	6,20	0,19	0,16
Gris u Acker	10,4	10,6	11,2	5,11	6,94	76,7	0,49	0,66	6,66	0,22	0,20
Schw u Acker	9,7	9,7	11,6	4,11	4,78	95,8	0,43	0,49	8,15	0,14	0,14
Para u Grünl	13,4	13,2	20,0	5,07	6,75	165,4	0,38	0,51	8,20	0,14	0,16
Gris u Grünl	11,9	12,0	15,2	5,89	8,33	71,1	0,50	0,70	4,62	0,38	0,28
Schw u Grünl	11,0	11,1	14,1	5,64	6,28	101,2	0,51	0,57	7,16	0,14	0,15
MW	12,4	12,4	18,1	5,0	6,3	94,6	0,43	0,54	6,05	0,27	0,26
HSD	1,4	0,9	8,3	2,06	3,67	82,6	0,16	0,30	3,58	0,35	0,34

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ); W\* steht für Berechnung mit C<sub>mik</sub>\* (= reeller mikrobieller Kohlenstoff an Wurzeln)

Tab. 5.9: F-Werte einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den verschiedenen Böden (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) und der Nutzung (Ackerland, Grünland) als Faktoren und den Fraktionen Rhizosphärenboden und Restboden als repeated measures

	Boden	Nutzung	Bodenfraktionen	Boden x Nutzung	Boden x Bodenfraktion	Nutzung x Bodenfraktion
Glc-N / Mur	178,8***	127,4***	0,0	2,5 <sup>+</sup>	1,7	0,0
C <sub>mik</sub> / Mur	4,9*	1,7	15,2***	4,1*	1,4	0,2
C <sub>mik</sub> / Glc-N	2,6 <sup>+</sup>	0,0	15,5***	2,9 <sup>+</sup>	1,3	0,0
Freiheitsgrade	2	1	1	2	2	1

<sup>+</sup>  $P < 0,1$ ; \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$

Die Verhältnisse des mikrobiellen Kohlenstoffs zu Glucosamin lagen durchschnittlich bei 0,54 im Restboden, 0,43 im RZB und 6,1 in den Wurzeln. Der Quotient im Rhizosphärenboden war gemäß der F-Werte signifikant höher als im Restboden ( $P < 0,001$ ). Die unterschiedlichen Böden hatten nur einen sehr geringen Einfluss auf die Quotienten ( $P < 0,1$ ). Die Nutzung zeigte keinerlei Einfluss.

Das Verhältnis von pilzlichem zu bakteriellem Kohlenstoff (Tab. 5.10) an den Wurzeln, berechnet aus den Gehalten von Pilz-Glucosamin und Muraminsäure, lag in den Oberböden im Mittel bei 2,5 und im Bv-Horizont bei 6,5. Die Werte waren an den Wurzeln der Grünlandböden tendenziell höher als an den Wurzeln der Böden unter Ackerland.

Tab. 5.10: Pilz-Bakterien-Verhältnis an Wurzeln

Boden	Pilz-C / Bakt-C (aus Glc-N/Mur)
Bv	6,49
Para u Acker	2,59
Gris u Acker	1,87
Schw u Acker	1,94
Para u Grünl	3,34
Gris u Grünl	2,53
Schw u Grünl	2,35
MW	3,01
HSD	1,39

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

## 5.3 Diskussion

Im zweiten Versuch wurde der Einfluss verschiedener Böden auf die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen untersucht. Es sollte überprüft werden, ob sich die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen in Größe und Zusammensetzung von der mikrobiellen Besiedlung des Bodens unterscheidet (Hypothese 2).

### 5.3.1 Betrachtung der untersuchten Bodentypen

Es wurden sieben verschiedene Böden untersucht. Darunter waren sechs Oberböden, die sich hinsichtlich des Bodentyps (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) und der

Bewirtschaftungsform (Ackerland, Grünland) unterschieden. Zusätzlich wurde ein Unterboden aus dem Bv-Horizont einer Parabraunerde untersucht, der im Hinblick auf seine Herkunft (ca. 150 cm Tiefe) eine Sonderstellung einnahm.

Allgemein nimmt die Anzahl der Organismen mit zunehmender Bodentiefe ab (GISI et al., 1997; PAUL & CLARK, 1996). Da unter anderem das Angebot von frischem, leicht zersetzbarem Pflanzenmaterial sinkt (LAVAHUN et al., 1996), ist das Nährstoffangebot oftmals geringer als in den oberen Bodenschichten. Dies bestätigen auch die  $C_{org}$ -Gehalte der Restböden. In den Oberböden wurden Werte zwischen 1,3 und 3,9 % gemessen, im Bv-Horizont dagegen nur 0,4 % (Tab. A-5.3). Auch die  $N_t$ -Gehalte waren in den Oberböden mit 0,13 bis 0,39 % weitaus höher als im Bv-Horizont (0,04 %).

Dies wirkte sich auch auf das Wachstum der Versuchspflanzen aus. Bei der Ernte lag der Anteil der Wurzelmasse am Gesamtprobengewicht in den Oberböden bei knapp 0,2 %. Im Bv-Horizont war die Wurzelmasse weitaus geringer, sie machte anteilig nur 0,01 % aus (Tab. 4.2). Die oberirdische Biomasse (Tab. A-5.1) zeigte annähernd das gleiche Bild: die Pflanzen auf den Oberböden produzierten durchschnittlich 5,4 g Trockenmasse pro Gefäß; die Pflanzen auf dem Bv-Horizont dagegen nur 0,5 g Trockenmasse. Die Werte von Wurzeln und oberirdischer Biomasse waren hochsignifikant korreliert ( $r = 0,89$ ;  $P < 0,001$ ).

### 5.3.2 Indikatoren der mikrobiellen Biomasse

Bei den untersuchten Indikatoren der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse ( $C_{mik}$ ,  $N_{mik}$ , Ergosterol, Muraminsäure und Glucosamin) wurden im Bv-Horizont in allen drei Probenfraktionen (Wurzel, Rhizosphärenboden, Restboden) signifikant niedrigere Werte gemessen als in den Oberböden.

Beim Vergleich der Oberböden untereinander zeigte sich in den Bodenfraktionen, dass sowohl der Bodentyp (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) als auch die Nutzungsform (Ackerland, Grünland) einen hochsignifikanten Einfluss auf die untersuchten Indikatoren der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse ausübten (Tab. 5.6). Die Gegenüberstellung der Bodentypen zeigte steigende Gehalte von  $C_{mik}$ ,  $N_{mik}$ , Glucosamin und Muraminsäure in der Reihenfolge: Parabraunerde < Griserde < Schwarzerde. Beim Ergosterol waren die Gehalte in den Griserden am höchsten. Bei den Nutzungssystemen wurden in den Böden unter Grünland vorwiegend höhere Gehalte gemessen als in den Böden unter Ackerland.

Generell werden in der Rhizosphäre größere Mikroorganismenpopulationen gefunden als im Nichtrhizosphärenboden. Die Mikroorganismen werden in der Umgebung der Wurzel durch freigesetzte organische Verbindungen und abgestoßenes Wurzelgewebe in Wachstum und

Aktivität gefördert (SCHINNER & SONNLEITNER, 1996; SPARLING, 1985). Auch bei den untersuchten Proben wurden bei den Indikatoren der mikrobiellen Biomasse ( $C_{\text{mik}}$ ,  $N_{\text{mik}}$ , Ergosterol) im Rhizosphärenboden tendenziell höhere Werte gemessen als im Restboden (Tab. 5.5), wobei die Ergosterolgehalte an den Wurzeln und in den Bodenfraktionen signifikant korreliert ( $r = 0,73$ ;  $P < 0,001$ ) waren.

Der Quotient von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  gibt Auskunft über den Anteil der Pilzbiomasse an der gesamten mikrobiellen Biomasse. JOERGENSEN (2000) stellte in einem Versuch mit dreizehn Grünlandböden fest, dass die Quotienten in den beiden Fraktionen Restboden und Rhizosphärenboden nahezu identisch waren. Auch in diesem Versuch war das Verhältnis von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  in beiden Bodenfraktionen (Restboden und Rhizosphärenboden) ungefähr gleich groß. Ferner konnten zwischen den Oberböden hinsichtlich der unterschiedlichen Bodentypen und Nutzungsformen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Der Quotient lag im Mittel bei 0,19. Im Bv-Horizont war der Quotient mit einem Wert von 0,72 dagegen signifikant höher als in den Oberböden. Dies bedeutet, dass Pilze in tieferen Bodenschichten einen wesentlich größeren Anteil zur mikrobiellen Biomasse beitragen als in Oberböden. Dagegen bleibt der Anteil der Pilze in unterschiedlichen Oberböden auch bei divergenter Nutzung relativ konstant.

Die Konformität der Ergebnisse in den Versuchen eins und zwei zeigte sich in einem Vergleich der ermittelten Messgrößen. Es wurden die Werte der Parabraunerde unter Acker aus Versuch zwei, mit denen des Weidelgrases aus Versuch eins (hier wurde auch eine Parabraunerde unter Ackerland verwendet, allerdings war die Herkunft der Böden unterschiedlich) verglichen. Die Gehalte von  $C_{\text{mik}}$ , Ergosterol und Aminosuktern waren in beiden Versuchen sehr ähnlich. Im Rhizosphärenboden wurden beispielsweise in Versuch eins 0,55 mg Glucosamin  $\text{g}^{-1}$  TM bzw. 40,7  $\mu\text{g}$  Muraminsäure  $\text{g}^{-1}$  TM gemessen und in Versuch zwei 0,55 mg Glc-N  $\text{g}^{-1}$  TM bzw. 44,5  $\mu\text{g}$  Mur  $\text{g}^{-1}$  TM. Am Wurzelmaterial lagen die Gehalte in Versuch eins bei 1,24 mg Glc-N  $\text{g}^{-1}$  TM bzw. 60,5  $\mu\text{g}$  Mur  $\text{g}^{-1}$  TM und in Versuch zwei bei 1,16 mg Glc-N  $\text{g}^{-1}$  TM bzw. 80,9  $\mu\text{g}$  Mur  $\text{g}^{-1}$  TM.

### **5.3.3 Aminosucker in den Probenfraktionen**

Da die Menge und Aktivität der mikrobiellen Biomasse im Rhizosphärenboden größer ist als im Restboden, kommt der Akkumulation von Aminosuktern im Restboden eine größere Bedeutung zu. Dementsprechend wiesen die Aminosucker Muraminsäure und Glucosamin im Restboden tendenziell höhere Gehalte auf als im Rhizosphärenboden (Tab. 5.7). In den

Oberböden lagen die Glucosamingehalte in der Fraktion Restboden zwischen 0,62 und 1,62 mg g<sup>-1</sup> TM und in der Fraktion Rhizosphärenboden zwischen 0,55 und 1,53 mg g<sup>-1</sup> TM. Die Muraminsäuregehalte lagen in der Fraktion Restboden zwischen 50 und 148 µg g<sup>-1</sup> TM und in der Fraktion Rhizosphärenboden zwischen 45 und 138 µg g<sup>-1</sup> TM. An den Wurzeln waren die Glucosamingehalte in den Böden unter Ackerland tendenziell höher als in den Böden unter Grünland, während sich die Muraminsäuregehalte nicht signifikant unterschieden.

Es waren große Unterschiede zwischen den Bodentiefen zu erkennen. Sowohl die Ergosterolgehalte als auch die Gehalte des Pilz-Glucosamins waren an den Wurzeln im Bv-Horizont um 50 – 75 % kleiner als in den Oberböden. Die Muraminsäuregehalte waren an den Wurzeln im Bv-Horizont sogar vier- bis sechsmal kleiner als in den Oberböden. Die Gehalte des Pilz-Glucosamins und des Ergosterols an den Wurzeln waren signifikant miteinander korreliert ( $r = 0,60$ ;  $P < 0,001$ ).

Das Verhältnis von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Glucosamin (Tab. 5.8) an den Wurzeln gibt Auskunft über den Anteil der Pilze an der gesamten mikrobiellen Biomasse. Hier zeigte sich das gleiche Bild wie bei dem Quotienten von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  in den Bodenfraktionen. Der Anteil der Pilzbiomasse an den Wurzeln war im Bv-Horizont etwa vier- bis sechsmal größer als in den Oberböden.

Das Verhältnis von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Muraminsäure an den Wurzeln beschreibt den Anteil der bakteriellen Biomasse an der gesamten mikrobiellen Biomasse. Hier ist keine so deutliche Abstufung zu erkennen wie bei den Pilzen. Im Bv-Horizont war der Quotient tendenziell etwas kleiner als in den Oberböden, was eine geringfügige Erhöhung des bakteriellen Anteils bedeuten könnte. Allgemein kann festgestellt werden, dass die Bakterien in tieferen Bodenschichten, im Gegensatz zu den Pilzen, keinen wesentlich größeren Anteil zur mikrobiellen Biomasse beitragen als im Oberboden.

Der Quotient von Glucosamin zu Muraminsäure wurde vielfach (GUGGENBERGER & FREY, 1999; ZHANG et al. 1999; ZHANG & AMELUNG, 1996) zur Abschätzung des relativen Beitrags von Bakterien und Pilzen an der organischen Substanz in Böden verwendet. Betrachtet man die Quotienten von Glucosamin zu Muraminsäure in den Bodenfraktionen, so ist ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Bodentypen und den Nutzungsformen zu erkennen (Tab. 5.9). Der Beitrag der Pilzresiduen an der organischen Substanz der Böden sinkt in der Reihenfolge Parabraunerde > Griserde > Schwarzerde. Ferner ist der Beitrag, wie schon bei GUGGENBERGER und FREY (1999) beschrieben, unter Ackerland kleiner als unter Grünland.



### 5.3.4 Pilzlicher und bakterieller Kohlenstoff an den Wurzeln

Nach der Umrechnung von Muraminsäure in bakteriellen Kohlenstoff und von Pilz-Glucosamin in pilzlichen Kohlenstoff wurden die Werte ins Verhältnis zum mikrobiellen Kohlenstoff ( $C_{\text{mik}}^*$ ) gesetzt, um den Anteil der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse zu bestimmen (siehe Versuch 1, Kap. 4.3.5). An den Wurzeln der Oberböden ergab sich bei einem Kohlenstoffgehalt von durchschnittlich  $18,2 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse aus Pilzen und Bakterien (berechnet aus den Gehalten von Pilz-Glucosamin und Muraminsäure) und einem  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt von  $8,6 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse ein Anteil der Biomasse von knapp 50 %. Das bedeutet, dass gut 50 % des pilzlichen und bakteriellen Kohlenstoffs, der aus den Gehalten von Glucosamin und Muraminsäure ermittelt wurde, aus der mikrobiellen Nekromasse stammte, während die anderen 50 % aus der mikrobiellen Biomasse hervorgingen (Tab. A-5.6). Im Bv-Horizont lag der C-Anteil aus der mikrobiellen Biomasse dagegen nur bei knapp 12 %.

Ausgehend von einer ähnlichen Umsatzzeit von Glucosamin und Muraminsäure an den Wurzeln würde sich in den Oberböden der durchschnittliche  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt von  $8,6 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse zusammensetzen aus ca.  $6 \text{ mg C g}^{-1} \text{ TM}$  aus der Pilzbiomasse und  $2,6 \text{ mg C g}^{-1} \text{ TM}$  aus der Bakterienbiomasse. Im Bv-Horizont würde sich der  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt von gut  $0,8 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse zusammensetzen aus ca.  $0,7 \text{ mg C g}^{-1} \text{ TM}$  aus der Pilzbiomasse und  $0,1 \text{ mg C g}^{-1} \text{ TM}$  aus der Bakterienbiomasse.

Das Verhältnis von pilzlichem zu bakteriellem Kohlenstoff, berechnet aus den Gehalten von Pilz-Glucosamin bzw. Muraminsäure, gibt im Boden Auskunft über den Beitrag von pilzlicher und bakterieller Nekromasse zur organischen Substanz. An den Wurzeln kann damit das Verhältnis von pilzlicher zu bakterieller Biomasse untersucht werden. In den Oberböden (Tab. A-5.5) lag das Verhältnis etwa bei zwei, wobei kein Unterschied zwischen dem Restboden und dem Rhizosphärenboden zu erkennen war. Es war aber eine Abstufung zwischen den Bodentypen und den beiden Nutzungsformen zu sehen. Die Ergebnisse zeigen, dass der Beitrag der Pilze zur organischen Substanz der Oberböden etwa doppelt so hoch war wie der der Bakterien. Im Bv-Horizont war der Beitrag der Pilze noch größer. Das Verhältnis lag bei drei.

Unabhängig vom Bodentyp war das Pilz-Bakterien-Verhältnis an den Wurzeln (Tab. 5.10) größer als eins. An den Wurzeln der Grünlandböden war ein höherer Pilzanteil als an den Wurzeln der Böden unter Ackerland zu erkennen. Durchschnittlich wurde an den Wurzeln der Oberböden ein Verhältnis von 2,5 und an den Wurzeln im Bv-Horizont eins von 6,5 ermittelt.

Das Verhältnis von pilzlichem zu bakteriellem Kohlenstoff an den Wurzeln war signifikant korreliert mit dem in den Bodenfraktionen ( $r = 0,87$ ;  $P < 0,001$ ).

Die Ergebnisse zeigen einen deutlich erhöhten Pilzanteil der mikrobiellen Biomasse in tiefen Bodenschichten gegenüber den Oberböden. Der Hypothese, dass an Wurzeln die Bakterien gegenüber den Pilzen dominieren, kann auch hier widersprochen werden. Die Ergebnisse sprechen, wie schon im vorherigen Versuch, für eine Dominanz der Pilze bei den wurzelbesiedelnden Mikroorganismen.

Die anfangs aufgestellte Hypothese, dass sich die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen in Größe und Zusammensetzung von der mikrobiellen Besiedlung des Bodens unterscheidet, konnte nicht bestätigt werden. Die einzelnen Ergebnisse zeigen im Gegenteil einen deutlichen Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Besiedlung von Wurzeloberflächen und der in den Bodenfraktionen. Darauf weist sowohl die Korrelation der Ergosterolgehalte als auch die des Pilz-Bakterien-Verhältnisses von Bodenfraktionen und Wurzelmaterial hin.

