

**Rekultivierung degradierter, brachliegender Monokulturflächen
in ausgewogene Mischkulturflächen unter besonderer
Berücksichtigung bodenbiologischer Faktoren**

Jahresbericht 2000

Projektleitung:

Prof. Dr. Reinhard Lieberei (Universität Hamburg, Institut für Angewandte Botanik)

Dr. Luadir Gasparotto (Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas)

Projektkoordination in Manaus:

Dr. Luadir Gasparotto (Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas)

Dr. Götz Schroth (Universität Hamburg, Institut für Angewandte Botanik)

Förderkennzeichen 0339457A / Projekt ENV-23

März 2001

634.99
5555
2001

Einleitung

Im Berichtsjahr 2000 wurden die Aktivitäten des Projekts in Manaus planmäßig abgeschlossen. Seit Juni wurden die notwendigen Management-Maßnahmen auf dem Versuchsgelände nicht mehr durch das Projekt, sondern durch die Embrapa durchgeführt. Die Laborarbeiten in Manaus wurden im August abgeschlossen.

In der ersten Jahreshälfte konzentrierten sich die experimentellen Arbeiten auf die abschließende Bestimmung der Biomassen- und Nährstoffakkumulation in den verschiedenen Versuchsvarianten im Vergleich zu dem Sekundärwald, der die Fläche heute einnehmen würde, wenn der Versuch nicht angelegt worden wäre. Aus diesem Vergleich läßt sich unter Einbeziehung der Kohlenstoff-Vorräte im Boden, die bereits früher bestimmt worden waren, die Kohlenstoff-Bilanz der verschiedenen Systeme ableiten (siehe Anhang).

In der zweiten Jahreshälfte wurden die während der letzten Jahre gewonnen Ergebnisse ausgewertet und z.T. bereits publiziert bzw. zur Publikation eingereicht (siehe Publikationsliste). Projektergebnisse wurden auf zwei Konferenzen vorgestellt: dem Shift-Kongreß in Hamburg im September und dem brasilianischen Agroforstkongreß in Manaus im November 2000. Einer breiteren Öffentlichkeit wurden die Erfahrungen des Projekts auch durch zwei größere Review-Beiträge für internationale Zeitschriften zugänglich gemacht, die von deutschen und brasilianischen Projektpartnern gemeinsam erarbeitet wurden: ein Review über Krankheiten und Schädlinge in humid-tropischen Agroforstsystemen erschien im Dezember in der Zeitschrift *Agroforestry Systems*, ein weiterer über Pflanze-Boden-Interaktionen ist noch in der abschließenden Begutachtung bei der gleichen Zeitschrift (siehe Publikationsliste).

Zusammensetzung des Projektteams

Koordination in Manaus:

Dr. Luadir Gasparotto, Embrapa Amazônia Ocidental

Dr. Götz Schroth, Universität Hamburg

Wissenschaftliche Mitarbeit:

1. Embrapa Amazônia Ocidental:

Dr. Luadir Gasparotto (Phytopathologie)

Jeferson L.V. Macedo (Agronomie, Koordination der Feldarbeiten)

Vicente H. de F. Moraes (Ökophysiologie)

Cássia Regina A. Moraes (Ökophysiologie, Strahlungshaushalt)

José Pereira da Silva Júnior (Bodenmikrobiologie)

Ronaldo Ribeiro de Morais (Ökologie)

Dr. Francisco Mendes Rodrigues (Ökonomie)

Madalena Otaviano Aguiar (Botanik)

Sammya Agra D'Angelo (Biomassen-Akkumulation, afrik. Meliaceen)

2. INPA

Luiz F. Coelho (Botanik)

3. Universität Manaus

Prof. Dr. Julio Tello

Simone Oliveira dos Santos

Liane Marise Moreira Ferreira

4. Universität Hamburg

Dr. Helmut Preisinger (Pflanzenökologie)

Dr. Arnd Kuhn

Martina Skatulla (Pflanzenökologie)

Wolfgang Marino (Bodenmikrobiologie)

Christoph Reisdorff (Ökophysiologie)

Susanne Emmerich (Wurzelsysteme)

Vera Boehm (biochemische Ökologie)

Dr. Götz Schroth (Koordination, Pflanzenernährung, C- und N-Haushalt)

5. Universität Ulm

Prof. Dr. Gerhard Gottsberger

6. Universität Düsseldorf

Prof. Dr. Reiner Lösch

Allgemeiner fachlicher Bericht

Management der Experimentalfläche

Das Management der Experimentalfläche wurde bis Juni 2000 durch das Projekt sichergestellt und danach von der Embrapa weitergeführt. Zum Jahresende befindet sich der Versuch in einem guten Zustand. Ende November wurde er von Teilnehmern des Brasilianischen Agroforstkongresses in Manaus besucht. Die Erträge der Kulturpflanzen, die in der ersten Jahreshälfte erhoben worden sind (insbesondere Cupuaçu und Urucum), fließen noch in die abschließende Auswertung des Versuchs ein (siehe eingereichte Publikation über Cupuaçu in der Publikationsliste).

Bestimmung der Kohlenstoffakkumulation in den Versuchsvarianten

Die Biomassenproduktion eines landwirtschaftlichen Pflanzenbestands reflektiert, inwieweit der Bestand bzw. die in ihm enthaltenen Pflanzenarten an den Standort angepaßt sind und ist damit ein Maß für den biologischen "Erfolg" eines Systems. Zum anderen ist die Akkumulation von Biomasse auch ein Faktor, der die Kohlenstoffbindung und damit letztlich den Einfluß der jeweiligen landwirtschaftlichen Nutzungsform auf die regionale Kohlenstoffbilanz und die Vermehrung oder Verminderung von Treibhausgasen in der Atmosphäre bedingt. Beide Themenkomplexe sind von großem Interesse für die abschließende Auswertung des Projekts.

Deshalb wurde im letzten Versuchsjahr eine Biomassenabschätzung für die landwirtschaftlich interessanten Systemtypen, also die agroforstlichen Systeme 1, 2 und 3 sowie die fünf Monokultursysteme, im Alter von sieben Jahren durchgeführt. Für die Agroforstsysteme wurden die Düngungsstufen 100% und 30% ohne Stickstoff (Minimaldüngung) einbezogen. Zum Vergleich wurde die 1 ha-Sekundärwaldfläche verwendet, die bei der Anlage des Versuchs von der Rodung ausgenommen worden war. Dieser Wald repräsentiert heute die Vegetation, die die Fläche bedecken würde, wenn die landwirtschaftlichen Parzellen nicht angelegt worden wären.

Für die Abschätzung der Biomasse der Bäume wurden allometrische Beziehungen für die in den landwirtschaftlichen Parzellen verwendeten Nutzbaumarten Cupuaçu, Pupunha, Urucum, Paranaß, Citrus und Kokospalme entwickelt. Hierfür wurden auf Basis einer Inventur jeweils sieben bis zehn Individuen pro Art ausgewählt, gefällt und nach Organen getrennt gewogen. In allen Fällen war es möglich, über geeignete Parameter die Biomasse der übrigen Bäume aus den gewonnen allometrischen Beziehungen relativ genau zu schätzen (siehe Anhang).

Die Wurzelmasse der Bäume wurde mit Hilfe der Sproß-Wurzel-Verhältnisse abgeschätzt, die im Jahr 1996 im Rahmen der Diplomarbeit von Daniel Haag im Projekt Env 45 bestimmt worden waren. Die Biomasse der Bodenvegetation und die Streulage wurden destruktiv in repräsentativen Teilparzellen bestimmt.

Um die Biomasse des Sekundärwaldes zu schätzen, wurde eine Gesamtinventur der Brusthöhendurchmesser aller Bäume auf einer Fläche von 3600 m² durchgeführt und die Biomasse mit Hilfe von allometrischen Beziehungen aus der Literatur berechnet. Die dominanten Baumarten wurden bestimmt und, soweit verfügbar, artspezifische Beziehungen verwendet, was sich im Nachhinein aber als unnötig erwies (siehe Anhang).

Die Kohlenstoffgehalte im Boden unter verschiedenen Baumarten und im Primärwald waren bereits 1996 im Projekt Env 45 gemessen worden und konnten mit Hilfe von Lagerungsdichten, die von W.G. Teixeira (Embrapa Manaus) zur Verfügung gestellt wurden, in C-Vorräte umgerechnet werden.

Die Ergebnisse dieser sehr aufwendigen experimentellen Arbeiten zeigen, daß keine der Versuchsvarianten die C-Akkumulation des Sekundärwalds erreicht hat, was angesichts von dessen höherem Alter vielleicht auch nicht verwunderlich ist. Folglich wurde durch die Umwandlung des Sekundärwaldbestands in landwirtschaftliche und agroforstliche Systeme Kohlenstoff unmittelbar freigesetzt. Mittelbar beinhaltet die Umwandlung des ökologisch degradierten und ökonomisch wertlosen Sekundärwalds in eine produktive Plantage dagegen die Aussicht, Landwirtschaft zu stabilisieren und dadurch weitere Primärwaldflächen vor der Rodung zu schützen. Dies ist die wichtigste Wirkung nachhaltiger landwirtschaftlicher Methoden auf den regionalen C-Haushalt humitropischer Gebiete.

Die höchste C-Akkumulation von allen Systemen wurde in der dicht gepflanzten Monokultur von Pupunha für die Fruchtproduktion erzielt. Die Monokulturen aller anderen Arten akkumulierten dagegen deutlich weniger Biomasse als die beiden Agroforstsysteme 1 und 2. System 3 hatte eine geringere Biomasseproduktion als die beiden anderen Systeme wegen der sehr geringen Pflanzdichte der Bäume in diesem System. Die Biomasse der Agroforstsysteme war insbesondere in den großen Bäumen gespeichert, in System 2 vor allem in den Paranaußbäumen.

Mehrere Baumarten wuchsen in den Agroforstsystemen besser als in Monokultur. Dies war eine Konsequenz der höheren Düngereinputs in den Agroforstsystemen, wo in den ersten Jahren z.T. sehr hoch gedüngte Begleitkulturen zwischen den Baumkulturen angebaut worden waren. Ein positiver Effekt ging insbesondere von Papaya aus, die in System 1 während der ersten drei Jahre mit den Bäumen assoziiert war und während dieser Zeit intensiv mineralisch und organisch gedüngt wurde.

Die Kohlenstoff-Vorräte im Boden wurden von den verschiedenen Systemen nicht signifikant beeinflusst. Zwar hatten die landwirtschaftlichen Parzellen zumeist geringere C-Vorräte im Oberboden als der Primärwald, doch verschwanden diese Unterschiede bei Einbeziehung des Unterbodens bis 2 m Tiefe. Interessanterweise hatten die beiden Baumkulturen mit schwer abbaubarer Streu, Paranauß und Cupuaçu, auch im Oberboden C-Gehalte, die denen des Primärwaldes entsprachen. Als Bestandteile von Agroforstsystemen könnten solche Arten eventuell als "Versicherung" gegen C-Abbau unter landwirtschaftlicher Nutzung dienen.

Bedeutung des Mikroklimas für die Funktionalität der Agro-Ökosysteme am Beispiel der Cupuaçu-Pflanzen

Die Untersuchungen zur Entwicklung und Produktion von Cupuaçu-Pflanzen in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Standortvariablen ergaben, dass diese ökonomisch wichtige Nutzpflanze v.a. sehr sensitiv auf geringfügig variierende Mikroklimata reagiert. Es zeigte sich, dass in Nähe des Waldes die Pflanzen nach den ersten drei Jahren der Kultur signifikant besser entwickelt waren als in den zentralen Bereichen des Versuchsfeldes. Das kontinuierliche Entwicklungsgefälle verlief auffällig parallel zum mikroklimatischen Gradienten vom Waldrand ins Feldinnere.

Messungen der Spaltöffnungsreaktion und die anschließende Modellierung der stomatären Reaktion auf Klimafaktoren brachten hervor, dass geringfügig trockenere Mikroklimata, wie sie z.B. außerhalb des klimatischen Einflussbereiches des Waldes anzutreffen sind, zu deutlich höheren Diffusionswiderständen der Blätter führen. Dadurch kann der CO₂-Flux ins Blattinnere soweit limitiert werden, dass die potentielle Assimilationleistung in einem Tagesverlauf um ca. 10 % geringer ausfällt als bei leicht feuchterer Umgebung. Die reduzierte stomatäre Limitation der Assimilation ist dabei einer von mehreren Faktoren, die additiv zu einer positiven Auswirkung bestandesbedingt feuchteren Mikroklimatas führen können. So vermindern geringere Dampfdruckdefizite zugleich die Wasserverluste durch Transpiration und Bodenevaporation, so dass bei Trockenperioden die Wasserbilanz der Pflanzen vermutlich länger im positiven Bereich stabilisiert werden kann.

Die Beobachtung, dass sich die Cupuaçu-Pflanzen in den ersten Jahren in den dichteren Kultursystemen weitaus besser entwickelten als den offeneren Beständen, kann auch im Zusammenhang mit den hydrologischen Vorteilen kohärenter Bestandesstrukturen gesehen werden. Auf der Grundlage der vorliegenden Daten wird deutlich, dass für den Erfolg langfristig angelegter Kultursysteme in Zentral-Amazonien auch hydrologische bzw. mikroklimatische Charakteristika der sich entwickelnden Bestände für deren Produktivität und Stabilität entscheidend sein können. D.h. dass anhand der artspezifischen zeitlich-räumlichen Entwicklungsmuster der eingesetzten Species auch in Amazonien Bestandesstrukturen so geplant werden müssen, dass dem Wasserhaushalt des Pflanzsystems ausreichend Rechnung getragen wird, wobei neben einer vertikalen Bestandesschichtung auch die Schaffung klimatischer Kompartimente Zielvorgaben einer solchen Planung sein können.

Anhänge

Inhalt

| | |
|--|----|
| Anhang 1: Publikationen | 1 |
| Anhang 2: Conversion of primary and secondary forest into agroforestry and monoculture plantations in Amazonia: consequences for biomass, litter and soil carbon stocks after seven years. G. Schroth, S.A. D'Angelo, W.G. Teixeira, D. Haag und R. Lieberei..... | 2 |
| Anhang 3: Microclimatic influence on cupuaçu plants (<i>Theobroma grandiflorum</i>) grown on degraded terra firme areas: Estimation of stomatal limitation to photosynthetic assimilation. C. Reisdorff | 30 |
| Anhang 4: Mineral exchange and uptake in <i>Bactris gasipaes</i> roots under nutrient solution conditions. S. Emmerich, A.J. Kuhn, R. Lösch, W.H. Schröder, R. Lieberei | 42 |
| Anhang 5: Mineralelement-Aufnahme über die Wurzeln der Pfirsichpalme (<i>Bactris gasipaes</i>) – Einfluss der Rhizodermis-Struktur auf die Zugänglichkeit für Nähr- und Schadelemente. A.J. Kuhn, W.H. Schröder, I. Göllnitz, W. Morawetz und R. Lieberei | 50 |
| Anhang 6: Effect of phosphate deficiency on <i>Gordonia</i> sp. and <i>Pseudomonas fluorescens</i> . E. Hoberg, P. Marschner und R. Lieberei | 59 |
| Anhang 7: In vitro Kultur ausgewählter tropischer Nutzpflanzen für die Entwicklung verbesserter Verfahren zur Rekultivierung von Monokulturplantagenflächen in Brasilien, K. Brandau | 70 |
| Anhang 8: Teilprojekt 5 - Administrativer Teil des Abschlußberichtes. | 87 |

Anlage (separater Band): Final Report of partial project 5 "Indicator value of the spontaneous vegetation in pre-used terra firme sites of the Central Amazon". H. Preisinger

Anhang 1

Publikationen

Schroth G, Salazar E and da Silva Jr. J P (2001) Soil N mineralization under tree crops and a legume cover crop in multi-strata agroforestry in central Amazonia: spatial and temporal patterns. *Experimental Agriculture, in press*

Schroth G, Elias M E A, Uguen K, Seixas R and Zech W (2001) Nutrient fluxes in rainfall, throughfall and stemflow in tree-based land use systems and spontaneous tree vegetation of central Amazonia. *Agriculture, Ecosystems and Environment, in press*

Schroth G, Rodrigues M R L and D'Angelo, S A (2000) Spatial patterns of nitrogen mineralization, fertilizer distribution and roots explain nitrate leaching from mature Amazonian oil palm plantation. *Soil Use and Management* 16: 222-229

Schroth G, Krauss U, Gasparotto L, Duarte Aguilar A and Vohland K (2000) Pests and diseases in agroforestry systems of the humid tropics. *Agroforestry Systems* 50: 199-241

Schroth G, Seixas R, da Silva L F, Teixeira W G and Zech W (2000) Nutrient concentrations and acidity in ferralitic soil under perennial cropping, fallow and primary forest in central Amazonia. *European Journal of Soil Science* 51: 219-231

Burkhardt J and Schroth G (2000) Role of stomatal opening for the uptake of foliar fertilizers by tree crops in the humid tropics (Amazonia, Brazil). *Acta Horticulturae* 531: 181-183

Schroth G, Elias M E A, Macêdo J L V, D'Angelo S A and Lieberei R (2001) Growth, yields and mineral nutrition of cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) in two multi-strata agroforestry systems on a ferralitic Amazonian upland soil at four fertilization levels. *Journal of Applied Botany, submitted*

Schroth G, Lehmann J, Rodrigues M R L, Barros E and Macêdo J L V (2001) Plant-soil interactions in multi-strata agroforestry based on tree crops in the humid tropics. *Agroforestry Systems, submitted*

Anhang 2

Conversion of secondary forest into agroforestry and monoculture plantations in Amazonia: consequences for biomass, litter and soil carbon stocks after seven years

Götz Schroth^{a*}, Sammya Agra D'Angelo^b, Wenceslau Gerales Teixeira^c, Daniel Haag^d and Reinhard Lieberei^a

^aUniversity of Hamburg, Institute of Applied Botany, P.B. 302762, 20355 Hamburg, Germany; ^bBiological Dynamics of Forest Fragments Project, National Institute for Research in the Amazon (INPA), C.P. 478, 69011-970 Manaus-AM, Brazil; ^cEmbrapa Amazônia Ocidental, C.P. 319, 69011-970 Manaus-AM, Brazil; ^dUniversity of Hohenheim, Institute of Plant Production and Pastures, 70599 Stuttgart, Germany

*corresponding author; present address: Biological Dynamics of Forest Fragments Project, National Institute for Research in the Amazon (INPA), C.P. 478, 69011-970 Manaus-AM, Brazil; E-mail: schroth@internext.com.br

Abstract

Large areas of primary forest in Amazonia have been cleared for cropping or pasture, thereby releasing carbon into the atmosphere. Part of this carbon is re-assimilated by secondary forest after the land has been abandoned. Agroforestry and tree crop plantations are options for the economic valorization of previously cleared land in the humid tropics; however, for evaluating the consequences of these land use options for regional carbon flows when established on secondary forest land, information is needed on carbon accumulation in the biomass and soil of these land use systems and of the successional vegetation that they replace. Above- and belowground biomass and litter accumulation were measured for three multistrata agroforestry systems and five tree crop monocultures seven years after their establishment on secondary forest land on a xanthic Ferralsol in central Amazonia. The biomass of the tree crop systems was compared with that of the 14-year-old secondary forest that would have covered the area in their absence. The agroforestry systems were studied with two fertilizer inputs. Allometric relationships were developed for estimating the aboveground biomass of eight tree crop species, and root systems were excavated to determine root-shoot-ratios. Soil carbon stocks were measured to 2 m depth. The biomass of the tree crops was influenced by fertilizer input and land use systems, with the trees in the monocultures generally being among the smallest from all systems. Depending on species composition and fertilizer input, the multistrata systems had an aboveground biomass of 13.2 to 42.3 t ha⁻¹, a belowground biomass of 4.3 to 12.9 t ha⁻¹, and a litter mass of 2.3 to 7.2 t ha⁻¹. The monocultures had an aboveground biomass of 7.7 to 56.7 t ha⁻¹, a root biomass of 3.2 to 17.1 t ha⁻¹ and a litter mass of 1.9 to 5.6 t ha⁻¹. The combined biomass and litter in the multistrata systems was higher than in the monocultures, with the exception of the peach palm for fruit (*Bactris gasipaes*) monoculture. None of the land use systems reached the combined biomass and litter stock of the secondary forest (125.2 t ha⁻¹). The soil carbon stocks tended to be lower in the agricultural systems than under adjacent primary forest in the topsoil, but not when summed over the soil profile to 2 m depth. The replacement of secondary forest by tree crop-based systems caused net carbon emissions, but offered the perspective of stabilizing agriculture on the same piece of land, thereby possibly helping to reduce the clearing of further primary forest. Multistrata agroforestry allowed

to combine relatively high and permanent biomass accumulation in large trees with early generation of income from annual and semiperennial intercrops, increased growth and earlier yields of certain tree crops, long-term accumulation of capital in larger trees, and more complete occupation of the soil than in common tree crop monocultures in the region. Trees with low litter quality seemed to have a favourable effect on soil carbon even when associated with species with high litter quality and could be used as an insurance against soil organic matter loss under tree crop agriculture.

Key words: *Bactris gasipaes*, *Bertholletia excelsa*, carbon cycling, *Citrus sinensis*, *Cocos nucifera*, *Hevea* sp., humid tropics, *Pueraria phaseoloides*, *Theobroma grandiflorum*, tree crop agriculture

Introduction

During the past decades, large areas of primary forest land in Amazonia have been cleared for cropping or pasture, thereby releasing carbon into the atmosphere, and have often been abandoned after variable periods of time under agricultural use (Serrao et al., 1996). The secondary forest that developed on such abandoned land plays an important role for the regional carbon budget, as it re-assimilates part of the carbon that was released when cutting and burning the original forest vegetation (Fearnside and Guimaraes, 1996; Houghton et al., 2000).

Agroforestry and tree crop agriculture are two possible options for the valorization of previously cleared forest land in the humid tropics (Fujisaka and White, 1998). Where these land use systems succeed in maintaining soil fertility on a satisfactory level and increasing farmers' income, further clearing of primary forest and accompanying carbon emissions may be reduced. Furthermore, timber trees and tree crops in these systems accumulate carbon in their biomass and, if planted on degraded areas, possibly also in the soil, and they may provide firewood and charcoal as substitutes for fossil fuel (Unruh et al., 1993). On the other hand, when agroforestry systems or tree crop plantations are established on previously cleared fallow or secondary forest land, carbon is released from the fallow vegetation, and the successional processes, which would have led to progressive further accumulation of carbon in biomass and litter, are interrupted. Instead, tree crops, timber trees, annual crops and eventually cover crops are established, whose growth and development are influenced by management practices such as fertilizer application and suppression of spontaneous vegetation through weeding.

For predicting the effects of agroforestry and tree crop agriculture on the carbon budgets of humid tropical regions such as Amazonia, information is needed on rates of carbon accumulation in the biomass of these land use systems and of the vegetation that they replace. Furthermore, as much of the carbon in terrestrial ecosystems is stored in soil organic matter, changes in the carbon content of the soil as influenced by different land use systems and vegetation types under humid tropical conditions need to be understood (van Noordwijk et al., 1997). In Amazonia, research on these issues has so far mainly concentrated on primary and secondary forests and pastures, with little attention being given to tree crop agriculture and agroforestry (Fearnside and Guimaraes, 1996; Koutika et al., 1997).

Here we provide information on above- and belowground biomass and litter stocks in three multistrata agroforestry systems and five tree crop monocultures of seven years age that were planted after clearing of secondary forest on a previously abandoned upland site in central Amazonia. The agroforestry systems were studied at two fertilizer inputs.

Soil carbon stocks to 2 m depth of agricultural systems, fallow and primary forest as influenced by individual tree species are also presented. In combination with data from other land use systems and vegetation types in the region, the presented information may be helpful in the analysis of regional carbon budgets as influenced by predicted increases in forest clearing and land occupation in Amazonia (Laurance et al., 2001). It may also aid in the evaluation of different land use options for the region according to their respective environmental impacts.

Materials and methods

Study site

The study was carried out on the research station of Embrapa Amazônia Ocidental near Manaus in Brazilian Amazonia (3° 8' S, 59° 52' W, 40-50 m above sea level). The climate is lowland humid tropical with mean annual precipitation of 2600 mm, mean air temperature of 26°C and mean atmospheric humidity around 85% (mean values 1971-93, O.M.R. Cabral & C. Doza, unpublished). The driest months are July to September, and the wettest months are February to April. The soil is a xanthic Ferralsol according to the FAO-Unesco classification (1990), developed from Tertiary sediments. It is well-drained despite a clay content which increases from about 65% at 0-20 cm depth to 70-80% at 20-100 cm depth (W.G. Teixeira, unpublished) and 80-90% at greater depths (Chauvel et al., 1987). The clay fraction is dominated by kaolinite.

The study site was first cleared from primary forest in 1980, using heavy machinery to pile up vegetation debris and for removal of tree stumps. In 1981, an experiment with rubber trees (*Hevea brasiliensis*) was established and was abandoned in 1986 because of heavy attack by diseases. The developing secondary forest was manually cleared in 1992, and the vegetation was burnt on the site. On one side of the experiment a 1 hectare plot of the then 7-year-old secondary forest was retained as a control and was included in the present study.

Experimental design

The experiment was established in February and March 1993 on an area of about 13 ha, consisting of different arrangements of important tree crops of the region (Table 1). The following tree species were planted in monoculture: peach palm (*Bactris gasipaes*) for fruit production, at 4 by 4 m; peach palm for palmito (heart-of-palm) production, at 2 by 2 m; cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), at 6.4 by 7 m; rubber (*Hevea brasiliensis*, grafted with *Hevea pauciflora*), at 4 by 8 m; and orange (*Citrus sinensis*), at 4 by 8 m. For the two peach palm treatments the same planting material was used, but the management was different. For palmito production, the main stem of the palms was cut at 18 months to stimulate the formation of offshoots, which were then harvested two to three times per year, whereas the fruit palms were allowed to grow freely. Some fruit palms also developed offshoots, but these were not harvested. The fruit palms had an understorey of palmito palms at a spacing of 2 by 2 m, but these were suppressed by shading and are not further considered here.

In addition, there were three different multistrata agroforestry systems in the experiment (Table 1, Figure 1). Systems 1 and 2 had about the same number of trees per unit area. In system 1, the higher stratum was formed by peach palm for fruit and rubber trees, and

the lower stratum by peach palm for palmito and cupuaçu. During the first three years, papaya (*Carica papaya*) was grown as a temporary intercrop in single rows between the tree rows. System 2 had fewer palms than system 1. The upper stratum was formed by peach palm for fruit and Brazil nut trees, and the lower stratum by peach palm for palmito, cupuaçu and annatto. Annatto was cut back once per year at 150 cm to increase fruit set, and the prunings were left to decompose under the trees. During the first year, cassava (*Manihot esculenta*) was grown as temporary intercrop between the trees. Multistrata system 3 had a much lower tree density than systems 1 and 2. The upper stratum was formed only by the rubber trees, as the coconut palms belonged to a dwarf variety. Initially, a fast-growing timber tree species, *Schizolobium amazonicum*, had been planted between the cupuaçu trees, but it had to be removed after three years because it tended to break and caused damage to the smaller trees. During the first year, cowpea (*Vigna unguiculata*), maize (*Zea mays*) and cassava were grown between the trees. The intercrops were fertilized and limed according to local recommendations.

The monoculture plots were fertilized according to the tentative recommendations for the fertilization of each tree crop in the region ("full fertilization", Table 2). During the first two years after planting, between 0.2 and 1.5 kg of dolomitic lime were applied to each tree, depending on the species, and in 1996, 2.1 t ha⁻¹ of dolomitic lime were broadcast in all plots of this fertilization level. In the three multistrata systems, there was a second input level, "low fertilization", where only 30% of the fertilizer and lime of the former treatment was applied. From the third year onward (1996), this latter treatment was developed into a "minimum input" treatment, where no nitrogen fertilizer was applied to see whether the leguminous cover crop (and the mineralization of soil organic matter) could satisfy the N requirements of the tree crops. Furthermore, no dolomitic lime was applied in this treatment in 1996.

The plots were arranged in a randomized complete block design. Three replicate blocks were included in the study. Plot size was 48 m x 32 m, except for the peach palm monocultures, where plot size was 24 m x 32 m.

Estimation of aboveground biomass and litter mass

The estimation of the aboveground biomass of the trees was based on an inventory of the trees (Table 3) and the destructive harvesting of seven to ten trees from different size classes of each species for the development of allometric relationships. Trees in the plot boundaries were neither included in the inventory nor selected for biomass determination. These activities were carried out between December 1999 and May 2000. The selected trees were cut at ground level and separated into stem, branches of diameters > 2 cm, 1-2 cm and <1 cm, leaves (subdivided into old, medium and young leaves as required for each species) and inflorescences. Fruits were not included in the measurements because these are regularly removed from the plots and do not contribute to the accumulated biomass. Each fraction of the trees was weighed and representative samples collected for dry matter determination by drying at 65°C (leaves) or 105°C (woody structures) to constant weight. Tree mortality was determined for every species and plot and the biomass corrected accordingly. Mortality was less than 10% for all species except peach palm for fruit in monoculture (11%) and peach palm for palmito (11-14%, depending on the cropping system).

The aboveground biomass of the ground vegetation and the litter mass were quantified in May to June 2000. In each plot, the ground vegetation and litter were collected in the

central part of the plots from an area that was representative for the plot with respect to the influence of the different tree species and their respective proportion in the system. The size of the sample areas per plot varied between 12 m² in the citrus monocultures and 46 m² in multistrata system 3. For example, in multistrata system 2 the sample area was one quarter of the area between a row of peach palm, a row of annatto, a Brazil nut and a cupuaçu tree (Figure 1). In system 3, several subplots were collected which neighbored a coconut palm, a citrus tree, a rubber tree and a cupuaçu tree, respectively. The litter and ground vegetation were weighed separately and dry weight was determined on subsamples. To correct for contamination of the litter with topsoil, subsamples of the litter were ashed at 600°C and the ash weight was subtracted from the total dry weight.

The biomass of the now 14-year-old secondary forest, which had been retained when clearing the site for the establishment of the experimental plots, was estimated from an inventory of the diameters of all trees at 130 cm height (dbh) in an area of 60 by 60 m, leaving a boundary of 20 m on all sides (the total area of the plot was 100 x 100 m). The biomass was estimated from dbh measurements with allometric relationships developed by Nelson et al. (1999) for a secondary forest with very similar site history and soil in the region. For trees that had split into several stems at less than 130 m height the relationships were applied to each individual stem, although this may lead to a certain overestimation of the tree biomass (B. Nelson, pers. comm.). During the inventory, the dominating trees were identified to the species, and species-specific allometric relationships were used if available (Nelson et al., 1999). For the other trees, the generic relationship given by these authors was used. (Using this generic relationship for all trees in the plot instead of the species-specific regressions only changed the estimated plot biomass by 0.7%.) To obtain an estimate of the spatial variability of the biomass, the secondary forest plot was subdivided into 36 quadrats of 100 m² each, and means and standard errors were calculated from these 36 subplots.

As litter mass of the secondary forest, the average of monthly measurements of the litter stock between August 1997 and March 1999 in this forest plot was used as reported by Martius et al. (1999b). It was measured by randomly collecting the litter from twenty circular samples of 21 cm diameter from a 40 x 40 m area. The litter was dried at 65°C for four days. To this value (24.7 t ha⁻¹), the result of a single estimate of the coarse woody litter in the same area from November/December 1997 was added (4.0 t ha⁻¹). It was obtained by measuring the diameter of all dead wood above 3 cm diameter and 40 cm length on the ground. The average diameter was converted to volume assuming a cylindrical shape of the wood and then to weight by multiplying with an estimated dead wood density of 0.69 g cm⁻³ (Martius et al., 1999a).

Estimation of root mass

Root mass of trees and herbaceous vegetation was estimated from their aboveground biomass and root-shoot-ratios (RSRs) which had been determined in one of the plots of multistrata system 2 in 1996 (Haag, 1997). For this, the root system of two or three individuals of each tree species in the system was excavated to a depth of 100 cm, and all roots >1 mm diameter were collected (Table 4). The excavated area was 2 by 2 m with the tree in the middle for the dicot trees, and either 2 by 2 m, 1 by 2 m, or 1 by 1 m (with the tree in one corner) for the peach palms. For the ground cover, pits of 1 by 1 m were excavated. To quantify the mass of lateral roots which extended beyond the limits of the

excavation pits of the trees, radial transects of 0.5 m width were excavated from one individual of each tree species until no further roots of this species were found. For fine roots, cylindrical soil samples were collected during the excavation, and additional samples were collected from the depth 100-150 cm on the bottom of the pits. The roots were extracted from subsamples of the cores (Schroth and Kolbe, 1994) by washing over a 0.5 mm sieve. To adjust for mineral soil adhering to the roots, the C content of subsamples was measured with a CN-Analyzer and the dry weight of the roots was adjusted to 45% C content. The aboveground dry matter of the excavated trees and ground vegetation were determined as described above.

For peach palm for fruit, Brazil nut, cupuaçu and annatto, the RSRs of the excavated trees are given in Table 4. As RSRs of trees usually decrease with increasing age (Polinière and van Brandt, 1967; Fearnside and Guimaraes, 1996), we used ratios close to the lower limit of the observed range rather than average ratios for the root mass estimates (Table 4). For peach palm for palmito, the RSRs of the two excavated individuals differed widely, with a larger value for the smaller individual. This variability and the generally very high RSRs were obviously a result of the regular cutting of the larger offshoots, which necessarily affects the RSR and makes their use for biomass estimates somewhat dubious. However, there was no feasible alternative method. We used an RSR of 1.0 for this species, which is closer to that of the larger palm, because the larger plants contribute more to the plot biomass than the small individuals.

No RSRs from the study site were available for coconut palms, rubber trees and citrus trees. For the coconut palms we used the RSR of the peach palms for fruit (0.3); for citrus we used that of cupuaçu and annatto, two small trees of approximately similar size as the citrus trees (equally 0.3); and for the rubber trees we used the RSR of Brazil nut (0.25) which was the only other large tree species in the experiment. According to Polinière and Brandt (1967), this RSR may have resulted in an overestimate of the root mass of the rubber trees, as these authors found a decrease of the RSR of this species in Vietnam from 0.34 at three years age to 0.16 at seven years age. It is, however, possible that RSRs of older trees are underestimated by incomplete recovery of their root systems.

The cover crop *Pueraria phaseoloides* was the dominating ground cover species in most of the plots of this study (Table 7). For three plots of 1 m² dominated by this species, the excavations had yielded RSRs of 0.26-0.71, omitting a stray value (0.08) from a fourth plot (Haag, 1997). This range was in accord with results from *P. phaseoloides* fallows of 17 to 53 months age in the Peruvian Amazon region (RSR 0.23-1.24, with higher values for the older fallows; Szott et al., 1994). Accordingly, we used an RSR of 0.5 for estimating the root mass of the cover crop. As no RSR was available for spontaneous ground cover species (Table 7), we used the *Pueraria* value also for these.

For the 14-year-old secondary forest, an RSR of 0.2 was used as given by Fearnside and Guimarães (1996) for secondary forests of this age in different tropical regions.

Measurement of soil carbon stocks

Soil samples were collected between July and October 1996 from multistrata system 2, the monocultures of peach palm for fruit and for palmito, the cupuaçu monoculture, a 3-year-old fallow with similar site history as the agricultural plots, and nearby primary forest (three replicate plots for each treatment). The soil in the secondary forest was not

sampled. In the multistrata plots, one sample per plot was collected at 50 cm distance from a representatively chosen individual of peach palm for fruit, peach palm for palmito, cupuaçu, Brazil nut and annatto, and one sample under the *Pueraria* cover crop. In the monocultures and the fallows, two samples per plot were collected, and in the primary forest, one sample was collected at 50 cm distance from six trees belonging to two species, *Eschweilera* sp. (Lecythidaceae) and *Oenocarpus bacaba* (Arecaceae). Soil was collected from the following depths: 0-10 cm, 10-30 cm, 30-50 cm and then in 50 cm intervals down to 2 m. After air-drying and sieving the soil to pass 2 mm, total C was measured with a CNS analyser.

To calculate carbon stocks per hectare, the carbon concentration in the soil was multiplied with the bulk density of the respective soil layer. The bulk densities to 2 m soil depth were measured with cylinders of 100 cm³ in one of the plots of multistrata system 2, and the bulk density of the topsoil (1-6 cm) was measured in all positions where soil samples had been collected (see above). Under each sample tree, three cylinders were collected and were averaged to give one value per tree per plot for the statistical analysis. The average bulk densities under the different species lay between 0.82 g cm⁻³ under *Oenocarpus bacaba* in the primary forest and 1.01 g cm⁻³ under grass weeds in the cupuaçu monoculture plots. All other values lay between 0.86 and 0.96 g cm⁻³. Comparing all positions, the species effect on topsoil bulk density was significant at $p=0.08$. After removing the values from the primary forest, there was no detectable species effect for the agricultural and fallow plots any more ($p=0.28$). We therefore used separate topsoil bulk densities for the primary forest (0.84 ± 0.02 g cm⁻³) and for the agricultural and fallow plots (0.91 ± 0.01 g cm⁻³) for the calculation of soil carbon stocks. In the lower soil depths, we used the bulk densities from the soil profile, i.e. 0.98 (10-30 cm), 0.92 (30-50 cm), 0.95 (50-100 cm), 0.94 (100-150 cm), and 1.00 g cm⁻³ (150-200 cm).

Statistical analysis

Statistical comparisons of biomass and soil data for the experimental plots were calculated by analysis of variance for a randomized complete block design. If an F -test proved significant at $p<0.05$, then mean differences were compared by least significant difference tests at the same level of significance. The primary and secondary forest data were compared only qualitatively with those from the agricultural plots, because they were not spatially interspersed with these plots and inferential statistics would not have been valid (Hurlbert, 1984).

Results and discussion

Estimation of tree biomass

For the five dicot species, cupuaçu, rubber, citrus, annatto and Brazil nut trees, basal area was an adequate predictor of total aboveground dry matter (Figure 2). In all cases, second-order polynomial equations gave a good approximation of the measured data points, with highest r^2 values for the two largest tree species, rubber and Brazil nut (Table 5). Annatto differed from the other species in so far as it reached a saturation value of about 23 kg of dry matter per tree for basal areas above 130 cm², presumably as a result of the complete annual pruning at 150 cm height which limited the potential

biomass accumulation of these trees (Figure 2). For cupuaçu, rubber and citrus, trees from monoculture and agroforestry plots could be described with the same regression equations, indicating that the different levels of shading in these systems did not affect the allometric relationships.

The aboveground biomass of individual offshoots of peach palm for palmito could also be estimated from basal area alone, because prior to the development of a true stem these young shoots grew simultaneously in diameter and height. However, the largest offshoots showed a more-than-proportional increase in biomass due to the beginning formation of a woody stem, and this resulted in a sigmoid shape of the regression equation (Figure 2). For very small offshoots the equation overestimated the biomass; therefore, the aboveground dry matter of the smallest measured offshoot (0.76 kg, basal area 1.5 cm²) was used for all offshoots with a basal area smaller than 2 cm². As mentioned in the Methods, this included a proportional section of the cone of aerial roots at the base of the offshoots.

For peach palm for fruit, the biomass could not be estimated from basal area alone, but was closely related to the product of basal area and height (as an approximation of the stem volume; Figure 2). This was because the stem contributed 80±2% (mean and s.e. of the 10 measurement trees) to the total weight of these tall palms. For the dwarf coconut palms, in contrast, the stem contributed only 32±2% to the aboveground dry matter (n=7). To estimate the biomass of these palms it was therefore necessary to develop an index which included both the number of leaves and the height and basal area of the stem (Figure 2, Table 5).

Effect of cropping system and fertilizer input on tree biomass

The aboveground biomass of the tree crop species varied between less than 10 kg per tree for peach palm for palmito and more than 200 kg per Brazil nut tree (Figure 3). The trees in the monocultures were generally among the smallest from all systems, irrespective of whether they were canopy trees which dominated the multistrata systems, such as rubber and peach palm for fruit, or understory trees such as cupuaçu and citrus. For the canopy trees this could reflect less competition for light in association with smaller trees, but the understory trees were clearly more shaded in the multistrata systems than in monoculture, and their relatively low biomass in monoculture indicates that light was not (yet) a limiting factor for vegetative growth in any of the agroforestry systems. In system 2 this was about to change when the experiment was concluded, as the smaller tree crops were increasingly shaded by the large Brazil nut trees.

The tree species differed in their response to the fertilizer inputs (Figure 3). Significant increases in biomass at the higher fertilizer level were measured for cupuaçu ($p=0.009$), rubber ($p=0.019$) and annatto trees ($p=0.048$). The Brazil nut trees also tended to be larger at the higher fertilizer input, but the effect was not significant ($p=0.13$). Peach palm for fruit did not respond to the fertilizer level, but showed significantly better growth in multistrata system 1 than in system 2 ($p=0.004$, mean of both fertilizer inputs) and in the monoculture ($p=0.052$, full fertilization only). The growth of the rubber trees was also significantly faster in multistrata system 1 than in system 3 ($p=0.019$). The relatively fast growth of these two tree crops in system 1 was presumably an effect of residual fertilizer from the papaya intercrop which had been grown in the interrow spaces of this system during the first three years (Schroth et al., 2001b). There was also a beneficial effect of the papaya on the leguminous cover crop, *Pueraria phaseoloides*,

which had shown a more vigorous development in system 1 than in the other treatments during the first years of the experiment, presumably also as a side-effect of the fertilizer applied to the intercrop. As a consequence, grasses and other weeds were effectively suppressed in this system during the early development of the tree crops, when these were particularly sensitive to weed competition (G. Schroth, pers. obs.).

Biomass and litter accumulation in different land use systems and secondary forest

During seven years in the field, the multistrata systems accumulated an aboveground biomass of 13.2 to 42.3 t ha⁻¹, a belowground biomass of 4.3 to 12.9 t ha⁻¹, and a litter mass of 2.3 to 7.2 t ha⁻¹, depending on species composition and fertilizer input (Figure 4). In accord with the effect of the fertilizer on the growth of the individual tree species, the biomass of the three systems was significantly higher at full than at low fertilization ($p=0.013$). With 46.3 and 58.4 t ha⁻¹ at low and full fertilization, respectively, system 2 had the highest biomass and litter accumulation from the three multistrata systems, followed by system 1 (45.2 and 51.1 t ha⁻¹). System 3 had only 23.4 and 31.6 t ha⁻¹ of biomass and litter, reflecting its lower tree density compared with the other two systems and the absence of large trees such as Brazil nut in system 2. The open structure of this system allowed a vigorous development of the ground vegetation, which, together with the large coconut fronds, led to the highest litter accumulation from all systems (7.2 t ha⁻¹ at full and 5.9 t ha⁻¹ at low fertilization).

In the monoculture systems, the range of observed biomass accumulations was larger than in the multistrata systems, with 7.7 to 56.7 t ha⁻¹ of aboveground biomass, 3.2 to 17.1 t ha⁻¹ of root biomass and 1.9 to 5.6 t ha⁻¹ of litter (Figure 4). Comparing the monocultures with the multistrata systems with full fertilization (i.e. the same fertilizer input per tree as in the monocultures), the peach palm for fruit monoculture had the largest biomass and litter accumulation (78.8 t ha⁻¹), followed by multistrata systems 2 and 1. The remaining systems had all less than 40 t ha⁻¹, with lowest values for the monocultures of citrus (15.3 t ha⁻¹) and cupuaçu (20.0 t ha⁻¹).

None of the systems had reached the biomass and litter accumulation of the secondary forest that they had replaced (125.2 t ha⁻¹, Figure 4 and Table 6). In addition to a total aboveground biomass of 80.4 t ha⁻¹, i.e. 1.4 times more than that of the peach palm for fruit monoculture, the secondary forest had a very large litter mass (28.7 t ha⁻¹, including 4 t ha⁻¹ of coarse woody litter) (Martius et al., 1999a; Martius et al., 1999b). The biomass of the secondary forest was somewhat lower than that expected from fallow growth after shifting cultivation in various tropical regions, but was higher than that reported for secondary forests growing after pasture in Amazonia (Fearnside and Guimaraes, 1996). The dominating trees belonged mostly to the genera *Miconia*, *Bellucia* and *Vismia*. In addition, rubber trees from the previous plantation contributed 11% to the total biomass of the secondary forest (Table 6). Primary forests growing under the same pedoclimatic conditions in the region usually have an aboveground biomass of >300 t ha⁻¹ (Fearnside et al., 1993).

Contribution of different tree species and ground cover to biomass accumulation

Most of the biomass of the multistrata systems was concentrated in the large trees, especially the fruit palms, rubber trees and Brazil nut trees (Table 7). The biomass of system 2 consisted to almost 60% of Brazil nut trees, although these contributed with

only 16% to the number of trees in the plots. The peach palms for palmito made only a very small contribution to the plot biomass of systems 1 and 2 as a consequence of the regular harvest of the largest offshoots which prevented the palms from forming a woody stem. The same was true for the annatto trees which were cut back to 150 cm height each year to increase fruit set. The ground cover added about 5% to the biomass in the denser systems 1 and 2, and 20% in the opener system 3. In systems 1 and 3 it consisted mainly of the planted cover crop *Pueraria phaseoloides*, and in system 2 of the spontaneous *Clidemia* sp. (see footnote to Table 7).

The wide range of relative contributions of the trees and ground cover to the biomass of the monocultures reflects the contrasting character of these agroecosystems (Table 7). The palm monocultures, either for fruit or for palmito, were completely dominated by the tree crops. Under the dense shade of the palms, the ground vegetation was characterized by an apparently shade-tolerant species of *Achyranthes*, which did not stand out in the other plots, whereas the leguminous cover crop *P. phaseoloides* was largely shaded out. With their open canopies, the rubber and cupuaçu monocultures allowed the formation of a denser ground cover, and in the citrus monoculture 60% of the biomass of the plots consisted of a vigorous layer of *P. phaseoloides*.

Soil carbon

Figure 5a shows the distribution of carbon concentrations in the soil to a depth of 200 cm in multistrata system 2, three monoculture systems, a fallow with similar site history as the agricultural plots (including slashing and burning in 1992) whose vegetation was dominated by *Vismia* spp., and adjacent primary forest. The samples had been collected in 1996, when the experimental plots and the fallows were about 3½ years old. The secondary forest had not been included in the sampling program.

In the top 10 cm of soil, the carbon concentration was higher in the forest and lower in the fallow than in the agricultural plots, suggesting that conversion of primary forest and subsequent slashing and burning of secondary vegetation was accompanied by some carbon loss from the topsoil. Lower carbon concentrations in the top 50 cm of soil under a tree crop plantation (oil palm) than under adjacent primary forest have also been reported from another central Amazonian site with similar soil (Schroth et al., 2000). Similarly, van Noordwijk et al. (1997) reported decreasing topsoil carbon contents from primary forest to secondary forest to perennial crops in Indonesia. However, the carbon concentrations below 10 cm were very similar under all vegetation types, indicating that the effect of forest conversion and site management on soil carbon concentrations was largely restricted to the topsoil.

Within the multistrata plots, there was a tendency for higher carbon concentrations in the topsoil under the two tree species with recalcitrant leaf litter, cupuaçu and Brazil nut, compared with the species with more readily decomposable litter, peach palm, annatto and *Pueraria* (Figure 5b). Under the former two species the carbon concentrations in the topsoil were in fact very similar to those under primary forest (Figure 5a). Although the differences between species in the multistrata plots were not significant ($p=0.13$), they tended to confirm results by Lehmann et al. (2001) who found more particulate organic matter in the soil under cupuaçu than under *Pueraria* and (non-significantly) peach palm in the same plots and explained this with the low quality of the cupuaçu litter (the soil under Brazil nut was not included in this study).

The average carbon stock in the top 10 cm of soil varied between $22.5 \pm 1.3 \text{ t ha}^{-1}$ in the primary forest, $21.6 \pm 0.6 \text{ t ha}^{-1}$ in the multistrata systems, $19.8 \pm 0.5 \text{ t ha}^{-1}$ in the monocultures and $17.2 \pm 1.6 \text{ t ha}^{-1}$ in the fallow (means and s.e.), reflecting the different carbon concentrations in the topsoil and, in the forest, the slightly lower bulk density. However, the carbon stocks for the complete profiles to 200 cm depth were very similar under all vegetation types, with $107 \pm 2 \text{ t ha}^{-1}$ in the primary forest, $113 \pm 2 \text{ t ha}^{-1}$ in the multistrata plots, $111 \pm 2 \text{ t ha}^{-1}$ in the monocultures of peach palm and cupuaçu, and $112 \pm 2 \text{ t ha}^{-1}$ in the fallow. There were also no significant differences between tree species within the multistrata plots (data not shown). This reflected the lack of major differences in soil carbon concentrations below 10 cm depth (Figure 5). Also, sampling positions with high carbon contents in the topsoil tended to have lower carbon contents in the subsoil and vice versa (see forest and fallow in Figure 5a and cupuaçu in Figure 5b), so that differences were canceled out when summing over the entire profiles.

The soil carbon stocks could not be determined for all study plots, as there were no samples from multistrata systems 1 and 3 and from the secondary forest. However, the similarity of soil carbon stocks for such contrasting vegetation types as primary forest, young fallow and diverse agricultural systems suggests that differences were also unlikely for the other systems. For the present comparison of carbon pools in perennial, tree-dominated vegetation types, the soil carbon pool could thus be regarded as essentially constant.

Effect of land use options on carbon accumulation

Seven years after the establishment of several multistrata agroforestry systems and tree crop monocultures on an abandoned, secondary forest site in central Amazonia, none of the systems had reached the combined biomass and litter stock of the secondary forest that they had replaced, whereas the soil carbon stock seemed to be largely unaffected by the land use transformations. An environmental cost of the conversion of the economically unproductive secondary forest into productive cash crop plantations was thus the net release of different amounts of carbon into the atmosphere. This would have presumably been different if the tree crops had replaced a vegetation with lower biomass, such as degraded pasture land (Fearnside and Guimaraes, 1996), of which large tracts are available for agroforestry or other productive uses in Amazonia. However, Amazonian pastures are frequently characterized by superficial soil compactions and topsoil erosion (Fearnside, 1985; Koutika et al., 1997), and under such conditions the establishment of the tree crops would have been more difficult and their growth slower.

The largest amount of carbon was accumulated by a particularly fast-growing tree crop species, peach palm, when planted in monoculture at relatively close spacing (4 by 4 m) and managed for fruit production. The net release of carbon caused by replacing the secondary forest with this land use system was 21 t ha^{-1} (assuming a C content of the biomass and litter of 45%). However, monocultures of the tree crops peach palm for palmito, cupuaçu and citrus, which are particularly common in the region, accumulated a much lower biomass. In comparison to the secondary forest, they provoked a net release of 45 to 50 t ha^{-1} of carbon, i.e. 80 to 90% of the carbon accumulated in the biomass and litter of the secondary forest. The biomass of the rubber monoculture was higher, but the cultivation of this crop in Amazonia is still severely hindered by the endemic fungal leaf disease, South American leaf blight (*Microcyclus ulei*).

From the viewpoint of the carbon balance, multistrata agroforestry was an interesting alternative to monocultures. Although the biomass of systems 1 and 2 was less than that of the fastest-growing monoculture, peach palm for fruit, it was far greater than that of monocultures of peach palm for palmito, cupuaçu and citrus. This was due to a relatively high tree density (Table 1) and to the association of the economically interesting smaller tree crops, such as cupuaçu and peach palm for palmito, with larger trees, i.e. peach palm for fruit, Brazil nut and rubber. Furthermore, tree crop monocultures are clear-felled and replanted from time to time, thereby reducing their biomass for a number of years to very low values, whereas multistrata systems can be regenerated on a species-per-species or even a single-tree basis.

Particularly advantageous proved to be the association of crops with different production cycles in the multistrata systems. In system 1, the temporary papaya intercrop allowed not only a more efficient use of the space during the first years of the plantation and the early generation of income for the land user, but also an improved vegetative development of the longer-living tree crops (Figure 3). In the case of cupuaçu, this association also allowed significantly higher fruit yields than in monoculture during the first three harvests, i.e. 3 to 5 years after plantation establishment (Schroth et al., 2001a). In some of the monocultures, in contrast, a considerable part of the space, and therefore light and soil resources, remained underutilized by the tree crops still seven years after the establishment of the plantations. This is illustrated by a contribution of the ground cover of more than 60% to the total plot biomass in the citrus monoculture, far more than in any of the multistrata systems (Table 7). It has been shown previously that under the pedoclimatic conditions of the region, insufficient occupation of the soil by the root systems of the young tree crops leads to leaching of nitrate into the subsoil of the intertree spaces, and consequently to cation loss and soil acidification (Schroth et al., 1999; Schroth et al., 2000). A more complete utilization of the space in young tree crop plantations cannot only be achieved through crop associations as in agroforestry, but also by planting the tree crops in monoculture at increased density and thinning the stand in later years (Nakasone and Paull, 1998). However, this automatically implies the loss of fruit trees, and thus of the money and labour that was invested in their establishment, and seems, therefore, to be less adapted to the requirements of tropical smallholders than temporary or permanent intercropping and agroforestry.

Increased fertilizer input and the integration of fertilized intercrops increased the biomass accumulation in the systems (Figure 4), beside improving the yields of certain tree crops such as annatto (Schroth et al., 1999) and cupuaçu (see above). It is clear that for a full carbon balance of the systems, energy investments into the production and transport of such external inputs would also have to be considered. However, this is presently hindered by uncertainties about the economically optimal fertilization levels for most if not all of the tree crops in this study under the pedoclimatic conditions of central Amazonia. Of particular interest for the energy and carbon budget of the land use systems is, however, that several tree crops did not respond to mineral nitrogen fertilizer at this site (Schroth et al., 1999), nor at another site with similar soil in Amazonia (Schroth et al., 2000).

The tree components in the multistrata systems did not only concentrate a large part of the biomass of the systems (Table 7), but presented also a long-term capital for the land user. This is particularly illustrated by the Brazil nut trees, which, beside their well-known nuts, produce excellent timber. Their growth was satisfactory, as illustrated by an average diameter at breast height of 20.2 cm and a height of 10 to 15 m seven years after

planting. However, to avoid the suppression of smaller tree crops, it is important to plant such dominating species at low density and to apply suitable pruning treatments. This would not only reduce shading of understorey crops, but also improve the quality of the timber.

In all of the investigated plantation systems, there was more than twice as much carbon in the soil organic matter pool than in the biomass and litter combined. Changes in the soil organic matter stocks could, therefore, be of crucial importance for the net carbon effect of land use transformations (Sombroek et al., 2000). However, in this study we found no effects of vegetation types and plant species on the organic matter stocks of the soil profile to 2 m depth, although there were indications for effects on the carbon content of the topsoil. There are two possible explanations for this. Firstly, the conversion of primary forest into different tree crop plantations could have affected the distribution of carbon in the soil, but not its total quantity, as reported by Hamburg (2000) for certain land use changes in temperate ecosystems. Such changes could arise through an altered distribution of root mass in the soil profile, or through differences in the abundance and activity of burrowing soil fauna between vegetation types and plant species. For one of the systems under study, Vohland and Schroth (1999) demonstrated differences in the abundance and composition of the litter fauna under the different tree species within multistrata plots. Alternatively, the total carbon stock in the soil to 2 m depth could only be less sensitive than the carbon content of the topsoil as a measure for soil organic matter loss over a relatively short time period. In this case, the data in Figure 5a could indicate the progressive release of carbon from soil organic matter as a long-term consequence of tree crop agriculture (and agroforestry) on forest land, as reported earlier from other regions (Ollagnier et al., 1978; Ahenkorah et al., 1987; van Noordwijk et al., 1997). The data seem to support the former rather than the latter explanation, but the question certainly requires further study. These results also underline the need for adequate sampling depth when investigating the effect of land use on soil carbon stocks (Hamburg, 2000).

A potentially significant result of the present study is that the tree crops with low litter quality, cupuaçu and Brazil nut, were able to build up and maintain organic matter levels in the topsoil comparable to those in the primary forest, even when they were grown in association with tree and cover crops which produced easily decomposable litter. When integrated into multistrata agroforestry systems, such tree crops could act as an insurance against soil organic matter losses, in addition to their direct production role.

Conclusions

Within seven years after their establishment on an abandoned secondary forest area in central Amazonia, neither monoculture nor agroforestry plantations attained the biomass of the secondary forest that they had replaced. Under these conditions, tree crop agriculture and agroforestry may cause net carbon emissions, at least within the time frame of this study, although they can probably contribute to net carbon sequestration when established on sites with a low standing biomass, such as abandoned pasture. However, the secondary forest that was replaced by the tree crops was a product of unsustainable and wasteful soil use, developed after clearing the primary forest and a short, unsuccessful period under agriculture. Beside being biologically impoverished in comparison to the primary forest, the developing secondary vegetation could not generate income for the local population. The replacement of such forest fallows with permanent, tree crop-based land use systems offers the perspective of stabilizing

agriculture on the same piece of land, thereby possibly helping to reduce the clearing of further primary forest areas. This may be the most significant contribution of agroforestry and tree crop agriculture to the regional and global carbon budgets (Unruh et al., 1993; Sanchez et al., 1997).

The rational use of land and biological resources in a tropical forest environment would imply that whenever forest needs to be converted into agriculture to satisfy the needs of the local population, the resulting land use systems should be productive in the long term, i.e. sustainable. Multistrata agroforestry based on site-adapted tree crops is not only a promising option to achieve this, but also a way to accumulate larger biomass stocks than in monocultures of the most common tree crops in central Amazonia. The effect of forest conversion into tree crop-based systems on soil organic matter stocks and the potential of certain tree crops to build up and maintain high organic matter levels in the soil deserve further attention.

Acknowledgements

This research was funded by the German Ministry of Education and Research (BMBF) together with the Brazilian Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) as part of the SHIFT program, project 0339641/ENV 23/45. Rachel Rodrigues and Lailton Araújo made the secondary forest inventory, Luiz Coelho the botanical identifications, and Michaela Schaller the soil carbon analyses. The Embrapa Amazônia Ocidental provided the site and infrastructure for the experiment.

References

- Ahenkorah, Y., Halm, B.J., Appiah, M.R., Akrofi, G.S. and Yirenkyi, J.E.K. 1987. Twenty years' results from a shade and fertilizer trial on Amazon cocoa (*Theobroma cacao*) in Ghana. *Expl. Agric.* 23: 31-39.
- Chauvel, A., Lucas, Y. and Boulet, R. 1987. On the genesis of the soil mantle of the region of Manaus, Central Amazonia, Brazil. *Experientia*, 43: 234-241.
- FAO-Unesco, 1990. Soil map of the world, revised legend. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 119 pp.
- Fearnside, P.M. 1985. Agriculture in Amazonia. In: G.T. Prance and T.E. Lovejoy (Editors), *Key Environments: Amazonia*, Pergamon, New York, pp. 393-418.
- Fearnside, P.M., Leal, N., Jr. and Fernandes, F.M. 1993. Rainforest burning and the global carbon budget: biomass, combustion efficiency, and charcoal formation in the Brazilian Amazon. *J. Geophys. Res.* 98: 16733-16743.
- Fearnside, P.M. and Guimaraes, W.M. 1996. Carbon uptake by secondary forests in Brazilian Amazonia. *For. Ecol. Manage.* 80: 35-46.
- Fujisaka, S. and White, D. 1998. Pasture or permanent crops after slash-and-burn cultivation? Land-use choice in three Amazon colonies. *Agrofor. Syst.* 42: 45-59.
- Haag, D. 1997. Root distribution patterns in a polycultural system with local tree crops on an acid upland soil in central Amazonia. Masters Thesis. University of Bayreuth, Bayreuth, 88 pp.

- Hamburg, S.P. 2000. Simple rules for measuring changes in ecosystem carbon in forestry-offset projects. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 5: 25-37.
- Houghton, R.A., Skole, D.L., Nobre, C.A., Hackler, J.L., Lawrence, K.T. and Chomentowski, W.H. 2000. Annual fluxes of carbon from deforestation and regrowth in the Brazilian Amazon. *Nature*, 403: 301-304.
- Hurlbert, S.H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecol. Monogr.* 54: 187-211.
- Koutika, L.-S., Bartoli, F., Andreux, F., Cerri, C.C., Burtin, G., Choné, T. and Philippy, R. 1997. Organic matter dynamics and aggregation in soils under rain forest and pastures of increasing age in the eastern Amazon Basin. *Geoderma*, 76: 87-112.
- Laurance, W.F., Cochrane, M.A., Bergen, S., Fearnside, P.M., Delamônica, P., Barber, C., D'Angelo, S.A. and Fernandes, T. 2001. The future of the Brazilian Amazon. *Science*, in press
- Lehmann, J., Cravo, M.S. and Zech, W. 2001. Organic matter stabilization in a Xanthic Ferralsol of the central Amazon as affected by single trees: chemical characterization of density, aggregate, and particle size fractions. *Geoderma*, 99: 147-168.
- Martius, C., de Moraes, J.W. and Garcia, M.V.B. 1999a. Dead wood volume in primary forest, secondary forest and an agroforestry plantation system in central Amazonia. In: Anonymous Soil Fauna and Litter Decomposition in Primary and Secondary Forests and a Mixed Culture System in Amazonia. Final Report 1996-1999, Staatliches Museum für Naturkunde, Karlsruhe, pp. 71-73.
- Martius, C., Garcia, M.V.B., Hoefler, H. and Hanagarth, W. 1999b. Litter production, litter stocks and decomposition coefficients in a central Amazonian rain forest, a secondary forest and agroforestry systems. In: Anonymous Soil Fauna and Litter Decomposition in Primary and Secondary Forests and a Mixed Culture System in Amazonia. Final Report 1996-1999, Staatliches Museum für Naturkunde, Karlsruhe, pp. 61-70.
- Nakasone, H. Y. and Paull, R. E. 1998. Tropical fruits. CAB International, Wallingford, 445 pp.
- Nelson, B.W., Mesquita, R., Pereira, J.L.G., de Souza, S.G.A., Batista, G.T. and Couto, L.B. 1999. Allometric regressions for improved estimate of secondary forest biomass in the central Amazon. *For. Ecol. Manage.* 117: 149-167.
- Ollagnier, M., Lauzeral, A., Olivin, J. and Ochs, R. 1978. Evolution des sols sous palmeraie apres défrichement de la forêt. *Oléagineux*, 33: 537-547.
- Polinière, J.P. and van Brandt, H. 1967. Production en matière sèche et autres caractères végétatifs de greffes d'hévéa en fonction de leur age. *Bois Forêts Trop.* 112: 39-51.
- Sanchez, P.A., Buresh, R.J. and Leakey, R.R.B. 1997. Trees, soils, and food security. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 352: 949-961.
- Schroth, G., da Silva, L.F., Seixas, R., Teixeira, W.G., Macêdo, J.L.V. and Zech, W. 1999. Subsoil accumulation of mineral nitrogen under polyculture and monoculture plantations, fallow and primary forest in a ferralitic Amazonian upland soil. *Agric. Ecosys. Environ.* 75: 109-120.

- Schroth, G., Rodrigues, M.R.L. and D'Angelo, S.A. 2000. Spatial patterns of nitrogen mineralization, fertilizer distribution and roots explain nitrate leaching from mature Amazonian oil palm plantation. *Soil Use Manage.* 16: 222-229.
- Schroth, G., Lehmann, J., Rodrigues, M. R. L., Barros, E. and Macêdo, J. L. V. 2001a. Plant-soil interactions in multi-strata agroforestry based on tree crops in the humid tropics (*submitted to Agroforestry Systems*).
- Schroth, G., Salazar, E. and da Silva Jr., J.P. 2001b. Soil N mineralization under tree crops and a legume cover crop in multi-strata agroforestry in central Amazonia: spatial and temporal patterns. *Expl. Agric.* in press
- Schroth, G. and Kolbe, D. 1994. A method of processing soil core samples for root studies by subsampling. *Biol. Fertil. Soils*, 18: 60-62.
- Serrao, E.A.S., Nepstad, D.C. and Walker, R. 1996. Upland agricultural and forestry development in the Amazon: sustainability, criticality and resilience. *Ecol. Econ.* 18: 3-13.
- Sombroek, W.G., Fearnside, P.M. and Cravo, M.S. 2000. Geographic assessment of carbon stored in Amazonian terrestrial ecosystems and their soils in particular. In: R. Lal, J.M. Kimble and B.A. Stewart (Editors), *Global Climate Change and Tropical Ecosystems*, CRC Press, Boca Raton, pp. 375-389.
- Szott, L.T., Palm, C.A. and Davey, C.B. 1994. Biomass and litter accumulation under managed and natural tropical fallows. *For. Ecol. Manage.* 67: 177-190.
- Unruh, J.D., Houghton, R.A. and Lefebvre, P.A. 1993. Carbon storage in agroforestry: an estimate for sub-Saharan Africa. *Clim. Res.* 3: 39-52.
- van Noordwijk, M., Cerri, C.C., Woomer, P.L., Nugroho, K. and Bernoux, M. 1997. Soil carbon dynamics in the humid tropical forest zone. *Geoderma*, 79: 187-225.
- Vohland, K. and Schroth, G. 1999. Distribution patterns of the litter macrofauna in agroforestry and monoculture plantations in central Amazonia as affected by plant species and management. *Appl. Soil Ecol.* 13: 57-68.