## **6 VERSUCH 3: Die Bedeutung der mikrobiellen Besiedlung für den Abbau von Wurzeln nach teilweisem oder vollständigem Entfernen der oberirdischen Biomasse**

Im dritten Versuch sollte das Verhalten der rhizoplenen Organismen an den Wurzeln von Pflanzen mit vollständig oder teilweise entfernter oberirdischer Biomasse beobachtet werden. Hierzu wurden an mehreren Probenahmeterminen die Gehalte von mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff, Ergosterol und verschiedenen Aminosuktern an den Wurzeln, im Rhizosphärenboden und im Restboden der verschiedenen Varianten quantifiziert und miteinander verglichen. Zusätzlich wurde ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen die CO<sub>2</sub>-Emission an den Versuchsgefäßen gemessen. Es wurde die Überlegung angestellt, dass bei vollständiger Entfernung der oberirdischen Biomasse die Pflanzen absterben. Die toten Wurzeln könnten dann von Mikroorganismen umgesetzt werden, was einen Anstieg der mikrobiellen Biomasse an den Wurzeln und eine erhöhte CO<sub>2</sub>-Emission zur Folge hätte. Durch einen Vergleich der Daten sollte der Hypothese nachgegangen werden, dass beim Absterben von Wurzeln die Interaktionen von Rhizoplenen-, Rhizosphären- und Bodenmikroorganismen eine entscheidende Rolle für den Abbau der Wurzeln und die Freisetzung der in ihnen enthaltenen Nährstoffe spielen (Hypothese 3).

### **6.1 Versuchsbeschreibung**

Welsches Weidelgras (*Lolium multiflorum* Lam.) wurde im Gewächshaus auf einer Parabraunerde (siehe Versuch 1, Tab. 4.1) angezogen. Die Aussaat erfolgte im Juli 2003 mit jeweils fünf Parallelen pro Probe. 24 Tage nach der Aussaat wurden die Pflanzen in zwei Gruppen eingeteilt und der oberirdische Aufwuchs beschnitten. Bei der Variante *ab* wurde die oberirdische Biomasse vollständig entfernt. Bei der Variante *2 cm* blieb ein Rest von 2 cm Blattlänge erhalten.

Nach dem Schnitt der Pflanzen erfolgte die Ernte an sechs Terminen:

Probenahmetermin	Zeitpunkt
1	unmittelbar nach dem Schnitt
2	1 Tag nach dem Schnitt
3	2 Tage nach dem Schnitt
4	3 Tage nach dem Schnitt
5	4 Tage nach dem Schnitt
6	8 Tage nach dem Schnitt

Nach dem Schnitt der Pflanzen wurde zweimal täglich die CO<sub>2</sub>-Produktionsrate mit einem tragbaren IR-Detektor gemessen (BLANKE, 1996). Von den bodenfreien Wurzeln, dem feuchten Rhizosphärenboden und dem Restboden wurden Teilproben für die Analysen entnommen. Die mikrobielle Biomasse (C<sub>mik</sub>, N<sub>mik</sub>) wurde innerhalb von zwei Tagen nach der Ernte mit der CFE-Methode bestimmt. Für die Untersuchungen der Aminosucker und des Ergosterols wurden Teilproben eingefroren, um sie an einem späteren Zeitpunkt zu analysieren. An getrockneten Teilproben wurden die Gesamtkohlenstoffgehalte und die Gesamtstickstoffgehalte in allen drei Probenfraktionen (Wurzeln, Rhizosphärenboden und Restboden) bestimmt.

In diesem Versuch wurde der gleiche Boden wie bei Versuch eins verwendet. Die Bodenkennwerte sind in Tabelle 4.1 dargestellt. Vor der Aussaat wurde der Boden auf 2 mm gesiebt, um Wurzeln, andere Pflanzenteile und kleine Steine zu entfernen. Anschließend wurden die Gefäße befüllt.

Bei der Ernte, die sofort, 1, 2, 3, 4 und 8 Tage nach dem Schnitt der Pflanzen erfolgte, wurden die oberirdischen Pflanzenteile entfernt. Der Boden wurde auf 2 mm gesiebt. Dabei wurden die Wurzeln mit dem anhaftenden Rhizosphärenboden als Versuchsmaterial gewonnen. Die gesiebte Fraktion des Bodens ist der sogenannte Restboden. Die Trennung der drei Probenfraktionen Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln erfolgte wie bereits in Versuch 1 (Kap. 4.1) beschrieben.

## 6.2 Ergebnisse

### 6.2.1 Verteilung der Bodenfraktionen

Die Anteile des Restbodens und des Rhizosphärenbodens am Gesamtprobengewicht veränderten sich während des Erntezeitraums kaum. Die Wurzelmasse zeigte eine tendenzielle Abnahme mit fortschreitenden Probenterminen in der Variante *ab* (Tab. 6.1). In der Variante *2 cm* war erst bei den letzten beiden Terminen eine leichte Abnahme zu erkennen. Der Restboden machte nach der Ernte etwa 94 – 95 %, der Rhizosphärenboden 4 – 5 % und die Wurzelmasse 0,6 – 0,7 % des Gesamtprobentrockengewichts (= Summe Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzelmaterial) aus.

Tab. 6.1: Aufteilung der Proben in die Fraktionen Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln

Pr-Termin	Variante <i>ab</i>			Variante <i>2 cm</i>		
	Rest (% Probe <sup>a</sup> )	RZB (% Probe <sup>a</sup> )	W (% Probe <sup>a</sup> )	Rest (% Probe <sup>a</sup> )	RZB (% Probe <sup>a</sup> )	W (% Probe <sup>a</sup> )
1	94,8	4,3	0,83	94,6	4,5	0,90
2	94,2	5,0	0,80	94,1	5,1	0,77
3	95,2	4,2	0,63	94,8	4,4	0,81
4	95,7	3,7	0,53	93,4	5,8	0,82
5	95,3	4,3	0,38	94,2	5,2	0,58
6	94,5	5,0	0,46	94,7	4,8	0,50
MW	95,0	4,4	0,60	94,3	5,0	0,73

<sup>a</sup> Gesamtprobengewicht = Summe Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzelmaterial

### 6.2.2 Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse und Nekromasse am Wurzelmaterial

Die Gehalte des chloroform-labilen Kohlenstoffs der Wurzeln (Abb. 6.1; Tab. A-6.1) lagen an den ersten beiden Probenterminen bei durchschnittlich 43 mg g<sup>-1</sup> TM. Am dritten Probentermin sanken die Gehalte signifikant auf ca. 27 mg g<sup>-1</sup> TM und blieben bis zum fünften Termin auf einem ähnlichen Niveau. Am letzten Probentermin zeigte sich eine weitere signifikante Abnahme auf etwa 16 mg g<sup>-1</sup> TM. Es war kein Unterschied zwischen den beiden Varianten *ab* und *2 cm* zu erkennen.

Die Gehalte des chloroform-labilen Stickstoffs blieben bis zum vierten Probentermin annähernd konstant und nahmen gegen Ende des Versuchs leicht ab. Es wurden

durchschnittlich 6 mg N pro g Wurzelrockenmasse ermittelt. Zwischen den Varianten *ab* und *2 cm* war kein signifikanter Unterschied zu erkennen.

Die reellen Gehalte der Wurzeln an C in der mikrobiellen Biomasse ( $C_{\text{mik}}^*$ ) wurden mit Hilfe der Formel in Kapitel 2.2.1 berechnet. In beiden Varianten sanken die  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte der Wurzeln signifikant innerhalb der ersten drei Probenstermine von 31 mg g<sup>-1</sup> TM um etwa 50 %. In der Variante *ab* blieben die Gehalte im Anschluss annähernd konstant. In der Variante *2 cm* stieg der Gehalt am vierten Termin tendenziell an, sank dann bis zum sechsten Termin auf einen ähnlichen Wert wie bei Variante *ab* (Abb. 6.2).

Die Ergosterolgehalte in der Variante *ab* lagen am ersten Probenstermin bei 76 µg g<sup>-1</sup> Wurzelrockenmasse, bis zum fünften Probenstermin war eine signifikante Abnahme auf 31 µg g<sup>-1</sup> Wurzelrockenmasse zu erkennen. Am letzten Probenstermin stieg der Wert tendenziell etwas an. In der Variante *2 cm* lagen die Werte am ersten Probenstermin bei ca. 80 µg g<sup>-1</sup> Wurzelrockenmasse und blieben bis zum vierten Termin auf einem ähnlichen Niveau. An den letzten beiden Probensterminen war eine tendenzielle Abnahme der Werte zu erkennen (Abb. 6.3). Bei beiden Varianten lagen die Ergosterolgehalte am letzten Probenstermin bei ca. 50 µg g<sup>-1</sup> Wurzelrockenmasse.

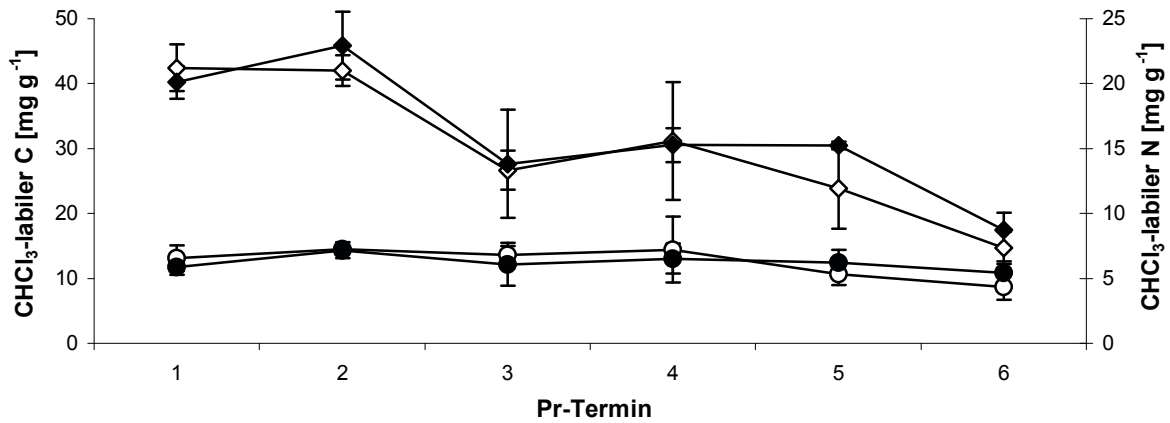


Abb. 6.1: CHCl<sub>3</sub>-labiler C [Variante ab (◇), 2 cm (◆)] und CHCl<sub>3</sub>-labiler N [Variante ab (○), 2 cm (●)] der Wurzeln an 6 Probesterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen.

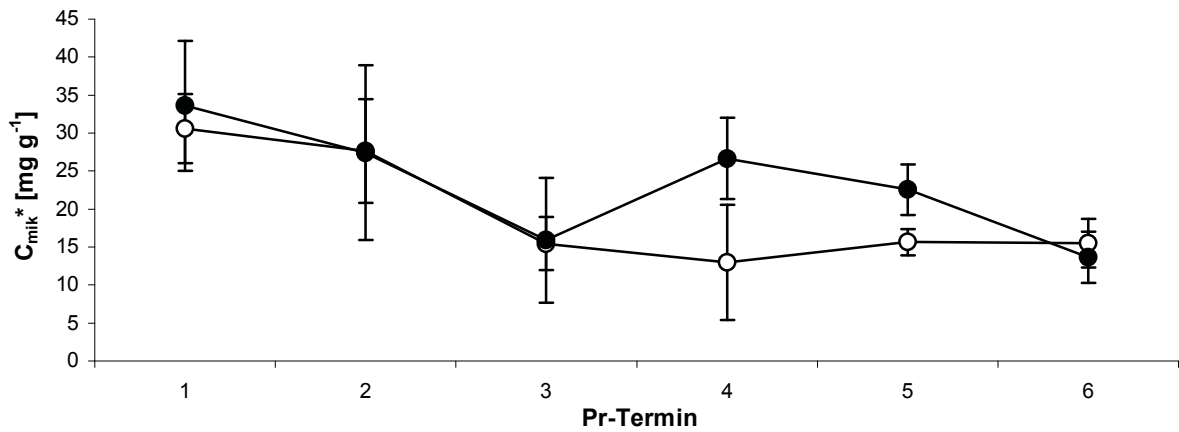


Abb. 6.2: C<sub>mik</sub>\*-Gehalte der Wurzeln an 6 Probesterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), Variante 2 cm (●)

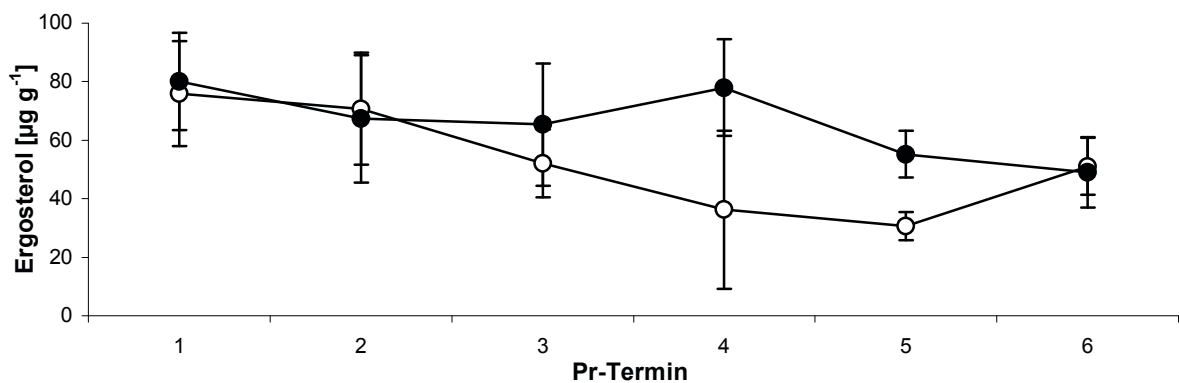


Abb. 6.3: Ergosterolgehalte der Wurzeln an 6 Probesterminen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), Variante 2 cm (●)

Die Fehlerbalken in den Abbildungen zeigen die Standardabweichung.

Die Muraminsäuregehalte (Abb. 6.4, Tab. A-6.2) waren in beiden Varianten annähernd gleich, sie stiegen im Versuchsverlauf tendenziell an. Die Werte lagen zwischen  $230 \mu\text{g g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse beim ersten Probenstermin und  $350 \mu\text{g g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse beim letzten Probenstermin.

Die Glucosamingehalte blieben in beiden Varianten annähernd konstant. Gegen Ende des Versuchs war eine leichte Abnahme der Gehalte zu erkennen, die aber nicht signifikant war. Durchschnittlich wurden  $2,9 \text{ mg Glucosamin g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse (Tab. A-6.2) gemessen. Die Werte des Pilz-Glucosamins, das aus den gemessenen Glucosamingehalten abzüglich der molaren Masse der Muraminsäuregehalte berechnet wurde, lagen etwa bei  $2,6 \text{ mg g}^{-1}$  Wurzelrockenmasse (Abb. 6.5). Der Verlauf der Werte ist dem des gemessenen Glucosamins sehr ähnlich.

Beim Galactosamin (Abb. 6.6) war bei der Variante *ab* eine signifikante Abnahme zu erkennen. Die Werte lagen anfangs bei knapp  $19 \text{ mg g}^{-1}$  TM und beim letzten Probenstermin bei etwa  $13 \text{ mg g}^{-1}$  Trockenmasse. Bei der Variante *2 cm* war eine tendenzielle Abnahme während der ersten drei Probenstermine zu erkennen, danach blieben die Werte konstant.

Die Mannosamingehalte in der Variante *ab* lagen an den ersten beiden Probensterminen bei ca.  $1 \text{ mg g}^{-1}$  TM, sanken dann signifikant um etwa 50 % und blieben bis zum letzten Probenstermin bei einem Mittelwert von ca.  $0,45 \text{ mg g}^{-1}$  TM. In der Variante *2 cm* sanken die Gehalte bereits nach dem ersten Probenstermin von  $1,2 \text{ mg g}^{-1}$  TM um etwa 50 % und blieben im Anschluss bei einem Mittelwert von ca.  $0,5 \text{ mg g}^{-1}$  TM (Abb. 6.6, Tab. A-6.2).



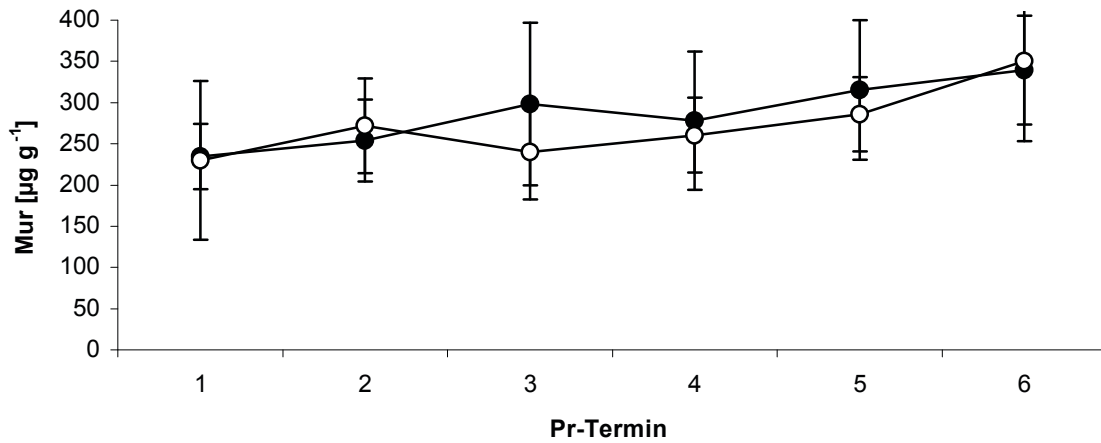


Abb. 6.4: Muraminsäuregehalte an den Wurzeln bei 6 Probestermen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), 2 cm (●).