Table 1: Tree species and number of trees per hectare in three multistrata agroforestry systems and five monoculture plantations in central Amazonia

| System | Peach palm for fruit | Peach palm for palmito | Cupuaçu | Rubber | Brazil nut | Annatto | Citrus | Coconut palm | Total |
|--------------------|-------------------------|---------------------------|---------|--------|------------|---------|--------|-----------------|-------|
| Multistrata 1 | 125 | 250 | 78.1 | 125 | | | | | 578.1 |
| Multistrata 2 | 78.1 | 156.3 | 93.3 | | 93.3 | 156.3 | | | 577.3 |
| Multistrata 3 | | | 34 | 108.7 | | | 72.5 | 54.3 | 269.5 |
| Peach palm fruit | 625 | | | | | | | | 625 |
| Peach palm palmito | | 2500 | | | | | | | 2500 |
| Cupuaçu | | | 223.2 | | | | | | 223.2 |
| Rubber | | | | 312.5 | | | | | 312.5 |
| Citrus | | | | | | | 208.3 | | 208.3 |

Table 2: Total amount of mineral N, P and K fertilizer applied to seven tree crop species between 1993 and 1999 at two input levels (in g plant⁻¹)

| | Peach palm | Cupuaçu | Rubber | Brazil nut | Annatto | Citrus | Coconut |
|-------------------|------------|---------|--------|------------|---------|--------|---------|
| <i>Nitrogen</i> | | | | | | | |
| Full fertil. | 475 | 495 | 263 | 315 | 424 | 881 | 1507 |
| Low fertil. | 90 | 57 | 55 | 50 | 50 | 131 | 315 |
| <i>Phosphorus</i> | | | | | | | |
| Full fertil. | 129 | 303 | 208 | 190 | 266 | 630 | 523 |
| Low fertil. | 38 | 91 | 64 | 57 | 80 | 189 | 157 |
| <i>Potassium</i> | | | | | | | |
| Full fertil. | 441 | 601 | 271 | 344 | 769 | 927 | 2317 |
| Low fertil. | 136 | 180 | 84 | 132 | 231 | 316 | 668 |

Table 3: Number of plots for each land use system and number of trees per plot which were included in the inventory for the estimation of plot biomass^a

| System | No. of plots | Trees per plot | | | | | | | |
|---------------|---------------|-------------------------|---------------------------|---------|--------|------------|---------|--------|---------|
| | | Peach palm for fruit | Peach palm for palmito | Cupuaçu | Rubber | Brazil nut | Annatto | Citrus | Coconut |
| Multistrata 1 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | | | | |
| Multistrata 2 | 6 | 6 | 6 | 4 | | 6 | 6 | | |
| Multistrata 3 | 6 | | | 3 | 6 | | | 3 | 4 |
| Monocultures | 3 per species | 24 | 18 | 12 | 24 | | | 12 | |

^aBecause of missing or dead trees the actual number of measured trees in a specific plot could be smaller than indicated.

Table 4: Ranges of aboveground biomass (in kg dry matter per tree) and root-shoot-ratios of 3-year-old tree crops in central Amazonia, Brazil, and root-shoot ratios used for root mass estimates

| Species | No. of trees excavated ^a | Aboveground biomass ^a | Root-Shoot ratio ^a | Ratio used for estimates |
|----------------------|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| Peach palm (fruit) | 2 | 16.0-33.5 | 0.29-0.49 | 0.3 |
| Peach palm (palmito) | 2 | 3.6-8.6 | 0.86-1.88 | 1.0 |
| Brazil nut | 3 | 7.8-12.1 | 0.27-0.28 | 0.25 |
| Cupuaçu | 3 | 0.9-3.4 | 0.32-0.39 | 0.3 |
| Annatto | 3 | 6.0-13.5 | 0.29-0.43 | 0.3 |

^afrom Haag (1997)

Table 5: Regression equations for the estimation of aboveground dry matter (in kg per tree) of eight fruit tree species in central Amazonia after seven years in the field^a

| Species | Equation | Units | H _{BA} (cm) | r ² |
|---------------------------------|---|---------------------|----------------------|----------------|
| Peach palm fruit ^b | DM=40.6+121 BAH+391 (BAH) ² | BAH, m ³ | 1300.97 | |
| Peach palm palmito ^c | DM=0.97+0.078 BA-0.00094 BA ² +0.0000064 BA ³ | BA, cm ² | 1000.98 | |
| Cupuaçu | DM=-3.9+0.23 BA+0.0015 BA ² | BA, cm ² | 300.93 | |
| Rubber | DM=-3.84+0.528 BA+0.001 BA ² | BA, cm ² | 1500.99 | |
| Citrus | DM=-6,64+0.279 BA+0.000514 BA ² | BA, cm ² | 300.94 | |
| Annatto | DM=-21.7+0.505 BA-0.00143 BA ² | BA, cm ² | 200.95 | |
| Brazil nut | DM=-18.1+0.663 BA+0.000384 BA ² | BA, cm ² | 1300.99 | |
| Coconut ^d | DM=-35.7+1.73 SLI | see footnote | 1000.98 | |

^aNote: For number of data points and range of validity of the equations see Figure 2. Abbreviations: DM, aboveground dry matter; BA, basal area; BAH, basal area times height; SLI, stem-leaf-index; H_{BA}, measurement height of basal area, in cm

^bEquation includes trees and their offshoots if present.

^cEquation is for individual offshoots and corresponding section of the cone of aerial roots.

^dThe stem-leaf-index (SLI) is calculated from the basal area (BA, in cm²), height (H, in cm) and number of leaves (L) according to: SLI=0.000206 BAH+1.4 L.

Table 6: Characteristics of a 14-year-old secondary forest, developed from a 5-year-old, abandoned rubber plantation on a xanthic Ferralsol in central Amazonia

| | | |
|---|--|-----------------------|
| Trees per hectare | | 6070±280 ^a |
| Stems per hectare | | 7180±300 ^a |
| Rubber trees per hectare | | 206±34 ^a |
| Basal area (130 cm; m ² ha ⁻¹) | | 16.9±0.9 ^a |
| Dominating tree species | <i>Miconia pyrifolia</i> | Burseraceae |
| | <i>Vismia japurensis</i> | Clusiaceae |
| | <i>Vismia cayennensis</i> | Clusiaceae |
| | <i>Vismia guianensis</i> | Clusiaceae |
| | <i>Vismia gracilis</i> | Clusiaceae |
| | <i>Bellucia grossularioides</i> | Melastomataceae |
| | <i>Bellucia dichotoma</i> | Melastomataceae |
| | <i>Rollinia exsucca</i> | Annonaceae |
| | <i>Simaruba amara</i> | Simaroubaceae |
| | <i>Vochysia vismiifolia</i> | Vochysiaceae |
| | <i>Goupia glabra</i> | Celastraceae |
| | <i>Hevea brasiliensis</i> ^b | Euphorbiaceae |

^aMeans and s.e. of 36 plots of 100 m².

^bRemains of the previous rubber plantations.

Table 7: Contribution of different tree species and ground cover in percent to the total above- and belowground biomass of three multistrata agroforestry systems and five monoculture plantations in central Amazonia (means and s.e.)^a

| System | Peach palm for fruit | Peach palm for palmito | Cupuaçu | Rubber | Brazil nut | Annatto | Citrus | Coconut palm | Ground cover ^b |
|---------------------|-------------------------|---------------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------------------|
| Multistrata 1 | 48.0±3.0 (22) | 5.1±0.4 (43) | 10.0±1.1 (14) | 32.2±2.4 (22) | | | | | 4.7±0.8 |
| Multistrata 2 | 18.6±1.1 (14) | 2.6±0.5 (27) | 8.6±0.9 (16) | | 59.0±2.3 (16) | 6.3±0.5 (27) | | | 4.9±0.7 |
| Multistrata 3 | | | 10.2±0.9 (13) | 34.1±4.9 (40) | | | 14.2±2.8 (27) | 21.9±1.9 (20) | 19.5±2.1 |
| Monocultures | | | | | | | | | |
| Peach palm fruit | 99.3±0.6 | | | | | | | | 0.7±0.6 |
| Peach palm palmito | | 91.2±1.4 | | | | | | | 8.8±1.4 |
| Cupuaçu | | | 63.4±3.4 | | | | | | 36.6±3.4 |
| Rubber | | | | 82.3±4.8 | | | | | 17.7±4.8 |
| Citrus | | | | | | | 39.3±2.8 | | 60.7±2.8 |

^aValues in brackets denote the percent contribution of the respective species to the total number of trees in a multistrata system (see Table 1). In the monocultures this contribution is always 100%.

^bIn multistrata systems 1 and 3 and the citrus monoculture the ground cover was dominated by the planted cover crop, *Pueraria phaseoloides*; in system 2 by *Clidemia* sp.; in the rubber and cupuaçu monoculture by a mixture of *P. phaseoloides*, *Clidemia* sp. and grass (*Paspalum* sp., mainly in the monoculture of cupuaçu); and in the peach palm monocultures by *Achyranthes* sp. and *Clidemia* sp.

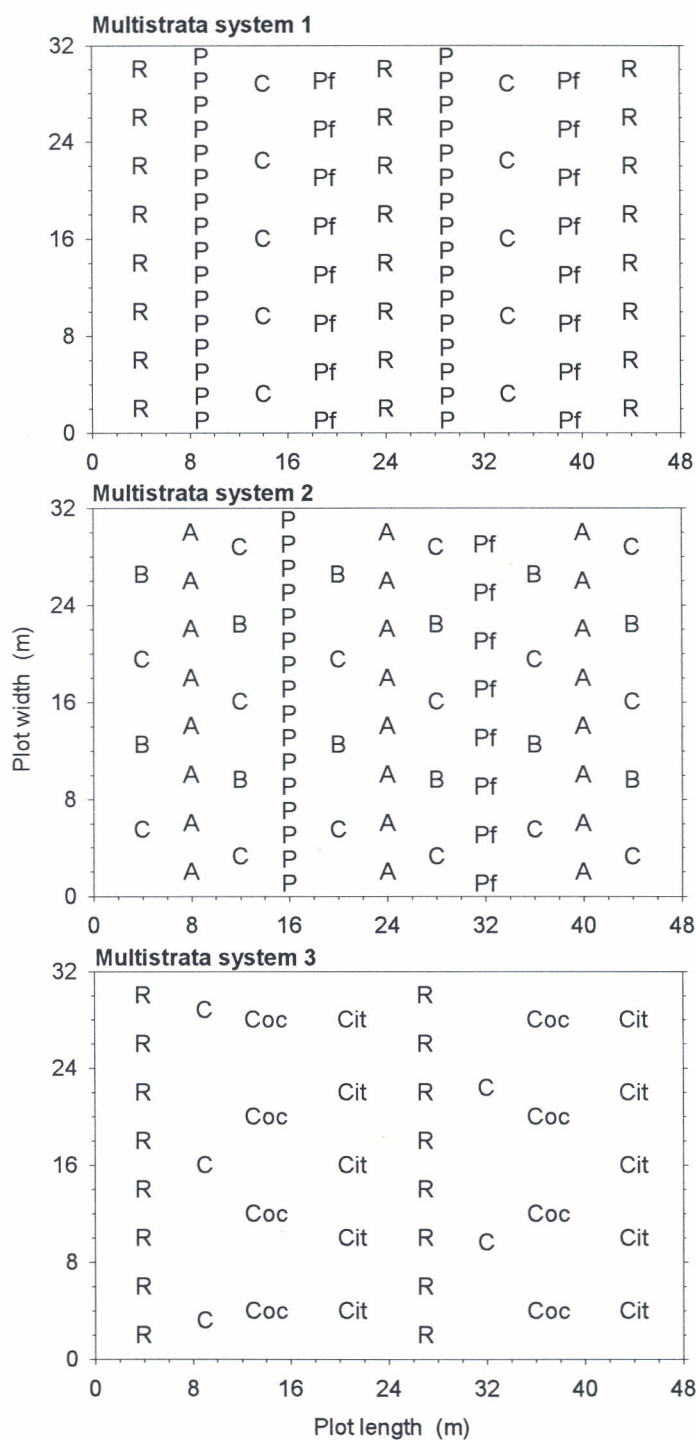


Figure 1: Layout of the three multistrata agroforestry systems in central Amazonia. R, rubber trees; P, peach palm for palmito; C, cupuaçu; Pf, peach palm for fruit; B, Brazil nut trees; A, annatto; Coc, coconut palms; Cit, citrus. For temporary intercrops see text.

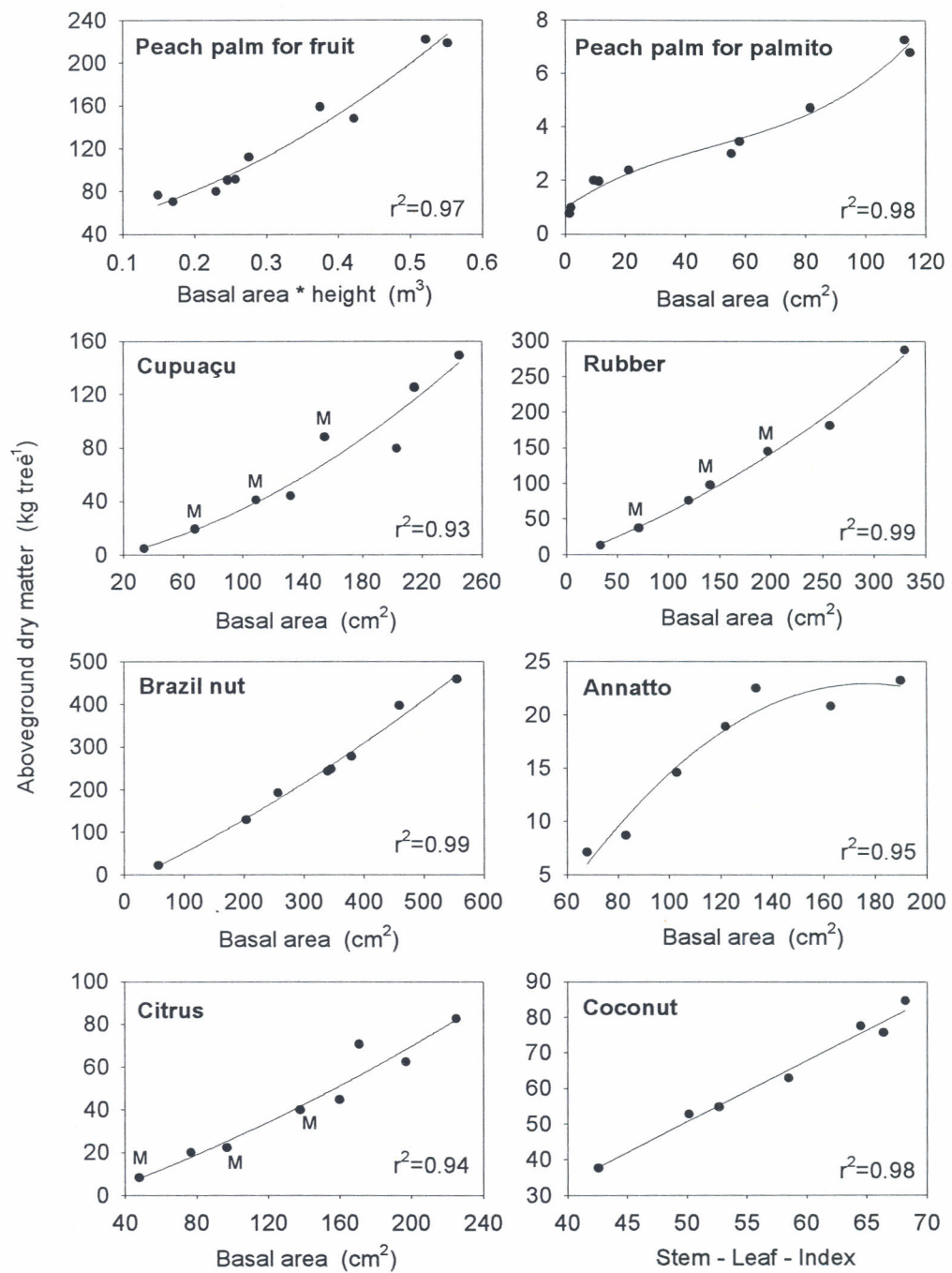


Figure 2: Allometric regressions for eight fruit tree species grown under agroforestry and monoculture conditions in central Amazonia after seven years in the field. For regression equations see Table 5. Data points marked "M" indicate trees taken from monoculture plots, all other trees were taken from multistrata plots.

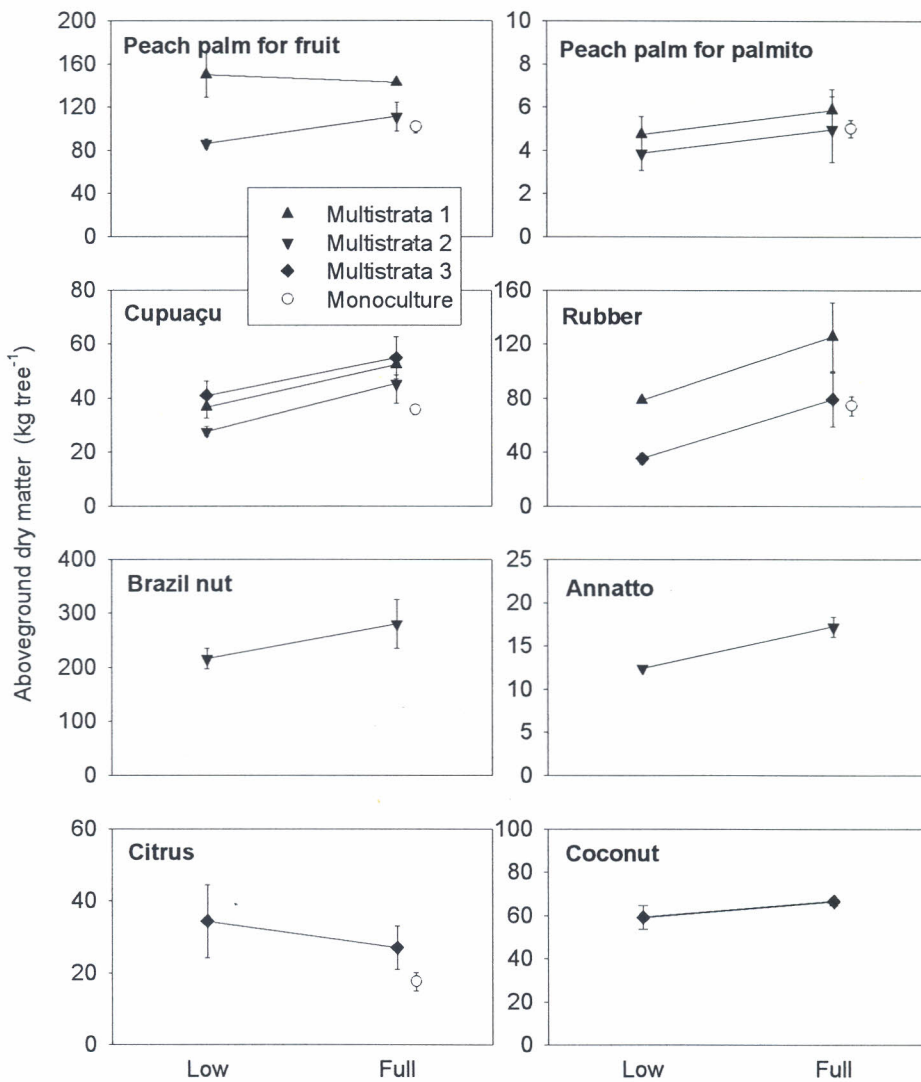


Figure 3: Aboveground dry matter of eight fruit tree species grown under agroforestry and monoculture conditions in central Amazonia after seven years in the field as affected by two fertilizer inputs (means and s.e.)

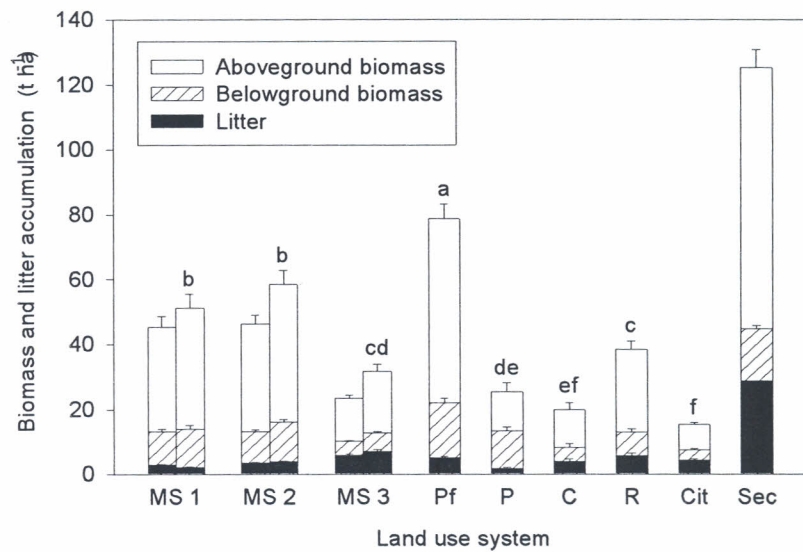


Figure 4: Above- and belowground biomass and litter accumulation in three multistrata agroforestry systems and five monocultures in central Amazonia seven years after their establishment in the field, and of the 14-year-old secondary forest that would have occupied the area in the absence of the plantations (means and s.e.). For the three multistrata systems (MS), the left column indicates the low and the right column the full fertilization level. Symbol meanings: Pf, peach palm for fruit; P, peach palm for palmito; C, cupuaçu; R, rubber trees; Cit, citrus; Sec, secondary forest. The letters indicate significant differences between land use systems for the full fertilization level.

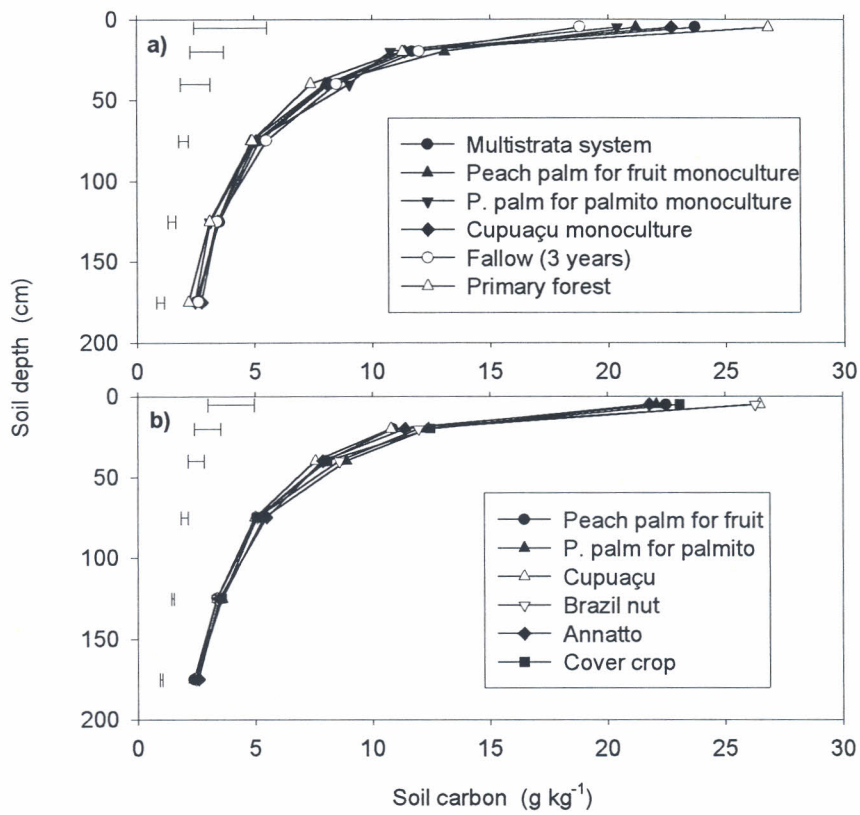


Figure 5: Carbon concentration in a xanthic Ferralsol to 2 m depth under different vegetation types (a) and different tree and cover crop species in a multistrata agroforestry system (means of two fertilization levels, b). Error bars depict one standard error of the mean difference for the respective depth interval.

Anhang 3

Microclimatic influence on cupuaçu plants (*Theobroma grandiflorum*) grown on degraded terra firme areas: Estimation of stomatal limitation to photosynthetic assimilation

Christoph Reisdorff

Universität Hamburg, Germany.

Introduction

In the last decades much attention has been concentrated on the Amazon region because of the conflict between industrial development and the risk of irrecoverable loss of biotic resources. One crucial point is the exploitative and non-adapted use of primary forest areas. There is an increasing demand for agricultural products of the capital Manaus, which is mainly supplied by imports from quite distant regions of Brazil.

If *terra-firme* rainforest areas are cleared and used in a conventional agricultural manner they are productive only for a short time span and tend to degrade rapidly, leading to an unrelieved incentive to clear primary forests for arable land. In this context it would be a feasible approach to reduce the human impact on primary forests by bringing forward the long term utilization of abandoned areas through self stabilizing cultivation systems. The ecological stabilizing capacity of an cultivation system, e.g. of an agroforestry system, depends on the one hand on the degree to which the cultivated plant species are adapted to the local pedoclimatic conditions. On the other hand the particular pedoclimatic conditions can be evidently altered at meso and micro scale depending on the functional coherence of above- and belowground structures of the developing plantation. Thus, it is necessary to consider integratively both the ecological profile of a particular crop species as part of particular agroforestry systems, and the ecological functionality of these systems.

In 1993 a field trial on an Amazonian *terra-firme* site was designed for a comparative study of different agroforestry systems with regard to their self stabilizing capacity. There are various scientific activities of different co-operational projects at the study site aimed at an integrative understanding of particular pedological, climatic and biological components of the exemplified agro-ecosystems containing *inter alia* the crop tree *Theobroma grandiflorum* (in Brazil named "cupuaçu").

The FAO considered cupuaçu as plant of great potential for agro-forestry in the Amazon for two reasons: The cupuaçu tree, a close relative of the cocoa tree, is native in the Amazon, and the high market value of the aromatic fruit flesh as well as the potential use of the seeds for chocolate-like products makes its cultivation economically very attractive, especially for small holders. Since the commercial cultivation of cupuaçu trees is not yet very prevalent in the Amazon there is still a need of knowledge concerning optimal agro-environmental conditions for its growth and production. The investigations presented here deal with the question, what pedoclimatic limitations could play an important role for the cultivation of cupuaçu plants on central Amazonian degraded *terra firme* sites, and to which extent these limitations could be compensated by appropriate cultivation systems.

Materials and Methods

The field trial was conducted on an abandoned area of 19 ha, a former rubber plantation situated within intact primary and secondary forest. After slash and burn the field was divided into plots of 48 to 32 meters. On these plots four agroforestry systems containing *T. grandiflorum* were implanted randomly: A monoculture (which has been designed according to common practice) and three mixed cultivation systems differing in spacing and species composition (cf. fig. 1). As additional variant each of these cultivation systems was fertilized by 30% or 100% of the recommended dose. Since the experimental site was surrounded by primary and dense secondary forest the distance of each plant to the forest border was also taken into consideration as ecological variable. The development and production of the 750 cupuaçu trees have been monitored from the third to the fifth year and the data were analyzed in relation to the particular treatments and agro-environments.

Since installation of the experiment the climatic parameters were recorded continuously by a climate station located in the centre of the experimental field. The microclimatic gradient from the forest border into the plantation was measured in march 1999 by PICHE-evaporimeters and by an ASSMANN psychrometer.

Studies on plant water relations have been carried out on single plants. The root area of a five years old cupuaçu tree was cut off from rain water and surface flux. The plant's uptake of the water stored in the soil was monitored indirectly by measuring the volumetric water content of the soil via time-domain-reflectometry (TDR). The TDR-probes were installed near the trunk, in 1 m and in 2 m distance to the plant, at depths of 10 cm, 50 cm and 100 cm. The soil humidity of an adjacent untreated cupuaçu tree was recorded in the same manner.

Preferebly on days without rain the time course of leaf transpiration resistance of the treated plant and the control tree was measured using a Delta-T diffusion-porometer. Air temperature and humidity were measured at about 3 m distance to the plants' crowns by an ASSMANN psychrometer, the global irradiance in the range from 400 nm to 1400 nm was recorded via a Delta-T tube-solarimeter.

Empirical models of stomatal resistance of cupuaçu plants have been computed by multivariate regression terms which were approximated to the raw data by the quasi-Newton-method (StatSoft 1997). These models have been developed separately for the treated plant (low water availability) and the control plant. The data of the climate station were feed into these models in order to simulate the stomatal conductance for this period. In order to estimate the potential influence of higher air humidity, the models were feed additionally with modified values of vapor pressure deficit (VPD), which have been reduced to a magnitude characteristic for the microclimatic sphere of the forest. The mathematical model of photosynthesis developed by Farquhar & Von Caemmerer (1982) has been used to roughly calculate the potential stomatal limitation to CO₂ fixation during the mentioned period. The ribulose-1,6-bis-phosphate (RuBP) saturated rate of photosynthesis ($A_{\{c\}}$), where CO₂ is the minimum factor of carboxylation rate of rubisco, and the RuBP limited rate of photosynthesis ($A_{\{j\}}$), repectively, have been calculated by the formula

$$A_{\{c\}} = \frac{V_{c\max} \cdot (p_i - \Gamma^*)}{p_i + K_m} - R_{day} \quad A_{\{j\}} = \frac{J \cdot (p_i - \Gamma^*)}{4 \cdot (p_i + 2 \cdot \Gamma^*)} - R_{day}$$

where A is the assimilation rate, $V_{c\max}$ is the rate of assimilation at saturating intercellular partial pressure of CO_2 , p_i is the intercellular partial pressure of CO_2 , Γ^* is the CO_2 compensation point in absence of dark respiration, K_m is the Michaelis-Menten constant for the carboxylation reaction (that takes into account competitive inhibition by O_2), J is the rate of electron transport, and R_{day} is the dark respiration during photosynthesis.

Results and Discussion

The four agroforestry systems developed very different structural features, which is illustrated in fig. 1. The depictions of the crown projection areas demonstrate the decreasing density from system 1 to system 2 to system 3, and finally the lowest density in the monoculture. During the first four years none of the cupuaçu trees was shaded to a relevant extend by the neighbored plants either in the most dense system. Regarding the lack of direct interaction between the neighbored plants we expected no remarkable differences of plant development between the agroforestry systems. But we observed significant differences of the vegetative development of the cupuaçu-plants, being advanced in system 1, intermediate in system 2 and minor in system 3. In the monoculture the development of the plants was most retarded. The fruit production in the third, fourth and fifth year of growth showed the same pattern: the highest productivity was observed in system 1, followed by system 2 and system 3. In the monoculture only very few plants developed fruits. Not only the production, but also the rise of productivity had the same order, which was highest in system 1 and lowest in the monoculture (fig. 2).

The plant development and production corresponded with the density of the cultivation systems. This could be due to a higher quantity of fertilizer per area in the dense plantation systems. This hypothesis would be proof, if higher doses of fertilization would at least partially compensate the observed "system effect". As mentioned before, every cultivation system existed in two variants. We observed only a slight tendency of higher productivity in the 100%-variants compared to the 30%-variants, which was not significant. Hence, the system effect was considerably stronger: Comparing for instance the 100%-variant of system 3 with the 30%-variant of system 1, we observed that the plants in system 1 were developed better and produced more fruits than the plants which received the threefold quantity of fertilizer in system 3 (fig. 3). Thus, it seems not probable, that the "system effect" is uniquely a result of an improved nutrient supply by fertilization in the dense systems.

Could favorable micro-climatic conditions in the dense plantation systems be responsible for the improved plant development? If the cupuaçu plants would be sensitive to the micro-climate, then even micro-climatic gradients should lead to measurable gradients of plant development. The experimental field is surrounded by primary and secondary forests. We measured a continuous gradient of decreasing humidity and increasing temperature from the forest border to the inner parts of the field, resulting in a twofold to threefold increase of vapor pressure deficit over a distance of about 50 meters (fig. 4). The development of cupuaçu-plants showed a clear and significant gradient parallel to this climatic gradient, with

best development in the most humid sphere near the forest (fig 5). Hence, the micro-climatic influence on fruit production was less pronounced in humid years, and more pronounced in dry years, especially during the El Niño-phenomenon which was marked by extreme draught in the Central Amazon (data not shown). Thus, we came to the conclusion, that the micro-climatic gradient must have influenced the water balance of cupuaçu plants, leading to less incidence of stress or at least leading to less water limitation of primary production in the micro-climatic sphere of the adjacent forest.

The effect of the microclimatic gradient was stronger in the open cultivation systems, whilst there was nearly no effect in the most dense system (fig. 5). Hence, near the forests the vegetative development of the cupuaçu plants in all systems was nearly equal. But with increasing distance to the forest the plants in the systems 2 and especially in system 3 were developed worse. This observations give evidence to the hypothesis, that in systems with higher planting densities the development and productivity of cupuaçu plants was fostered by the stabilization of favorable micro-climatic conditions which counteract rapid water losses during dry periods.