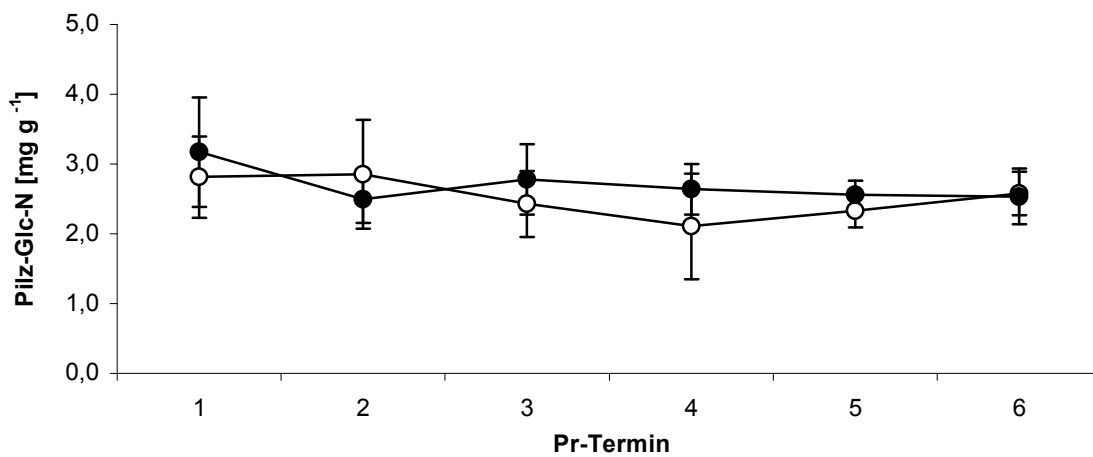


Abb. 6.5: Pilz-Glucosamin an den Wurzeln bei 6 Probestermen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), 2 cm (●).

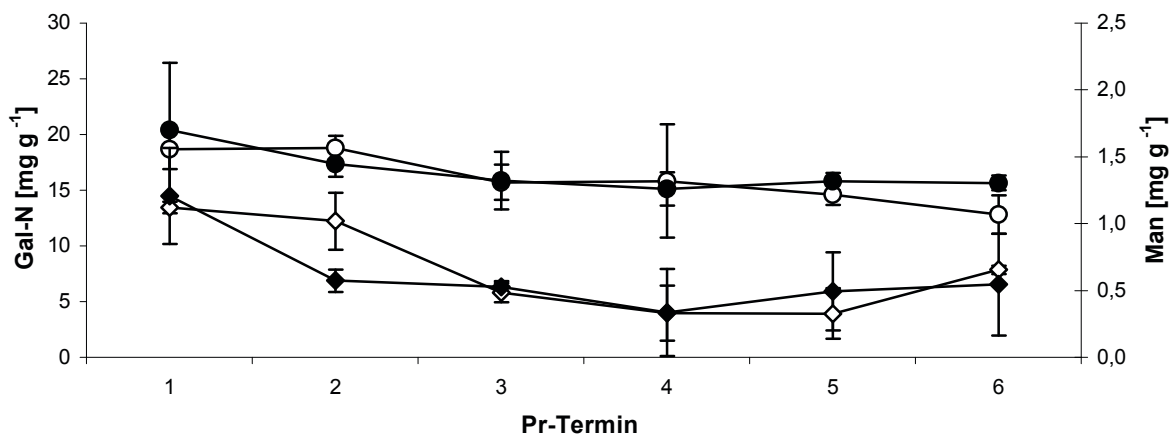


Abb. 6.6: Galactosamin- und Mannosamingehalte an den Wurzeln bei 6 Probestermen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen.

Galactosamin: Variante ab (○), 2 cm (●); Mannosamin: Variante ab (◇), 2 cm (◆)

Die Fehlerbalken in den Abbildungen zeigen die Standardabweichung.

Das Verhältnis von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure (Abb. 6.7) gibt Auskunft über das Größenverhältnis von pilzlicher zu bakterieller Bio- und Nekromasse. Bei beiden Varianten wurden ähnliche Werte ermittelt. In der Variante *ab* lagen sie zwischen 12 und 8, in der Variante *2 cm* zwischen 14,5 und 8. Die Werte zeigten eine abnehmende Tendenz. Mit Ausnahme der Probestermine eins und sechs bei der Variante *2 cm* war der Rückgang der Werte aber nicht signifikant.

Das Verhältnis von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Glucosamin (Abb. 6.8) gibt Auskunft über den Pilzanteil an der mikrobiellen Biomasse. In der Variante *ab* sank der Wert von 11 am ersten Termin auf 6 am dritten Termin signifikant und blieb dann annähernd konstant bis zum Ende der Messung. In der Variante *2 cm* waren die Werte bis zum dritten Termin gleich denen der Variante *ab*. Am vierten Termin stieg der Wert sprunghaft an, um dann bis zum sechsten Termin auf das gleiche Niveau wie bei Variante *ab* zu sinken.

Das Verhältnis von mikrobiellem Kohlenstoff zu Muraminsäure (Abb. 6.9) gibt Auskunft über den Bakterienanteil an der mikrobiellen Biomasse. Der Quotient  $C_{\text{mik}}^*$  zu Muraminsäure war etwa 10 bis 15 mal höher als der Quotient von  $C_{\text{mik}}^*$  zu Glucosamin, aber der Verlauf der Werte war bei beiden sehr ähnlich. In der Variante *ab* sank der Wert signifikant von 135 am ersten Termin auf 54 am dritten Termin und blieb dann auf diesem Niveau bis zum Ende der Messungen. In der Variante *2 cm* sank der Wert ebenfalls signifikant vom ersten bis zum dritten Termin. Am vierten Termin war eine tendenzielle Zunahme zu erkennen, danach sank der Wert bis zum Ende der Messungen auf das gleiche Niveau wie bei Variante *ab*.

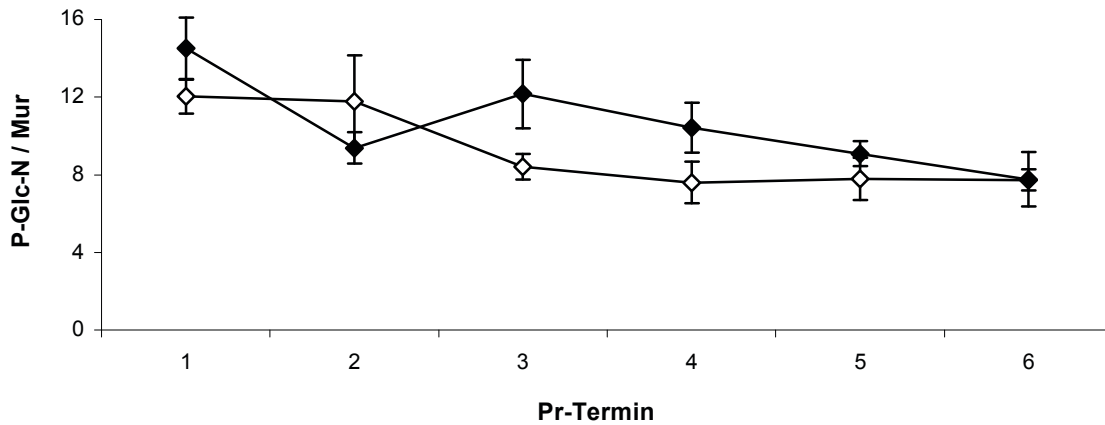


Abb. 6.7: Verhältnis von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure an den Wurzeln bei 6 Probestermi-  
nen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (◇), 2  
cm (◆).

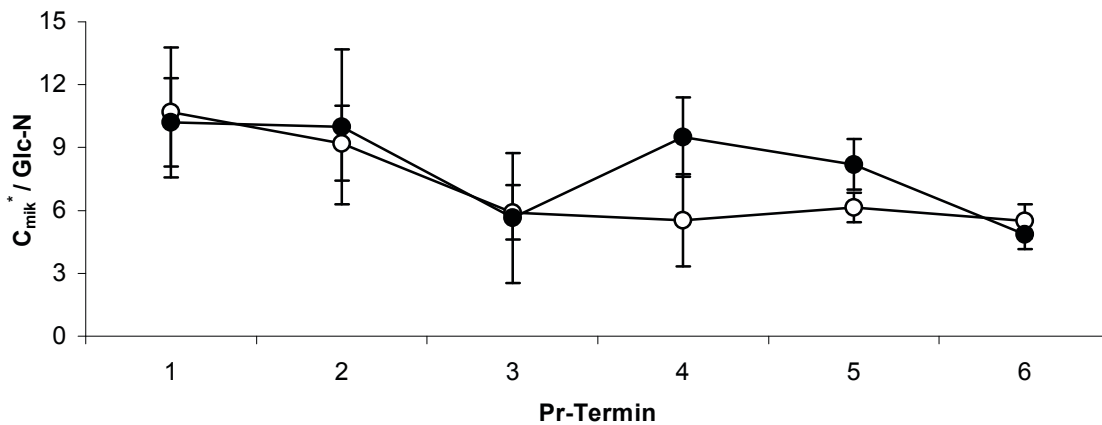


Abb. 6.8: Verhältnis von  $C_{mik}^*$  zu Glucosamin an den Wurzeln bei 6 Probestermi-  
nen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), Variante 2 cm (●).

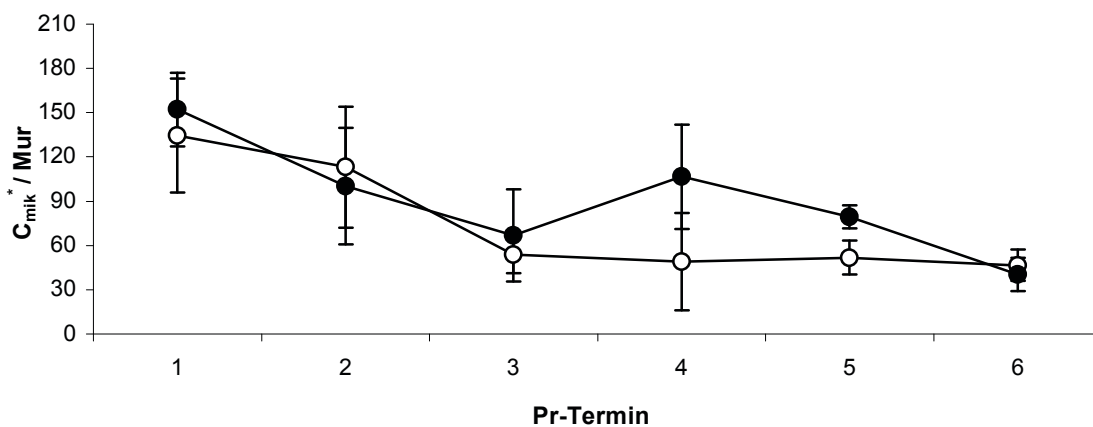


Abb. 6.9: Verhältnis von  $C_{mik}^*$  zu Muraminsäure an den Wurzeln bei 6 Probestermi-  
nen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen. Variante ab (○), Variante 2 cm (●).

In den Abbildungen zeigen die Fehlerbalken die Standardabweichung.

Die unterschiedlichen Wurzelindikatoren können drei verschiedenen Faktoren zugewiesen werden, welche auf einer Hauptkomponentenanalyse basieren (Tab. 6.2). Pilzliches Glucosamin, Ergosterol und Mannosamin bilden den ersten Faktor, der den pilzlichen Anteil charakterisiert. Chloroform-labiler Stickstoff und Kohlenstoff zeigen im zweiten Faktor eine pflanzliche Herkunft an. Der dritte Faktor wird allein von Muraminsäure gestellt, welche eine bakterielle Herkunft anzeigt. Galactosamin konnte keinem der drei Faktoren eindeutig zugeordnet werden. Ein großer Anteil wurde dem zweiten Faktor zugewiesen, was theoretisch nicht möglich ist, da Pflanzen keine signifikanten Mengen an Aminosuktern synthetisieren (AMELUNG, 2001; PARSONS, 1981).

Tab. 6.2: Schiefelösungs-Primärmuster-Matrix einer Hauptkomponentenanalyse für die unterschiedlichen Wurzelindikatoren pilzlicher, pflanzlicher und bakterieller Herkunft (Orthotran/Varimax Transformation)

	Faktor I	Faktor II	Faktor III
Pilzliches Glucosamin	<b>0,88</b>	-0,01	0,29
Ergosterol	<b>0,84</b>	0,00	-0,20
Mannosamin	<b>0,77</b>	0,00	-0,09
CHCl <sub>3</sub> -labiler N	-0,18	<b>0,97</b>	0,13
CHCl <sub>3</sub> -labiler C	0,14	<b>0,85</b>	-0,34
Galactosamin	0,48	0,61	0,21
Muraminsäure	-0,00	-0,01	<b>0,97</b>
Eigenwerte	0,46	0,20	0,17

### 6.2.3 Ergebnisse aus den Untersuchungen der Gesamtbiomasse bzw. bakterielle und pilzliche Biomasse und Nekromasse im Rest- und Rhizosphärenboden

Die Ergosterol-,  $C_{\text{mik}}$ - und  $N_{\text{mik}}$ -Gehalte zeigen gemäß den F-Werten (Tab. 6.3) durchweg die größten Unterschiede sowohl bei den Probenentnahmen als auch bei den Bodenfraktionen (Restboden, Rhizosphärenboden). Bei den beiden Schnittvarianten (*ab* und *2 cm*) wurde dagegen kein Unterschied festgestellt.

Die Ergosterolgehalte (Abb. 6.10 a, Tab. A-6.1) waren im Rhizosphärenboden weitaus höher als im Restboden. Die Gehalte im Restboden schwankten um einen Mittelwert von  $0,8 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse und waren bei beiden Varianten fast identisch. Im Rhizosphärenboden war eine tendenzielle Abnahme der Ergosterolgehalte zu erkennen. Die Gehalte lagen bei der Variante *ab* im Mittel bei  $1,1 \mu\text{g g}^{-1}$  und bei der Variante *2 cm* bei etwa  $1,4 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse.

Die  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte im Restboden (Abb. 6.10 b) fielen nach dem ersten Probenentnahme stark ab, blieben dann bis zum fünften Probenentnahme annähernd konstant und verringerten sich erneut bis zum letzten Probenentnahme. In der Variante *ab* sanken die Werte insgesamt von  $409$  auf  $214 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse, in der Variante *2 cm* von  $387$  auf  $200 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse. Im Rhizosphärenboden zeigten sich signifikante Schwankungen bei den  $C_{\text{mik}}$ -Gehalten. Die Gehalte sanken in beiden Varianten vom ersten bis zum dritten Probenentnahme, erreichten dann um den vierten bis fünften Probenentnahme ein zweites Maximum und verringerten sich bis zum sechsten Probenentnahme ein weiteres Mal. Insgesamt nahmen die Werte vom ersten Probenentnahme mit  $520 \mu\text{g g}^{-1}$  TM in der Variante *ab* bzw.  $656 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse in der Variante *2 cm* bis zum letzten Probenentnahme,  $349 \mu\text{g g}^{-1}$  in der Variante *ab* bzw.  $313 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse in der Variante *2 cm*, signifikant ab.

Die Gehalte des Restbodens an mikrobiellem Biomasse-N (Abb. 6.10 c) zeigten kaum Veränderungen. Die Werte lagen im Mittel bei  $59 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse. Im Rhizosphärenboden wurden größere Schwankungen zwischen den einzelnen Probenentnahmen gemessen. Insgesamt fielen die Werte signifikant in der Variante *ab* von  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  am zweiten Probenentnahme auf  $75 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse am letzten Probenentnahme. In der Variante *2 cm* war eine signifikante Verringerung von  $125 \mu\text{g g}^{-1}$  am ersten Probenentnahme auf  $72 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse am letzten Probenentnahme zu erkennen.

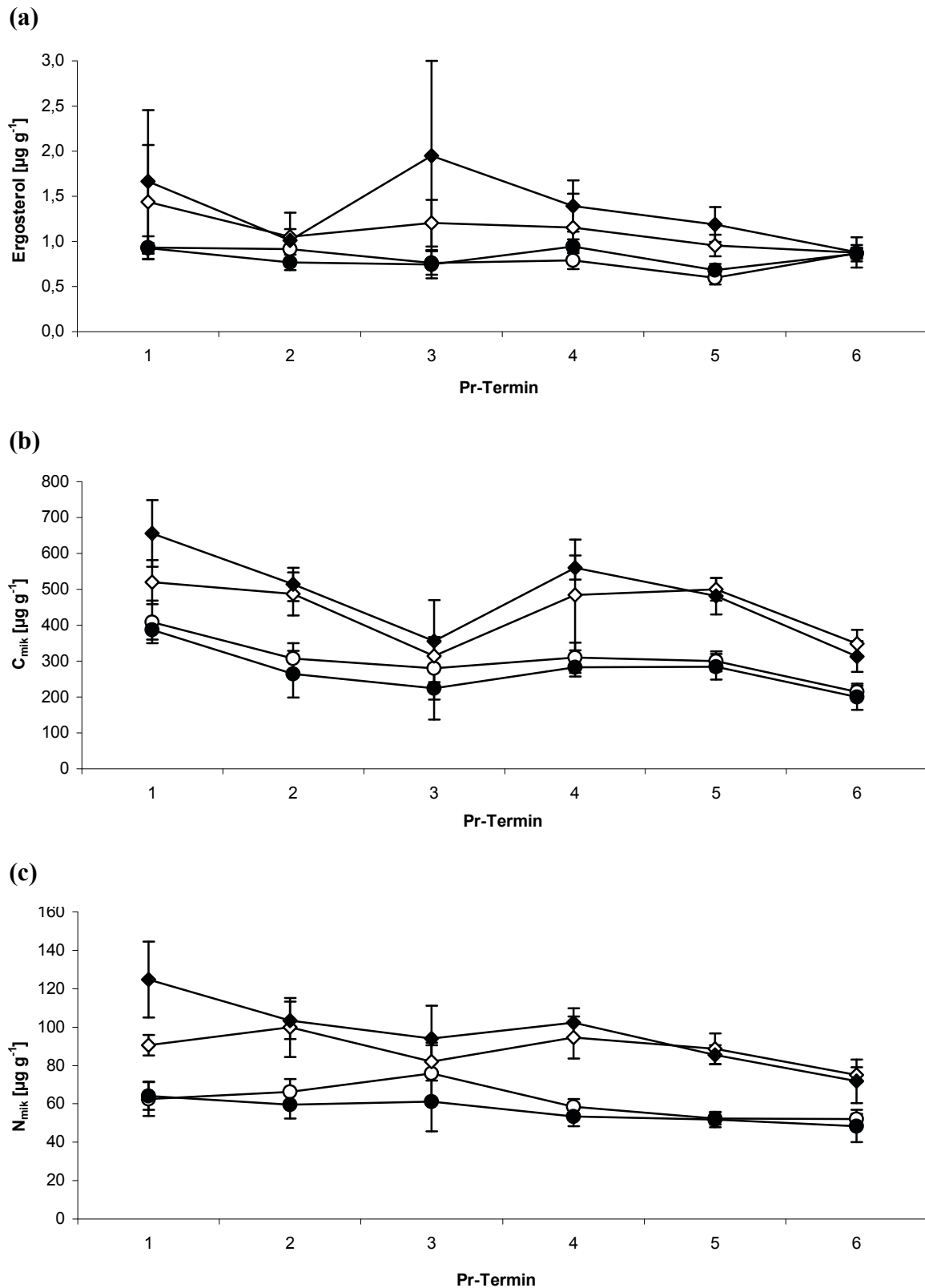


Abb. 6.10: Ergosterol- (a),  $C_{\text{mik}}$ - (b) und  $N_{\text{mik}}$ -Gehalte (c) im Rest- und Rhizosphärenboden an 6 Probestermen, nach 0 bis 8 Tagen, ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen.

Restboden: Variante ab ( $\circ$ ), 2 cm ( $\bullet$ ); Rhizosphärenboden: Variante ab ( $\diamond$ ), 2 cm ( $\blacklozenge$ ). Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung.

Tab. 6.3: F-Werte einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit dem Probentermin und Schnitt als Faktoren und den Fraktionen Rhizosphärenboden und Restboden als repeated measures

	Pr-Termin	Schnitt	Bodenfraktionen	Pr-Termin x Schnitt	Pr-Termin x Bodenfraktion	Schnitt x Bodenfraktion
C <sub>mik</sub>	35,4	0,13	213,6 ***	1,3	3,9 **	8,2 **
N <sub>mik</sub>	17,5 ***	1,15	308,5 ***	3,7 **	4,8 **	12,1 **
Ergosterol	3,6 ***	3,25 <sup>+</sup>	60,7 ***	0,9	5,0 ***	4,5 *
Muraminsäure	1,2 **	0,30	1,8	0,4	1,3	0,3
Glucosamin	0,7	0,32	14,2 ***	0,5	1,0	0,3
Galactosamin	1,4	0,18	5,9 *	0,3	1,3	0,3
Mannosamin	0,9	0,07	424,8 ***	2,6 *	3,5 **	1,1
Freiheitsgrade	5	1	1	5	5	1

<sup>+</sup> P < 0,1; \* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,001

#### 6.2.4 Organischer Kohlenstoff und Gesamtstickstoff

Die Gehalte an organischem Kohlenstoff waren in beiden Varianten gleich, sie veränderten sich im Verlauf des Versuchs (Tab. A-6.5) nicht. Im Restboden und im Rhizosphärenboden lagen die  $C_{\text{org}}$ -Werte bei 1,3 %, im Wurzelmaterial bei etwa 36 %. Der Gesamtstickstoff machte im Rest- und Rhizosphärenboden 0,13 % und im Wurzelmaterial 1,2 % aus. Die C / N-Verhältnisse lagen bei 10 im Rest- und Rhizosphärenboden und in den Wurzeln bei 30.

#### 6.2.5 CO<sub>2</sub>-Emission

Die CO<sub>2</sub>-Freisetzung wurde ab dem Schnittzeitpunkt der Pflanzen täglich zweimal gemessen. Sie verringerte sich in der Variante *ab* signifikant vom ersten ( $3 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$ ) bis zum zweiten Messtag ( $1,5 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$ ). Danach war eine tendenzielle Abnahme bis zum fünften Tag auf  $0,5 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$  zu erkennen. Am sechsten Tag stiegen die Werte wieder etwas an und blieben bis zum achten Messtag auf einem Niveau von etwa  $0,8 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$ . In der Variante *2 cm* blieben die Werte die ersten zwei Tage auf einem ähnlichen Niveau von etwa  $3,8 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$ , verringerten sich dann signifikant bis zum fünften Tag auf  $2,3 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$  und veränderten sich anschließend kaum noch bis zum achten Messtag. Bei den Kontrollböden ohne Bepflanzung schwankten die Messungen um einen Wert von  $0,2 \text{ g CO}_2\text{-C m}^{-2} \text{ Tag}^{-1}$  (Abb. 6.11; Tab. A-6.5).

Bezogen auf das Probengewicht und über die 8 Messtage gerechnet betrug die CO<sub>2</sub>-Freisetzung pro Tag etwa  $70 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ TM}$  bei der Variante *2 cm*,  $30 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ TM}$  bei der Variante *ab* und  $5 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ TM}$  bei den Kontrollböden.

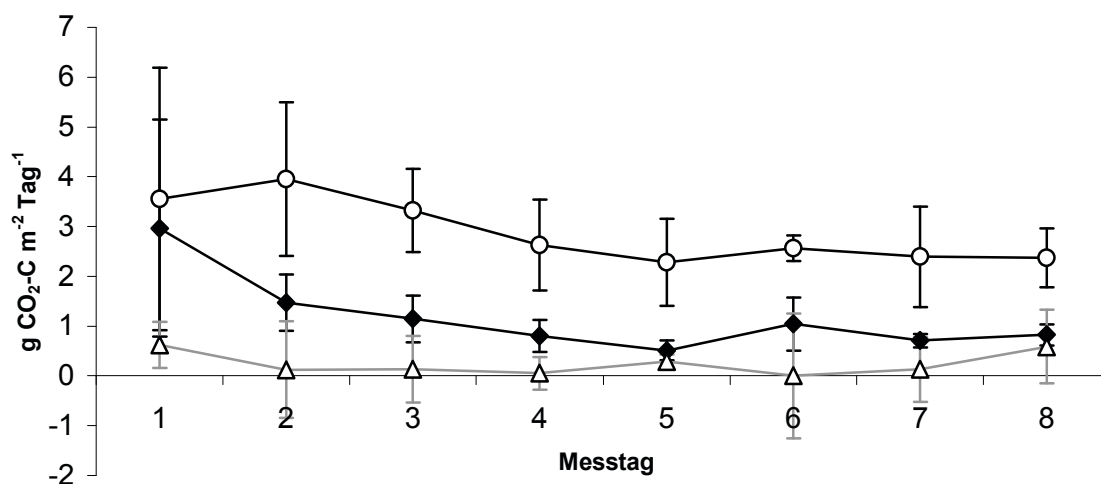


Abb. 6.11: CO<sub>2</sub>-Emission an 8 Messtagen bei den Varianten *2 cm* (○), *ab* (◆) und den Kontrollböden ohne Bepflanzung (△). Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung.



## 6.3 Diskussion

Im dritten Versuch wurde das Verhalten der rhizoplenen Organismen während des Absterbens der Wurzel beobachtet und untersucht, inwieweit es zu Interaktionen mit den Mikroorganismen der Rhizosphäre und des Gesamtbodens kommt (Hypothese 3).

Im Vorfeld des Versuchs wurde die Überlegung angestellt, dass Pflanzen bei denen die oberirdische Biomasse vollständig entfernt wird (Variante *ab*) absterben. Die abgestorbenen Wurzeln könnten dann von Mikroorganismen umgesetzt werden, was einen Anstieg der Mikroorganismenpopulation zur Folge hätte.

### 6.3.1 Veränderung der untersuchten Indikatoren im Versuchsverlauf

Der  $\text{CHCl}_3$ -labile Kohlenstoff der Wurzeln verringerte sich signifikant von etwa  $43 \text{ mg g}^{-1} \text{ TM}$  am ersten Probenentwurf auf  $16 \text{ mg g}^{-1} \text{ TM}$  am letzten Probenentwurf. Der  $\text{CHCl}_3$ -labile Stickstoff blieb dagegen weitestgehend konstant. Bei beiden Messgrößen war kein Unterschied zwischen den beiden Schnittvarianten zu erkennen. Die Gehalte des mikrobiellen Kohlenstoffs ( $C_{\text{mik}}^*$ ) sanken in beiden Varianten signifikant um durchschnittlich 50 %. Mit Ausnahme des vierten und fünften Probenentwurfs, an denen die Gehalte der Variante *2 cm* höher waren als die der Variante *ab*, waren die  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte in beiden Varianten sehr ähnlich. Die Ergosterolgehalte verringerten sich an den ersten fünf Probenentwurfen in der Variante *ab* stetig. In der Variante *2 cm* blieben sie anfangs konstant und zeigten an den letzten beiden Probenentwurfen eine tendenzielle Abnahme (Abb. 6.3).

Der Rückgang der  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte an den Wurzeln zeigte eine Abnahme der mikrobiellen Biomasse an. Der Verlauf der Ergosterolgehalte, die signifikant mit dem Pilz-Glucosamin korreliert waren ( $r = 0,70$ ;  $P < 0,001$ ), bestätigte, dass die Pilzbio­masse abnahm. Der Anteil der Wurzelfraktion am Gesamtprobengewicht sank mit fortschreitendem Probenentwurf (Tab. 6.1). Dies könnte bedeuten, dass zusammen mit den Wurzeln die besiedelnden Pilze absterben und sich innerhalb der kurzen Zeit in den Gefäßen keine neue Pilzflora entwickeln konnte, die als Destruenten das organische Material verwerteten.

Die Glucosamingehalte an den Wurzeln zeigten eine leicht abnehmende Tendenz im Verlauf des Versuchs. Beim Galactosamin und Mannosamin war die Verringerung ausgeprägter. Die Muraminsäuregehalte nahmen dagegen in beiden Varianten tendenziell zu. Die Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass die Pilzflora im Laufe des Versuchs abnimmt. Die Bakterienflora scheint sich gegensätzlich zu verhalten, die Muraminsäuregehalte deuten eine Vermehrung der Bakterienzahl an.

Die einzelnen Wurzelindikatoren wurden einer Hauptkomponentenanalyse unterzogen und drei Faktoren zugeordnet (Tab. 6.2). Dabei wurden Glucosamin und Ergosterol dem ersten Faktor, der den pilzlichen Anteil charakterisiert,  $\text{CHCl}_3$ -labiles C und N dem zweiten Faktor, der vermutlich eine pflanzliche Herkunft anzeigt und Muraminsäure dem dritten Faktor, der eine bakterielle Herkunft charakterisiert, zugeordnet. Die Zuordnung von Mannosamin zum ersten Faktor und von Galactosamin zum zweiten Faktor wirft einige Fragen auf. Gewöhnlich wird angenommen, dass Mannosamin und Galactosamin hauptsächlich aus Bakterienprodukten stammen und nur geringe Mengen in Pilzprodukten vorkommen (COELHO et al., 1997; AMELUNG, 2001; GLASER et al., 2004). Beim Nachweis von Aminosuktern in Hydrolysaten an der HPLC ist die Reaktion von OPA mit Mannosamin zu einem fluoreszierenden Derivat, im Vergleich zu Muraminsäure, Glucosamin und Galactosamin, relativ schwach (APPUHN et al., 2004). Außerdem ist die Mannosaminkonzentration in einem Hydrolysat mit allen vier Aminosuktern meist sehr gering. Die Fluoreszenzausbeute bewirkt einen vergleichsweise kleinen Ausschlag in Form von niedrigen breiten Peaks, bei denen es leicht zu einer Überschätzung der Konzentration kommen kann. Die hohen Gehalte von Galactosamin wurden bereits in Kapitel 4.3.4 diskutiert. Die Zuordnung von Galactosamin in der Hauptkomponentenanalyse zum zweiten Faktor könnte darauf hindeuten, dass dieser nicht nur eine pflanzliche Herkunft charakterisiert. Die hohen Gehalte könnten durch die Akkumulation von extrazellulären Schleimen an den Wurzeln verursacht worden sein.

Im Gegensatz zu den Wurzeln waren im Restboden und im Rhizosphärenboden bei den Aminosuktern kaum Veränderungen zu erkennen. Die Gehalte (Tab. A-6.2) blieben während der Versuchsdauer weitestgehend konstant und es wurden auch keine Unterschiede zwischen den Varianten *ab* und *2 cm* beobachtet. Allein bei den Glucosamingehalten zeigte sich während der Versuchsdauer im Rhizosphärenboden eine leicht sinkende Tendenz. Im Restboden blieben die Gehalte dagegen konstant. Da sich Aminosucker im Boden akkumulieren, werden sie eher als quantitativer Indikator für mikrobielle Residuen genutzt (AMELUNG, 2001). Verglichen mit frisch besiedelten Substraten wie Wurzeln wirken sich Veränderungen der mikrobiellen Biomasse daher sehr langsam auf die Aminosuckergehalte im Boden aus. Den Rhizosphärenboden kann man als Bindeglied zwischen Restboden und Wurzeln bezeichnen. Er wird von beiden Seiten beeinflusst und kann daher beispielsweise Veränderungen an der Wurzeloberfläche in abgeschwächter Form widerspiegeln. Dies war auch bei den Ergosterolgehalten zu erkennen. Die Gehalte im Rhizosphärenboden zeigten

entsprechend den Wurzeln eine sinkende Tendenz, während im Restboden keine Veränderungen zu erkennen waren.

Bei den  $C_{\text{mik}}$ -Gehalten zeigte sich dagegen ein anderes Bild. Die Werte nahmen im Laufe des Versuchs in allen drei Probenfraktionen ab. Es stellt sich die Frage, was die Ursache für diesen kollektiven Rückgang der mikrobiellen Biomasse war. Hatte die mikrobielle Population ihr Klimaxstadium überschritten oder war die Energieversorgung in den Gefäßen nicht mehr ausreichend? Wurde vielleicht durch den Schnitt der Pflanzen die Wurzelexsudation reduziert, was zum Verlust einer bedeutenden Nährstoffquelle für die Mikroorganismen führte? Laut SCHINNER und SONNLEITNER (1996) wird die Exsudation von organischen Verbindungen aus den Wurzeln durch das Entfernen der oberirdischen Biomasse durch Schnitt gesteigert. Dies würde für eine erhöhte Nährstoffverfügbarkeit der mikrobiellen Organismen sprechen. Doch wie lange hält diese erhöhte Exsudation an und tritt danach eventuell ein Rückgang der Exsudationsmengen ein? Nach dem Schnitt ist die Photosyntheseleistung der Pflanzen eingeschränkt. Bedingt durch eine geringere Blattoberfläche wird die Aufnahme von  $\text{CO}_2$  und Sonnenenergie reduziert, wodurch auch die Produktion von Kohlenhydraten eingeschränkt ist. Eine daraus resultierende Einschränkung der Wurzelexsudation wäre dann einleuchtend. Da Wurzelexsudate sehr schnell von Rhizosphären-Mikroorganismen genutzt werden (KUZYAKOV et al., 2001), könnte sich eine Verringerung der freigesetzten organischen Verbindungen umgehend in der Anzahl der wurzelnahen Mikroorganismen bemerkbar machen. MAYER et al. (2003 & 2004) beschrieben, dass Rhizodepositionen sehr schnell, d.h. innerhalb von Stunden oder Tagen, von der mikrobiellen Biomasse umgesetzt und anschließend als mikrobielle Residuen immobilisiert werden. Dies würde auch den Verlauf der  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte in den Probenfraktionen erklären. Die durch den Schnitt gesteigerte Menge der Wurzelexsudate spiegelt sich bei einer schnellen Umsetzung in den relativ hohen  $C_{\text{mik}}$ -Gehalten der ersten beiden Probenstermine wider. Mit dem anschließenden Rückgang der Exsudation sinken auch die Gehalte der mikrobiellen Biomasse.

Der Rückgang der mikrobiellen Population im Restboden legt nahe, dass trotz großer Unterschiede bei den  $C_{\text{mik}}$ -Gehalten der beiden Bodenfraktionen (durchschnittlich  $460 \mu\text{g g}^{-1}$  TM im RZB und  $290 \mu\text{g g}^{-1}$  TM im Restboden) ein reger Austausch zwischen Rhizosphärenboden und Restboden existiert. Dies könnte durch eine hohe Durchwurzelungsintensität in den Gefäßen, die im Freiland viel weniger ausgeprägt wäre, noch begünstigt werden.

### 6.3.2 Betrachtung der CO<sub>2</sub>-Emission im Versuchsverlauf

Betrachtet man die CO<sub>2</sub>-Emission aus dem Boden (Abb. 6.13), ist zu erkennen, dass in beiden Versuchsvarianten die Freisetzung bis zum fünften Versuchstag fast kontinuierlich abnahm. Im Anschluss daran blieb die CO<sub>2</sub>-Emission etwa auf gleichbleibendem Niveau. Zu beachten ist der Unterschied zwischen den Varianten *ab* und *2 cm*. Die beiden Emissionskurven verliefen nach dem ersten Messtag fast parallel. Dabei war die CO<sub>2</sub>-Freisetzung in der Variante *2 cm* vom zweiten Versuchstag bis zum Ende des Versuchs etwa zwei- bis dreimal so hoch wie in der Variante *ab*. Insgesamt lag die Emissionsrate etwa bei 70 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> TM Tag<sup>-1</sup> in der Variante *2 cm*, bei 30 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> TM Tag<sup>-1</sup> in der Variante *ab* und bei 5 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> TM Tag<sup>-1</sup> auf einem Kontrollboden ohne Bepflanzung. Die Werte waren ähnlich wie die von DOMANSKI et al. (2001) gemessenen Emissionen von 35 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> Boden Tag<sup>-1</sup> auf einem mit *Lolium perenne* bepflanzten Boden und 10 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> Boden Tag<sup>-1</sup> auf einem unbepflanzten Boden.

Zwischen dem ersten und dem letzten Versuchstag betrug die Abnahme des C<sub>mik</sub> in 1 g Boden etwa 200 µg C g<sup>-1</sup> TM in beiden Varianten, anteilig berechnet aus den prozentualen Anteilen von Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln. Im Vergleich dazu lag die Summe des freigesetzten CO<sub>2</sub>-C in den acht Versuchstagen bei 580 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> TM in der Variante *2 cm* und bei 240 µg CO<sub>2</sub>-C g<sup>-1</sup> TM in der Variante *ab*. Die CO<sub>2</sub>-Freisetzung aus dem Boden setzt sich zusammen aus: 1. Wurzelrespiration; 2. mikrobieller Respiration von Exsudaten und 3. mikrobieller Respiration von toten Wurzeln und abgelösten Wurzelzellen (KUZYAKOV et al., 2001). Da sich die mikrobielle Biomasse in beiden Varianten gleich stark verringert hat, ist zu vermuten, dass sich die mikrobielle Respiration von Exsudaten sowie die mikrobielle Respiration von toten Wurzeln und Wurzelzellen in den beiden Varianten nicht gravierend unterscheidet. Vermutlich hat die Wurzelrespiration in der Variante *2 cm* einen entscheidenden Anteil an der hohen CO<sub>2</sub>-Freisetzung aus dem Boden. In der Variante *ab* scheint sie dagegen durch die totale Entfernung der oberirdischen Biomasse stark eingeschränkt.