This hypothesis rised the question, to which extend water availability could be a limiting factor in the central Amazon. The climate at the study site reveals, that in spite of the vast precipitation, relative dry periods of at least 6 to 20 days per month are common from June to September. Beside this seasonal dry periods, series of 3 to 5 days without precipitation occur nearly every month during the observed five years. Measurements of the water content of the top soil at different cupuaçu-stands showed that after only 4 days without rain the water potential especially near the cupuaçu trunk can fall rapidly towards critical values (data not shown). In a draught experiment a five years old cupuaçu-tree was cut off from above ground water supply by sheltering its rooting area against rain. The water uptake of the tree could be followed by measuring the decrease of soil humidity. It became evident, that the water uptake was most intense in the upper soil layer, and the use of the water resources of deeper soil regions was very limited.

The measurments of transpiration resistance during the drought experiment revealed, that decreasing water availability of the soil led to a higher sensitivity of the stomata against vapor pressure deficit (VPD). A tendency of stomatal closure around midday has not been observed in none of the diurnal measurements. But the stomatal reaction on VPD becomes stronger in the course of a day indicating a progressive impairment of the water status of the plant. This is illustrated by fig. 6 which compares grafically the models for stomatal resistance which have been developed on the basis of the diurnal transpiration resistances of the control plant and of the plant which suffered from reduced water availability.

Could the observed range of stomatal resistance limit the CO₂ flux and, thus, the assimilation of cupuaçu leaves? The photosynthesis model developed by Farquhar & Von Caemmerer (1982) was applied assuming a maximum rate of carboxylation at saturating intercellular partial pressure of CO₂ (V_{cmax}) of 100 and 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectively, and a rate of electron transport (J) of 140 and 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. These values cover the range which is referred in the literature. The other parameters which are reported to be remarkably similar among higher plants (Lambers et al. 1998, Jones 1992) have been calculated according to Farquhar and Wong (1984) as follows: $\Gamma^* = 41 \mu\text{bar}$, $K_m = 691 \mu\text{bar}$, $R_{day} = 0,011 \cdot V_{cmax}$. The resulting CO₂ demand functions are shown in figure 7. In the same graph two stomatal conductances to CO₂ (derived from the data of transpiration resistance) are diagrammed as

supply functions, indicating the operational range of the stomatal conductance of the examined cupuaçu plants (maximum at about $g = 90$ and minimum hourly average at about $g = 30 \text{ mmol m}^{-2} * \text{s}^{-1}$). The deduced relationship between the leaf conductance for CO_2 and the assimilation rates shows, that the actual rate of CO_2 assimilation could be lowered up to 50 % or 60 % respectively of the maximum rate by stomatal limitation of the CO_2 flux.

Thus, on the basis of diurnal courses of transpiration resistance it can be estimated to which extend the stomatal limitation potentially affect the carbon balance. In figure 8 this analysis is exemplified for a day in april 1999. The stomatal limitation of assimilation has been calculated on the basis of measured leaf resistances of the control plant and of the cupuaçu tree under reduced soil water availability. These calculations have been conducted using the demand functions assuming a carboxylation maximum V_{max} of 100 and 50 $\mu\text{mol} * \text{m}^{-2} * \text{s}^{-1}$ respectively (values for the latter assumption in brackets). In addition it has been calculated to which extend a reduced vapor pressure deficit of the surrounding air could result in an attenuation of stomatal reaction and, thus, in a mitigation of stomatal limitation. For this purpose the recorded climate parameters for this day were fed in the model of transpiration resistance assuming a reduced VPD. In the sum of the day the potential assimilation of the stressed plant was reduced to 73,2 % (78,9 %) in comparison to the control plant. This limitation was attenuated to 84,7 % (88,8 %) when the stomatal reaction was modelled assuming lower VPD which have been reduced to a magnitude that was observed to be characteristic for the microclimatic sphere of the forest. This means that under low water availability the potential primary production of cupuaçu plants in the microclimatic sphere of the forest could have been around 10 % higher than in the unmodified microclimate in the central parts of the field.

Since cupuaçu plants are characterized by a very slow increase of above and below ground biomass during the first two to three years, the soil volume used for water uptake is comparatively small in this phase. Thus, there must have been a considerable incidence of water stress especially during the initial phase of the cultivation experiment. In the microclimatic sphere of the adjacent forest as well as in more dense cultivation systems the water stress was likely to be less pronounced. The data indicate that two additive factors could have led to the very effective mitigation of water stress in the more humid microclimates: A prolonged water availability in the major catchment area of the cupuaçu roots and a lower incidence of stomatal limitation to assimilation.

References

- Allen, M.T., Percy, R.W., 2000: Stomatal versus biochemical limitations to dynamic photosynthetic performance in four tropical rainforest shrub species. *Oecologia* 122, 479-486.
- FAO, 1986: Food and fruit-bearing forest specials; 3: Examples from Latin America. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO-Forestry Paper 44/3, Rome 1986, 289-308.
- Farquhar, G.D., Sharkey, T.D., 1982: Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33, 317-345.
- Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., 1982: Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In: *Encyclopedia of plant physiology*, Vol 12B, O.L. Lange, C.B. Osmond, H. Ziegler (eds.). Springer-Verlag, Berlin, 549-587.
- Farquhar, G.D., Wong, S.C., 1984: An empirical model of stomatal conductance. *Aust. J. Plant Physiol.* 11, 191-210.
- Jones, H., 1992: *Plants and Microclimate*. Cambridge University Press, Cambridge 1992, 428pp.
- Lambers, H., Chapin, S.F., Pons, T.L., 1998: *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag New York, 1998, 540pp.
- StatSoft, Inc., 1997: *Statistica handbook*. Tulsa, OK.

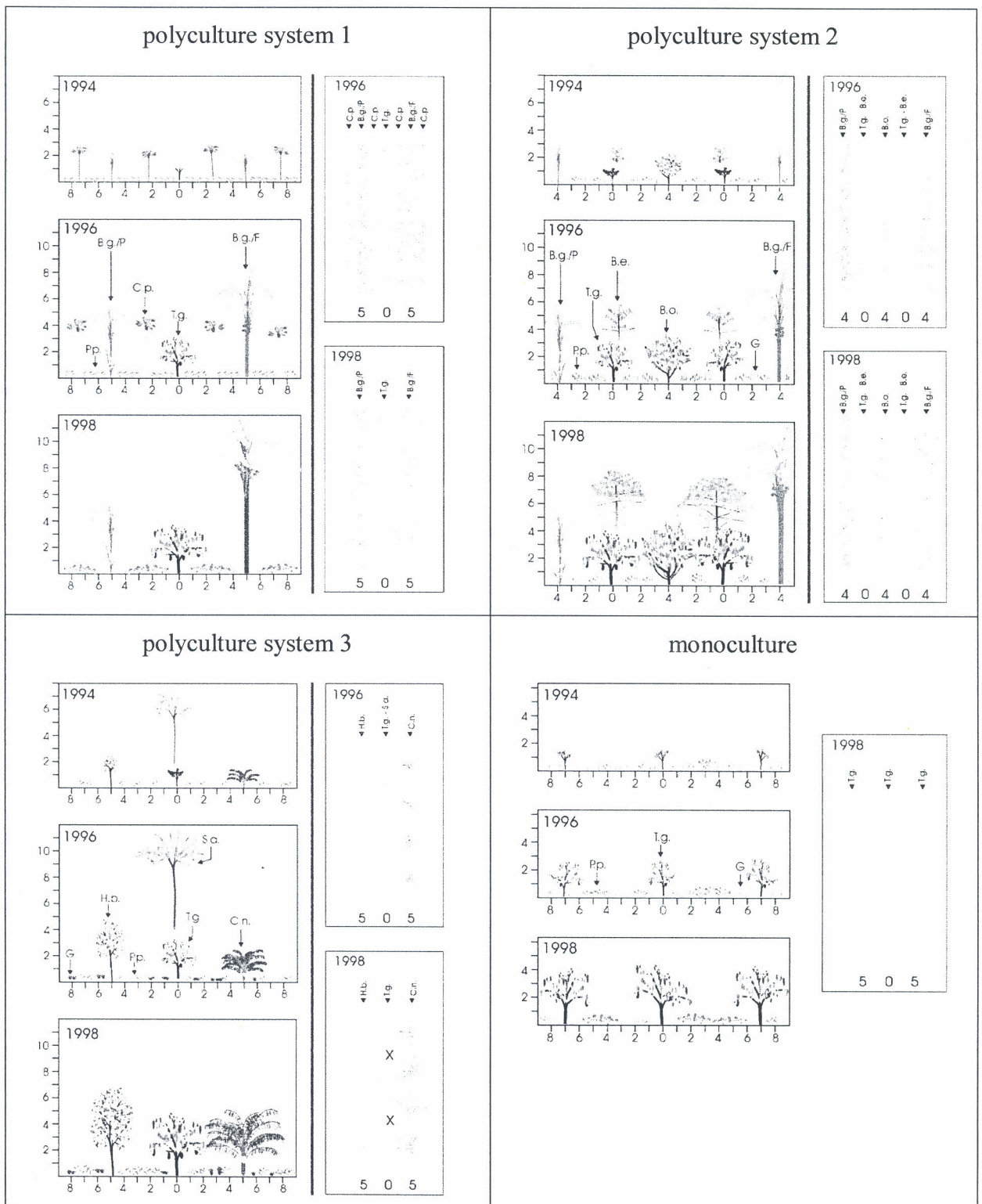


Fig. 1: Idealized illustration of structural traits of the four cultivation systems in the second, fourth and sixth year since plantation: crown projection area and transverse view on plant rows of cupuaçu and neighbored species.

T.g. – *Theobroma grandiflorum*; B.e. – *Bertholletia excelsa*; B.g./P - *Bactris gasipaes* for palmito production; B.g./F – *B. gasipaes* for fruit production; B.o. – *Bixa orellana*; C.n. – *Cocos nucifera*; C.p. – *Carica papaya*; H.b. – *Hevea brasiliensis*; S.a. – *Schizolobium amazonicum*; P.p. – *Pueraria phaseoloides*; G – gramineous (mostly *Homolepis aturensis*). In system 3 *S. amazonicum* was replaced in 1996 by young trees of the timber species *Khaya ivorensis*, *Licaria canela* or *Calophyllum brasiliense* (symbolized by „X“). Scaling in meters.

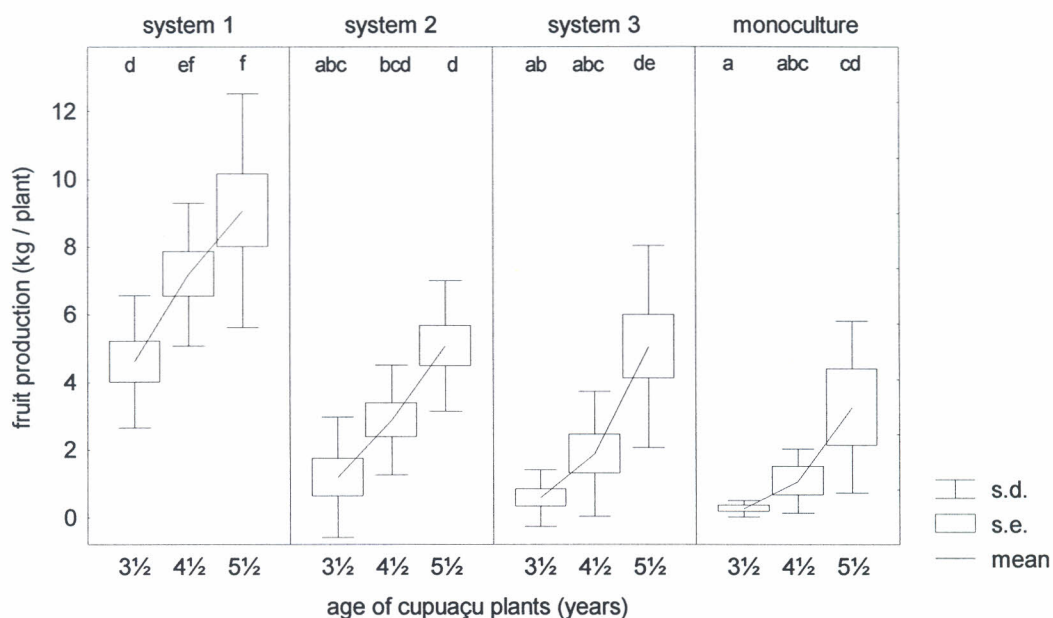


Fig. 2: Fruit production of cupuaçu trees in the four agroforestry systems after 3½, 4½ and 5½ years.

The mean values per plot of fruit production in kg per tree in the years 1996, 1997 and 1998 were analyzed by ANOVA (n=10 for system 1, 2 and 3, n=5 for the monoculture. The mycorrhiza inoculated variants have not been included in the statistical test, since the +M-variants of system 3 have been modified by planting additional plant rows at the end of 1995). Different letters at the top of the graph indicate significant differences at p<0.05 (Tukey's HSD test for unequal N).

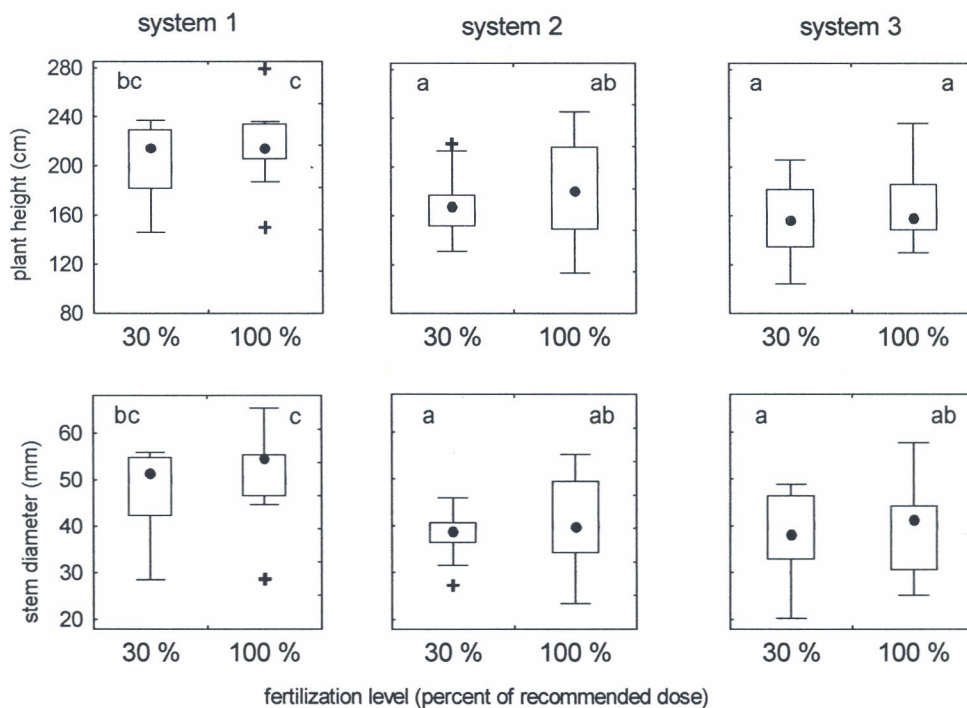


Fig. 3: Vegetative development of 3 years old cupuaçu plants in the four agroforestry systems at two fertilization levels.

Median, 25-75-percentile and range ("+" indicate outliers) of plant height and stem diameter. The mean values per plot were analyzed by ANOVA (n=10). Different letters at the top of the graph indicate significant differences at p<0.05 (LSD test).

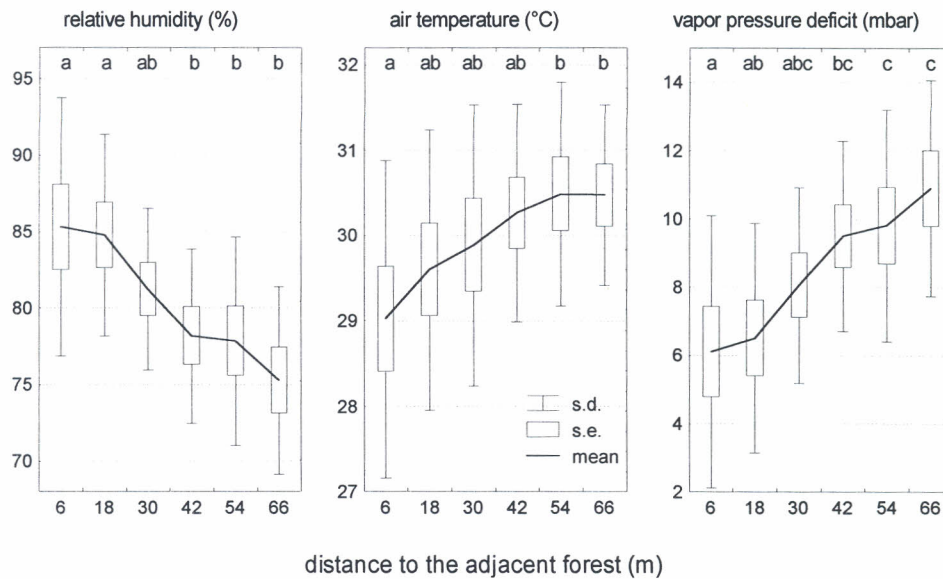


Fig. 4: Microclimatic gradient from the adjacent forest into the plantation.

Data basing on measurements of wet and dry bulb temperatures with an aspirated ASSMANN psychrometer 1 m above ground at different days in march 1999 between 11 a.m. and 3 p.m. Different letters at the top of the graph indicate significant differences at $p < 0.05$ ($n=9$, LSD test).

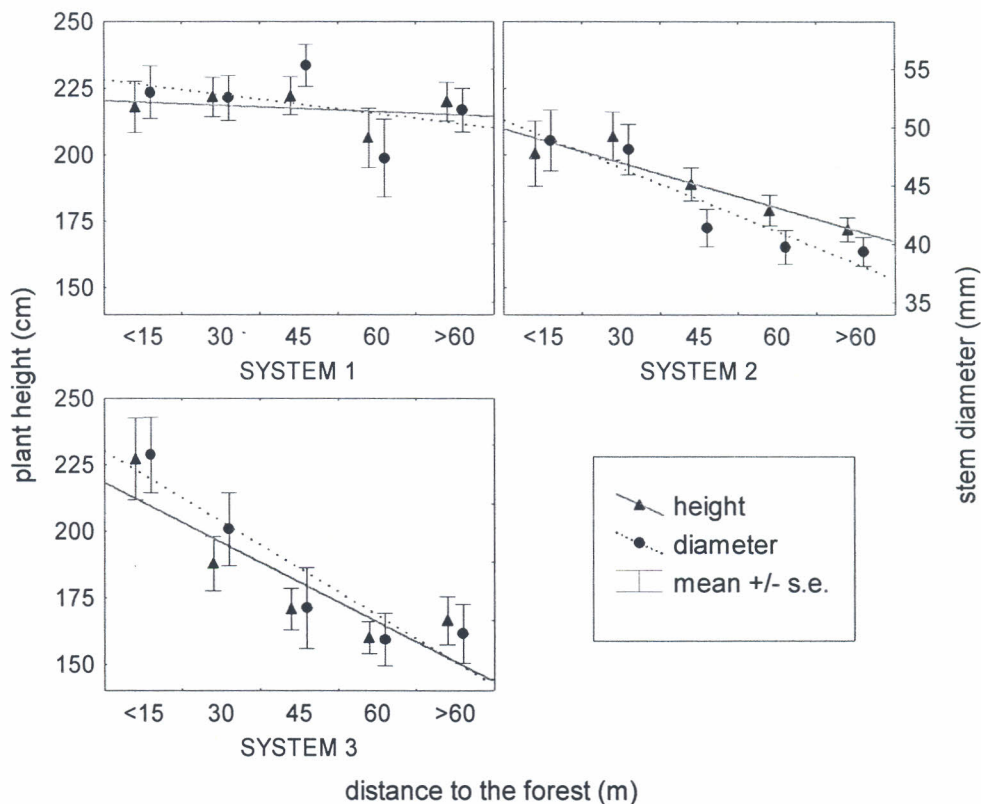
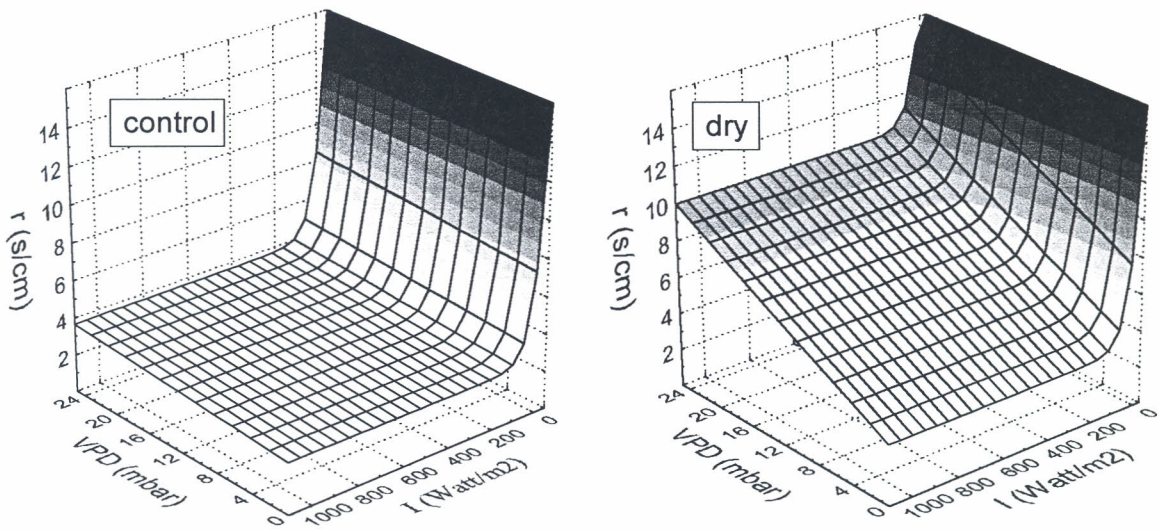


Fig. 5: The influence of the microclimatic gradient (from the adjacent forest into the plantation) on the vegetative development of cupuaçu plants in agroforestry systems of different plant densities.

Plant height and stem diameter of 3 years old cupuaçu plants at increasing distances to the adjacent forest. Plot of mean values, standard error and linear regressions. Number of analyzed plants: 160 in system 1, 240 in system 2 and 80 in system 3.

leaf resistance vs. VPD and irradiance



leaf resistance vs. VPD and day time

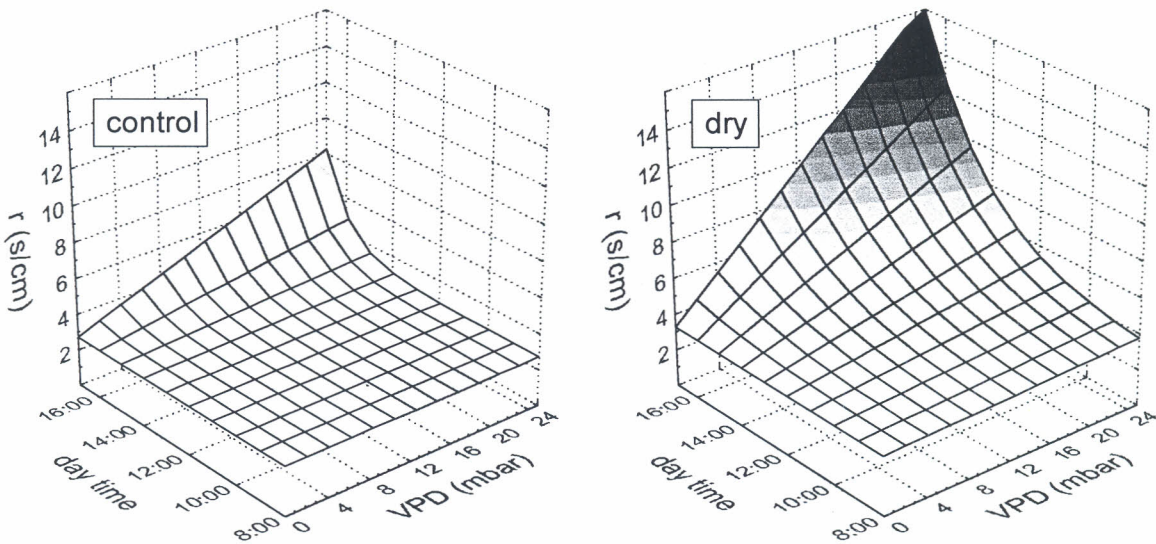


Fig. 6.: Regression models of the stomatal reaction of cupuaçu plants on irradiance and on vapor pressure deficit in a day course.

Regressions have been conducted on the basis of day courses of transpiration resistance of neighbored plants, from which one has been cut off from rain and above ground water flux ("dry" variant). The volumetric water content of the soil in the roots' catchment area was between 34 % and 38 % in the control and between 18 % and 27 % in the dry variant. The regression terms are:

control $r = (8,8 + 0,14 \cdot VPD \cdot e^{(-14,67 + 23,33 \cdot t)} + 0,15 \cdot e^{(4,7 - 25,5 \cdot 10^{-3} \cdot I)}) \cdot 0,31$
 $R = 0,83$; proportion of variance explained: 69,5%

dry $r = (6,8 + 0,27 \cdot VPD \cdot e^{(-4,84 + 8,91 \cdot t)} + 0,15 \cdot e^{(4,7 - 25,5 \cdot 10^{-3} \cdot I)}) \cdot 0,48$
 $R = 0,86$; proportion of variance explained: 73,1%

r: stomatal transpiration resistance (s/cm); VPD: vapor pressure deficit (mbar); t: day time (h); I: global irradiance (Watt/m²), e: Euler's e.

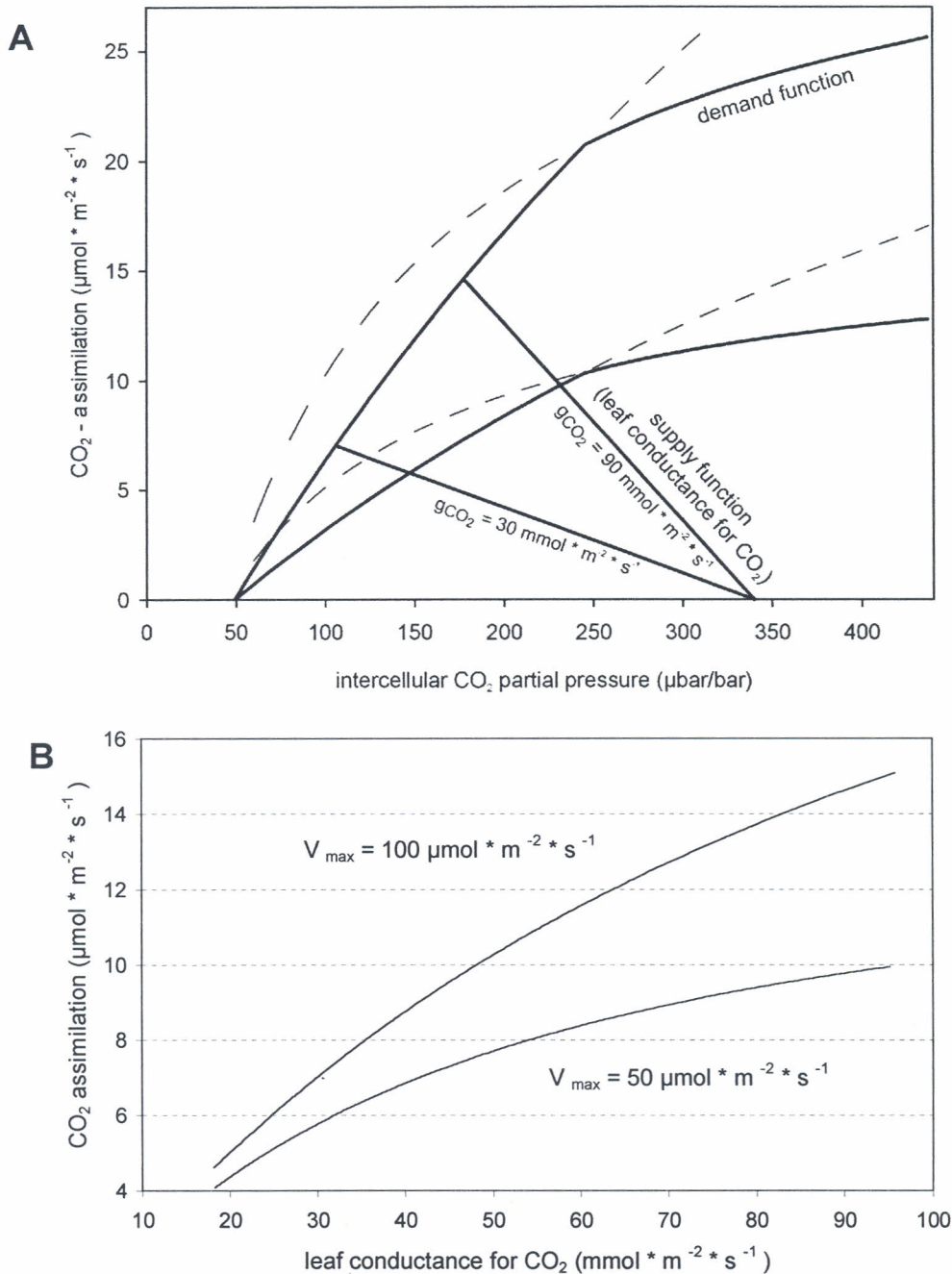


Fig. 7 A: Relationship between the assimilation rate and the intercellular partial pressure of CO₂ for a model leaf of a C₃ plant (demand functions), and the rate of diffusion of CO₂ from the atmosphere to the intercellular space limited by the leaf conductance (supply functions). **B:** Rate of assimilation versus the conductance for the metabolic characteristics shown in fig. A. Graphical presentations according to the model proposed by Farquhar & Sharkey (1982). The demand functions in fig. A have been generated by the equations described in the materials and methods section, assuming a V_{cmax} of 100 (upper graph) and 50 μmol * m⁻² * s⁻¹ respectively, a rate of electron transport (J) of 140 (upper graph) and 70 μmol * m⁻² * s⁻¹, Γ* = 41 μbar, K_m = 691 μbar, R_{day} = 0,011 * V_{cmax}. The two curves define a probable operation range of photosynthesis of C₃ plants like cupuaçu. The supply functions mark the operational range of leaf conductance for CO₂ of the examined cupuaçu plants. The intersections of the demand functions with the supply functions indicate the maximum of possible assimilation rates at the particular stomatal aperture. This is shown in fig. B which shows the relationship generated by varying the "supply function".

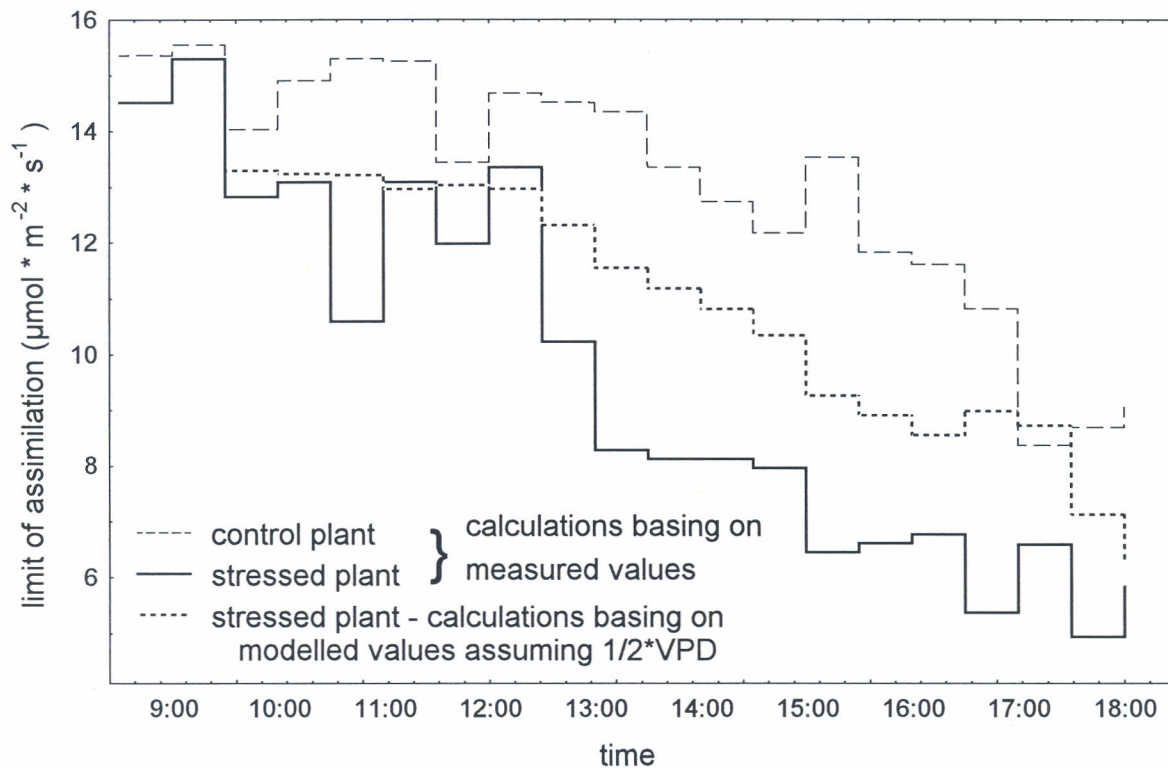


Fig. 8: Example for potential stomatal limitation to assimilation in a day course

The stomatal limitation to the potential assimilation has been calculated on the bases of measured transpiration resistances of the leaves of the control plant and under reduced soil water availability, assuming a carboxylation maximum V_{max} of $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. In addition it has been calculated to which extend a reduced vapor pressure deficit could result in an attenuation of stomatal reaction and, thus, in a mitigation of stomatal limitation. For this purpose a day course of transpiration resistance was simulated by the stomatal model described in fig. 6 using the recorded climate parameters of the respective day assuming a reduced VPD.