### 6.3.3 Betrachtung der Quotienten aus den untersuchten Messgrößen

Das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse blieb in den beiden Bodenfraktionen im Laufe des Versuchs weitestgehend konstant und lag im Durchschnitt bei ca. 4,9. Es gab keine Unterschiede zwischen Restboden und Rhizosphärenboden.

Das Verhältnis von Ergosterol zu C<sub>mik</sub> lag in den beiden Bodenfraktionen im Mittel bei 0,3 % und blieb im Laufe des Versuchs ebenfalls nahezu konstant. Dies bedeutet, dass sich der

Anteil der Pilzbiomasse an der gesamten mikrobiellen Biomasse im Versuchsverlauf nicht verändert hat.

Die Quotienten von mikrobiellem Kohlenstoff zu Glucosamin bzw. Muraminsäure beschreiben den Pilzanteil bzw. Bakterienanteil an der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse. Auf frisch besiedelten Substraten wie Wurzeln geht man davon aus, dass ein großer Teil des Glucosamins und der Muraminsäure aus der mikrobiellen Biomasse stammt. Im Rhizosphärenboden und vor allem im Restboden geben sie eher Auskunft über die mikrobielle Nekromasse. Dies spiegelt sich auch in den Ergebnissen wider: im Restboden schwankte der Quotient von  $C_{\text{mik}}$  zu Glucosamin um einen Wert von 0,5 und im Rhizosphärenboden um einen Wert von 0,9. Im Wurzelmaterial dagegen war der Quotient etwa zehnmal größer und lag im Mittel bei 7,6. Auch der Quotient von  $C_{\text{mik}}$  zu Muraminsäure war im Wurzelmaterial etwa um einen Faktor von zehn größer als in den Bodenfraktionen.

Generell waren die Quotienten im Restboden kleiner als im Rhizosphärenboden, was auf eine größere Akkumulation der mikrobiellen Nekromasse im Restboden und dementsprechend auf eine erhöhte mikrobielle Aktivität im Rhizosphärenboden zurückzuführen ist. Der Rückgang der beiden Quotienten im Laufe des Versuchs, vor allem im Wurzelmaterial um etwa 50 %, ist primär auf eine Verminderung der  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte zurückzuführen.

Das Verhältnis von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure gibt Auskunft über den Beitrag von Pilzen und Bakterien zur organischen Substanz im Boden bzw. über das Pilz-Bakterien-Verhältnis an den Wurzeln. Es blieb im Laufe des Versuchs im Restboden und Rhizosphärenboden konstant. Dies unterstützt die Theorie, dass in den Bodenfraktionen die Aminosucker hauptsächlich aus der mikrobiellen Nekromasse stammen, welche nur langsam im Boden umgesetzt wird. Im Wurzelmaterial ist dagegen eine Abnahme im Verhältnis Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure zu erkennen (Tab. A-6.4). In der Variante *ab* sank der Wert bis zum dritten Messtag um etwa 30 % von zwölf auf acht. Danach verringerte er sich nur noch geringfügig bis zum Ende des Versuchs. In der Variante *2 cm* war eine annähernd stetige Verringerung um insgesamt 45 % auf einen Quotienten von acht am letzten Probenstermin zu erkennen. Dies spricht für eine Zunahme der bakteriellen Biomasse im Vergleich zur pilzlichen Biomasse im Laufe des Versuchs.

#### **6.3.4 Vergleiche der Gesamtbiomasse mit bakterieller und pilzlicher Biomasse und Nekromasse in den Probenfraktionen**

Betrachtet man die Gehalte von pilzlichem und bakteriellem Kohlenstoff, die aus den Gehalten von Glucosamin und Muraminsäure berechnet wurden und vergleicht diese mit den

$C_{\text{mik}}$ -Gehalten, so sieht man sehr große Unterschiede zwischen den Wurzeln und den beiden Bodenfraktionen. Im Restboden und Rhizosphärenboden sind die aus Glucosamin und Muraminsäure berechneten Kohlenstoffgehalte weitaus größer als die gemessenen  $C_{\text{mik}}$ -Gehalte. Dies ist auf die große Akkumulation von mikrobieller Nekromasse in den Bodenfraktionen zurückzuführen.

Um den Anteil der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse an den Wurzeln zu bestimmen, wurden die Summe des bakteriellen und pilzlichen Kohlenstoffs (Tab. A-6.9) ins Verhältnis zum mikrobiellen Kohlenstoff ( $C_{\text{mik}}^*$ ) aus der CFE-Messung gesetzt. Der daraus berechnete Anteil der mikrobiellen Biomasse sank im Laufe des Versuchs von 72 auf 30 %. Das bedeutet, dass am ersten Probenstermin knapp 30 % des pilzlichen und bakteriellen Kohlenstoffs, der aus den Gehalten von Glucosamin und Muraminsäure ermittelt wurde, aus der mikrobiellen Nekromasse stammte. Bis zum letzten Probenstermin stieg der C-Anteil der mikrobiellen Nekromasse auf ca. 70 %.

Ausgehend von einer ähnlichen Umsatzzeit von Glucosamin und Muraminsäure an den Wurzeln würden sich am ersten Probenstermin die  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalte von ca. 30 mg  $\text{g}^{-1}$  TM zusammensetzen aus etwa 20 mg C  $\text{g}^{-1}$  TM aus der Pilzbiomasse und 10 mg C  $\text{g}^{-1}$  TM aus der Bakterienbiomasse. Am letzten Probenstermin würde sich der durchschnittliche  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalt aus beiden Varianten von etwa 15 mg  $\text{g}^{-1}$  TM zusammensetzen aus ca. 9 mg C  $\text{g}^{-1}$  TM aus der Pilzbiomasse und 6 mg C  $\text{g}^{-1}$  TM aus der Bakterienbiomasse.

Das Pilz-Bakterien-Verhältnis an den Wurzeln (Tab. A-6.11) verringerte sich im Laufe des Versuchs von 2,1 auf 1,4 in der Variante *ab* bzw. von 2,5 auf 1,4 in der Variante *2 cm*. Man kann daraus auf eine abnehmende Tendenz der pilzlichen Biomasse oder eine Zunahme der bakteriellen Biomasse schließen. Auch in diesem Versuch widersprechen die Ergebnisse der Theorie, dass an Wurzeln die Bakterien gegenüber den Pilzen dominieren und weisen entgegengesetzt auf eine Dominanz der Pilze bei den wurzelbesiedelnden Mikroorganismen hin.

### **6.3.5 Schlussbemerkung**

Die anfangs aufgestellte Hypothese, dass beim Absterben von Wurzeln die Interaktionen von Rhizoplanen-, Rhizosphären- und Bodenmikroorganismen eine entscheidende Rolle für den Abbau der Wurzeln und die Freisetzung der in ihnen enthaltenen Nährstoffe spielen, konnte nicht beantwortet werden. Ein Grund hierfür war eine Überlegung im Vorfeld des Versuchs, die besagte, dass es bedingt durch die vollständige Entfernung der oberirdischen Biomasse zu einem Absterben der Pflanze und dem folgend zu einem Anstieg der mikrobiellen Population

kommt. Dies hat sich nicht bestätigt. Die Pflanzen beider Versuchsvarianten (*ab* und *2 cm*) wurden durch den Schnitt der oberirdischen Biomasse stark beeinflusst. Ob die vollständige Entfernung der oberirdischen Biomasse in der Variante *ab* tatsächlich zum Absterben der Pflanzen geführt hat, ist fraglich. Üblicherweise setzt ein rascher Abbau mit einer erhöhten Freisetzung von CO<sub>2</sub> ein, wenn Pflanzenrückstände, also auch tote Wurzeln, in den Boden gelangen (HAIDER, 1995). Im Versuch war die CO<sub>2</sub>-Freisetzung in der Variante *2 cm* größer als in der Variante *ab*, was gegen einen Abbau der Wurzelmasse in der Variante *ab* spricht. Außerdem hätte die Anzahl der Mikroorganismen, gerade die der Pilze, die einen entscheidenden Beitrag beim Abbau der organischen Substanz leisten, ansteigen müssen. Die mikrobielle Biomasse verringerte sich jedoch im Laufe des Versuchs, wobei an den Wurzeln eine leichte Zunahme der bakteriellen Biomasse und eine Abnahme der pilzlichen Biomasse zu erkennen war. Die Ergebnisse legen nahe, dass durch den Schnitt der Pflanzen die Lebensbedingungen der Mikroorganismen, möglicherweise durch eine Reduzierung der Wurzelexsudation, verändert wurden. Während sich die Bakterien schneller den neuen Bedingungen angepasst haben, wurden die Pilze in ihrer Entwicklung gestört. Es wäre auch vorstellbar, dass bedingt durch die Raumknappheit und das geschlossene System eines Gefäßversuchs die Migration von anderen, besser angepassten Pilzarten, die im Freiland in großer Zahl vorkommen, vom umgebenden Boden an die Wurzeln gestört war.

In der Variante *2 cm* war die CO<sub>2</sub>-Emission mehr als doppelt so hoch wie in der Variante *ab*. Dabei wurden an den Wurzeln relativ niedrigere Muraminsäuregehalte und höhere Gehalte an Glucosamin und Ergosterol gemessen. Dies zeigt, dass in der Variante *2 cm* die Förderung der Pilze relativ größer war als in der Variante *ab*. Bestätigt wird dies auch vom Verhältnis Pilz-C zu Bakterien-C, welches in der Variante *2 cm* allgemein etwas höher war als in der Variante *ab*.

## 7 SCHLUSSFOLGERUNGEN & AUSBLICK

Durch einen Vergleich der Kohlenstoffgehalte der mikrobiellen Biomasse ( $C_{\text{mik}}^*$ ) mit den Kohlenstoffgehalten aus den ermittelten Werten des Pilz-Glucosamins und der Muraminsäure ist es möglich, den Anteil der Pilz- und Bakterienbiomasse an Wurzeln abzuschätzen. Mit Hilfe der erstellten Umrechnungsfaktoren (Kapitel 2.2.3 und 2.2.4) konnten aus den Gehalten des Pilz-Glucosamins und der Muraminsäure die Kohlenstoffgehalte von Pilzen und Bakterien an den Wurzeln ermittelt werden. Durch einen Vergleich dieser Werte mit den  $C_{\text{mik}}^*$ -Gehalten wurde der Anteil des Kohlenstoffs bestimmt, der aus der mikrobiellen Biomasse bzw. Nekromasse stammte. Unter der Annahme gleicher Umsatzzeiten der Aminosucker Glucosamin und Muraminsäure an Wurzeln wurde im Anschluss das Pilz-Bakterien-Verhältnis bestimmt.

Ausgehend von den ermittelten Kohlenstoffgehalten aus Pilz-Glucosamin und Muraminsäure an den Wurzeln lag der Anteil des Kohlenstoffs, der aus der mikrobiellen Biomasse stammte im ersten Versuch bei ca. 40 % und im zweiten Versuch bei knapp 50 % in den Oberböden. Im dritten Versuch waren die ermittelten Messgrößen (Kohlenstoff-, Stickstoff-, Ergosterol- und Aminosuckergehalte) allgemein weitaus höher als in den beiden ersten Versuchen. Beispielsweise waren die Ergosterolgehalte an den Wurzeln mit durchschnittlich  $60 \mu\text{g g}^{-1}$  Trockenmasse etwa viermal so hoch wie bei den beiden vorherigen Versuchen. Dies ist wahrscheinlich auf eine kürzere Versuchsdauer (die Ernte begann 24 Tage nach der Aussaat) zurückzuführen, außerdem waren die Umgebungstemperaturen während der Wachstumszeit der Pflanzen beim dritten Versuch höher als bei den ersten beiden Versuchen, da der Sommer 2003 ungewöhnlich heiß war. Beide Faktoren führten vermutlich zu günstigen Wachstumsbedingungen der mikrobiellen Biomasse. So lag auch der Anteil des Kohlenstoffs der mikrobiellen Biomasse am ermittelten Kohlenstoffgehalt aus Pilz-Glucosamin und Muraminsäure beim Schnitt der Pflanzen bei ca. 70 % und sank dann im Laufe des Versuchs auf etwa 30 %. Aminosucker werden bekanntlich nach dem Absterben der jeweiligen Organismen im Boden akkumuliert. Die Ergebnisse zeigen, dass es auch an relativ frisch besiedelten Substraten wie Wurzeln mit der Zeit zu einer Akkumulation von Aminosuckern kommt, die aber im Vergleich zum Boden relativ klein ist.

Die Bestimmung der Pilzbiomasse an Wurzeln mit Hilfe der Ergosterolgehalte ist mit den vorhandenen Umrechnungsfaktoren, die für den Boden erstellt wurden (SCHEU &



PARKINSON, 1994; DJAJAKIRANA et al., 1996; MONTGOMERY et al., 2000), nicht möglich. Da die Ergosterolgehalte in Mykorrhizapilzen höchstwahrscheinlich weitaus geringer sind als in anderen Pilzen, müssten die Umrechnungsfaktoren für Ergosterol in Kohlenstoff der Pilzbiomasse an Wurzeln größer sein als im Boden. Ein Vergleich der Ergosterolgehalte mit den ermittelten Kohlenstoffgehalten der Pilzbiomasse (berechnet aus den Gehalten des Pilz-Glucosamins) zeigte, dass an den Wurzeln ein Umrechnungsfaktor für  $\mu\text{g}$  Ergosterol in  $\mu\text{g}$  C der Pilzbiomasse etwa in einem Bereich zwischen 300 und 450 liegen müsste. In den ersten beiden Versuchen wurden Faktoren von 450 bzw. 400 ermittelt, damit müsste beispielsweise der von DJAJAKIRANA et al. (1996) ermittelte Faktor von 90 etwa fünfmal größer sein, um den Kohlenstoff der Pilzbiomasse aus den Ergosterolgehalten an den Wurzeln zu ermitteln. Bedingt durch die hohen Ergosterolgehalte der Wurzeln im dritten Versuch würde sich hier ein Umrechnungsfaktor von ca. 300 ergeben. Weitere Untersuchungen hinsichtlich des Vorkommens von Ergosterol in Mykorrhizapilzen sowie in anderen Pilzarten an Wurzeln wären sinnvoll, um den Umrechnungsfaktor weiter einzuengen und damit den Beitrag der mikrobiellen Besiedlung von Wurzeloberflächen durch Pilze mit Ergosterol quantitativ genauer zu erfassen.

Die Galactosamingehalte waren im Vergleich zu den Glucosamingehalten in allen drei Versuchen ungewöhnlich hoch. Im Restboden und Rhizosphärenboden waren die Galactosamingehalte etwa eineinhalb- bis dreimal so hoch wie die Glucosamingehalte. An den Wurzeln überragten sie das Glucosamin etwa um das Sechs- bis Zehnfache. In der Literatur wurden keine Angaben über Galactosamingehalte an Wurzeln gefunden. Das Verhältnis von Glucosamin zu Galactosamin in verschiedenen Böden wird aber im Allgemeinen mit größer als eins angegeben. Es wurde die Vermutung angestellt, dass die hohen Galactosamingehalte möglicherweise auf eine Anreicherung von kapselbildenden und Schleim abgebenden Bakterien oder eine Akkumulation von extrazellulären Schleimen an den Wurzeln zurückzuführen sind. Letzteres würde auch die Ergebnisse einer Hauptkomponentenanalyse in Versuch drei erklären, bei der das Galactosamin weder einer pilzlichen noch einer bakteriellen Herkunft zugeordnet wurde.

Entgegen der allgemein vertretenen Annahme, dass bei den wurzelbesiedelnden Mikroorganismen die Bakterien gegenüber den Pilzen dominieren (SCHINNER & SONNLEITNER, 1996; KILLHAM, 1994; SPARLING, 1985), zeigten die Ergebnisse ein gegensätzliches Bild. In allen drei Versuchen ergab sich gleichermaßen, dass sowohl im

Boden als auch an den Wurzeln die Pilze gegenüber den Bakterien dominieren. Das Pilz-Bakterien-Verhältnis an den Wurzeln lag durchschnittlich bei 2,5, wobei es im dritten Versuch durch den Schnitt der Pflanzen auf 1,4 sank. Im zweiten Versuch wurde im Bv-Horizont ein Verhältnis von 6,5 ermittelt, was auf einen deutlich erhöhten Pilzanteil der mikrobiellen Biomasse in tieferen Bodenschichten gegenüber den Oberböden hinweist.

Die Untersuchungen haben einige Erkenntnisse hinsichtlich der mikrobiellen Besiedlung von Wurzeloberflächen geliefert. Es haben sich neue Aspekte ergeben und viele neue Fragen sind aufgekommen. Folgeuntersuchungen könnten sich anschließen: Vergleiche der angewendeten Praktiken mit anderen Methoden (z.B. Mikroskopie, PLFA) können weiteren Aufschluss über die Eignung der verwendeten Verfahren sowie die Zusammensetzung der mikrobiellen Population an Wurzeloberflächen geben. Um den Einfluss von Gefäßen und Wachstumsbedingungen im Gewächshaus auf die mikrobielle Gemeinschaft besser abschätzen zu können, sollten neben den Gefäßversuchen auch Freilandversuche mit in die Untersuchungen einbezogen werden.

Weitere Untersuchungen hinsichtlich des Vorkommens von Ergosterol in wurzelbesiedelnden Pilzen wären wünschenswert, da Ergosterol in höheren Pflanzen nicht vorkommt und damit die Anwesenheit von Wurzeln, im Gegensatz zu anderen Methoden, die Messungen nicht beeinflusst.

Bei der Betrachtung verschiedener Pflanzenarten ist vor allem die Phacelia (*Phacelia tanacetifolia* Bentham) hervorgetreten. Weitere Untersuchungen dieser Pflanze hinsichtlich Menge und Zusammensetzung der mikrobiellen Besiedlung der Wurzeln werden sicherlich interessante Ergebnisse liefern.

## 8 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Bedeutung der mikrobiellen Besiedlung von Wurzeloberfläche und Rhizosphäre für Stoffumsätze in Böden.

Im Vordergrund stand die Erfassung der mikrobiellen Biomasse bzw. Residualmasse an der Wurzeloberfläche, im Rhizosphärenboden und im umgebenden Boden. Dabei wurde die CFE-Methode zur Erfassung der mikrobiellen Biomasse eingesetzt. Ergosterol diente als Indikator für die pilzliche Biomasse und die Aminosucker Glucosamin und Muraminsäure sollten Aufschluss geben über die bakterielle und pilzliche Biomasse bzw. Residualmasse in den drei Probenfraktionen. Dazu wurden Umrechnungsfaktoren erstellt, die zur Berechnung des bakteriellen und pilzlichen Kohlenstoffs aus den Gehalten von Muraminsäure und Pilz-Glucosamin dienten.

Es wurden drei Gefäßversuche durchgeführt:

- Im ersten Versuch wurde der Einfluss der Pflanzenart auf die mikrobielle Besiedlung der Wurzeloberfläche untersucht. Die Eignung von Ergosterol und Muraminsäure zur Quantifizierung von Pilz- und Bakterienbiomasse auf Wurzeloberflächen wurde überprüft.
- Im zweiten Versuch wurde untersucht, ob die mikrobielle Biomasse eines Bodens und deren Zusammensetzung die mikrobielle Besiedlung von Wurzeloberflächen beeinflusst. Es wurden sieben verschiedene Böden verglichen. Darunter waren sechs Oberböden, die sich hinsichtlich des Bodentyps (Parabraunerde, Griserde, Schwarzerde) und der Bewirtschaftungsform (Ackerland, Grünland) unterschieden. Zusätzlich wurde ein Unterboden aus dem Bv-Horizont einer Parabraunerde untersucht.
- Im dritten Versuch sollte das Verhalten der rhizoplenen Organismen während des Absterbens der Wurzeln beobachtet sowie untersucht werden, inwieweit es zu Interaktionen mit den Mikroorganismen der Rhizosphäre und des Gesamtbodens kommt. Dazu wurden die Versuchspflanzen in zwei Gruppen eingeteilt. In der Variante *ab* wurde die oberirdische Biomasse vollständig entfernt. In der Variante *2 cm* blieb ein Rest von 2 cm Blattlänge erhalten.

Es bestätigte sich, dass der Einfluss der einzelnen Pflanzenart von entscheidender Bedeutung für die mikrobielle Besiedlung von Wurzeln ist. Bei der Betrachtung verschiedener Böden zeigte sich, dass sowohl der Bodentyp als auch die Bewirtschaftungsform einen großen Einfluss auf die mikrobielle Besiedlung ausüben.

Die Ermittlung der Pilzbiomasse aus den Ergosterolgehalten an Wurzeloberflächen ist nicht mit den in der Literatur vorhandenen Umrechnungsfaktoren, die für die Umrechnung der Ergosterolgehalte in C-Gehalte der Pilzbiomasse in Böden erstellt wurden, möglich. Die Ergosterolkonzentration in Mykorrhizapilzen ist höchstwahrscheinlich niedriger als in anderen Pilzen. Dies bestätigte auch ein Vergleich zwischen Pflanzen, die von Mykorrhizapilzen besiedelt werden und solchen die eine natürliche Resistenz dagegen besitzen. Ein Umrechnungsfaktor für Ergosterol in Pilzbiomasse müsste dementsprechend an den Wurzeln wesentlich höher sein als im Boden. Die Ergebnisse aus den drei Versuchen zeigten, dass ein Faktor für die Umrechnung von  $\mu\text{g}$  Ergosterol in  $\mu\text{g}$  C der Pilzbiomasse an den Wurzeln in der Größenordnung von 300 bis 450 liegen müsste.

Die Erfassung der Pilz- und Bakterienbiomasse anhand der Gehalte von Glucosamin und Muraminsäure an Wurzeln ist möglich. Umrechnungsfaktoren zur Ermittlung des pilzlichen und bakteriellen Kohlenstoffs aus den Gehalten des Pilz-Glucosamins und der Muraminsäure wurden ermittelt. Durch einen Vergleich dieser Kohlenstoffgehalte mit den  $C_{\text{mik}}$ -Gehalten kann zudem abgeschätzt werden, wie groß der Anteil des Kohlenstoffs ist, der aus der mikrobiellen Biomasse und Nekromasse stammt.

Entgegen der weit verbreiteten Annahme, dass bei den wurzelbesiedelnden Mikroorganismen die Bakterien gegenüber den Pilzen dominieren, zeigten die Ergebnisse ein gegensätzliches Bild. In allen drei Versuchen ergab sich gleichermaßen, dass sowohl im Boden als auch an den Wurzeln die Pilze gegenüber den Bakterien dominieren. Das Pilz-Bakterien-Verhältnis an den Wurzeln lag durchschnittlich bei 2,5.

## 9 LITERATUR

- ALTEMÜLLER, H.-J. (1991) Präparative Grundlagen der Fluoreszenzfärbung organischer Bodenkomponenten in Boden-Dünnschliffen. Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft 66/I. 453 – 456
- ALTEMÜLLER, H.-J. (1989) Zur fluoreszenzmikroskopischen Darstellung biologischer Objekte in Boden-Dünnschliffen. Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft 59/I. 517 – 522
- AMELUNG, W. (2001) Methods Using Amino Sugars as Markers for Microbial Residues in Soil. In: Lal, R., Kimble, J.M., Follett, R.F., Stewart, B.A., (Eds.) Assessment methods for soil carbon. CRC Press LLC, pp. 233-272
- AMELUNG, W.; KIMBLE, J.M.; SAMSON-LIEBIG, S.; FOLLETT, R.F. (2001) Restoration of Microbial Residues in Soils of the Conservation Reserve Program. Soil Science Society of America Journal 65, 1704-1709
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. (1980) Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. Soil Science 130, 211-216
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biology and Biochemistry 10, 215-221
- APPUHN, A.; JOERGENSEN, R.G.; RAUBUCH, M.; SCHELLER, E.; WILKE, B. (2004) The automated determination of glucosamine, galactosamine, muramic acid and mannosamine in soil and root hydrolysates by HPLC. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 167, 17-21
- BÅÅTH, E.; ANDERSON, T.-H. (2003) Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. Soil Biology and Biochemistry 35, 955-963
- BACKHAUS, K.; ERICHSON, B.; PLINKE, W.; SCHUCHARD-FICHER, Chr.; WEIBER, R. (1989) Varianzanalyse In: Multivariate Analysemethoden. 5. Auflage, Springer-Verlag Berlin
- BARDGETT, R.D.; McALISTER, E. (1999) The measurement of soil fungal:bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. Biology and Fertility of soils 29, 282-290
- BEARE, M.H.; NEELY, C.L.; COLEMAN, D.C.; HARGROVE, W.L. (1990) A substrate-induced respiration (SIR) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues. Soil biology and biochemistry 22, 585-594

- BLANKE, M.M. (1996) Soil respiration in an apple orchard. *Environmental and Experimental Botany* 36, 339-348
- BLOEM J.; VENINGA M.; SHEPHERD J. (1995) Fully automatic determination of soil bacterium numbers, cell volumes, and frequencies of dividing cells by confocal laser scanning microscopy and image analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 926-936
- BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T. (1988) *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 72-83
- BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. (1985) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method for measuring microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 837-842
- BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. (1982) Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 14, 319-329
- CHANTIGNY, M.H.; ANGERS, D.A.; PRÉVOST, D.; VÉZINA, L.-P.; CHALIFOUR, F.-P. (1997) Soil Aggregation and fungal and bacterial biomass under annual and perennial cropping systems. *Soil Science Society of America Journal* 61, 262-267
- CHENG, W.; ZHANG, Q.; COLEMAN, D.C.; CARROLL, C.R.; HOFFMAN, C.A. (1996) Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere? *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1283-1288
- COELHO, R.R.R.; SACRAMENTO, D.R., LINHARES, R.F. (1997) Amino sugars in fungal melanins and soil humic acids. *European Journal of Soil Science* 48, 425-429
- DAVIS, M.W.; LAMAR, R.T. (1992) Evaluation of methods to extract ergosterol for quantification of soil fungal biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 24, 189-198
- DJAJAKIRANA, G.; JÖRGENSEN, R.G.; MEYER, B. (1996) Ergosterol and microbial biomass relationship in soil. *Biology and Fertility of soils* 22, 299-304
- DOMANSKI, G.; KUZYAKOV, Y.; SINIAKINA, S.V.; STAHR, K. (2001) Carbon flows in the rhizosphere of ryegrass (*Lolium perenne*). *Journal of plant nutrition and soil science* 164, 381-387
- DORRESTEIJN, R.C.; BERWALD, L.G.; ZOMER, G.; DE GOOIJER, C.D.; WIETEN, G.; BEUVERY, E.C. (1996) Determination of amino acids using o-phthalaldehyde - 2-mercaptoethanol derivatization Effect of reaction conditions. *Journal of Chromatography A* 724, 159-167
- DYCKMANS, J.; RAUBUCH, M. (1997) A modification of a method to determine adenosine nucleotides in forest organic layers and mineral soils by ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Microbiological Methods* 30, 13-20

- EKBLAD, A.; NÄSHOLM, T. (1996) Determination of chitin in fungi and mycorrhizal roots by an improved HPLC analysis of glucosamine. *Plant and Soil* 178, 29-35
- FREY, S.D.; BUSER, H.R.; SCHÜEPP, H. (1992) Identification of ergosterol in vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Biology and Fertility of Soils* 13, 229-234
- FREY, S.D.; ELLIOTT, E.T.; PAUSTIN, K. (1999) Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 573-585
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84, 489-500
- GISI, U.; SCHENKER, R.; SCHULIN, R.; STADELMANN, F.X.; STICHER, H. (1997) Prozessbeschreibung des ungestörten Bodens. In: *Bodenökologie*, Thieme Verlag, Kapitel 3, S. 81-240
- GLASER, B.; TURRION, M.-B.; ALEF, K. (2004), Amino sugars and muramic acid-biomarkers for soil microbial community structure analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 399-407
- GRANDMOUGIN-FERJANI, A.; DALPÉ, Y.; HARTMANN, M.-A.; LARUELLE, F.; SANCHOLLE, M. (1999) Sterol distribution in arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytochemistry* 50, 1027–1031
- GUGGENBERGER, G.; FREY, S. (1999) Der Beitrag von Pilzen und Bakterien beim Aufbau organischer Bodensubstanz in verschiedenen Agrarökosystemen. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 91/2, 617-620
- HAIDER, K. (1995) Abbau und Umwandlung der Hauptbestandteile in Pflanzenresten. In: *Biochemie des Bodens*, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- HELAL, H.M.; SAUERBECK, D. (1986) Effect of plant root on carbon metabolism of soil microbial biomass. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 149, 181–188
- HEPPER, C.M. (1977) A colorimetric method for estimating vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Soil Biology and Biochemistry* 9, 15-18
- HERTENBERGER, G.; ZAMPACH, P.; BACHMANN, G. (2002) Plant species affect the concentration of free sugars and free amino acids in different types of soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165, 557-565
- HICKS, R.E.; NEWELL, S.Y. (1984) A comparison of glucosamine and biovolume conversion factors for estimating fungal biomass. *OIKOS* 42, 355-360
- JENKINSON, D.S. (1988) The determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soil. In: Wilson, J.R. (Ed.) *Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems*. CAB International, Wallingford, 368-386

- JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. (1981) Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E.A.; Ladd, J.N. (Eds.) *Soil Biochemistry*, Vol. 5, 416-469
- JENKINSON, D.S.; OADES, J.M. (1979) A method for measuring adenosine triphosphate in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 193-199
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S.; WEDDERBURN, R.W.M. (1976) The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - III. The relationship between soil biovolume, measured by optical microscopy, and the flush of decomposition caused by fumigation. *Soil Biology and Biochemistry* 8, 189-202
- JOERGENSEN, R. G. (2000) Ergosterol and microbial biomass in the rhizosphere of grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 647-652
- JOERGENSEN, R.G. (1996a) The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the  $k_{EC}$  value. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 25-31
- JOERGENSEN, R.G.; MUELLER, T. (1996b) The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the  $k_{EN}$  value. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 33-37
- JOERGENSEN, R.G.; MUELLER, T.; WOLTERS, V. (1996c) Total carbohydrates of the soil microbial biomass in 0,5 M  $K_2SO_4$  soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1147-1153
- JÖRGENSEN, R.G. (1995a) Die quantitative Bestimmung der mikrobiellen Biomasse in Böden mit der Chloroform-Fumigations-Extraktions-Methode. *Göttinger Bodenkundliche Berichte* 104, 1-229
- JÖRGENSEN, R.G.; SCHOLLE, G.; WOLTERS, V. (1995b) Die Bestimmung von Muraminsäure als Biomarker von Bakterien. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 76, 627-630
- JÖRGENSEN, R.G. (1987) Flüsse, Umsatz und Haushalt der postmortalen organischen Substanz und ihrer Stoffgruppen in Streudecke und Bodenkörper eines Buchenwald-Ökosystems auf Kalkstein. *Göttinger Bodenkundliche Berichte* 91
- KAISER, E.-A.; MUELLER, T.; JOERGENSEN, R.G.; INSAM, H.; HEINEMEYER, O. (1992) Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 24, 675-683
- KILLHAM, K. (1994) *Soil ecology*. Cambridge University Press
- KIRSCH, A.; FRANKEN, H.; BLANKE, M. (2000) Feldmethode zur Bestimmung der substrat-induzierten Bodenatmung. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163, 165-171



- KLAMER, M.; BÅÅTH, E. (2004) Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18:2 $\omega$ 6,9. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 57-65
- KUZYAKOV, Y.; EHRENSBERGER, H.; STAHR, K. (2001) Carbon partitioning and below-ground translocation by *Lolium perenne*. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 61-74
- LAVAHUN, M.F.E.; JOERGENSEN, R.G.; MEYER, B. (1996) Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. *Biology and Fertility of Soils* 23, 38-42
- LIN, Q.; BROOKS, P.C. (1999a) Comparison of substrate induced respiration, selective inhibition and biovolume measurements of microbial biomass and its community structure in unamended, ryegrass-amended, fumigated and pesticide-treated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1999-2014
- LIN, Q.; BROOKS, P.C. (1999b) An evaluation of the substrate-induced respiration method. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1969-1983
- MARSCHNER, P.; YANG, C.-H.; LIEBEREI, R.; CROWLEY, D.E. (2001) Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1437-1445
- MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V.; HORST, J.; MARITN, P. (1986) Root-induced changes in the rhizosphere. Importance for the mineral nutrition of plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 149, 441-456
- MATCHAM, S.E.; JORDAN, B.R.; WOOD, D.A. (1985) Estimation of fungal biomass in a solid substrate by three independent methods. *Applied Microbiology & Biotechnology* 21, 108-112
- MAYER, J.; BUEGGER, F.; JENSEN, E.S.; SCHLOTTER, M.; Heß, J. (2004) Turnover of grain legume N rhizodeposits and effect of rhizodeposition on the turnover of crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 39, 153-164
- MAYER, J.; BUEGGER, F.; JENSEN, E.S.; SCHLOTTER, M.; Heß, J. (2003) Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a <sup>15</sup>N in situ stem labelling method. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 21-28
- MERBACH, W.; MIRUS, E.; KNOF, G.; REMUS, R.; RUPPEL, S.; RUSSOW, R.; GRANSEE, A.; SCHULZE, J. (1999) Release of carbon and nitrogen compounds by plant roots and their possible ecological importance. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162, 373-383
- MILLAR, W.N.; CASIDA, L.E. (1970) Evidence for muramic acid in soil. *Canadian Journal of Microbiology* 16, 299-304
- MONTGOMERY, H.J.; MONREAL, C.M.; YOUNG, J.C.; SEIFERT, K.A. (2000) Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analyses. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1207-1217

- MORGAN, P.; COOPER, C.J.; BATTERSBY, N.S.; LEE, S.A.; LEWIS, S.T.; MACHIN, T.M.; GRAHAM, S.C.; WATKINSON, R.J. (1991) Automated image analysis method to determinate fungal biomass in soils and on solid matrices. *Soil Biology and Biochemistry* 23, 609-616
- MORIARTY, D.J.W. (1977) Improved method using muramic acid to estimate biomass of bacteria in sediments. *Oecologia* 26, 317-323
- MUELLER, T.; JÖRGENSEN, R.G.; MEYER, B. (1992) Estimation of soil microbial biomass C in the presence of living roots by fumigation-extraction. *Soil Biology and Biochemistry* 24, 179-181
- MÜLLER, G. (1965) Rhizosphäre In: *Bodenbiologie*, VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 597-605
- NEWELL, S.Y. (1992) Estimating fungal biomass and productivity in decomposing litter. In: Carroll, G.C. and Wicklow, D.T. (Eds.) *The Fungal Community - Its Organization and Role in the Ecosystem*, 2. Edition, Marcel Dekker, Inc. 521-561
- NEWELL, S.Y.; MILLER, J.D.; FALLON, R.D. (1987) Ergosterol content of saltmarsh fungi: effect of growth conditions and mycelial age. *Mycologia* 79, 688-695
- NORTON, J.M.; SMITH, J.L.; FIRESTONE, M.K. (1990). Carbon flow in the rhizosphere of Ponderosa pine seedlings. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 449-455
- OLSSON, P. A.; LARSSON, L.; BAGO, B.; WALLANDER, H.; VAN AARLE, I. M. (2003) Ergosterol and fatty acids for biomass estimation of mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 159, 1-10
- OWEN, A.G.; JONES, D.L. (2001) Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 651-657
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. (1996) Occurrence and distribution of soil organisms. In: *Soil microbiology and biochemistry*, Chapter 5. Academic Press, 109-128
- PARSONS, L.W. (1981) Chemistry and distribution of amino sugars in soils and soil organisms. In: Paul E.A. and Ladd, J.N. (Eds.), *Soil Biochemistry*, Vol. 5, Marcel Dekker, New York
- PEACOCK, G.A.; GOOSEY, M.W. (1989) Separation of fungal sterols by normal-phase high-performance liquid chromatography: application to the evaluation of ergosterol biosynthesis inhibitors. *Journal of Chromatography* 469, 293-304
- POSTMA, J.; ALTEMÜLLER, H.J. (1990) Bacteria in thin soil sections stained with the fluorescent brightener Calcofluor white M2R. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 89-96
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; CURTIS, H. (1988) *Biologie der Pflanzen*. W de Gruyter-Verlag Berlin, 229-259