Anhang 4

Mineral exchange and uptake in *Bactris gasipaes* roots under nutrient solution conditions

Susanne Emmerich^{1,2)}, Arnd J. Kuhn^{2,3)}, Rainer Lösch¹⁾, Walter H. Schröder³⁾,
Reinhard Lieberei²⁾

¹⁾Department of Geobotany, Heinrich-Heine-University Düsseldorf,

²⁾Institute of Applied Botany, University Hamburg,

³⁾Institute of Biological Information Processing, Research Centre Jülich

Abstract

The palm *Bactris gasipaes* is an important food source for people in tropical South and Central America. The plant seems to perform well, even in degraded areas. In this study we investigated the uptake of potassium, calcium and magnesium and the exchange of these minerals between *Bactris* roots and a nutrient solution. The nutrient solution was labelled with stable isotope tracers: ⁴¹K, ²⁵Mg and ⁴⁴Ca. During the 48 hours of the experiment solution samples were taken at different times in order to quantify ion concentration changes from root nutrient exchange. The samples were analysed by ICP-OES and by laser-microprobe-mass-analyser. The *Bactris* plants distinctly showed an uptake of K in spite of a great efflux of K from roots into the solution. By contrast, during the experimental period mostly a net release of Mg and Ca to the solution occurred. The results possibly indicate different exchange in the root of monovalent K- and divalent Mg- and Ca-cations. It is obvious that *Bactris* shows a higher dynamic in uptake of cations than it has been reported from similar measurements in spruce.

Key words

Ion uptake - ion exchange - potassium - calcium - magnesium - *Bactris* - root - stable isotope

Introduction

The palm *Bactris gasipaes* KUNTH is native to the Amazon region. It is now cultivated throughout tropical South and Central America (FAO FORESTRY PAPER 1986). *Bactris* produces high yields of fruits, which are a rich source of starch (up to 3.8 t per hectare and year in the fruits), protein and oil (SMITH et al. 1992). Furthermore *Bactris* is probably the most suitable species for cultivation and production of palm hearts (up to 3 t per hectare and year) (MORAES 1994).

The *Bactris* root system typically develops into a compact "carpet" with a thickness of several cm in the upper soil (EMMERICH 1997). After four years growth one plant comes to a total root dry mass of 15.5 kg. The enormous root layer may contribute to a successful nutrient uptake under poor soil conditions.

In this study, we investigated the mineral uptake and the exchange of minerals between roots and a nutrient solution.

Methods

Roots of seven intact 20 month-old *Bactris* plants were exposed to a nutrient solution for 48 hours. The conditions of the experiment were chosen according to the climate and soil solution conditions of an agroforestry plantation near Manaus / Brazil – solution pH 4.6, solution temperature 26°C, 12 hour diurnal light rhythm, nutrient concentrations similar to the soil solution (Tab. 1). The nutrient solution contained stable isotope tracers: ^{41}K – 36 $\mu\text{mol/l}$, ^{25}Mg – 26 $\mu\text{mol/l}$ and ^{44}Ca – 70 $\mu\text{mol/l}$. During the 48 hours of the experiment solution samples were taken at different times in order to check changes of the ion composition. The samples were analysed by ICP-OES and by laser-microprobe-mass-analyser (LAMMA). The LAMMA is a laser light microscope with a high energy pulsed laser fitted to a time-of-flight mass spectrometer. The instrument is described in detail by HILLENKAMP et al. (1975). Isotope ratios of the labelled solution samples were determined by LAMMA (Fig. 1). Using this method it was possible to analyse not only the uptake of the cations but also the exchange of the cations between the plants and the labelled nutrient solution (KUHN et al. 2000).

| | K^+ | Mg^{2+} | Ca^{2+} | PO_4^{3-} | NO_3^- | SO_4^{2-} | Fe | Al | |
|---|--------------|------------------|------------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----|----|--|
| μM | 36 | 26 | 70 | 2 | 90 | 52 | 1,8 | 3 | |
| micronutrients B, Cu, Zn, Mo half as concentrated as in a Hoagland solution | | | | | | | | | |

Table 1: Nutrient solution composition.

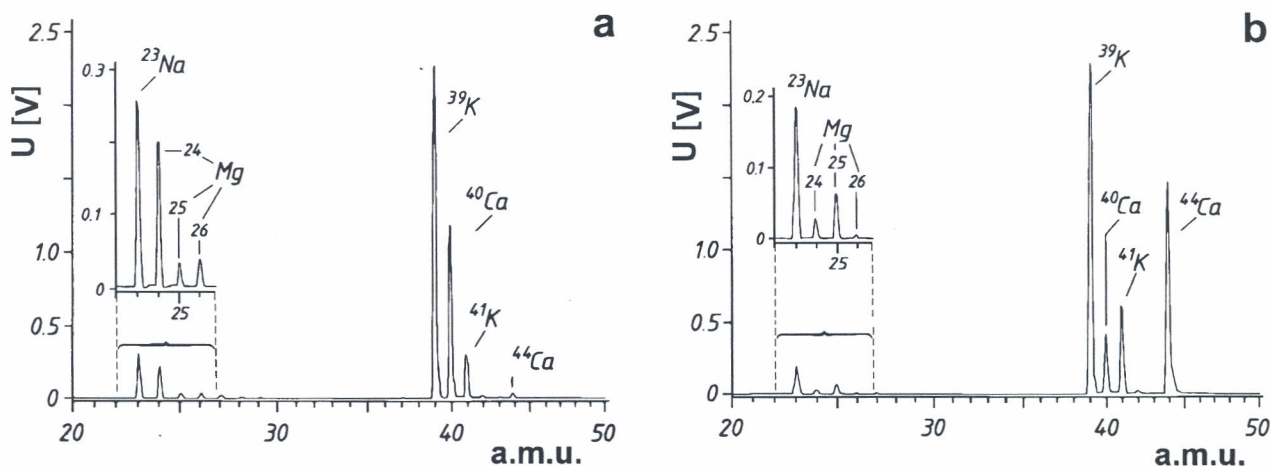


Figure 1: a) LAMMA spectrum of a solution with natural isotope composition.

b) LAMMA spectrum after labelling with different isotopes: ^{25}Mg , ^{41}K and ^{44}Ca .

a.m.u. = atomic mass unit, V = detector voltage

Results and discussion

The net uptake or net release of elements is the difference between the influx into roots and the efflux from roots into a solution. Labelling of a nutrient solution with stable isotope tracers allows to study these element exchange processes in detail. The exchange kinetics of potassium show a rapid element exchange during the first hour (Fig. 2, plant 6). Here a fast element exchange between the solution and the apoplasm of the roots is evident. The plant takes up labelled potassium and releases unlabelled potassium into the nutrient solution. After 24 hours the potassium influx of plant No. 6 reached a steady state level due to equilibration with the nutrient solution. There was only few potassium left in the nutrient solution and the plant took up both labelled and unlabelled, previously released potassium.

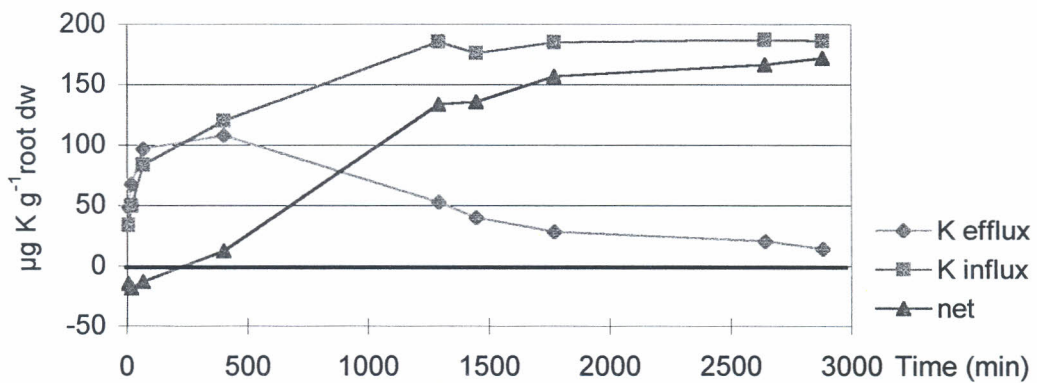


Figure 2: K efflux, influx and net uptake of plant No. 6.

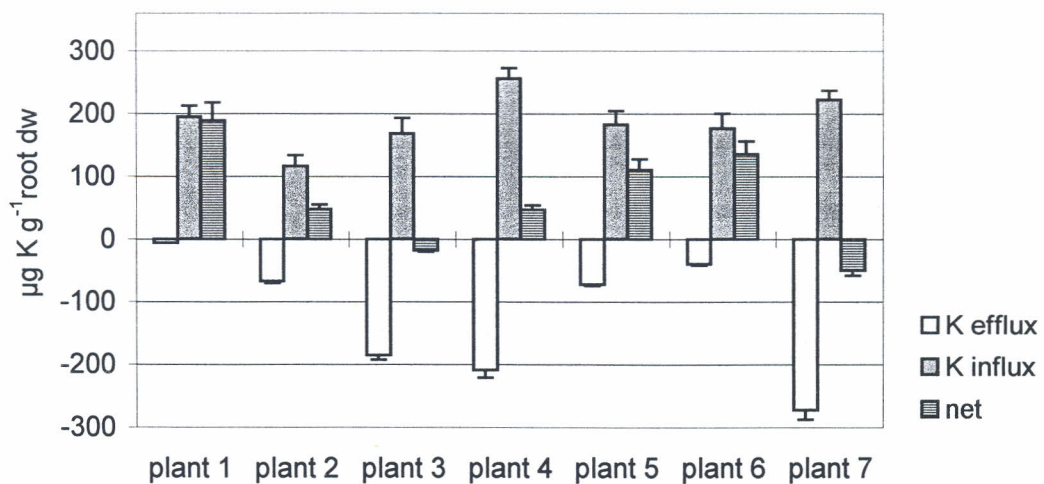


Figure 3: K efflux, influx and net uptake of the *Bactris* plants after 24 hours.

The comparison of the element exchange especially of the efflux shows a high variability between the seven plants (Fig. 3). After 24 hours the average efflux amounted $122 (\pm 100) \mu\text{g K g}^{-1}$ root dry weight, the influx $188 \mu\text{g K g}^{-1}$ root dry weight. The real potassium uptake was 2.8 fold bigger than the net one of $66 \mu\text{g K g}^{-1}$ root dry weight.

Five of the seven *Bactris* plants examined showed a distinct uptake of potassium (Fig. 4). The variability among the plants was high. Plants No. 3 and 7 showed a net release of potassium into the nutrient solution, while plant No. 1 came to a net uptake of $190 \mu\text{g K g}^{-1}$ root dry weight in 48 hours. The average net uptake rate of potassium amounted $2.7 \mu\text{g}$ per g root dry weight and hour. Plant No. 1 ran down the nutrient solution to 0.05 mg K l^{-1} ($1.3 \mu\text{M K}$). This is in the range of the required minimum concentrations of maize ($2 \mu\text{M}$, BARBER 1997) and barley ($1 \mu\text{M}$, DREW et al. 1984).

KUHN (1993) found an efflux and influx of two year old spruce trees of $8.9 \mu\text{g K g}^{-1}$ root fresh weight h^{-1} each (conc. of the nutrient solution 1 mM K). The examined *Bactris* plants showed a distinct higher efflux ($22 \mu\text{g K g}^{-1}$ root fresh weight h^{-1}) and influx ($34 \mu\text{g K g}^{-1}$ root fresh weight h^{-1}) in spite of a much lower potassium concentration in the nutrient solution ($36 \mu\text{M K}$).

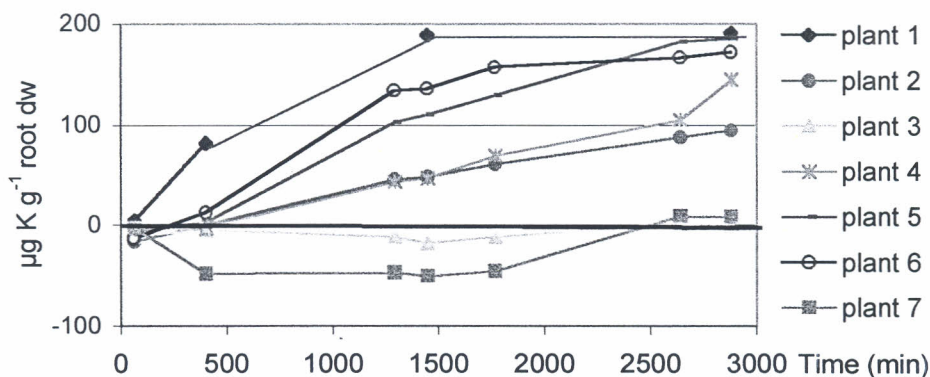


Figure 4: K net release (-) and net uptake (+) into the single plants.

Almost all *Bactris* plants had a net release of the divalent cations magnesium and calcium into the nutrient solution (Fig. 5 and 6). Only plant No. 1 showed a net uptake of magnesium and plants No. 4 and 7 a net uptake of calcium. The *Bactris* plants needed more than 48 hours to reach a steady state of exchange with the solution (Fig. 7). After two days there was still a net release of the two elements into the nutrient solution (Fig. 8 and 9).

The uptake of an element is strongly affected by the nutritional status of a plant. Feedback mechanisms may regulate the efflux and influx of nutrients (MARSCHNER 1997). In the present case obviously the magnesium and calcium content of the *Bactris* plants was sufficient so that even a net loss was possible. The element concentration in the nutrient solution is of importance as well for the ion balance. At low external concentrations, as in this study, efflux can become similar in magnitude or even higher than influx (MARSCHNER 1997). On average the efflux amounted $11.5 \mu\text{g Mg}$ and $55 \mu\text{g Ca g}^{-1}$ root fresh weight h^{-1} . The influx amounted $8.7 \mu\text{g Mg}$ and $48 \mu\text{g Ca g}^{-1}$ root fresh weight h^{-1} .

KUHN (1993) found much lower efflux and influx rates for two year old spruce trees: $0.6 \mu\text{g Mg}$ efflux and $2.7 \mu\text{g Mg}$ influx g^{-1} root fresh weight h^{-1} , $4.2 \mu\text{g Ca}$ efflux and $4.5 \mu\text{g Ca}$ influx g^{-1} root fresh weight h^{-1} (external concentration 1mM Mg , 1mM Ca). Thus, *Bactris* showed a much higher dynamic in cation uptake than spruce.

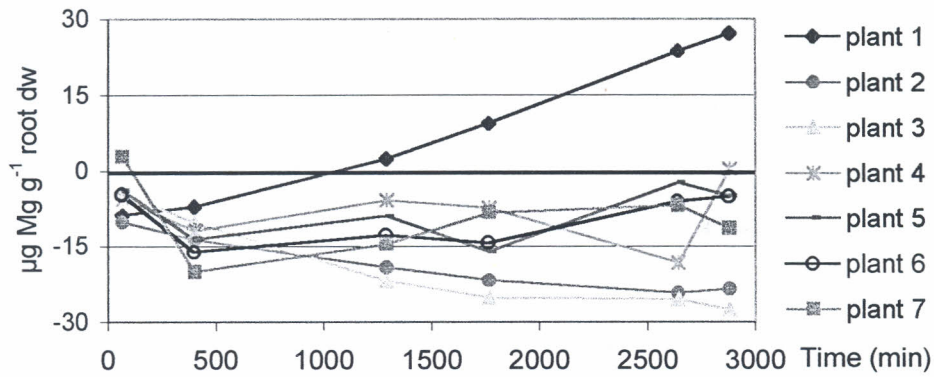


Figure 5: Mg net release and net uptake into the single plants.

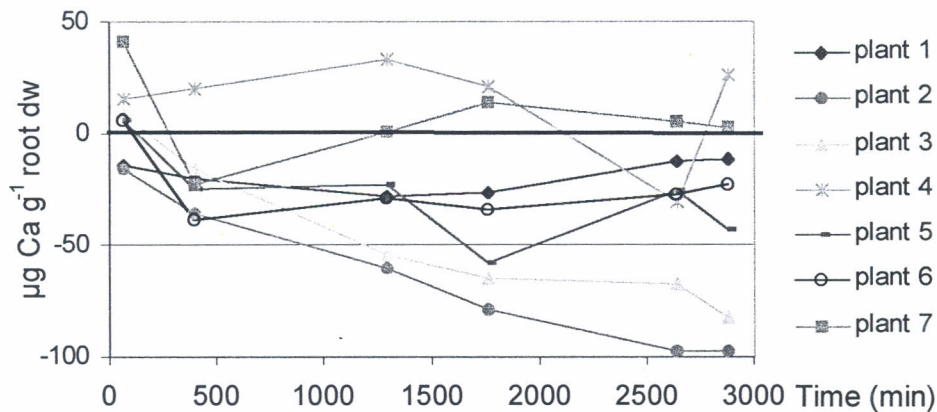


Figure 6: Ca net release and net uptake into the single plants.

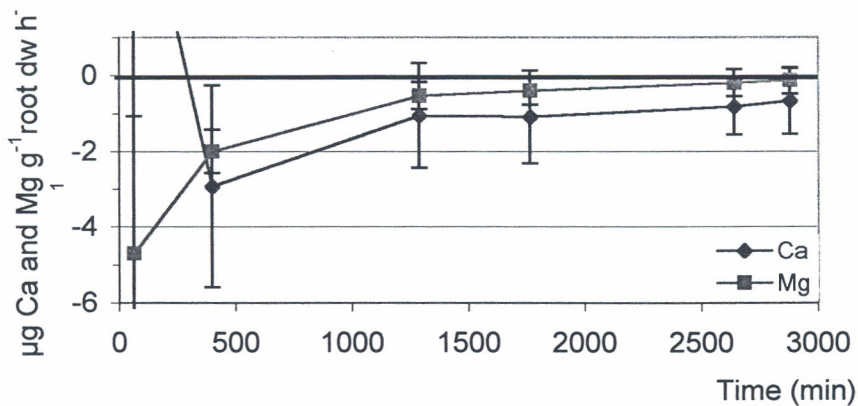


Figure 7: Mean net release of Mg and Ca per hour.

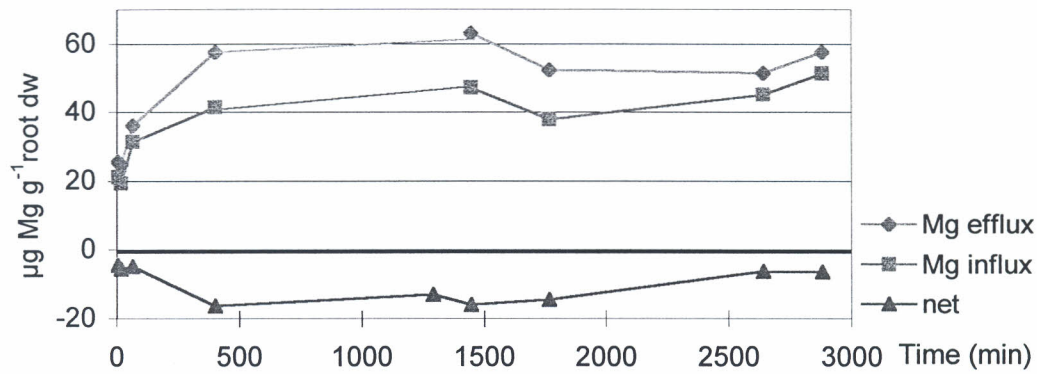


Figure 8: Mg efflux, influx and net uptake of plant No. 6.

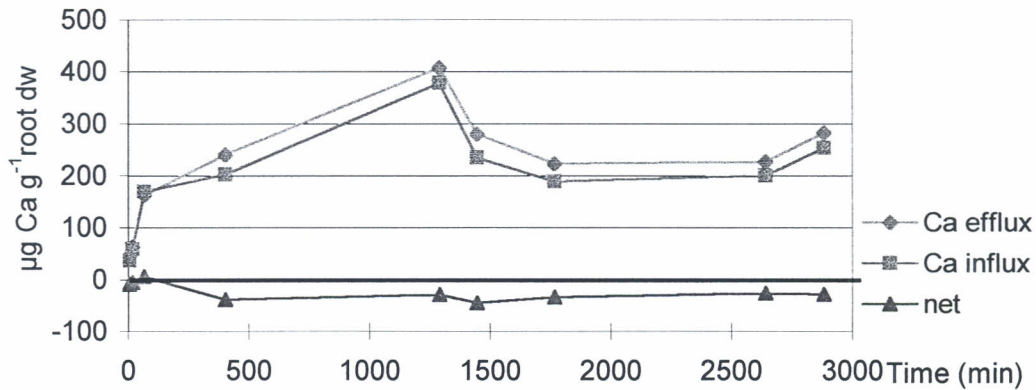


Figure 9: Ca efflux, influx and net uptake of plant No. 6.

The magnesium and calcium exchange shows a smaller variability between the seven plants than it is the case with the potassium exchange (Fig. 10 and 11). The standard deviation (SD) of the K efflux rates is much higher than that calculated for the Ca and Mg efflux rates. In the later two cases the SD value approaches just 1/3 of the average ion exchange value. The exactness of the determination does not vary between the chemical elements. The high variation of the potassium values was measured in the same sample solution where data variation with respect to Ca and Mg is much lower. It must be concluded that the high K exchange variability is based on plant-individual peculiarities that are not as drastic with respect to Ca and Mg exchange. Since the exchange occurs in the same roots, the findings are an indication for element specific exchange pathways in the roots.

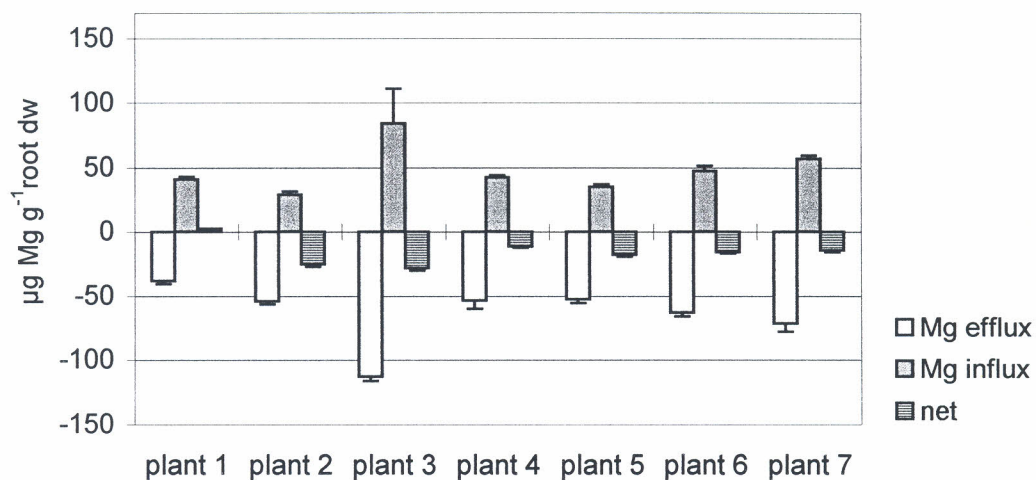


Figure 10: Mg efflux, influx and net uptake of the *Bactris* plants after 24 hours.

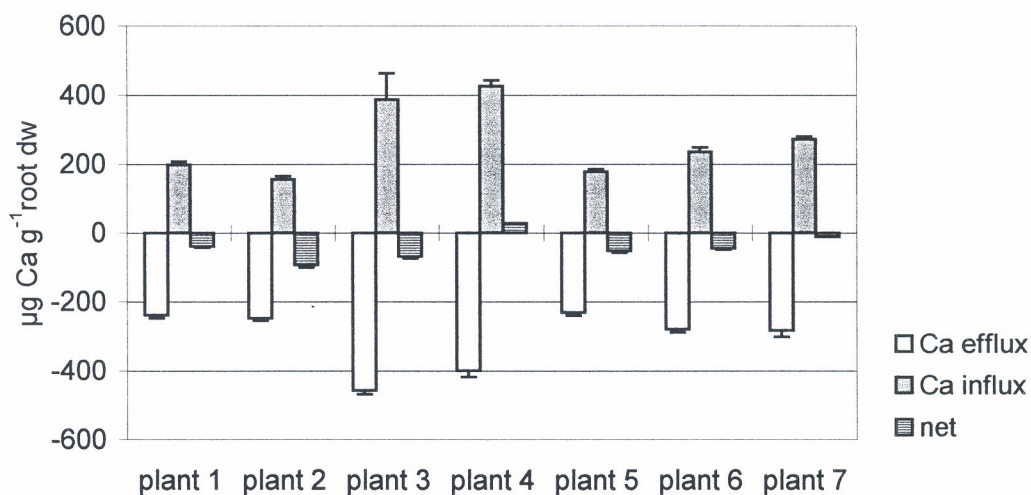


Figure 11: Ca efflux, influx and net uptake of the *Bactris* plants after 24 hours.

References

BARBER, SA 1979: Growth requirement for nutrients in relation to demand at the root surface. In: The soil-Root Interface, JL Harley and R Scott-Russell, eds., Academic Press, London

DREW MC and SAKER LR 1978: Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. III. Compensatory increase in growth of lateral roots and in rates of phosphate uptake in response to a localized supply of phosphate. J Exp Bot 29, 435-451

EMMERICH, S 1997: Distribution of roots of tropical useful plants in an agroforestry system four years after installation. In: Annual Report 1997, SHIFT-Project ENV 23/2, BMBF No. 0339457B, Institute of Applied Botany, University of Hamburg and Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Amazônia Ocidental (EMBRAPA), 32-36

FAO FORESTRY PAPER 44/3 1986: Food and fruit-bearing forest species, 3: Examples from Latin America., Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, 45-48

HILLENKAMP, F, UNSÖLD, E, KAUFMANN, R, NITSCHKE, R 1975: A high sensitivity laser microprobe mass analyser. Appl Phys 8, 341-348

KUHN, AJ, SCHRÖDER, WH, BAUCH, J 2000: The kinetics of calcium and magnesium entry into mycorrhizal spruce roots. Planta 210, 488-496

KUHN, AJ 1993: Mikrosonden-Analysen zur Ionenaufnahme in Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.). Forschungszentrum Jülich GmbH, 132

MORAES, VH DE F, MÜLLER, CH, SOUZA, AGC DE, ANTONIO, IC 1994: Native Fruit Species of Economic Potential from the Brazilian Amazon, Angew Bot 68, 47-52

MARSCHNER H 1997: Mineral Nutrition of higher plants. Academic Press, London San Diego, 28-29, 52-56

SMITH, NJH, WILLIAMS, JT, PLUCKNETT, DL., TALBOT, JP 1992: Tropical Forests and their Crops. Cornell University Press, Ithaca London, 303-310

Acknowledgement

The research project was carried out under the auspices of the agreement on scientific-technological cooperation signed by the governments of Germany and Brazil. The German partner was sponsored by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF – project no. 01LT 0009). The Brazilian Partner was sponsored by the Council for Scientific and Technological Development (CNPq project no. 23/2).

The authors are grateful to Ms. H. Lippert (Central Department of Analytical Chemistry / Research Centre Jülich) for the ICP-OES measurements.

Mineralelement-Aufnahme über die Wurzeln der Pfirsichpalme (*Bactris gasipeas*) – Einfluss der Rhizodermis-Struktur auf die Zugänglichkeit für Nähr- und Schadelemente

Arnd J. Kuhn^{1,2}, Walter H. Schröder¹, Inga Göllnitz², Wilfried Morawetz³ und Reinhard Lieberei²
¹ Forschungszentrum Jülich, ² Universität Hamburg, ³ Universität Leipzig

Einleitung

Die Pfirsichpalme *Bactris gasipeas* ist in der zentralen Region des Amazonas von besonderem wirtschaftlichen Interesse. Die Pflanze erscheint in ihrem Wachstum an die Nährstoffbedingungen auf degradierten Flächen sehr gut adaptiert und erbringt nachhaltige Erträge bei der Produktion von Palmherzen (Palmito) oder von Früchten (hoher Stärkegehalt). Wegen der daraus resultierenden grossen potentiellen wirtschaftlichen Bedeutung bezeichnet die FAO die Pfirsichpalme auch als "the most exciting plant in this region". Wie die mehrjährigen Beobachtungen auf den Versuchsflächen des SHIFT-Projektes zeigen kommt *B.g.* sowohl in Monokultur wie auch in Mischkulturen mit der vorliegenden schwierigen Versorgungssituation mit mineralischen Nährstoffen (insbesondere geringes Angebot an Ca, Mg, N, P und K bei gleichzeitig hohen Al-Gehalten im Boden) sehr gut zurecht. Dabei bildet das Wurzelsystem von *B.g.* einen mehrere Zentimeter dicken, dicht-zusammenhängenden "Wurzelteppich" an der Oberfläche des Bodens aus. Die Pfirsichpalme zeichnet sich am Standort weiterhin durch ihr Durchsetzungsvermögen gegenüber konkurrierenden Pflanzen und eine hohe Regenerationsrate der Schößlinge aus. Für das Erreichen des Zieles des Gesamtprojektes, der nachhaltigen wirtschaftlichen Nutzung degradierter Flächen durch den gezielten Anbau von Nutzpflanzen, erscheint der Einsatz der Pfirsichpalme *B.g.* somit besonderes vielversprechend.

Der naheliegenden Bedeutung eines effizienten Wurzelsystems für Wachstum und Vitalität Rechnung tragend wurden erste Untersuchungen zur Anatomie und Morphologie von *Bactris gasipeas* Wurzeln im Rahmen einer Diplomarbeit an der Universität Hamburg durchgeführt (I. Benecke / AG Lieberei, 1997). Diese zeigen eine "Blasenstruktur" der äusseren Wurzelrindenschicht, der Rhizodermis, sowohl in den Feinwurzeln (Wurzeln dritter Ordnung) wie auch in den älteren Wurzeln erster und zweiter Ordnung (bei Abwesenheit von Wurzelhaaren). Die äusseren Zellen stehen dabei zu ca. zwei Drittel isoliert voneinander was nach Abschätzungen zu einer deutlichen Oberflächenvergrösserung von 100 bis 120% über die gesamte Wurzellänge führt (Benecke 1997). Jedoch liess diese erste beschreibende Untersuchung noch keine belegten Aussagen zur physiologischen Bedeutung dieser Strukturen zu.

In dem hier vorzustellendem Teilprojekt standen daher Fragen zu den strukturell-funktionellen Zusammenhängen bei der Aufnahme von mineralischen Nähr- und Schadelementen im Mittelpunkt. In vergleichenden Strukturuntersuchungen mit weiteren Palmenarten sollte geklärt werden ob es sich bei den besonderen Rhizodermisstrukturen um ein gemeinsames spezifisches Merkmal der *Bactridinae* handelt. Inwieweit eine Vergesellschaftung der Palmwurzeln mit Pilzen, die Bildung einer Mykorrhiza, bei diesen Spezies vorliegt ist ebenfalls noch eine offene Frage und insbesondere sollte dies für die P- und N-Versorgung der Pflanzen von grosser Bedeutung sein.

Experimente und Ergebnisse

Strukturuntersuchungen mit der Rasterelektronenmikroskopie

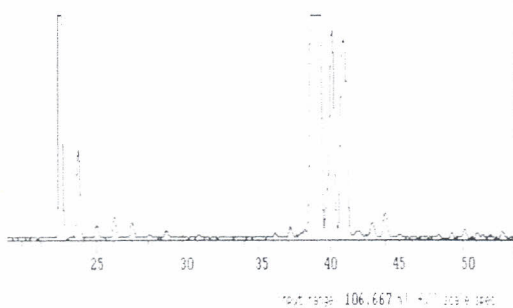
Dazu wurden Wurzelproben nach dem Schockgefrieren in flüssigem Propan über 5 Tage gefriergetrocknet und mit Gold besputtert. Die anschliessenden Untersuchungen wurden mit dem Rasterelektronenmikroskop GEMINI (Leo) durchgeführt. Die erhaltenen Abbildungen weisen für Feinwurzeln dritter Ordnung bei *Bactris gasipeas* sehr deutlich leistenförmige Verdickungen auf der Oberfläche der erhabenen Rhizodermiszellen quer zur Längsrichtung der Wurzeln auf (Abb. c,d). Die Rhizodermiszellen der folgenden Wurzel zweiter Ordnung sind stärker abgerundet und lassen diese Verdickungen nicht mehr ganz so deutlich hervortreten (Abb. f, g). Eine detaillierte Betrachtung der Verbindung dieser Zellen zur Nachbarzelle auf der Oberfläche zeigt diese Zellen sehr dicht aneinander liegend (Abb. h). Die Frage inwieweit diese Stelle dennoch durchlässig für Wasser und damit auch für Nähr- und Schadelemente ist müssen solche Strukturuntersuchungen jedoch offenlassen.

In weiteren Strukturuntersuchungen stellte sich die Frage inwieweit diese ungewöhnlichen Rhizodermisstrukturen für die Familie der *Bactridinae* ein gemeinsames Merkmal darstellen. Dazu wurden mehrjährige Palmen der Gattungen *Acrocomia*, *Aiphanes*, *Astocaryum*, *Bactris* und *Desmoncus* aus dem botanischen Garten der Universität Leipzig untersucht.

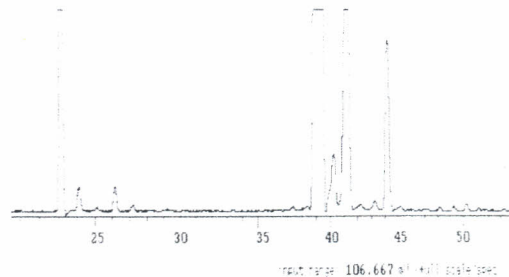
Die Gattung *Aiphanes* weist noch deutlich ausgeprägtere Ausstülpungen der äusseren Rhizodermis-Zellwände als *Bactris* auf. Die Zwischenräume können teilweise durch Erdpartikel vollständig gefüllt sein (Abb. e). Die Abbildungen f, g & h zeigen wahrscheinlich Fressspuren von Nematoden und erlauben den Einblick in das Wurzelinnere. Eine Nematode ist in den Abbildungen a & b der Gattung *Astocaryum* deutlich zu erkennen. Die Räume zwischen den Rhizodermiszellen sind bei dieser Gattung deutlich flacher als bei den vorherigen Gattungen. Die Art *Acrocomia intermescens* zeigt ebenfalls kaum ausgeprägte Zwischenräume. Jedoch sind auch bei älteren Wurzeln noch sehr deutlich die leistenförmigen Verdickungen auf den äusseren Zellwänden ausgeprägt. Auf der Wurzeloberfläche sind Pilzhyphen zu erkennen die insbesondere die Zwischenräumen besiedeln. Die Gattung *Desmoncus* weist wieder deutlich stärkere Ausstülpungen auf wobei die Rhizodermiszellen ein sehr eckige Form -im Vergleich zu den anderen Arten- aufweisen. Die Abbildungen d & e zeigen eine sich bildende Feinwurzel und f die Bruchkante einer solchen. In den Abbildungen g & h sind deutlich Pilzhyphen an der Wurzeloberfläche zu erkennen. Im Gegensatz zu den vorherigen Arten „hilft hier der Zufall“. beim Nachweis von Pilzhyphen die in den Wurzelcortex eindringen. Fressspuren einer Nematode (?) legen das innere einer Feinwurzel frei (Abb. i bis l) und zeigen das „Ankoppeln“ des Pilzes an die Pflanzenzellen (insbesondere in Abb. l zu erkennen). An einer Bruchkante quer durch eine Feinwurzel (Abb. m) sind Pilzhyphen in den Zellhyphen von Cortexzellen zu erkennen (Abb. n). Häufig konnten Raphiden innerhalb der Wurzeln nachgewiesen werden (Abb. o).

Experimente zur Zugänglichkeit von Nähr- und Schadelementen

Bei Untersuchungen zu den Mechanismen der Aufnahme von mineralischen Nährelementen in *Bactris* wurden stabile Isotope als Tracer in Verbindung mit Mikrosonden-Analysemethoden eingesetzt (LAMMA: Laser-Microprobe-Mass-Analyser; Kuhn et al. 1997, 2000). Dabei erlaubt die Markierung der Versuchslösungen mit stabilen Isotopen als Tracer eine detaillierte Betrachtung von Ionenaufnahme, -austausch und -transport bis in subzelluläre Bereiche (hier verwendete Tracer: stabilen Isotope ^{26}Mg , ^{41}K und ^{44}Ca ; natürliches Isotopenverhältnis: $^{24}\text{Mg}:^{25}\text{Mg}:^{26}\text{Mg} = 79:10:11$; $^{40}\text{Ca}:^{44}\text{Ca} = 96,9:2,09$; $^{39}\text{K}:^{41}\text{K} = 93,3:6,7$). Diese Markierungstechnik ermöglicht es, zwischen (1) bereits in der Pflanze vorhandenen, (2) aus der angebotenen markierten Versuchslösung aufgenommenen und (3) von der Pflanze abgegebenen Elementanteilen zu unterscheiden. Zur Frage nach der Zugänglichkeit für Mg, K und Ca in die Feinwurzeln wurden in einer Zeitreihe (2min, 16min, 64min, 4h 16min) intakten Pflanzen eine mit ^{26}Mg , ^{41}K und ^{44}Ca markierte Versuchslösung über die Wurzeln angeboten (Konzentrationen wurden der zentrifugierten Bodenlösung des Standortboden nachgestellt). Die LAMMA-Analysen ergaben sich zunächst widersprechende Daten. So waren die markierten Elementanteile in einigen Wurzelproben (Feinwurzeln dritter Ordnung) nach 16min deutlich höher als nach 64min bzw. 4h 16min. Als Beispiel werden hier jeweils 30 aufsummierte LAMMA-Spektren aus Zellwandmessungen gezeigt die einen deutlich höher markierten ^{26}Mg und ^{44}Ca Anteil im Zentralzylinder im Vergleich zum Cortex nach 16min Inkubationszeit aufweisen. Dieses Verhalten deutet auf eine wesentliche Aufnahme von Mg und Ca über die älteren Wurzeln also nicht überwiegend über die Wurzelspitzen hin (anders als die hierzu am besten untersuchte Baumart *Picea abies*, Kuhn et al. 2000). Danach würden die markierten Kationen dann von dort über das Xylem in die Feinwurzelspitzen gelangen können, also in eigentlich „umgekehrter“ Richtung.



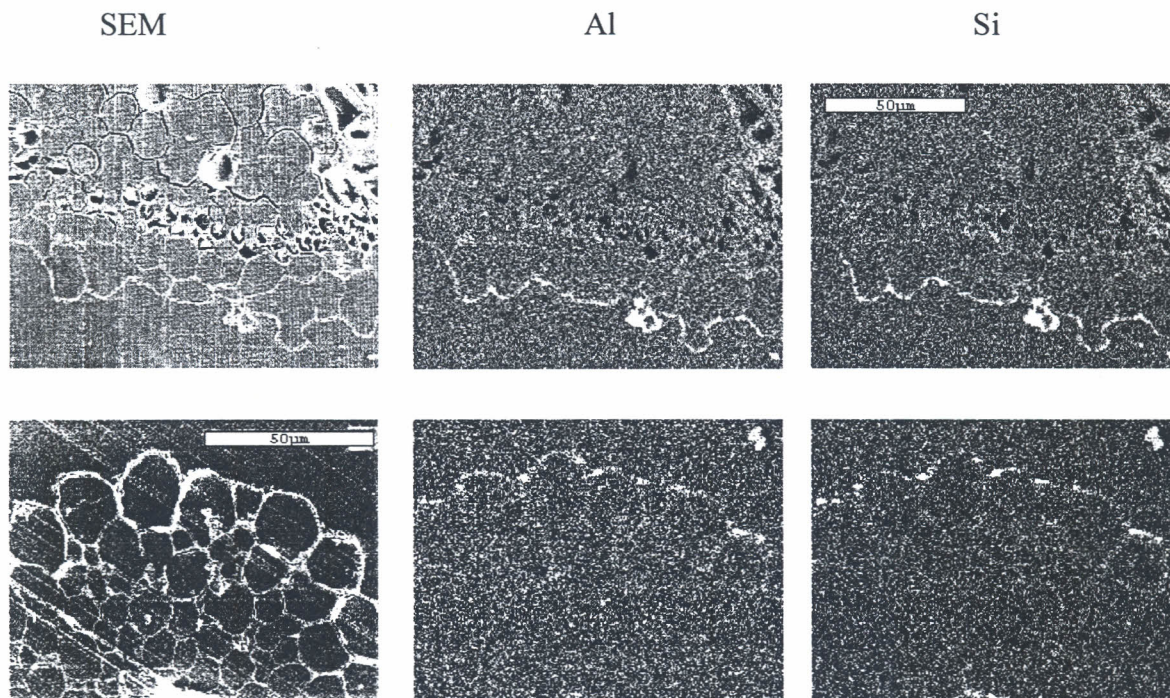
Cortex-Zellwand: Summenspektrum



Primäres Xylem: Summenspektrum

Aluminium- und Silizium-Verteilung in Wurzelquerschnitten

An Wurzelquerschnitten wurden zelluläre Elementanalysen zur radialen Aluminium-Verteilung durchgeführt. Mit dem nachweisstarken LAMMA konnte mit Punktmessungen (laterale Auflösung: 1µm) gezeigt werden, dass in den Zellwänden der Rhizodermiszellen der Al-Gehalt aussen ca. 50- bis 100-fach höher ist als in der nur wenige µm entfernten Radialwand. So wiesen äussere Rhizodermiszellwände nach 1 h Inkubation in markierter Nährlösung einen hohen Al-Gehalt und eine deutliche Markierung mit ^{26}Mg und ^{44}Ca , im Gegensatz zu den radialen Zellwänden der gleichen Rhizodermiszellen. Aluminium-Verteilungsbilder die mit einem Röntgen-Detektor (gekoppelt an SEM, 256x256 Pixel, ca. 8h Messzeit) erzielt wurden zeigten bei Wurzeln zweiter (obere Reihe der folgenden Abbildungen) und dritter (untere Reihe) Ordnung Aluminium in nachweisbaren Mengen nur in/an der äusseren Rhizodermiszellwand. Interessanterweise weist Silizium das nahezu identische Verteilungsmuster auf, ein kausaler Zusammenhang ist hier noch zu überprüfen.

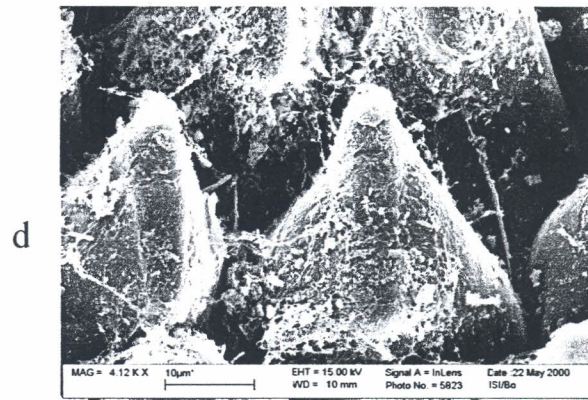
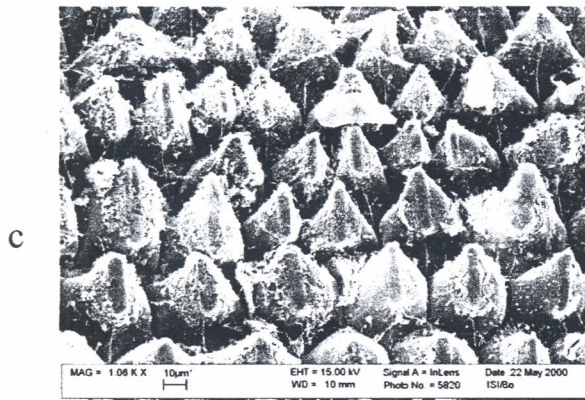
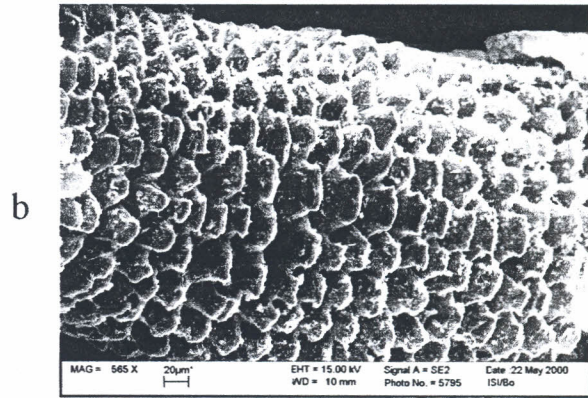
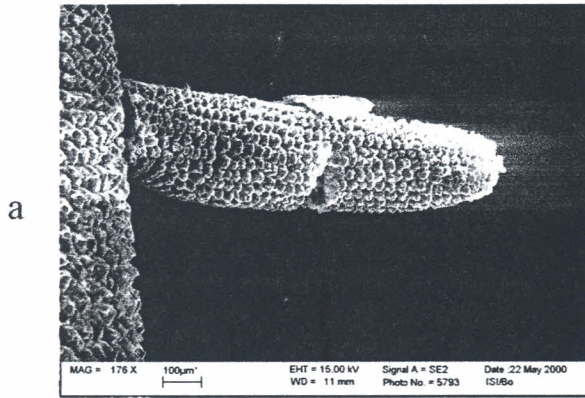


Zusammenfassung und Bewertung der Untersuchungen

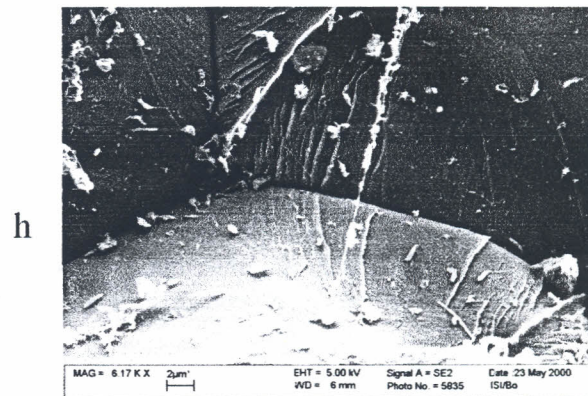
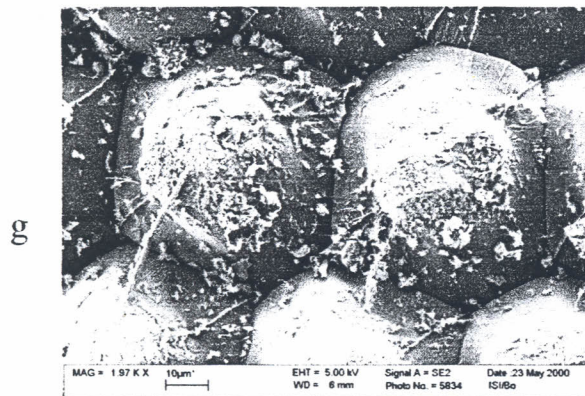
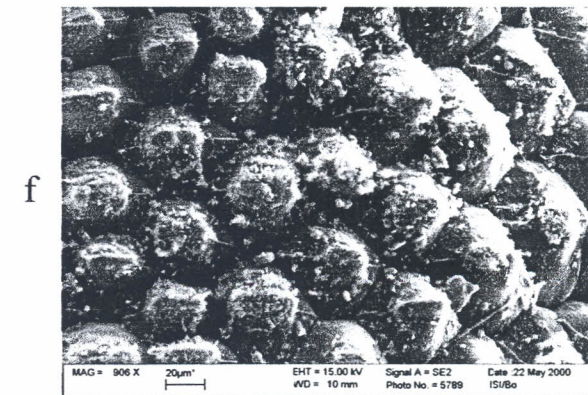
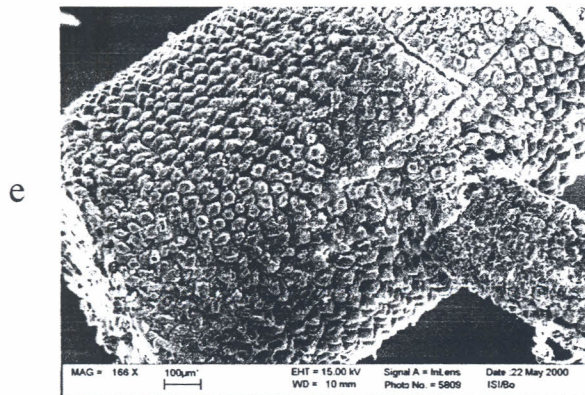
Die erstmals für die gesamte Familie der *Bactridinae* (*Gastrococos* konnte nicht untersucht werden) beschriebene Struktur der Rhizodermis weist in Form der Ausstülpungen der Aussenwand der Rhizodermiszellen eine Gemeinsamkeit auf. Dabei sind diese Ausstülpungen in Ihrer Intensität und z.T. in der Form unterschiedlich stark ausgeprägt. Inwieweit Palmen anderer Gattungen dieses Merkmal besitzen wird momentan untersucht. Die hier an Beispielen vorgestellten Untersuchungen zur Funktion der Rhizodermisstrukturen bei der Nähr- und Schadelementaufnahme zeigen (i) eine nahezu völligen Ausschluss von potentiell toxischem Aluminium und (ii) die kationischen Nährelemente Mg und Ca können über die älteren Wurzeln 1. und 2. Ordnung aufgenommen werden. Dabei ist der genaue Aufnahmepfad über diese Wurzeln momentan Gegenstand weiterer Untersuchungen. Auch der Zusammenhang zwischen der nahezu identischen Al- und Si-Verteilung bedarf noch der genaueren Betrachtung. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wiesen das Vorhandensein einer Vergesellschaftung mit Pilzen in Form einer Mykorrhizierung zumindest eindeutig bei der Gattung *Desmoncus* nach. Auch die anderen Gattungen zeigten das Vorhandensein von Pilzhyphen in den äusseren Zwischenräumen der Rhizodermiszellen, wobei ein Eindringen der Pilzhyphen in den Wurzelcortex meist nicht klar angesprochen werden konnte. Diese hier vorstellten Untersuchungen geben somit Hinweise für die Erklärung der beobachteten sehr guten Adaptationsfähigkeit von *Bactris gasipaes* an die vorliegenden Standortbedingungen und legen es nahe weitere Palmengattungen mit ähnlichen Rhizodermisstrukturen für einen Versuchsanbau auf degradierten Flächen in Betracht zuziehen.

Benecke 1997, Diplomarbeit, Angewandte Botanik, Universität Hamburg
Kuhn, Schröder, Bauch 1997, *Holzforschung* 51, 487-496.
Kuhn, Schröder, Bauch 2000, *Planta* 210, 488-496.

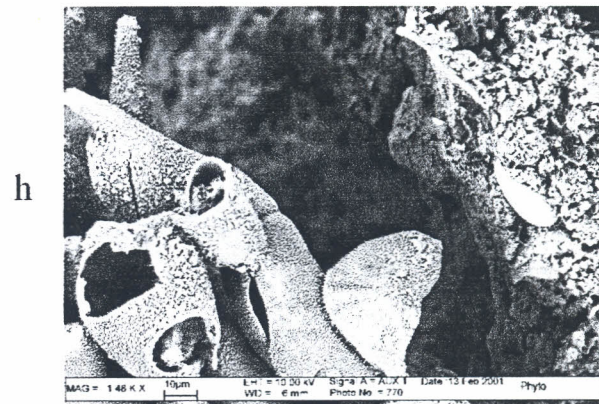
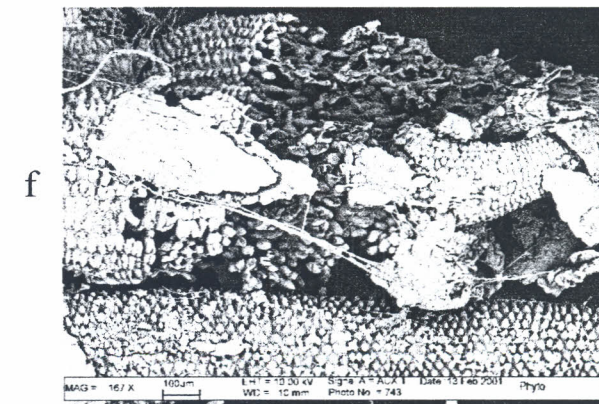
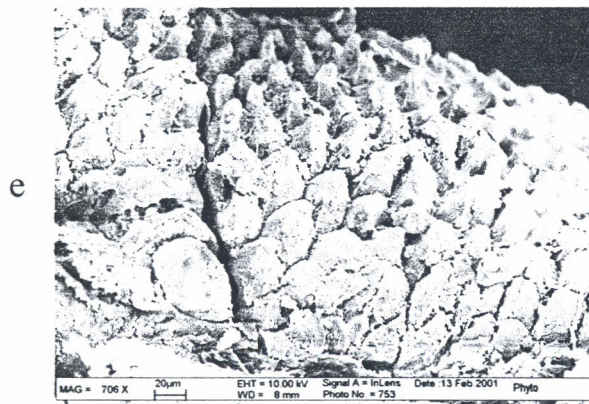
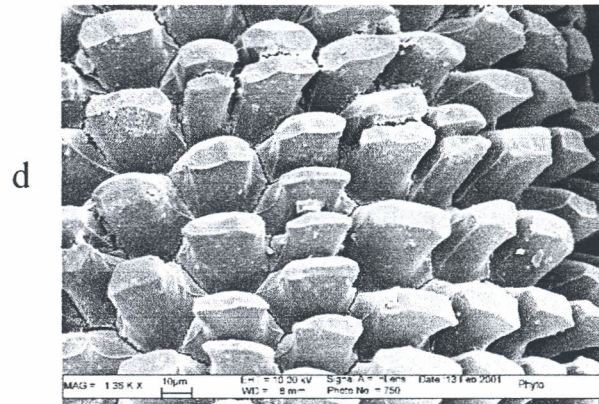
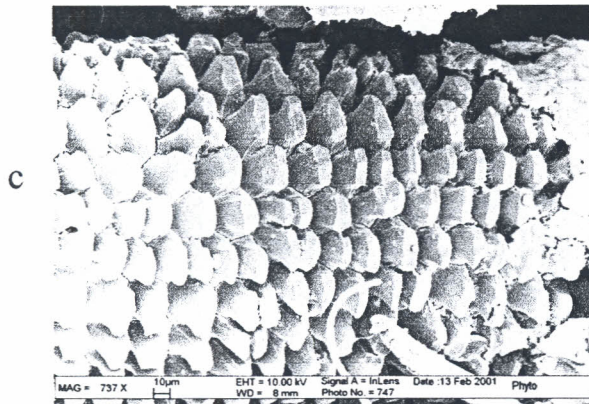
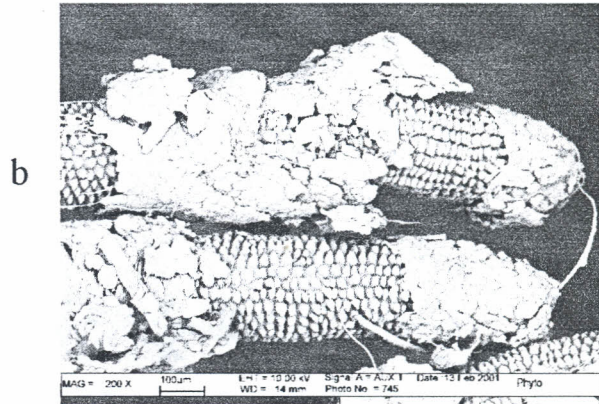
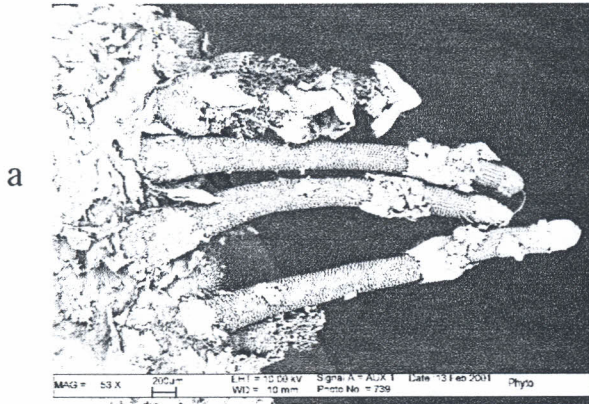
Bactris gasipaes
Wurzeln 3. Ordnung



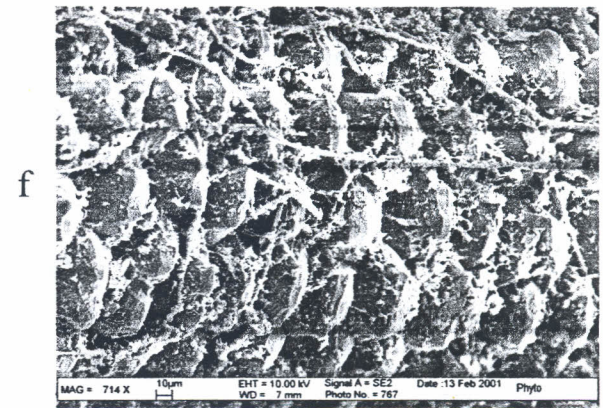
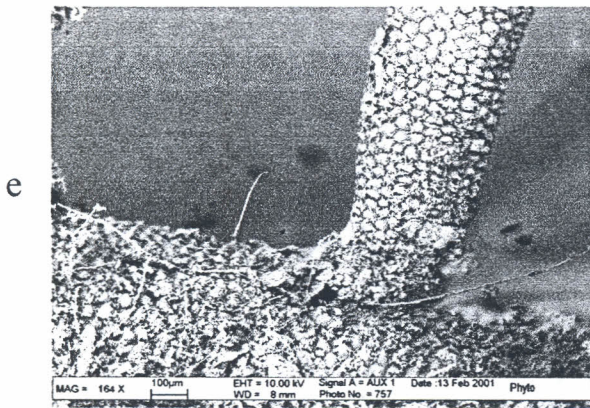
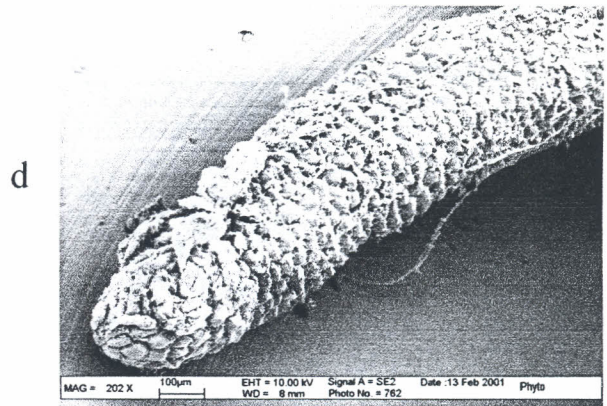
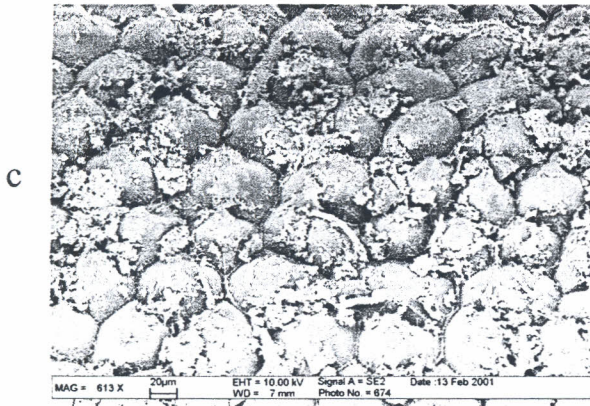
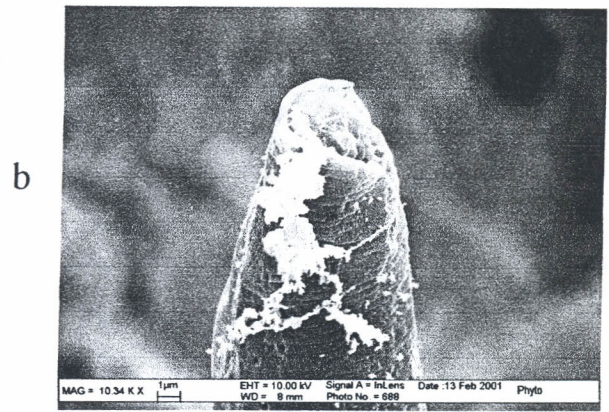
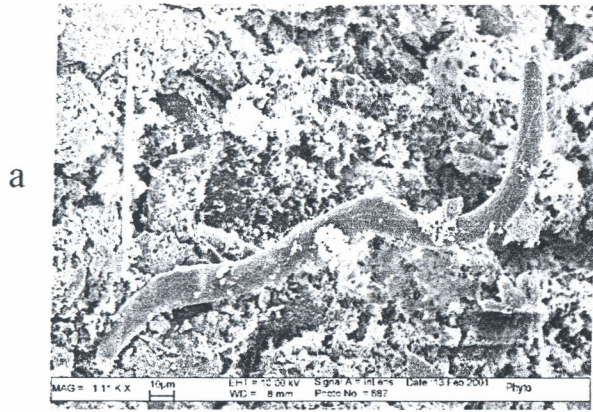
Wurzeln 2. Ordnung



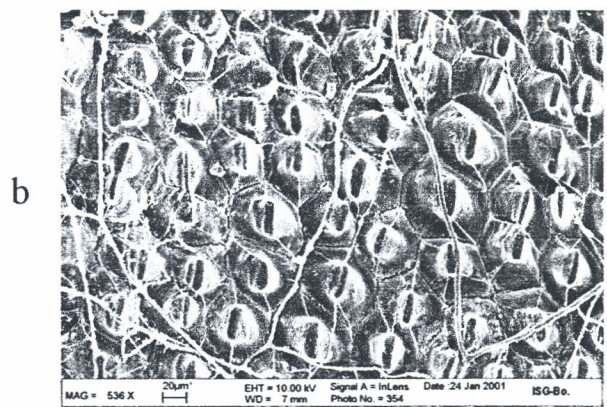
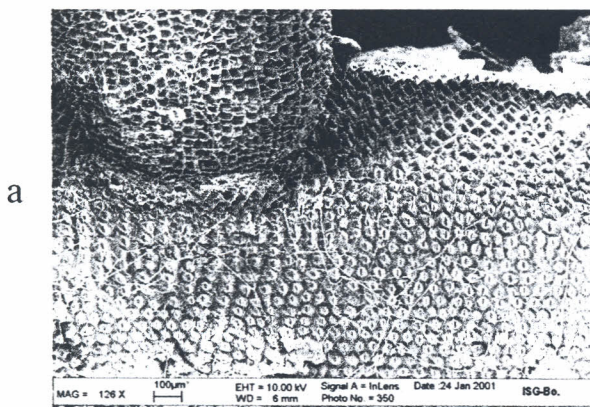
Aiphanes caryotifolia