- ROCHE, N.; VENAGUE, A.; DESGRANGES, C.; DURAND, A. (1993) Use of chitin measurement to estimate fungal biomass in solid state fermentation. *Biotechnological Advances* 11, 677-683
- RÖNKKÖ, R.; PENNANEN, T.; SMOLANDER, A.; KITUNEN, V.; KORTEMAA, H.; HAAHTELA, K. (1994) Quantification of *Frankia* strains and other root-associated bacteria in pure cultures and in the rhizosphere of axenic seedlings by high-performance liquid chromatography-based muramic acid assay. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 3672-3678
- SCHEU, S.; PARKINSON, D. (1994) Changes in bacterial and fungal biomass C, bacterial and fungal biovolume and ergosterol content after drying, remoistening and incubation of different layers of cool temperate forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 1515-1525
- SCHINNER, F.; SONNLEITNER, R. (1996) *Bodenökologie: Mikrobiologie und Bodenenzymatik, Band I*. Springer-Verlag Berlin
- SCHLEGEL, H.G. (1992) Die prokaryotische Zelle. In: *Allgemeine Mikrobiologie*, 7. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, 22-84
- SCHMITZ, O.; DANNENBERG, G.; HUNDESHAGEN, B.; KLINGNER, A.; BOTHE, H. (1991) Quantification of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza by Biochemical Parameters. *Journal of Plant Physiology* 139, 106 – 114
- SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; ZECH, W. (2001) Land use effects on amino sugar signature of chromic Luvisol in the semi-arid part of northern Tanzania. *Biology and Fertility of Soils* 33, 33-40
- SOWDEN, F.J. (1959) Investigations on the amounts of hexosamines found in various soils and methods for their determination. *Soil Science* 88, 138-143
- SPARLING, G.P. (1985) The soil biomass. In: D. Vaughan and R.E. Malcolm (eds.) *Developments in plant and soil sciences. Volume 16 Soil organic matter and biological activity*, 223-262
- STAHL, P.D.; PARKIN, T.B.; EASH, N.S. (1995) Sources of error in direct microscopic methods for estimation of fungal biomass in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1091-1097
- STEVENSON, F.J. (1982) Organic forms of soil nitrogen. p. 67-122. In: F.J. Stevenson (ed.) *Nitrogen in agricultural soils*. American Society of Agronomy, Madison, WI
- SWIFT, M.J. (1973) The estimation of mycelial biomass by determination of the hexosamine content of wood tissue decayed by fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 5, 321-332
- TUNLID, A.; WHITE, D.C. (1992) Biochemical analysis of biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. In: Strotzky, G.; Bollag, J-M. (Eds.) *Soil Biochemistry Vol. 7*, 229-262

- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707
- VANČURA, V.; KUNC, F. (1977) The Effect of Streptomycin and Actidione on Respiration in the Rhizosphere and Non-Rhizosphere Soil. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Abteilung II, Band 132*, 472-478
- WEETE, J.D.; WEBER, D.J. (1980) *Lipid Biochemistry of Fungi and other Organisms*. Plenum Press, New York
- WEST, A.W. (1988) Specimen preparation, stain type, and extraction and observation procedures as factors in the estimation of soil mycelial lengths and volumes by light microscopy. *Biology and Fertility of Soils* 7, 88-94
- WEST, A.W.; GRANT, W.D. (1987) Use of ergosterol, diaminopimelic acid and glucosamine contents of soils to monitor changes in microbial populations. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 607-612
- WU, J.; JÖRGENSEN, R.G.; POMMERENING, B.; CHAUSSOD, R.; BROOKES, P.C. (1990) Measurement of microbial biomass C by fumigation-extraction- an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 1167-1169
- ZELLES, L. (1988) The simultaneous determination of muramic acid and glucosamine in soil by high-performance liquid chromatography with precolumn fluorescence derivatization. *Biology and Fertility of soils* 6, 125-130
- ZELLES, L.; ALEF, K. (1995) Biomarkers, Ergosterol & Muramic acid & Glucosamine In: Alef, K.; Nannipieri, P., (Eds.) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London. pp. 422-426 & 437-439
- ZHANG, X.; AMELUNG, W.; YUAN, Y.; SAMSON-LIEBIG, S.; BROWN, L.; ZECH, W. (1999) Land-use effect on amino sugars in particle size fractions of an Argiudoll. *Applied Soil Ecology* 11, 271-275
- ZHANG, X.; AMELUNG, W.; YUAN, Y.; ZECH, W. (1998) Amino sugar signature of particle-size fractions in soils of the native prairie as affected by climate. *Soil Science* 163, 220-229
- ZHANG, X.; AMELUNG, W.; YUAN, Y.; ZECH, W. (1997) Amino sugars in soils of the North American cultivated prairie. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 160, 533-538
- ZHANG, X.; AMELUNG, W. (1996) Gas chromatographic determination of muramic acid, glucosamine, mannosamine, and galactosamine in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1201-1206

## 10 ANHANG

Tab. A-4.1: Aminozyckergehalte: Muraminsäure, Glucosamin und Galactosamin im Rhizosphärenboden

	Muraminsäure [ $\mu\text{g g}^{-1}$ TM]	Glucosamin [ $\text{mg g}^{-1}$ TM]	Galactosamin [ $\text{mg g}^{-1}$ TM]
Weidelgras	40,7 (9,3)	0,55 (0,11)	1,21 (0,33)
Knautgras	40,9 (5,6)	0,53 (0,06)	1,06 (0,14)
Wiesenrispe	46,7 (5,5)	0,57 (0,05)	0,86 (0,16)
Weizen	<b>34,1</b> (2,3)	<b>0,47</b> (0,03)	1,01 (0,14)
Gerste	43,0 (4,1)	0,54 (0,03)	<b>0,77</b> (0,13)
Klee	<b>47,6</b> (4,0)	0,53 (0,03)	0,85 (0,17)
Wicke	41,3 (8,0)	0,53 (0,07)	1,26 (0,22)
Lupine	44,9 (7,7)	<b>0,59</b> (0,06)	<b>1,39</b> (0,23)
Raps	35,0 (7,7)	0,53 (0,10)	0,80 (0,14)
Senf	35,6 (2,9)	0,55 (0,06)	0,87 (0,18)
Phacelia	39,1 (3,5)	0,56 (0,04)	0,82 (0,10)
Mohn	37,7 (1,7)	0,53 (0,01)	1,15 (0,07)
Lein	39,3 (2,0)	0,55 (0,02)	1,20 (0,10)
Hanf	37,4 (2,4)	0,54 (0,02)	1,20 (0,20)
Spinat	36,3 (7,3)	0,52 (0,09)	1,13 (0,18)
MW	40,0	0,54	1,04
HSD	11,2	0,12	0,36

Standardabweichung in Klammern; Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt;  
HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ )

Tab. A-4.2: Quotienten der ermittelten Messgrößen im Rhizosphärenboden und in den Wurzeln

	C <sub>mik</sub> / Glc-N		C <sub>mik</sub> / Mur		Pilz-Glc-N/Ergo		Pilz-Glc-N/Mur	
	RZB	W*	RZB	W*	RZB	W	RZB	W
Weidelgras	0,83	6,87	11,3	134,3	1014,7	132,2	12,8	20,1
Knautgras	1,09	7,67	14,2	93,1	3092,9	458,2	12,3	11,4
Wiesenrispe	0,89	8,74	10,8	97,2	4727,2	532,0	11,5	10,9
Weizen	0,87	12,31	11,9	195,6	999,8	81,4	13,0	16,1
Gerste	0,71	8,60	8,9	85,7	1429,4	120,7	11,8	9,0
Klee	1,13	1,54	12,5	9,3	580,0	664,6	10,4	5,2
Wicke	0,88	10,84	11,4	66,9	722,4	60,0	12,3	5,9
Lupine	1,11	9,94	14,8	439,4	513,9	67,2	12,5	47,5
Raps	0,61	1,75	9,4	25,2	785,5	266,7	14,6	13,8
Senf	0,54	3,64	8,4	62,5	648,8	127,9	14,7	15,8
Phacelia	0,46	-	6,6	-	1529,0	-	13,7	6,9
Mohn	0,57	1,22	8,1	29,0	598,1	310,4	13,4	23,0
Lein	0,63	5,92	8,8	129,7	1344,7	148,9	13,2	22,0
Hanf	0,65	4,76	9,4	46,4	1307,2	222,1	13,8	10,5
Spinat	0,70	2,92	10,1	45,8	868,7	221,8	13,7	14,6
Median	0,76	5,36	10,4	71,4	956,0	174,8	12,9	13,0

W\* steht für Berechnung mit C<sub>mik</sub>\* (= reeller mikrobieller Kohlenstoff (siehe Kap. 2.3.1))

Tab. A-5.1:  $(C/N)_{\text{mik}}$ -Gehalte in den Bodenfraktionen und oberirdische Biomasse der Pflanzen

	$(C/N)_{\text{mik}}$		Sprossbiomasse
	Rest	RZB	TM [g]
Bv	10,3	9,1	0,5
Para u Acker	6,6	6,9	3,5
Gris u Acker	8,5	7,9	7,9
Schw u Acker	8,4	7,6	5,2
Para u Grünl	7,0	7,5	4,1
Gris u Grünl	9,2	8,5	6,3
Schw u Grünl	7,0	7,2	5,4
MW	8,2	7,8	4,7
HSD	6,8	3,3	2,0

Tab. A-5.2:  $C_{\text{org}}$ - und  $N_{\text{t}}$ -Gehalte sowie  $C_{\text{org}}/N_{\text{t}}$ -Verhältnis im Rest- und Rhizosphärenboden

	Rest			RZB		
	$C_{\text{org}}$ [%]	$N_{\text{t}}$ [%]	$C_{\text{org}}/N_{\text{t}}$	$C_{\text{org}}$ [%]	$N_{\text{t}}$ [%]	$C_{\text{org}}/N_{\text{t}}$
Bv	0,38	0,04	10,2	0,35	0,04	9,5
Para u Acker	1,31	0,13	10,1	1,17	0,12	9,9
Gris u Acker	1,77	0,18	10,1	1,75	0,18	9,6
Schw u Acker	2,68	0,30	11,9	2,82	0,34	10,9
Para u Grünl	1,60	0,16	10,0	1,75	0,18	9,8
Gris u Grünl	2,26	0,22	10,4	2,20	0,22	9,9
Schw u Grünl	3,90	0,39	12,8	3,84	0,42	11,9
MW	1,98	0,20	10,8	1,98	0,21	10,2
HSD	0,14	0,01	0,7	0,50	0,06	1,3

Tab. A-5.3: Galactosamin und Mannosamin in Restboden, Rhizosphärenboden und Wurzeln

Boden	Galactosamin [ $\text{mg g}^{-1}$ ]			Mannosamin [ $\mu\text{g g}^{-1}$ ]	
	Restboden	RZB	Wurzel	Restboden	RZB
Bv	<b>0,39</b> <sup>a</sup>	<b>0,41</b> <sup>a</sup>	<b>10,6</b> <sup>a</sup>	<b>98,0</b> <sup>a</sup>	<b>116,6</b> <sup>a</sup>
Para u Acker	1,61 <sup>b</sup>	1,39 <sup>b</sup>	11,0 <sup>ab</sup>	108,8 <sup>b</sup>	126,3 <sup>a</sup>
Gris u Acker	2,25 <sup>bc</sup>	1,76 <sup>bc</sup>	12,9 <sup>ac</sup>	105,7 <sup>ab</sup>	129,2 <sup>a</sup>
Schw u Acker	3,62 <sup>d</sup>	3,64 <sup>d</sup>	12,1 <sup>ac</sup>	122,7 <sup>c</sup>	162,6 <sup>b</sup>
Para u Grünl	1,95 <sup>b</sup>	1,64 <sup>bc</sup>	11,3 <sup>ac</sup>	111,0 <sup>b</sup>	118,5 <sup>a</sup>
Gris u Grünl	2,86 <sup>c</sup>	2,52 <sup>c</sup>	13,9 <sup>bc</sup>	109,3 <sup>b</sup>	134,1 <sup>a</sup>
Schw u Grünl	<b>5,44</b> <sup>e</sup>	<b>5,03</b> <sup>e</sup>	<b>14,3</b> <sup>c</sup>	<b>124,8</b> <sup>c</sup>	<b>165,3</b> <sup>b</sup>
MW	2,59	2,34	12,3	111,5	136,1
HSD	0,70	0,89	3,0	8,7	25,9

Werte mit gleichen Buchstaben (a, b, c) sind nicht signifikant unterschiedlich. Minimum und Maximum sind fett gedruckt dargestellt.

HSD honestly significant difference (Tukey-Kramer  $P < 0.05$ ).

Tab. A-5.4: Kohlenstoffgehalte der Biomasse und Nekromasse von Bakterien und Pilzen in den Probenfraktionen

	mg Bakterien-C/ g TM ( aus Mur)			mg Pilz-C/ g TM ( aus Glc-N)			mg Pilz+Bakt-C/ g TM ( aus Glc-N+Mur)		
	W	RZB	Rest	W	RZB	Rest	W	RZB	Rest
Bv	<b>1,07</b>	<b>0,43</b>	<b>0,46</b>	<b>6,44</b>	<b>1,23</b>	<b>1,30</b>	<b>7,5</b>	<b>1,7</b>	<b>1,8</b>
Para u Acker	4,85	2,67	2,99	11,02	5,13	5,89	15,9	7,8	8,9
Gris u Acker	6,61	3,82	4,63	11,26	6,23	7,47	17,9	10,1	12,1
Schw u Acker	5,79	7,09	7,02	10,35	10,63	10,48	16,1	17,7	17,5
Para u Grünl	4,19	3,41	3,84	12,58	7,07	8,11	16,8	10,5	12,0
Gris u Grünl	6,21	4,75	5,34	14,56	8,90	9,96	20,8	13,7	15,3
Schw u Grünl	<b>6,85</b>	<b>8,31</b>	<b>8,87</b>	<b>14,73</b>	<b>14,35</b>	<b>15,17</b>	<b>21,6</b>	<b>22,7</b>	<b>24,0</b>
MW	5,08	4,35	4,74	11,56	7,65	8,34	16,6	12,0	13,1
HSD	2,72	1,21	0,50	3,48	1,84	0,68	5,8	3,0	1,1

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

Tab. A-5.5: C-Verhältnis von Bakterien und Pilzen und Biomasseanteil in den Probenfraktionen; C-Gehalte der Pilz- und Bakterienbiomasse an Wurzeln

	Pilz-C/Bakt-C (aus Glc-N/Mur)			Anteil lebender Biomasse (%)			C-Gehalt der mikrob. Biomasse an Wurzel (mg/g TM)	
	W	RZB	Rest	W	RZB	Rest	Pilz-C (aus Glc-N)	Bakt-C (aus Mur)
Bv	6,49	2,97	2,96	11,6	1,60	1,26	0,72	0,12
Para u Acker	2,59	2,05	2,09	46,5	4,34	3,56	4,93	2,02
Gris u Acker	1,87	1,76	1,73	45,3	4,40	3,26	5,06	2,87
Schw u Acker	1,94	1,62	1,61	56,0	3,18	2,75	5,67	3,12
Para u Grünl	3,34	2,20	2,23	64,5	3,65	2,72	7,67	2,50
Gris u Grünl	2,53	2,00	1,99	34,3	4,82	3,43	4,96	2,05
Schw u Grünl	2,35	1,85	1,83	51,9	3,84	3,46	7,54	3,47
MW	3,01	2,06	2,06	44,3	3,69	2,92	5,22	2,31
HSD	1,39	0,15	0,24	29,1	2,09	1,13	2,58	1,02

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )



Tab. A-6.1: Ergosterol,  $C_{\text{mik}}$  und  $N_{\text{mik}}$  in den Bodenfraktionen (Restboden und Rhizosphärenboden) und im Wurzelmaterial, an sechs Probesterminen, bei zwei Schnittvarianten (*ab* und *2 cm*)

Pr.- Termin	Ergosterol						$N_{\text{mik}}$				$\text{CHCl}_3$ -labiler N	
	Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\text{mg g}^{-1}$ TM)	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	0,93 (0,13)	0,92 (0,06)	1,44 (0,63)	1,66 (0,79)	75,9 (18,0)	80,0 (16,7)	62,6 (8,9)	64,0 (7,2)	90,6 (5,4)	124,8 (19,8)	6,57 (0,99)	5,86 (0,56)
2	0,91 (0,11)	0,77 (0,08)	1,05 (0,27)	1,01 (0,12)	70,8 (19,2)	67,3 (21,7)	66,2 (6,7)	59,5 (7,0)	99,8 (15,3)	103,5 (9,8)	7,24 (0,17)	7,16 (0,60)
3	0,76 (0,13)	0,75 (0,16)	1,20 (0,26)	1,95 (1,05)	52,1 (11,6)	65,3 (20,8)	75,9 (14,6)	61,1 (15,5)	81,9 (9,9)	94,0 (17,1)	6,81 (0,68)	6,08 (1,65)
4	0,79 (0,10)	0,95 (0,08)	1,15 (0,38)	1,39 (0,29)	36,2 (27,1)	78,0 (16,6)	58,5 (4,1)	53,5 (5,3)	94,5 (11,0)	102,4 (7,5)	7,21 (2,55)	6,52 (1,15)
5	0,60 (0,08)	0,68 (0,07)	0,95 (0,12)	1,19 (0,19)	30,6 (4,8)	55,2 (8,1)	52,3 (3,2)	51,9 (4,0)	88,7 (7,9)	85,6 (5,0)	5,31 (0,83)	6,22 (0,99)
6	0,87 (0,09)	0,86 (0,06)	0,88 (0,58)	0,88 (0,17)	51,0 (9,8)	49,0 (12,0)	52,2 (2,4)	48,4 (8,4)	75,1 (3,8)	71,7 (11,3)	4,33 (0,94)	5,40 (0,92)
MW	0,81	0,82	1,11	1,35	52,8	65,8	61,3	56,4	88,4	97,0	6,25	6,21
HSD	0,22		1,01		36,4		18,1		24,7		2,53	