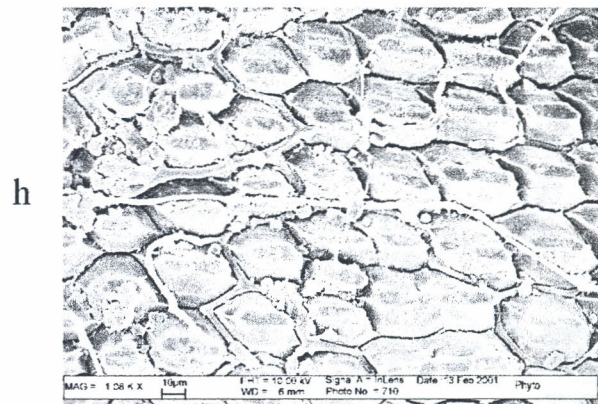
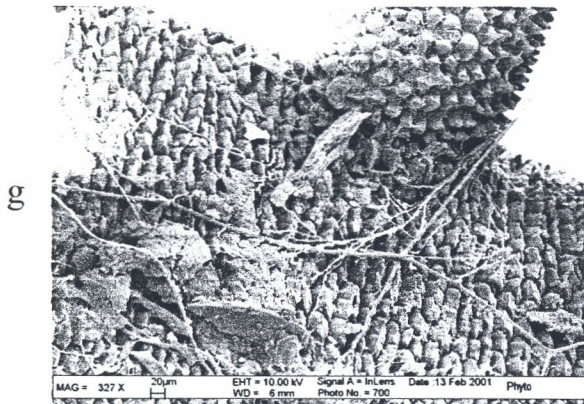
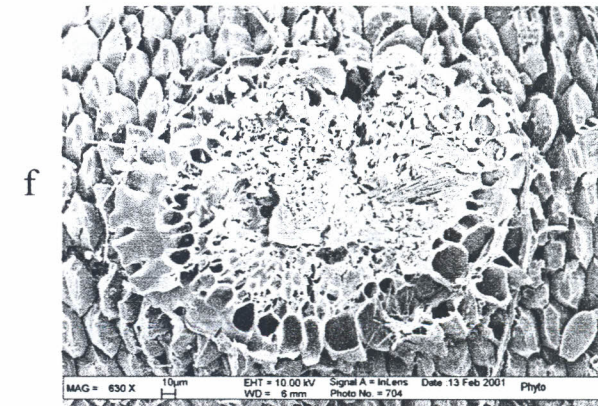
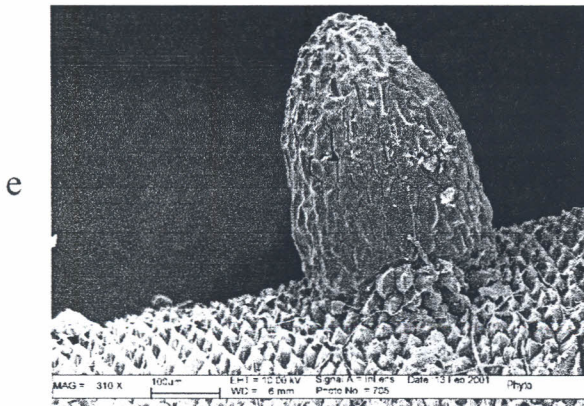
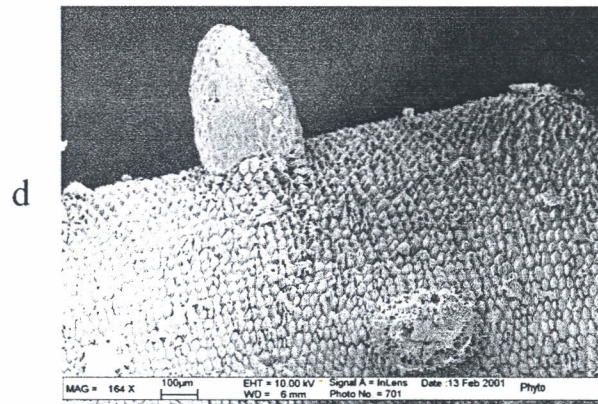
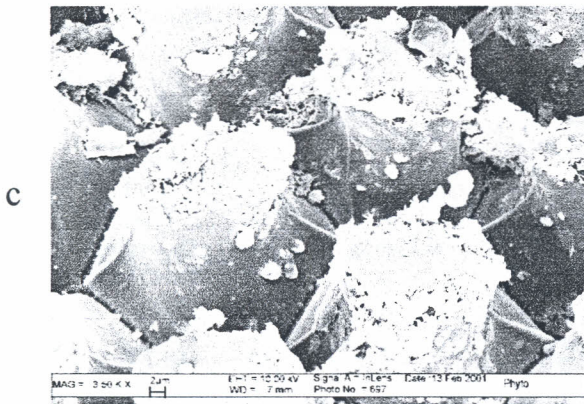
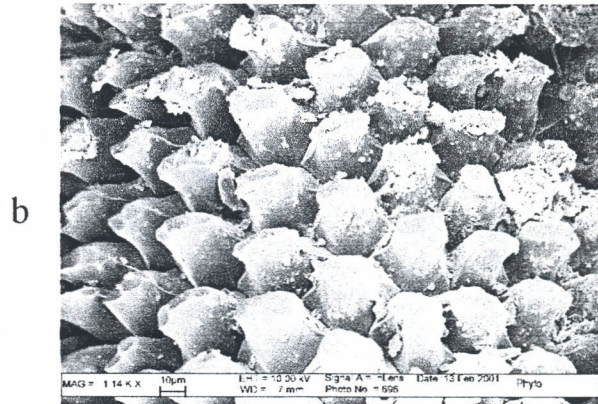
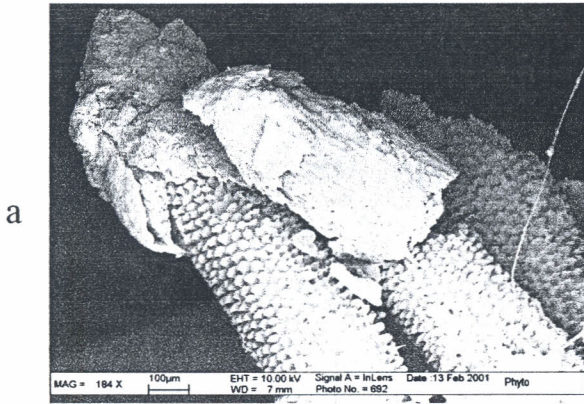
Astrocaryum sp. nov



Acrocomia intermescens

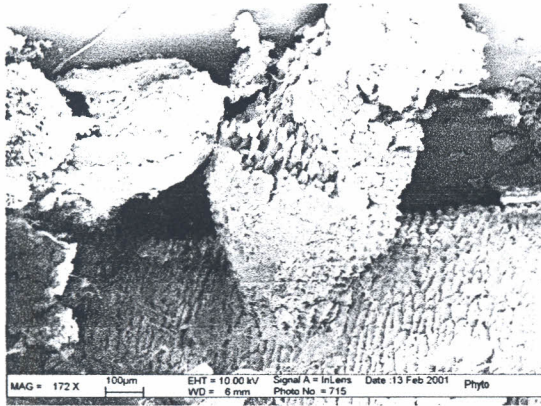


I. *Desmoncus* sp.

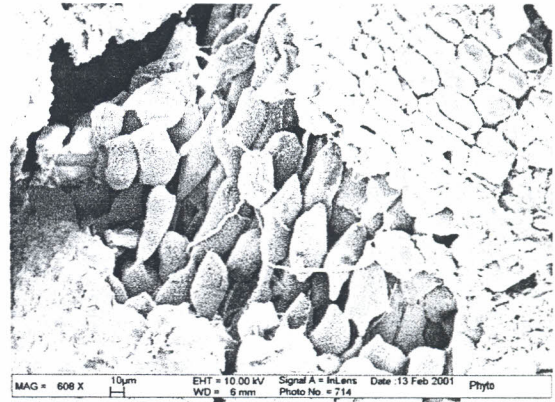


II. *Desmoncus* sp.

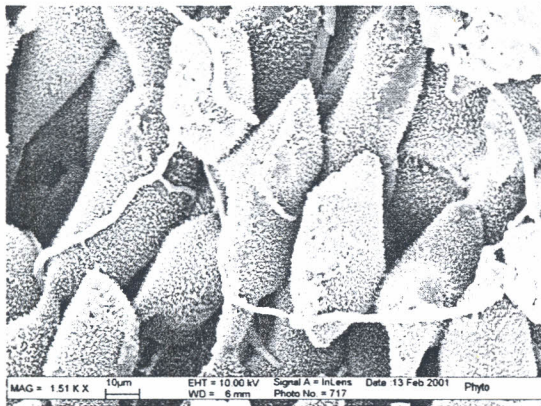
a



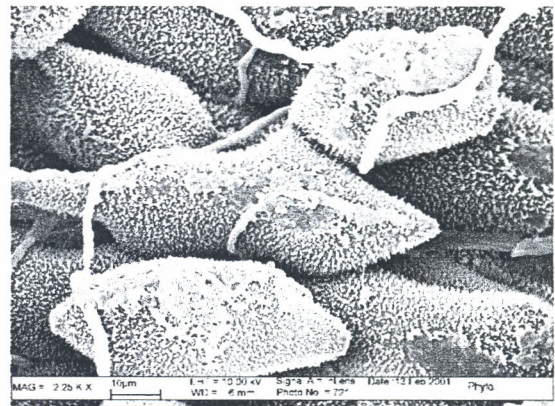
b



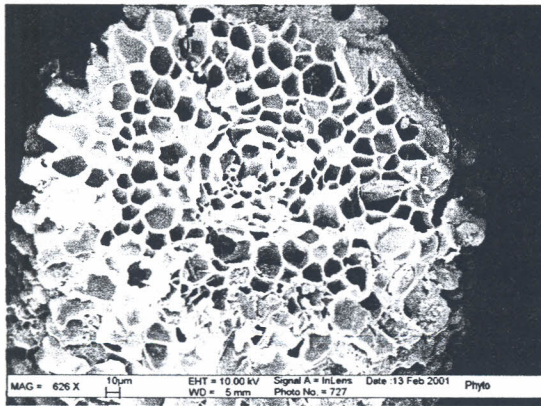
c



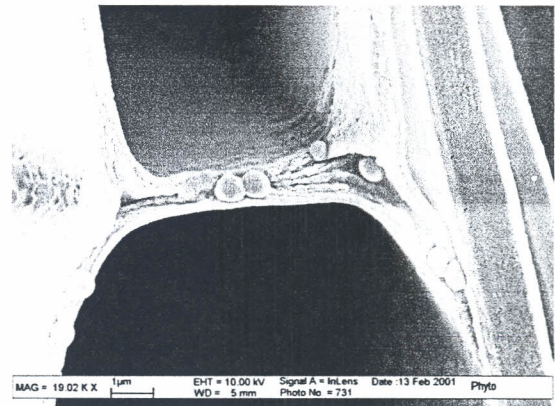
d



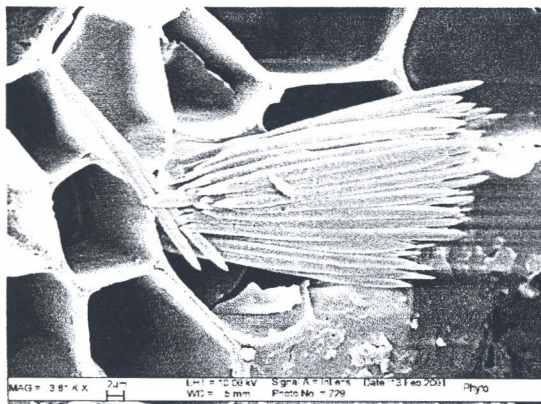
e



f



g



Anhang 6

Effect of phosphate deficiency on *Gordonia sp.* and *Pseudomonas fluorescens*

Esther Hoberg, Petra Marschner & Reinhard Lieberei

Universität Hamburg

Summary

The actinomycete *Gordonia sp.* isolated from the rhizosphere of *Theobroma grandiflorum* (Wild. ex Spreng.) Schum in the experimental field site of Manaus and the bacterium *Pseudomonas fluorescens* Pf-5, were grown in liquid media with soluble phosphate (0.1 mM or 1.0 mM KH_2PO_4) or poorly soluble phosphate (phosphate sorbed to the Fe-oxide/hydroxide goethite, goe-P). On day three, six and ten cell number, phosphate content, amount and composition of organic acids in the medium and alkaline phosphatase activity of the cells were measured. The pH of the media was measured at the beginning and the end of the experiment. The two microorganisms showed distinct differences in their physiology. The initial pH of 5.9 was increased by *Gordonia sp.* by 1.1 to 1.6 units while it was decreased by *P. fluorescens* by 1.4 units. *Gordonia sp.* reduced the phosphate content of the solution at a slower rate than *P. fluorescens* in all treatments. However, the minimum phosphate concentration in the goe-P treatment was lower in *Gordonia sp.* than in *P. fluorescens*. In all treatments the amount of organic acids detected in the media with *Gordonia sp.* was up to ten-times lower (0.3 to 0.8 μmol (100 ml log cfu) $^{-1}$) than in *P. fluorescens* (5.0 to 8.0 μmol (100 ml log cfu) $^{-1}$). *Gordonia sp.* produced five different organic acids in varying amounts depending on phosphate source and time. In contrast, *P. fluorescens* exuded mainly citrate and only small amounts of two to four other organic acids irrespective of phosphate source or time. While the phosphatase activity of both microorganisms was low in the two soluble phosphate treatments, it was ten-times higher in the goe-P treatment where the phosphate concentration in the medium was less than 1.0 μM .

Introduction

In many soils phosphate availability is low and plants and microorganisms use similar mechanisms to increase phosphate solubility. Both may change the pH and exude low-molecular organic acids, which can carry varying negative charge, depending on dissociation properties and number of carboxylic groups. Organic acid anions complex metal cations like iron and displace anions such as phosphate from soil particles (JONES, 1998). Phosphate starvation also induces alkaline phosphatase expression (HUANG et al. 1998) in microorganisms, and acid phosphatase expression in plants (HELAL & SAUERBECK, 1987). Phosphatases increase phosphate uptake by hydrolysing organic phosphate compounds.

It has been shown that some microorganisms can increase phosphate uptake by plants. The relative importance of the above mentioned mechanisms to increase phosphate availability may depend on the microbial species, which in turn could affect the capacity of the microbial species to enhance phosphate uptake by the plant. The inoculation of plants with effective phosphate solubilisers may be a cost-effective alternative to phosphate fertiliser application particularly in tropical soils with low phosphate availability. In the subproject (TP 4) "Recultivation of abandoned monocultural areas under special consideration of soil biological factors" Dr. Marino obtained 200 isolates from the rhizosphere and rhizoplane of *Bactris gasipaes* H.B.K. and *Theobroma grandiflorum* (Wild. ex Spreng.) Schum and determined their phosphorus solubilisation capacity. Seventy percent of the isolates were able to grow on agar with aluminium or iron phosphate as sole phosphate source. One of the isolates from the rhizosphere of *T. grandiflorum* with a high growth rate on this medium was identified as *Gordonia sp.*.

This study was conducted to investigate the mechanisms which enable *Gordonia sp.* to grow on poorly soluble phosphate and to determine if this organism may be able to increase the phosphate availability of plants. For a comparison *Pseudomonas fluorescens* Pf-5, an ubiquitous rhizosphere bacterium, was used.

Material and methods

Gordonia sp. and *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 were pre-cultured in liquid Muromcev medium with 1.0 mM KH_2PO_4 . After six days of pre-culture with repeated transfer, an aliquot was transferred to Muromcev medium with soluble phosphate at two concentrations (0.1 mM or 1.0 mM phosphate as KH_2PO_4) or with poorly soluble phosphate (phosphate sorbed to the iron oxide/hydroxide goethite, goe-P) (3 replicates). Sterile media served as controls. Before adding microorganisms, as well as on day three, six and ten after inoculation, cell number, water-soluble phosphate content (molybdate-blue method), pH, amount and composition of organic acids (with HPLC) and activity of alkaline phosphatase using methyl-umbelliferyl-phosphate as substrate were measured.

Even though pre-culture conditions were identical for both microorganisms, the population density of *Gordonia sp.* was lower than in *P. fluorescens*. Therefore the initial cell density of *Gordonia sp.* was $4.1 \log \text{cfu} \cdot \text{ml}^{-1}$, while it was $6.6 \log \text{cfu} \cdot \text{ml}^{-1}$ for *P. fluorescens*.

Results

Cell density

Phosphate availability had no effect on the cell density of *Gordonia sp.* and *P. fluorescens*. However, the two organisms differed in their growth pattern. The population density of *Gordonia sp.* increased steadily from $\log 4.1 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 0 to $\log 6.0$ on day 3 and $\log 8.0$ on day 6 and 10. In contrast the population density of *P. fluorescens* increased only from $\log 6.6$ on day 0 to $\log 8.4$ - 8.6 on day 3 and remained at this level until day 10. The sterile control remained uncontaminated throughout the experiment.

pH

Both microorganisms strongly affected the pH of the medium. *Gordonia sp.* increased the pH by 1.1 to 1.6 units to pH 7.0 and 7.8 for goe-P and the soluble phosphate sources, respectively. In contrast, *P. fluorescens* decreased the pH by 1.4 to 2.3 units to pH 4.5 and 3.6 for goe-P and the soluble phosphate sources, respectively. Thus in both microorganisms the change in pH was greater in the soluble phosphate treatments than with goe-P. The pH of the uninoculated control media remained unchanged.

Water-soluble phosphate concentration

Gordonia sp. decreased the water soluble phosphate concentration steadily, but at a slow rate in the 0.1 mM treatment from 7.6 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 0 to 1.2 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 10 (Tab.1). *P. fluorescens* reduced the phosphate concentration much faster as it decreased during the first three days by 7.3 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ to 0.3 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ with no further reduction until the end of the experiment. A similar difference between the two microorganisms was found with 1.0 mM phosphate, where *Gordonia sp.* decreased the phosphate concentration from 73.0 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ to 67.7 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 3 and 26.0 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 10. Again *P. fluorescens* reduced the phosphate concentration at a higher rate, lowering it to 16.5 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 3 and to 14.0 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ at the end of the experiment. Thus in both water-soluble phosphate treatments *P. fluorescens* assimilated phosphate more quickly than *Gordonia sp.*.

Table 1: Phosphate concentration [$\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$] in the media containing initially 0.1 mM KH_2PO_4 (0.1), 1.0 mM KH_2PO_4 (1.0) and phosphate sorbed to goethite (goe-P) on days 0, 3, 6 and 10 of *Gordonia sp.* (G), *Pseudomonas fluorescens* (Pf-5) and sterile control (C) (means of 3 replicates).

| | DAY 0 | DAY 3 | DAY 6 | DAY 10 |
|------------|--|-------|-------|--------|
| | [($\mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$)] | | | |
| G 0.1 | 7.4 | 5.5 | 2.0 | 1.2 |
| G 1.0 | 72.8 | 67.7 | 26.7 | 25.9 |
| G goe-P | 4.3 | 1.5 | 0.03 | 0.07 |
| Pf-5 0.1 | 7.4 | 0.3 | 0.3 | 0.2 |
| Pf-5 1.0 | 73.6 | 16.5 | 14.1 | 14.0 |
| Pf-5 goe-P | 4.2 | 0.3 | 0.5 | 0.6 |
| C 0.1 | 7.9 | 8.2 | 8.1 | 7.6 |
| C 1.0 | 73.4 | 68.3 | 71.9 | 65.1 |
| C goe-P | 4.6 | 4.2 | 4.3 | 4.4 |

In the third treatment, phosphate sorbed to goethite, the initial concentration of water-soluble phosphate was $4.4 \mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$. *Gordonia sp.* reduced the phosphate content to $1.5 \mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ on day 3, whereas in *P. fluorescens* only $0.3 \mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$ remained by day 3. In the following days *Gordonia sp.* decreased the phosphate content to $0.1 \mu\text{g P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ml}^{-1}$, while *P. fluorescens* did not lower the phosphate concentration any further. Therefore with phosphate sorbed to goethite the minimum phosphate concentration was lower in *Gordonia sp.* than in *P. fluorescens*.

In the control media the initial phosphate concentration was unchanged throughout the experiment.

Amount and composition of organic acids

The initial concentration of organic acids in the media was determined before inoculation. These values were subtracted from data measured in the inoculated treatments. In *Gordonia sp.* the organic acid content of all three treatments on day 3 was around $0.8 \mu\text{mol (100 ml log cfu)}^{-1}$ and declined to $0.3 \mu\text{mol (100 ml log cfu)}^{-1}$ in the 1.0 mM treatment on day 10. There were no organic acids detected in the other two treatments on day 10. In *P. fluorescens* the organic acid content ranged from $5.0 \mu\text{mol (100 ml log cfu)}^{-1}$ on day 3 to an increased $8.0 \mu\text{mol (100 ml log cfu)}^{-1}$ on day 10 irrespective of the phosphate treatment.

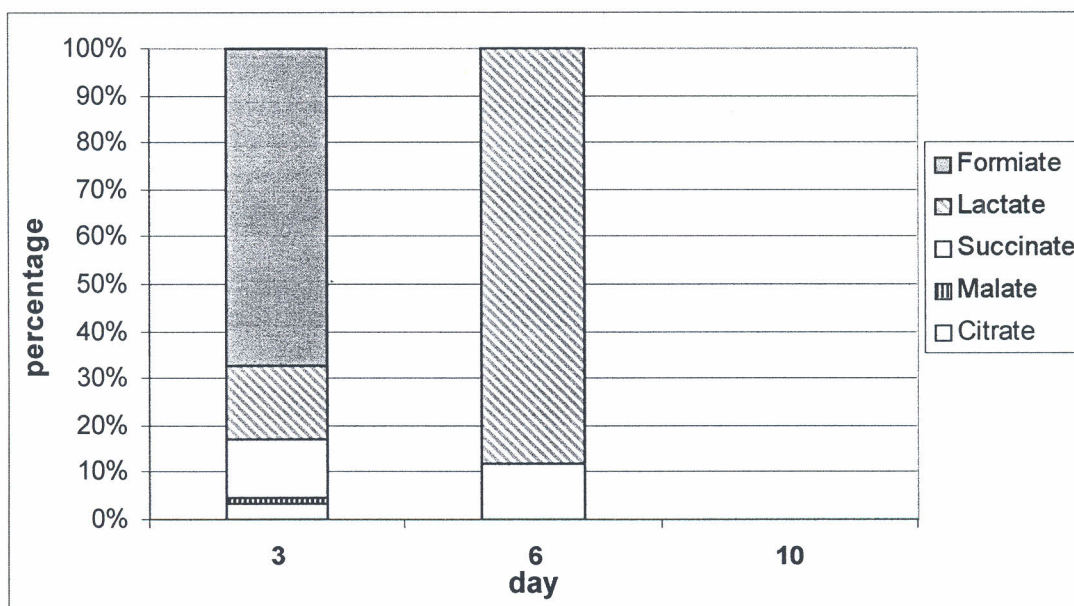


Figure 1: Percentage of organic acids in the medium with *Gordonia sp.* supplied with 0.1 mM soluble phosphate.

In the cultures of *Gordonia sp.* five organic acids (citrate, formiate, lactate, malate, succinate) were detected in varying amounts (Figures 1, 2, 3). In all three treatments formiate was the dominant organic acid on day 3. Later it was detected in small amounts only (goe-P) or disappeared completely. In the 0.1 mM treatment all five organic acids were present on day 3. Three days later only lactate (88 %) and citrate (12 %) were found. On day 3 lactate was the only organic acid besides formiate in the 1.0 mM treatment. On day 6 formiate had disappeared and the percentage of lactate rose to 54 %. Additionally malate (34 %) and citrate (12 %) were found. Another change in composition was found on day 10, when malate was replaced by succinate (28 %). In the third treatment (goe-P) formiate was less dominant than in the soluble phosphate treatments on day 3. Succinate made up more than one third of all organic acids. Additionally traces of lactate and citrate were detected. On day 6 citrate and lactate became more dominant, whereas the relative amount of formiate and succinate was reduced. Malate accounted for 24 % of all organic acids detected on day 6.

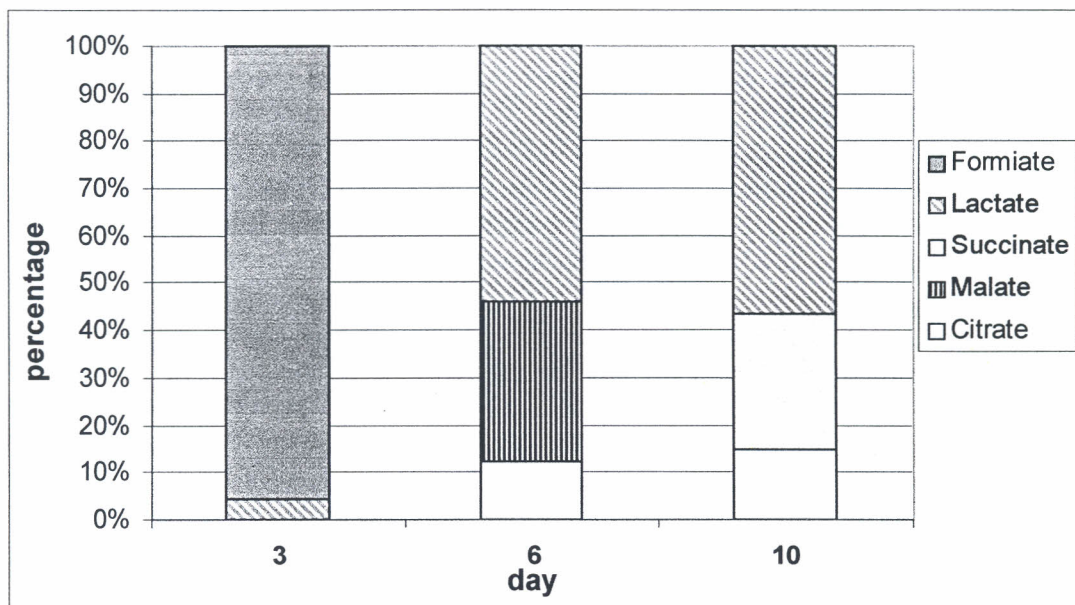


Figure 2: Percentage of organic acids in the medium with *Gordonia sp.* supplied with 1.0 mM soluble phosphate.

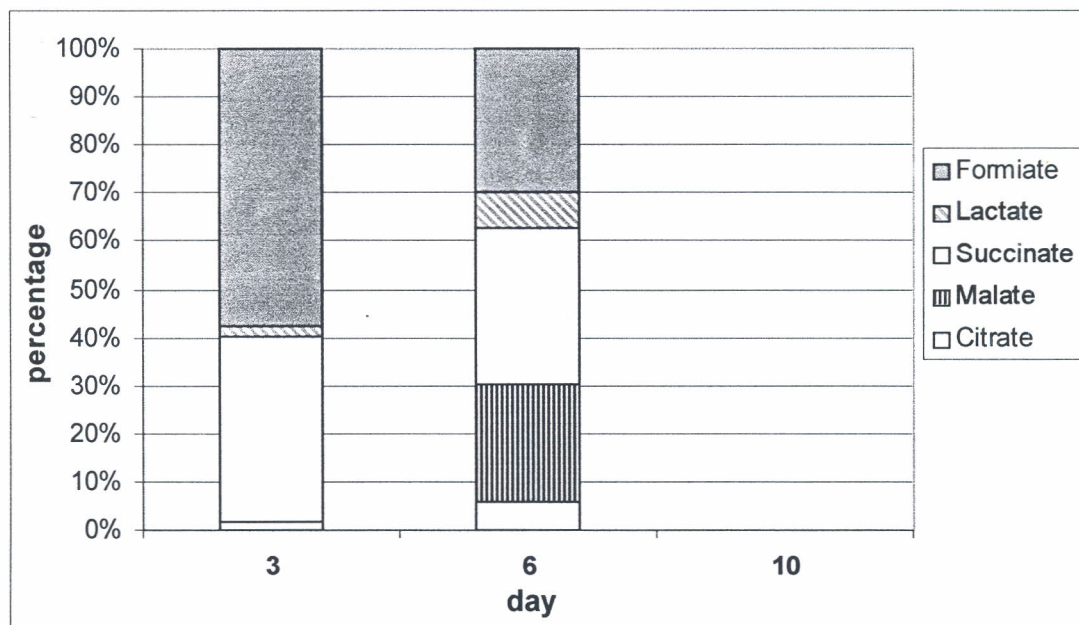


Figure 3: Percentage of organic acids in the medium with *Gordonia sp.* supplied with phosphate sorbed to goethite.

Irrespective of treatment and sampling time, citrate made up more than 90% of the organic acids detected in the media with *P. fluorescens*. While five organic acids were detected in the 1.0 mM treatment (citrate, lactate, malate, succinate, fumarate) only four (citrate, lactate, malate, succinate) and three (citrate, malate, succinate) were found in the 0.1 mM and goe-P treatment, respectively. Thus, the less phosphate there was in solution, the less different organic acids were exuded by *P. fluorescens*.

Alkaline phosphatase activity

Alkaline phosphatase activity can be used as an indicator for phosphate deficiency in microorganisms (HUANG et al.). The activity of the alkaline phosphatase was analysed four to six hours after sampling. The rate of transformation of methyl-umbelliferyl-1-phosphate (MUP) to methyl-umbelliferon (MU) is expressed as $[\text{nmol}\cdot\text{ml}\cdot\log\text{ cfu}\cdot\text{h}]$ and plotted as a function of the phosphate concentration in the medium (Figures 4, 5, 6).

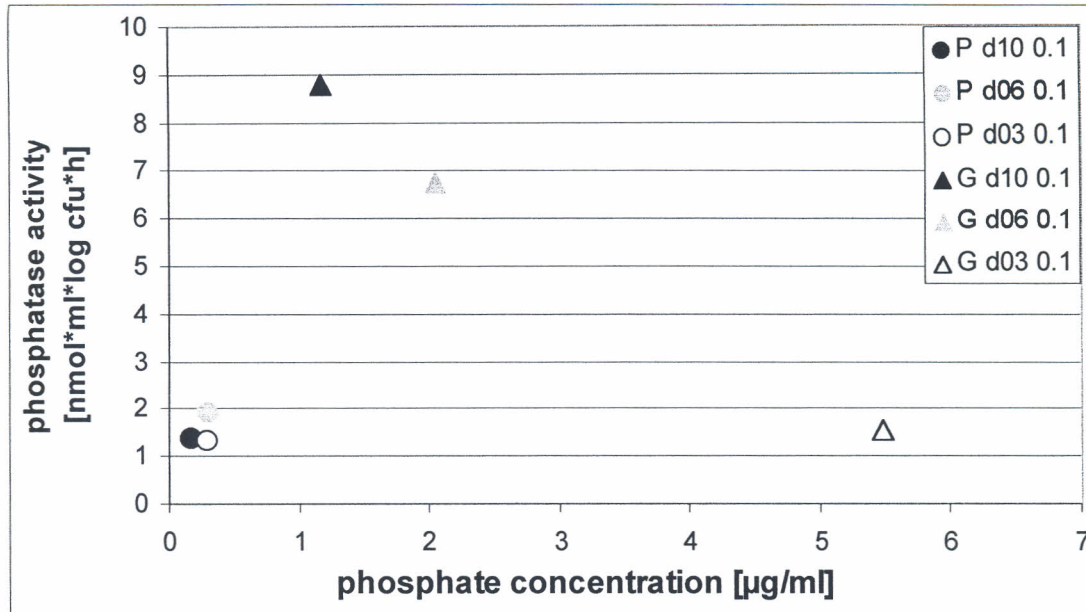


Figure 4: Alkaline phosphatase activity $[\text{nmol}\cdot\text{ml}\cdot\log\text{ cfu}\cdot\text{h}]$ of *Gordonia sp.* (\blacktriangle G) and *Pseudomonas fluorescens* (\bullet Pf-5) in the 0.1 mM KH_2PO_4 treatment as a function of the water-soluble phosphate concentration $[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\text{ P}_2\text{O}_5]$ in the medium.

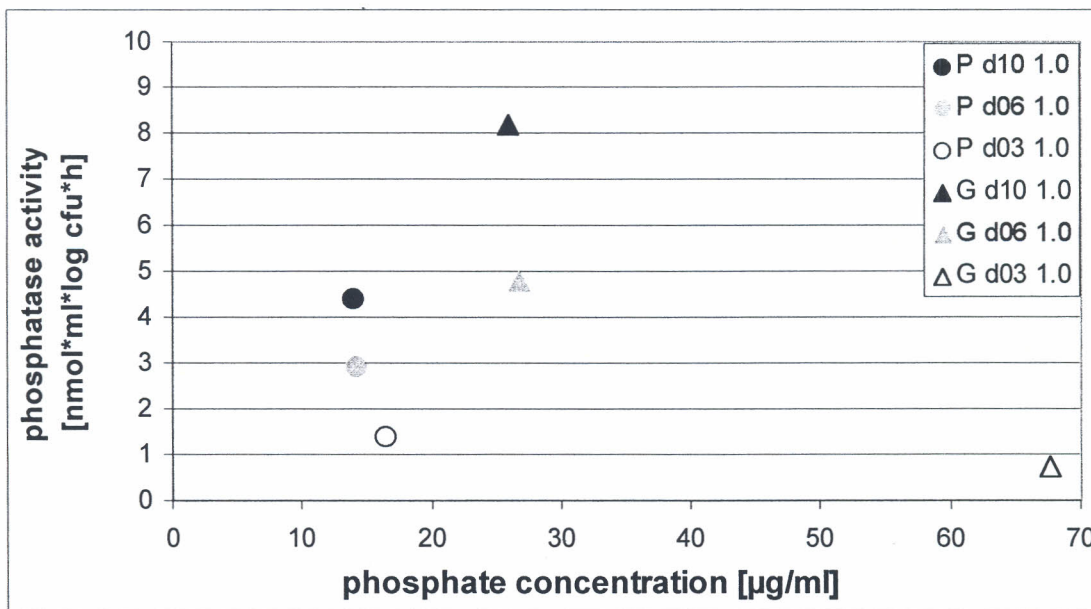


Figure 5: Alkaline phosphatase activity $[\text{nmol}\cdot\text{ml}\cdot\log\text{ cfu}\cdot\text{h}]$ of *Gordonia sp.* (\blacktriangle G) and *Pseudomonas fluorescens* (\bullet Pf-5) in the 1.0 mM KH_2PO_4 treatment as a function of the water-soluble phosphate concentration $[\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\text{ P}_2\text{O}_5]$ in the medium.

With the exception of *P. fluorescens* at low phosphate (Fig. 4), the phosphatase activity increased with time as the phosphate concentration of the medium decreased. The concentration of soluble phosphate had no effect on the phosphatase activity but it was higher in *Gordonia sp.* than in *P. fluorescens* (Figures 4, 5).