Pr.- Termin	$C_{\text{mik}}$						$\text{CHCl}_3$ -labiler C			
	Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel* ( $\text{mg g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\text{mg g}^{-1}$ TM)			
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm		
1	409,2 (59,8)	386,7 (27,3)	519,6 (61,3)	655,7 (92,5)	30,6 (4,5)	33,6 (8,6)	42,4 (3,6)	40,2 (2,5)		
2	307,7 (41,7)	263,7 (65,5)	486,8 (60,1)	514,1 (46,5)	27,6 (6,8)	27,4 (11,5)	42,0 (2,4)	45,9 (5,2)		
3	280,5 (87,0)	223,8 (86,5)	313,6 (37,4)	355,8 (114,1)	15,4 (3,5)	15,9 (8,2)	26,6 (3,0)	27,6 (8,3)		
4	309,6 (41,9)	283,5 (26,9)	484,5 (154,0)	560,6 (33,8)	13,0 (7,6)	26,7 (5,4)	31,2 (9,1)	30,6 (2,6)		
5	299,5 (27,6)	284,2 (35,2)	500,3 (31,1)	481,0 (50,3)	15,6 (1,7)	22,6 (3,3)	23,9 (6,2)	30,5 (0,6)		
6	214,3 (17,7)	200,2 (36,6)	348,9 (38,4)	312,8 (42,7)	15,5 (3,2)	13,6 (3,4)	14,7 (2,4)	17,4 (2,7)		
MW	303,4	273,7	442,3	480,0	19,6	23,3	30,1	32,0		
HSD	111,7		159,3		13,7		10,4			

Standardabweichung in Klammern. HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

Wurzel\* = reeller  $C_{\text{mik}}$ \* (siehe Kap. 2.3.1)

Tab. A-6.2: Aminosuckergerhalte (Muraminsäure, Glucosamin, Galactosamin und Mannosamin) in den Bodenfraktionen (Restboden und Rhizosphärenboden) und im Wurzelmaterial, an sechs Probesterminen, bei zwei Schnittvarianten (*ab* und *2 cm*)

Pr.- Ter.	Muraminsäure						Glucosamin					
	Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\text{mg g}^{-1}$ TM)	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	44,9 (0,8)	45,3 (1,6)	49,0 (5,6)	48,5 (1,6)	234,7 (39,9)	230,1 (96,1)	546,1 (6,6)	555,7 (19,8)	534,2 (53,7)	523,8 (12,2)	2,98 (0,56)	3,34 (0,84)
2	45,2 (1,2)	45,6 (1,1)	45,5 (3,1)	44,5 (2,3)	253,8 (49,6)	271,9 (57,2)	563,2 (14,3)	569,2 (6,9)	510,1 (39,6)	495,2 (21,2)	3,04 (0,77)	2,69 (0,37)
3	45,4 (0,9)	45,0 (0,7)	45,4 (2,2)	46,3 (3,8)	298,6 (98,7)	240,3 (57,8)	553,4 (11,2)	547,6 (15,7)	509,8 (27,2)	513,3 (37,1)	2,64 (0,54)	2,95 (0,50)
4	43,8 (10,1)	43,5 (6,2)	49,4 (1,9)	44,6 (2,4)	278,3 (83,9)	260,4 (45,2)	532,2 (122,0)	525,8 (75,0)	555,7 (24,1)	497,1 (29,0)	2,31 (0,80)	2,83 (0,35)
5	43,1 (0,7)	43,6 (1,2)	44,9 (2,4)	44,5 (0,9)	315,6 (84,6)	285,8 (45,3)	525,1 (11,3)	532,0 (11,9)	503,6 (20,9)	508,2 (12,6)	2,56 (0,27)	2,76 (0,22)
6	46,0 (12,1)	45,9 (5,4)	43,5 (1,7)	44,2 (0,7)	339,4 (66,3)	350,1 (97,2)	550,3 (137,3)	541,0 (59,4)	486,8 (20,2)	504,2 (9,8)	2,82 (0,35)	2,79 (0,40)
MW	44,8	44,8	46,3	45,4	286,7	273,1	545,0	545,2	516,7	507,0	2,72	2,89
HSD	11,4		5,9		156,3		132,2		61,9		1,17	

Pr.- Ter.	Galactosamin						Mannosamin					
	Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\text{mg g}^{-1}$ TM)		Restboden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		RZB ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TM)		Wurzel ( $\text{mg g}^{-1}$ TM)	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	942,7 (95,9)	904,7 (98,4)	913,6 (153,4)	901,6 (25,2)	18,7 (1,8)	20,4 (6,0)	121,1 (2,9)	122,7 (5,1)	179,0 (15,5)	175,6 (14,8)	1,12 (0,04)	1,21 (0,36)
2	778,2 (77,0)	821,8 (36,6)	957,3 (123,3)	899,5 (96,6)	18,8 (1,1)	17,4 (1,2)	126,4 (2,7)	128,3 (3,2)	171,5 (13,1)	165,7 (15,4)	1,02 (0,21)	0,57 (0,08)
3	883,0 (108,3)	900,3 (118,4)	923,6 (38,5)	899,3 (64,5)	15,7 (1,6)	15,9 (2,6)	128,4 (1,3)	128,2 (0,8)	174,3 (20,8)	169,6 (21,6)	0,48 (0,07)	0,53 (0,04)
4	816,5 (236,5)	829,9 (118,6)	877,5 (84,2)	882,1 (102,6)	15,8 (5,1)	15,1 (1,5)	117,9 (23,4)	118,6 (17,3)	204,6 (17,0)	166,4 (18,6)	0,33 (0,20)	0,34 (0,33)
5	762,4 (35,9)	807,5 (92,5)	896,0 (83,5)	883,0 (77,0)	14,6 (1,0)	15,8 (0,8)	118,9 (2,8)	121,8 (3,4)	184,4 (20,7)	201,9 (18,6)	0,33 (0,19)	0,49 (0,29)
6	844,0 (217,7)	884,3 (172,4)	825,3 (95,9)	912,1 (85,6)	12,8 (1,7)	15,6 (0,7)	118,7 (28,9)	124,5 (11,4)	176,4 (13,5)	189,6 (10,0)	0,66 (0,03)	0,54 (0,38)
MW	837,8	858,1	898,9	896,3	16,1	16,7	121,9	124,0	181,7	178,1	0,66	0,61
HSD	287,3		200,2		5,76		27,3		37,0		0,49	

Standardabweichung in Klammern; HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

Tab. A-6.3:  $(C/N)_{\text{mik}}$ -Verhältnis und Quotienten von Ergosterol zu  $C_{\text{mik}}$  (%), sowie von  $C_{\text{mik}}$  zu Glucosamin und Muraminsäure in den Bodenfraktionen und im Wurzelmaterial, an sechs Probesterminen, bei zwei Schnittvarianten (*ab* und *2 cm*)

Pr.- Termin	$(C/N)_{\text{mik}}$								Ergo/ $C_{\text{mik}}$ (%)							
	Restboden				RZB				Restboden				RZB			
	ab		2 cm		ab		2 cm		ab		2 cm		ab		2 cm	
1	6,58	(0,74)	6,08	(0,50)	5,74	(0,63)	5,27	(0,09)	0,23	(0,05)	0,24	(0,01)	0,27	(0,09)	0,25	(0,08)
2	4,64	(0,26)	4,40	(0,81)	4,89	(0,19)	4,97	(0,07)	0,30	(0,02)	0,32	(0,14)	0,21	(0,03)	0,20	(0,03)
3	3,69	(0,85)	3,59	(0,78)	3,83	(0,15)	3,77	(1,04)	0,31	(0,16)	0,39	(0,20)	0,38	(0,04)	0,70	(0,71)
4	5,27	(0,40)	5,30	(0,13)	5,05	(0,12)	5,48	(0,14)	0,26	(0,06)	0,34	(0,04)	0,26	(0,12)	0,25	(0,06)
5	5,73	(0,41)	5,49	(0,61)	5,65	(0,23)	5,62	(0,49)	0,20	(0,01)	0,24	(0,04)	0,19	(0,02)	0,25	(0,05)
6	4,10	(0,18)	4,14	(0,25)	4,65	(0,47)	4,38	(0,29)	0,41	(0,07)	0,45	(0,11)	0,26	(0,04)	0,28	(0,03)
MW	5,00		4,83		4,97		4,91		0,29		0,33		0,26		0,32	
HSD	1,20				1,20				0,21				0,47			

Pr.- Termin	$C_{\text{mik}}/\text{Glc-N}$						$C_{\text{mik}}/\text{Mur}$																	
	Restboden		RZB		Wurzel*		Restboden		RZB		Wurzel*													
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm												
1	0,75	(0,11)	0,70	(0,04)	0,97	(0,04)	1,25	(0,19)	10,7	(3,1)	10,2	(2,1)	9,12	(1,43)	8,54	(0,62)	10,6	(0,2)	13,6	(2,3)	134,5	(38,5)	152,2	(25,0)
2	0,55	(0,06)	0,46	(0,11)	0,97	(0,19)	1,04	(0,10)	9,2	(1,8)	10,0	(3,7)	6,79	(0,81)	5,76	(1,34)	10,8	(1,9)	11,6	(1,1)	113,1	(41,0)	100,2	(39,4)
3	0,51	(0,16)	0,41	(0,17)	0,62	(0,06)	0,69	(0,22)	5,9	(1,3)	5,6	(3,1)	6,19	(1,96)	4,99	(1,97)	6,9	(0,7)	7,7	(2,5)	53,7	(12,3)	66,9	(31,2)
4	0,62	(0,19)	0,55	(0,10)	0,88	(0,31)	1,13	(0,09)	5,5	(2,2)	9,5	(1,9)	7,49	(2,40)	6,65	(1,27)	9,9	(3,4)	12,6	(0,9)	49,1	(33,0)	106,7	(35,3)
5	0,57	(0,06)	0,53	(0,06)	0,99	(0,03)	0,95	(0,09)	6,1	(0,7)	8,2	(1,2)	6,96	(0,70)	6,52	(0,70)	11,1	(0,4)	10,8	(1,1)	51,8	(11,4)	79,3	(7,8)
6	0,41	(0,10)	0,38	(0,11)	0,72	(0,10)	0,62	(0,10)	5,5	(0,8)	4,9	(0,7)	4,88	(1,22)	4,48	(0,34)	8,0	(1,1)	7,1	(1,0)	46,6	(10,5)	40,4	(11,3)
MW	0,57	0,51	0,86	0,95	7,2	8,1	6,91	6,16	9,6	10,6	74,8	90,9												
HSD	0,25		0,32		4,6		3,09		3,6		60,3													

Standardabweichung in Klammern. HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

W\* steht für Berechnung mit  $C_{\text{mik}}^*$  (= reeller mikrobieller Kohlenstoff an Wurzeln)

Tab. A-6.4: Quotienten von Pilz-Glucosamin zu Muraminsäure und Ergosterol im Wurzelmaterial, an sechs Probenentnahmen, bei zwei Schnittvarianten (*ab* und *2 cm*).

Pr.-Termin	Pilz-Glc-N / Mur				Pilz-Glc-N / Ergosterol			
	Wurzel				Wurzel			
	ab		2 cm		ab		2 cm	
1	12,0	(1,8)	14,5	(3,2)	38,5	(9,2)	39,8	(5,9)
2	11,8	(4,8)	9,4	(1,6)	41,0	(7,2)	40,5	(13,3)
3	8,4	(1,3)	12,2	(3,5)	47,4	(7,7)	45,8	(14,2)
4	7,6	(2,2)	10,4	(2,6)	72,9	(27,5)	35,0	(8,1)
5	7,8	(2,2)	9,1	(1,3)	77,1	(10,3)	46,8	(5,2)
6	7,7	(1,1)	7,8	(2,8)	51,4	(7,4)	53,0	(8,8)
MW	9,2		10,6		54,7		43,5	
HSD	5,6				25,9			

Standardabweichung in Klammern; HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

Tab. A-6.5: CO<sub>2</sub>-Emission an acht Messtagen, aus den Böden der zwei Schnittvarianten (*ab* und *2 cm*) und der Kontrolle

Messtag	CO <sub>2</sub> -Emission [g CO <sub>2</sub> -C / m <sup>2</sup> / Tag]					
	ab		2 cm		Kontrolle	
1	2,97	(2,18)	3,55	(2,63)	0,63	(0,46)
2	1,47	(0,57)	3,96	(1,54)	0,12	(0,97)
3	1,15	(0,47)	3,32	(0,84)	0,14	(0,67)
4	0,80	(0,32)	2,63	(0,91)	0,05	(0,33)
5	0,51	(0,20)	2,28	(0,87)	0,28	(0,15)
6	1,04	(0,54)	2,57	(0,26)	0,00	(1,25)
7	0,71	(0,13)	2,39	(1,01)	0,13	(0,65)
8	0,83	(0,21)	2,37	(0,59)	0,59	(0,74)
MW	1,18		2,88		0,24	

Standardabweichung in Klammern

Tab. A-6.6: Organischer Kohlenstoff und Gesamtstickstoff sowie  $C_{org}/N_t$ -Verhältnisse in Restboden, Rhizosphärenboden und im Wurzelmaterial

Variante	Restboden			RZB			Wurzel		
	$C_{org}$ [%]	$N_t$ [%]	$C_{org}/N_t$	$C_{org}$ [%]	$N_t$ [%]	$C_{org}/N_t$	$C_{org}$ [%]	$N_t$ [%]	$C_{org}/N_t$
ab	1,32	0,13	10,2	1,31	0,13	10,2	40,0	1,34	30,0
ab	1,33	0,13	10,4	1,29	0,13	10,1	39,8	1,35	29,5
ab	1,33	0,12	10,9	1,28	0,13	9,8	42,8	1,47	29,1
ab	1,32	0,13	10,0	1,27	0,15	8,5	23,1	0,76	30,1
ab	1,32	0,13	10,4	1,23	0,12	10,3	25,9	0,89	29,4
ab	1,34	0,13	10,8	1,24	0,12	10,2	36,4	1,10	33,2
MW	1,33	0,13	10,4	1,27	0,13	9,8	34,7	1,15	30,2
2 cm	1,34	0,13	10,4	1,33	0,13	10,1	31,8	1,04	30,8
2 cm	1,35	0,13	10,2	1,29	0,13	10,4	40,7	1,37	29,7
2 cm	1,33	0,13	10,7	1,29	0,15	8,8	36,2	1,20	30,2
2 cm	1,33	0,13	10,1	1,23	0,12	10,5	37,6	1,10	37,6
2 cm	1,34	0,13	10,4	1,25	0,12	10,2	36,9	1,23	30,1
2 cm	1,39	0,13	10,4	1,24	0,12	10,3	39,9	1,34	29,9
MW	1,34	0,13	10,3	1,27	0,13	10,0	37,2	1,21	31,4
HSD	0,07	0,01	0,9	0,08	0,02	1,1	21,1	0,73	8,4

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

Tab. A-6.7: Kohlenstoffgehalte von Pilzen (berechnet aus den Glc-N-Gehalten) in Wurzeln, RZB und Restboden

Pr-Termin	mg Pilz-C g <sup>-1</sup> TM (aus Glc-N)					
	Wurzel		Rhizosphärenboden		Restboden	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	29,8	33,4	5,34	5,24	5,46	5,56
2	30,4	26,9	5,10	4,95	5,63	5,69
3	26,4	29,5	5,10	5,13	5,53	5,48
4	23,1	28,3	5,56	4,97	5,32	5,26
5	25,6	27,6	5,04	5,08	5,25	5,32
6	28,2	27,9	4,87	5,04	5,50	5,41
MW	27,2	28,9	5,17	5,07	5,45	5,45
HSD	11,7		0,68		1,32	

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer P < 0.05)

Tab. A-6.8: Kohlenstoffgehalte von Bakterien (berechnet aus den Mur-Gehalten) in Wurzeln, RZB und Restboden

Pr-Termin	mg Bakt-C g <sup>-1</sup> TM (aus Mur)					
	Wurzel		Rhizosphärenboden		Restboden	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	14,1	13,8	2,94	2,91	2,70	2,72
2	15,2	16,3	2,73	2,67	2,71	2,74
3	17,9	14,4	2,72	2,78	2,73	2,70
4	16,7	15,6	2,96	2,68	2,63	2,61
5	18,9	17,1	2,70	2,67	2,58	2,61
6	20,4	21,0	2,61	2,65	2,76	2,75
MW	17,2	16,4	2,78	2,73	2,69	2,69
HSD	9,4		0,35		0,68	

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer P < 0.05)

Tab. A-6.9: Summe der C-Gehalte von Bakterien und Pilzen (berechnet aus den Gehalten von Glc-N & Mur) in Wurzeln, RZB und Restboden

Pr-Termin	mg Pilz + Bakt-C g <sup>-1</sup> TM (aus Glc-N+Mur)					
	Wurzel		Rhizosphärenboden		Restboden	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	43,9	47,2	8,28	8,15	8,16	8,28
2	45,6	43,2	7,83	7,62	8,35	8,43
3	44,3	44,0	7,82	7,91	8,26	8,18
4	39,8	43,9	8,52	7,65	7,95	7,87
5	44,5	44,8	7,73	7,75	7,83	7,93
6	48,5	48,9	7,48	7,69	8,27	8,16
MW	44,4	45,3	7,94	7,80	8,14	8,14
HSD	18,2		0,95		2,00	

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer P < 0.05)

Tab. A-6.10: Anteil der C-Gehalte von lebenden Bakterien und Pilzen in den Probenfraktionen

Pr-Termin	Anteil Biomasse-C aus Pilzen & Bakterien (aus Glc-N+Mur) (%)					
	Wurzel		Rhizosphärenboden		Restboden	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	72,1	72,3	6,27	8,06	5,02	4,67
2	60,6	62,3	6,29	6,75	3,68	3,12
3	35,5	36,9	4,01	4,50	3,41	2,75
4	32,6	61,4	5,74	7,35	4,12	3,68
5	35,5	50,4	6,47	6,20	3,83	3,58
6	32,1	27,7	4,68	4,07	2,71	2,51
MW	44,7	51,8	5,58	6,16	3,79	3,39
HSD	30,2		2,09		1,70	

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )

Tab. A-6.11: Pilz-Bakterien-Verhältnis an Wurzeln, RZB und Restboden

Pr-Termin	Pilz-C / Bakt-C (Glc-N/Mur)					
	Wurzel		Rhizosphärenboden		Restboden	
	ab	2 cm	ab	2 cm	ab	2 cm
1	2,13	2,54	1,82	1,80	2,03	2,05
2	2,08	1,68	1,87	1,85	2,08	2,08
3	1,52	2,15	1,87	1,85	2,03	2,03
4	1,39	1,86	1,87	1,86	2,03	2,01
5	1,42	1,63	1,87	1,90	2,03	2,04
6	1,41	1,41	1,87	1,90	2,00	1,97
MW	1,66	1,88	1,86	1,86	2,03	2,03
HSD	0,94		0,08		0,08	

HSD honestly significant difference (Tukey/Kramer  $P < 0.05$ )