With goe-P alkaline phosphatase activity was nearly one order of magnitude higher than in the soluble phosphate treatments on day 6 and 10 (Fig. 6). Despite slightly differing phosphate concentrations in the medium the phosphatase activity was similar for both microorganisms. In *Gordonia sp.* the phosphatase activity remained unchanged from day 6 to 10. In *P. fluorescens* however it decreased from day 6 to day 10 which coincides with a slight decrease in cell numbers and an increase in water-soluble phosphate indicating a declining cell culture.

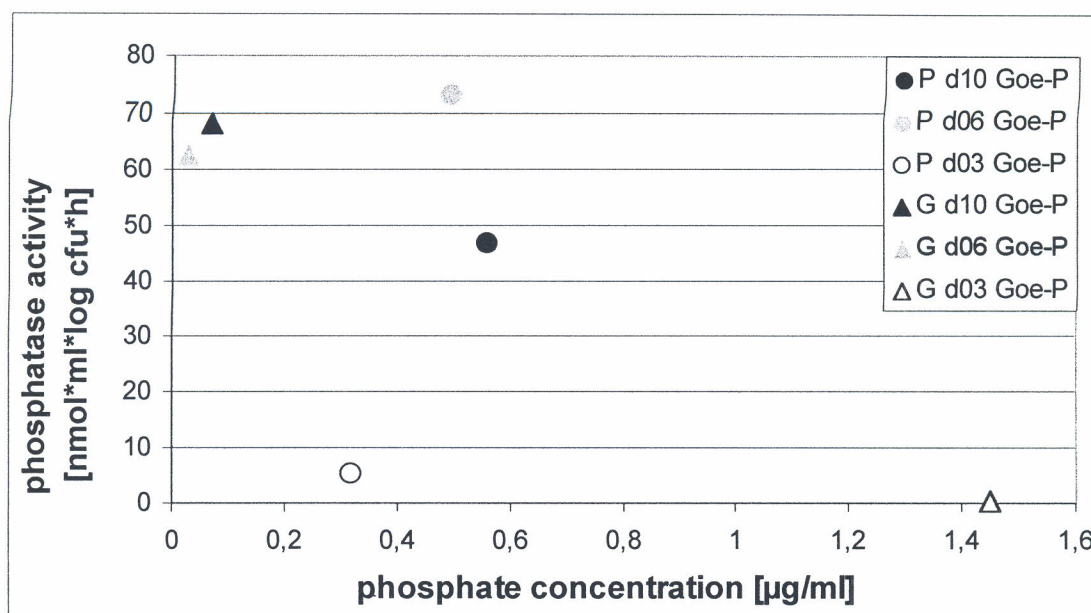


Figure 6: Alkaline phosphatase activity [nmol*ml*log cfu*h] of *Gordonia sp.* (▲ G) and *Pseudomonas fluorescens* (● Pf-5) in the goe-P treatment as a function of the water-soluble phosphate concentration [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1} \text{P}_2\text{O}_5$] in the medium.

Discussion

The two microorganisms investigated showed distinct physiological differences. The actinomycete *Gordonia sp.* elevated the pH, a reaction which could lead in the acidic soils of the amazon region to an alkalisation of the rhizosphere. *P. fluorescens* on the contrary reduced the pH and exuded large amounts of citrate. Citrate is able to chelate metals, and desorb and replace phosphate from binding-sites. Decreasing the pH and exuding organic acids are considered to be two general reactions to liberate phosphate from the soil. Thus both microorganisms may have plant growth promoting effects.

When interpreting the results of the present study the different growth patterns of the two organisms should be considered. The initial cell density of *P. fluorescens* was higher than in *Gordonia sp.*, thus *P. fluorescens* reached the maximal cell density already on day 3.

The cell density of *Gordonia sp.* on the other hand increased until day 8. It can be assumed that in *P. fluorescens* dying cells provided an additional phosphate source for the remaining cells in the stationary phase while very few cells died in the actively growing *Gordonia sp.* cultures.

Independent of the phosphate concentration in the medium, *Gordonia sp.* increased the pH of the medium while *P. fluorescens* decreased it. This indicates that the physiology of the two organisms differs and the pH change is not affected by the phosphate availability.

The soluble phosphate concentration in a suspension with goethite is a function of pH. The phosphate concentration increases continuously as the pH rises from 3 to 10, with a change in slope at pH 7.2 (BAR-YOSEF, 1991). Organic acids, especially those with two or more carboxylic groups, can chelate iron (Fe) and other cations. Organic acid anions can also replace phosphate sorbed to iron oxides. Both, chelation of iron and replacement of phosphate can liberate phosphate from goethite (JONES, 1998). For any organic anion the desorption capacity is greatest at a pH that corresponds to the second pK value of the organic acid. At this degree of dissociation, the ratio of the stability of the Fe (or, for example Al)-organic anion complex to the stability of the Fe (or Al)-phosphate complex is maximal. In contrast fully dissociated organic acids are ineffective in desorbing phosphate (BAR-YOSEF, 1991).

Based on these findings the differing strategies of the two microorganisms for phosphate acquisition from goethite can be outlined as follows. The pH increase by *Gordonia sp.* lead to a partial dissolution of goethite. This dissolution may have been further increased by the malic acid exuded by *Gordonia sp.*, as malic acid can reduce $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (JAUREGURI & REISENAUER (IN: BAR-YOSEF, 1991)). Due to the high pH the majority of the organic acids will have been fully dissociated and thus ineffective in desorbing phosphate from goethite. *Gordonia sp.* therefore increased the phosphate availability from goethite mainly by dissolution of goethite and not by desorption of phosphate through organic acid exudation.

P. fluorescens decreased the pH and exuded large amounts of citrate. Citrate sorption to iron oxides and thus phosphate desorption is maximal at pH 4.25 (Bar-Yosef 1991) which is just slightly lower than the pH measured in the goethite treatment of *P. fluorescens*. At this pH citrate will also effectively chelate iron thus decreasing the number of sorption sites for phosphate. The strategy of *P. fluorescens* therefore is mainly a desorption of phosphate from goethite.

There are several reasons why the production of organic acids by the two microorganisms is probably higher than that determined in the solution. Organic acids are not only exuded but they are also easily available carbon sources for microorganisms (JONES & DARRAH, 1994). Part of the exuded organic acids will therefore rapidly be taken up by the cells. In the presence of goethite the organic acid concentration may further be decreased by sorption of organic acids to goethite (GERKE, 1993).

Up to 80 % of phosphate in soil can be organic phosphate (SCHACHTMAN, 1998). To access this important phosphate source many organisms produce phosphatases which increase

phosphate availability by hydrolysis of organic phosphate. Due to the release of phosphatases by roots and microorganisms, phosphatase activity is particularly high in the rhizosphere (BARBER & LYNCH, 1976, IN: ASMAR et al. 1995). The activity of the microbial alkaline phosphatase is a good indicator of phosphate deprivation for microorganisms (HUANG et al. 1998). In the present study the relationship between phosphate concentration and phosphatase activity was not clear (Figures 4, 5, 6). Despite ten-fold higher phosphate concentrations in the medium in the 1.0 mM phosphate treatment the phosphatase activity was similar as in the 0.1 mM phosphate treatment. The increase in phosphatase activity with time was therefore probably mainly due to an increase in cell numbers and to the age of the culture even though, within a given treatment, the phosphatase activity of *Gordonia sp.* increased slightly with decreasing phosphate concentration in the solution. It should also be noted that the phosphatase activity in the soluble phosphate treatments was very low compared to that in the goe-P treatment. The phosphatase activity measured in the soluble phosphate treatments is therefore probably constitutively expressed in cells sufficiently supplied with phosphate. The high phosphatase activity in the goe-P treatment at phosphate concentrations lower than $0.1 \mu\text{g ml}^{-1}$ indicates that only at this level, phosphatase activity is induced by phosphate deficiency (Fig. 6). HUANG et al. on the contrary, found increased alkaline phosphatase activity of *Pseudomonas aeruginosa* at soluble phosphate concentrations of $10 \mu\text{g ml}^{-1}$.

The maximum activity of microbial phosphatases is at alkaline pH. The pH increase by *Gordonia sp.* would therefore favour phosphatase activity while the pH decrease by *P. fluorescens* would inhibit it. Even though no organic phosphate was added to the media in the present study, organic phosphate released by dying cells may represent an important phosphate source especially in declining cultures. Interestingly the pH of the media was much closer to the optimum pH of the alkaline phosphatase (pH 9.0) with *Gordonia sp.* (pH 7.5) than in the media containing *P. fluorescens* (pH 4.0). Assuming that the pH of the soil containing organic compounds would be influenced by *Gordonia sp.* in the same way *Gordonia sp.* would be able to liberate a lot more phosphate in the soil through an activation of the alkaline phosphatase than *P. fluorescens*.

The physiology of the two microorganisms in this study differed strongly but was relatively little affected by phosphate availability. Both microorganisms could potentially increase phosphate availability, however the phosphate concentration measured in the solution remained low indicating that most of the liberated phosphate was quickly taken up by growing cells. This indicates that they may not be important for increasing the phosphate availability for plants. However, even if liberated phosphate is initially taken up by the microorganisms it may be available for the plants after the death of the cells. Besides the effect on the phosphate nutrition the potential of both microorganisms in ameliorating Al-toxicity deserves more attention.

References

- ASMAR, F., GAHOONIA, T.S. & NIELSEN, N.E. (1995) Barley genotypes differ in activity of soluble extracellular phosphatase and depletion of organic phosphorus in the rhizosphere soil. *Plant and Soil*, **172**: 117-122.
- BARBER, D.A. & LYNCH, J.M. (1976) Microbial growth in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, **9**: 305-308.

- BAR-YOSEF, B. (1991)** Root excretions and their environmental effects - Influence on availability of phosphorus. In: Waisel, Y., Eshel, A. & Kafkafi, U. (eds.): *The hidden half*. Marcel Dekker, Inc. S. 529-557.
- GERKE, J. (1993)** Solubilization of Fe(III) from humic-Fe complexes, humic/Fe-oxide mixtures and from poorly ordered Fe-oxide by organic acids - consequences for P-adsorption. *Zeitung für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, **156**: 253-257.
- HELAL, H.M. & D. SAUERBECK (1987)** Phosphatase-Aktivität von Pflanzenwurzeln und Böden in Abhängigkeit von der P-Versorgung. *VDLUFA-Schriftenreihe*, **23**: 195-201.
- HUANG, C-T, XU, K.D., MCFETERS, G.A. & STEWART, P.S. (1998)** Spatial patterns of alkaline phosphatase expression within bacterial colonies in response to phosphate starvation. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**: 1526-1531.
- JONES, D.L. (1998)** Organic acids in the rhizosphere - a critical review. *Plant and Soil*, **205**: 25-44.
- JONES, D.L. & DARRAH, P.R. (1994)** Role of root derived organic acids in the mobilisation of nutrients from the rhizosphere. *Plant and Soil*, **166**: 247-257.
- SCHACHTMANN, D.P., REID, R.J. & AYLING, S.M. (1998)** Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiology*, **116**: 447-453.

Anhang 7

In vitro Kultur ausgewählter tropischer Nutzpflanzen für die Entwicklung verbesserter Verfahren zur Rekultivierung von Monokulturplantagenflächen in Brasilien

Katja Brandau

Universität Hamurg

Einleitung

Seit 1989 besteht das SHIFT-Programm („Studies on Human Impact on Forests and Foodplains in the Tropics“), eine Forschungskoooperation zwischen Deutschland und Brasilien, die eine umweltverträgliche Bewirtschaftung natürlicher Ressourcen in Amazonien ermöglichen soll. Das Institut für Angewandte Botanik bearbeitet seit 1992 in enger Zusammenarbeit mit dem Agroforstlichen Forschungszentrum Brasiliens in Manaus (Amazonien/EMBRAPA) und der Universität Manaus ein Projekt, das zum Ziel hat, verlassene, ehemalige Monokulturplantagenflächen zu rekultivieren.

Inzwischen wurden Produktionssysteme entwickelt, die an die lokalen Bedingungen in Brasilien angepasst sind. Es wurden Mischkulturen von heimischen, ökologisch gut angepassten Pflanzenarten angelegt, um eine langfristige Nutzung durch die Kleinbauern zu ermöglichen. Einige dieser Pflanzen sind wirtschaftlich besonders interessant, haben bisher aber kaum Züchtungs- und Selektionsschritte erfahren. Mit Hilfe von *in vitro* Kulturtechniken könnten diese Pflanzen wesentlich effektiver bearbeitet und hochvermehrt werden.

Im ersten Jahr der Förderung wurden 4 wirtschaftlich interessante Nutzpflanzen ausgewählt und die Literatur nach Möglichkeiten zur *in vitro* Vermehrung dieser Pflanzen durchsucht. Im folgenden sollen die Vorteile der *in vitro* Kulturtechniken beschrieben und danach die Ergebnisse der Literaturrecherche zusammengefasst werden. Eine detaillierte Darstellung findet sich im Antrag auf Verlängerung des Kontaktstipendiums vom November 1999 im Kapitel „Stand der Forschung“.

Vorteile von *in vitro* Kulturtechniken

Funktionierende *in vitro* Regenerationssysteme erleichtern die züchterische Bearbeitung von wirtschaftlich interessanten Pflanzen enorm. Durch die verkürzten Regenerationszeiten kann eine effektive Hochvermehrung erfolgen und man kommt rascher zu auswertbaren Ergebnissen. Züchtungsziele (z.B. qualitative Veränderung von Inhaltsstoffen, Krankheitsresistenz, Ertragssteigerung, Anpassungsfähigkeit) werden schneller erreicht. Werden *in vitro* Kulturtechniken mit biotechnologischen und gentechnischen Verfahren kombiniert, können Merkmalskombinationen realisiert werden, die mit klassischen Methoden nicht entstehen könnten.

In folgenden Bereichen werden *in vitro* Kulturen eingesetzt:

- Physiologische Untersuchungen, Grundlagenforschung
- Vegetative Vermehrung von Pflanzen (Massenvermehrung und Jungpflanzenproduktion): Die Explantatentnahme aus Elitepflanzen ermöglicht eine gezielte Massenvermehrung und die Etablierung hochwertiger, uniformer Kulturen. Folgende Methoden werden angewendet:

Mikrostecklinge (Bewurzelung von Achsel sprossen oder Bewurzelung von Adventiv sprossen, die im Explantat- oder Kallusgewebe induziert werden)

Somatische Embryonen (Differenzierung aus Explantatgewebe, Kallus- oder

Suspensionskulturen): Durch die Rejuvenalisierung des verwendeten Pflanzenmaterials sind embryogene Kulturen die Voraussetzung für Transformationen und Protoplastenfusionen. Dies spielt insbesondere bei recalcitranten Species eine entscheidende Rolle.

- Protoplastenkulturen ermöglichen Hybridisierungen und genetische Transformationen: Voraussetzung für beide Techniken sind embryogene Kulturen. Mit Hilfe der Hybridisierung kann genetisches Material zwischen Protoplasten frei ausgetauscht werden. Bei der genetischen Transformation können bestimmte Gene, z.B. Resistenzgene oder Schlüsselenzyme in die Protoplasten eingeschleust werden.
- Haplogenes (Antherenkultur): Die Regeneration von haploiden Pflanzen ermöglicht die Produktion reiner Linien.
- In vitro Kultur von zygotischen Embryonen: Die *in vitro* Keimung unreifer zygotischer Embryonen kann die Ausbeute an Pflanzen nach künstlicher Bestäubung erhöhen.
- Eliminierung von Krankheitserregern: Durch die Transplantation von Sproßmeristemen können Viren eliminiert werden.
- Errichtung von Genbanken zur Sicherung genetischer Ressourcen
- Produktion von wirtschaftlich interessanten Inhaltsstoffen in vitro

Im Rahmen des Literaturstudiums wurden im ersten Förderungsjahr vier Pflanzenarten bearbeitet. Dabei wurden die zur *in vitro* Kultur und Vermehrung vorliegenden Ergebnisse zusammengefasst. Zwei dieser Pflanzen waren von weltwirtschaftlichem Interesse (*Hevea brasiliensis*, *Theobroma cacao*), während die anderen beiden lokal genutzt werden und von den Kleinbauern in Mischkulturen eingesetzt werden können (*Theobroma grandiflorum*, *Bactris gasipaës*). Die Ergebnisse dieses Literaturstudiums sollen hier noch einmal kurz vorgestellt werden:

Die Etablierung von *in vitro* Kulturen von *Hevea brasiliensis* und *Theobroma cacao* wird seit kurzem routinemässig durchgeführt. Schwerpunkt der Forschung ist bei beiden Pflanzenarten die somatische Embryogenese. Neben dem hohen Regenerationspotential, das diese Methode birgt, entstehen durch die Rejuvenilisierung des verwendeten Gewebes zahlreiche weitere Anwendungsmöglichkeiten. So können aus embryogenen Zellen Protoplasten gewonnen werden, die für somatische Hybridisierungen und genetische Transformationen genutzt werden können. Es gibt bereits einige Systeme zur Regeneration von Pflanzen aus somatischen Embryonen, die allerdings für die Praxis noch nicht effizient genug sind.

In vitro Kulturen von *Theobroma grandiflorum* wurden offenbar bisher nicht angelegt. Aufgrund der nahen Verwandtschaft zu *Theobroma cacao* kann davon ausgegangen werden, dass viele der bei Kakao gewonnenen Erkenntnisse auf *Theobroma grandiflorum* übertragen werden können.

***Bactris gasipaës* H.B.K.**

Weniger gut erforscht ist die hauptsächlich für die Subsistenzwirtschaft der lokalen Bevölkerung genutzte Pflanze *Bactris gasipaës* (Morton, 1987). Für die Entwicklung von an die lokalen Bedingungen angepassten Mischkulturen ist die Pfirsichpalme von grosser Bedeutung. Sie ist relativ anspruchslos was Klima und Boden betrifft und verträgt sich in der Kultur mit vielen anderen perennierenden Pflanzen. Wegen der ausserordentlich hohen Biomasseproduktion und der Eignung als „multi-purpose“ Pflanze wurde *Bactris gasipaës* als Produktionsfaktor in die Polykultursysteme des SHIFT-Projektes einbezogen (Araújo et al., 1998). Fast alle Teile der Pflanze können genutzt werden:

Nutzungsmöglichkeiten *Bactris gasipaës* H.B.K.

Literatur: Mora-Urpi et al. (1984)

- Früchte**
- Grün: als Gemüse oder in anderer Form
 - Reif: gekocht
 - Konserviert: in Salzlake, in Essig, mit Gewürzen, eingemacht
 - Geröstet: Nuß-ähnliches Aroma
 - Gemahlen: für Saucen; als Füllung für Geflügel oder Schwein; Eiermilch; Suppen
 - Mehl: für Brot, Tortillas, „Müsli“, Getränke (mit Zucker gesüßt), Eiscreme
 - Frittiert: Chips oder „Pommes frites“
 - Tierfutter: Geflügel, Schweine, Milchkühe, etc.
 - Süßigkeiten
 - Pejibaye-Butter
 - Wein
 - Alkohol
 - Öl: aus Früchten und Samen
- Palmherzen**
- Frisch
 - Konserviert: in Salzlake, Essig, Öl und mit Gewürzen
 - Eiermilch und Suppen
 - Eingefroren
 - Getränke (meist mit Zucker gesüßt)
 - Likör
 - Zarte Blätter als Salat
 - Geröstet
- Stamm**
- Holz: für dekorative Zwecke (Parkett, Säulen etc.)
 - Angelruten
 - Pfeil und Bogen
 - Griffe für Werkzeug und andere Artikel
 - Blumentöpfe
 - Zellulose für Zellophanpapier und Kunstseide (Rayon)
 - Likör (aus den weichen Teilen)
- Infloreszenzen und Blätter**
- Unreife Blüten: in Salzlake, Essig, Öl mit Gewürzen
 - Pollen: Bienenzucht, Nahrungsergänzung
 - Zierpflanze: ohne Stacheln

In vorkolumbianischer Zeit war *Bactris gasipaës* die wichtigste genutzte Palmart (Mora-Urpi, 1994). Auf Hawaii wurde die Pflirsichpalme 1990 eingeführt, um die Palmherzen als Delikatesse in Gourmet-Restaurants anbieten zu können (Clement et al., 1996).

Viele Pflirsichpalm-Varietäten sind mit Stacheln besetzt. Beim Anbau von *Bactris* muss diese Eigenschaft berücksichtigt werden. Das Vorhandensein von Stacheln kann, je nach Standort, unterschiedliche Folgekosten nach sich ziehen. Eine direkte Korrelation zwischen den Stacheln und der Produktivität gibt es nicht (Clement and Manshardt, 2000).

Die Früchte haben einen höheren Stärkegehalt als Kartoffeln, Süsskartoffeln und Maniok, so dass sie als Stärkequelle in Amazonien genutzt werden könnten (Carrera, 1999). Das in den Früchten gespeicherte Öl kann bisher nicht durch kostengünstige Kaltpressung gewonnen werden, da die Früchte zu viel Stärke enthalten. Sollte eine Selektion im Hinblick auf einen höheren Öl- und niedrigeren Stärkegehalt gelingen, könnte die Pflirsichpalme neben der Ölpalme ein wichtiger Rohstofflieferant werden.

Da die Pflirsichpalme selbstinkompatibel ist und die Pflanzen hauptsächlich aus heterozygoten Samen gezogen werden, ist die genetische Vielfalt sehr gross und die Erträge schwanken stark (Rojas-Vargas et al., 1999). Es fehlt an produktiven Varietäten, die kommerziell genutzt werden könnten. Problematisch ist auch, dass eine effiziente vegetative Vermehrung bisher nicht möglich ist. Es müssen also Techniken entwickelt werden, die eine Massenvermehrung mit Hilfe der Gewebekultur ermöglichen (Mora-Urpi, 1994).

Die Literaturrecherche ergab, dass erste Ergebnisse zur Etablierung von *in vitro* Kulturen von *Bactris gasipaës* vorliegen (Stein und Stephens, 1991; Valverde et al., 1987). Die Pflanze wird in der Literatur zwar sehr selten erwähnt, aber es konnten bereits einige wenige Pflanzen über somatische Embryogenese oder Organogenese regeneriert werden. Die Etablierung von *in vitro* Regenerationssystemen für *Bactris gasipaës* würde zu einer wesentlich effizienteren Nutzung führen und die weltweite Vermarktung dieser bisher nur lokal genutzten „multi-purpose“ Pflanze vorantreiben. Es besteht erhöhter Forschungsbedarf, da sich weltweit nur sehr wenig Arbeitsgruppen mit diesem Thema beschäftigen.

Im zweiten Jahr des Förderungszeitraumes sollten deshalb erste Versuche zur Etablierung von *in vitro* Kulturen der Pfirsichpalme durchgeführt werden. Dabei konnte auf Pflanzenmaterial des Institutes für Angewandte Botanik und eigene Erfahrung im Umgang mit *in vitro* Kulturen zurückgegriffen werden. Neben einem Medienscreening sollte auch der Einfluss des Explantattyps untersucht werden, da die ursprüngliche Lage des Explantats im Gewebe einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung *in vitro* hat. So ist z.B. die Entstehung von somatischen Embryonen bei *Euphorbia pulcherrima* auf epidermisnahe Schichten des Hypokotylquerschnittes beschränkt (Brandau, 1996 und Jühlke, 1997).

Im folgenden sollen die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse und die angewandten Methoden kurz zusammengefasst werden, da sie die Basis für die eigenen Versuche darstellten:

Valverde et al. (1987) präparierten Sprossspitze von 15 Monate alten Sämlingen. Nach 4 Monaten Kulturdauer im Dunkeln entstand Kallus, der nachdem er ins Licht gestellt wurde, braun wurde. 20 bis 50 mg/l 2,4-D und 3 bis 6 mg/l BAP im MS Medium (Murashige and Skoog, 1962) führten zur Bildung von Kallus. 10 mg/l NES and 1,25 mg/L Kinetin stimulierte die direkte Entwicklung von Sprossen aus den kultivierten Sprossspitzen. 10 bis 35 % der kultivierten Explantate bildete nach einem Jahr Kulturdauer Sprosse. Diese Vermehrungsrate ist zu niedrig für eine effiziente Massenvermehrung. Ziel aller weiteren Versuche war deshalb die Etablierung embryogener Kulturen. Als vorteilhaft erwies es sich, statt 2,4-D Picloram (4-Amino-3,5,6-Trichlorpicolinsäure), ein wesentlich stärkeres Auxin, zu verwenden. Enthielt das MS-Medium 0,06 mg/l Picloram, bildeten die Explantate nach 3 Monaten Kultur im Dunkeln Kallus. Nach weiteren 3 Monaten auf Medium mit 0,03 mg/l Picloram wurden die Explantate auf MS-Medium ohne Wachstumsregulatoren umgesetzt und im Licht weiterkultiviert. Der Kallus wurde braun, bildete aber neuen stark wüchsigen Kallus auf dem globuläre Embryonen entstanden. Aus diesen somatischen Embryonen wurden Pflänzchen regeneriert, die ins Feld überführt werden konnten.

Aufbauend auf den hier erzielten Ergebnissen setzten Stein und Stephens (1991) sehr hohe Auxinkonzentrationen (0, 25, 50, 75, 100 mg/l 2,4-D) ein. Ausserdem testeten sie den Einfluss von Kokosmilch und Aktivkohle, da letztere das braun werden der Kalluskulturen verhindern soll (konnte in den Versuchen nicht bestätigt werden). Auch diese Arbeitsgruppe verwendete Sämlinge (4 oder 18 Monate alt) zur Präparation der Sprossspitze. Die Explantate wurden 3 Monate im Dunkeln kultiviert und dann auf MS-Medium ohne weitere Zusätze subkultiviert. Die meisten Embryonen entstanden auf Kalli, die aus Sprossspitzen junger Sämlinge (4 Monate alt) entstanden waren. Kokosmilch im Medium förderte die Bildung der Embryonen. 4 der 18 getesteten Genotypen bildeten somatische Embryonen, wenn das Medium 100 mg/l 2,4-D und 2,5 g/l Aktivkohle enthielt. Problematisch war, dass nur bei so wenigen Genotypen somatische Embryonen induziert werden konnten. Als sehr vielversprechend erwies sich allerdings, dass die Embryonen reifen und keimten. Die Methode könnte also für die klonale Massenvermehrung genutzt werden. Sprossspitze aus basalen Schösslingen der Pflanze wurden ebenfalls als Explantatquelle getestet. Somatische Embryonen konnten induziert werden.

Auch über die Entstehung organogener Kalluskulturen wird in der Literatur berichtet. Die Induktion von Sprossen *in vitro* gelingt mit Hilfe der Kultivierung von Sprossscheiteln (Arias Moreira, 1986) oder Staubblättern aus Blütenknospen (de Almeida and Kerbauy, 1996). Die hier vorgestellten Ergebnisse sind vielversprechend, da Pflänzchen sowohl über Organogenese als auch über somatische Embryogenese regeneriert werden konnten. Leider konnten keine Veröffentlichungen gefunden werden, die auf diesen Ergebnissen aufbauen.

Zielsetzung

Ziel der Versuche war es, die Regeneration verschiedener Explantattypen auf Medien unterschiedlicher Zusammensetzung zu beobachten, um so erste Voraussetzungen für ein *in vitro* Regenerationssystem zu schaffen.

Als Explantatquelle diente die Sprossspitze basaler Seitenknospen von im Gewächshaus gezogenen Mutterpflanzen. Die Regenerationskapazität der kultivierten Explantate ist bekanntermassen von ihrer Lage im Ursprungsgewebe abhängig. Deshalb wurden unterschiedliche Explantattypen präpariert und diese wiederum auf Medien unterschiedlicher Zusammensetzung kultiviert. Von untergeordneter Rolle war die Frage, ob die Regeneration der Pflanzen über somatische Embryogenese oder über Organogenese erfolgt, da beide Wege die klonale Massenvermehrung ermöglichen würden und bei *Bactris gasipaës* weitestgehend unerforscht sind.

Material und Methoden

Da bereits *in vitro* Pflanzpalmen regeneriert wurden, orientieren sich die hier angewandten Methoden an den Veröffentlichungen von Stein und Stephens (1991) und Valverde et al. (1987).

Pflanzenmaterial

Im Gegensatz zu den Arbeiten von Stein und Stephens (1991) dienten junge Seitenknospen von im Gewächshaus gezogenen Palmen als Ausgangsmaterial für die Präparation. Die Palmen stammten von dem Versuchsfeld des SHIFT Projektes in Brasilien. Vorteil dieser Methode ist, dass ein bekannter Genotyp vermehrt wird, ohne dass die Mutterpflanze geschädigt wird. Das Anziehen von Sämlingen entfällt.

Im Gewächshaus wurden kleine Seitentriebe, die an der Basis der Mutterpflanze entstanden waren, mit dem Skalpell herauspräpariert. Dabei wurde so tief wie möglich in den Stamm der Mutterpflanze hineingeschnitten, da der Sprossscheitel der Seitentriebe unter der Stammoberfläche versenkt zu finden war. Je grösser die präparierten Seitentriebe, desto grösser war die Wahrscheinlichkeit, den Sprossscheitel mit dem darin liegenden kegelförmigen Meristemmantel unbeschädigt entnehmen zu können.

Sterilisation des Arbeitsmaterials und der Nährlösung

Glasgeräte wurden 4 h bei 160°C im Trockenschrank durch trockene Heissluft sterilisiert.

Die Sterilisation von Nährmedien und Wasser erfolgte im Autoklaven 15 Minuten lang bei 121°C und 1,1 bar.

Die Impfbänke und alle nicht abflammbaren Präparationsgeräte wurden mit Ethanol (70 %) desinfiziert.

Sterilisation des Pflanzenmaterials

Die bereits verholzten Blattscheiden der Seitentriebe wurden abgenommen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die ganz jungen und empfindlichen Blattscheiden, die den Sprossscheitel umschliessen, noch von einem älteren Blatt geschützt wurden.

Die so präparierten Pflänzchen wurden kurz in 96 % Ethanol getaucht. Diese Vorbehandlung erwies sich als nötig, da sonst zu viele Explantate unsteril wurden (s. Versuch I). Die

Pflänzchen wurden dann 10 Minuten in 3%iger NaOCl-Lösung, der 2 bis 3 Tropfen 0,1%ige Tween-Lösung zugesetzt waren, sterilisiert. Danach folgten 3 Spülungen à 5 Minuten in sterilem Leitungswasser. Bis zur Präparation verblieben die Sprossspitze im letzten Spülwasser.

Kulturführung

Für die Herstellung von Kalluskulturen wurden unterschiedliche Explantattypen auf Festmedium unterschiedlicher Zusammensetzung kultiviert.

Präparation der basalen Seitentriebe von Gewächshauspflanzen

Nach der Sterilisation wurde die ältere Blattscheide abgenommen und deren stengelumfassender Blattgrund abgeschnitten. Die aussen liegende Schicht, die oft mit kleinen Stacheln besetzt war und die Epidermis und die primäre Rinde enthielt, wurde so dünn wie möglich mit einem Skalpell abgeschält und auf Festmedium aufgelegt (im folgenden als „äußerer Bereich“ bezeichnet). Der so „geschälte“ Blattgrund wurde in Segmente von ca. 1 mm Dicke geschnitten und ebenfalls auf Festmedium kultiviert (im folgenden als innerer Bereich bezeichnet).

Nach dem Entfernen der älteren Blattscheide wurden die den Sprossspitze umschliessenden jungen Blattscheiden von aussen nach innen entfernt, um den Sprossspitze frei zu legen und herauszupräparieren. Dies gelang nicht in allen Fällen, da der Sprossspitze oft tief im Stamm der Mutterpflanze versenkt war. Auch die jungen Blattscheiden wurden in Segmente von ca. 1 mm Dicke geschnitten und mit dem Sprossspitze auf Festmedium kultiviert.

Somit wurden 4 Explantattypen kultiviert:

1. **äußere Bereiche** des älteren stengelumfassenden Blattgrundes (enthält Epidermis und primäre Rinde)
2. **innere Bereiche** des älteren stengelumfassenden Blattgrundes (enthält Markparenchym und Leitbündel)
3. **junge**, den Sprossspitze umgebende, **Blätter**
4. **meristematisches Gewebe** (Sprossspitze)

Kulturbedingungen

Alle Explantate wurden auf festem MS-Medium (Murashige and Skoog, 1962) in Plastikpetrischalen (Durchmesser 9 cm) kultiviert (Rezept s. Anhang). Die Petrischalen wurden mit Parafilm verschlossen, um ein frühzeitiges Austrocknen zu verhindern.

Das MS-Medium wurde mit Aktivkohle (0,3 %) und unterschiedlichen Konzentrationen an 2,4-D angereichert. Auf den Einsatz von Kokosmilch nach Stein und Stephens (1991) wurde verzichtet, da deren Zusammensetzung variiert. Dem Medium wurde stattdessen 1 mg/l BAP zugegeben. Diese sehr hohe BAP Konzentration wurde gewählt, da Valverde et al. (1987) nachweisen konnten, dass eine (ungewöhnlich hohe) Konzentration von 3 bis 6 mg/l BAP für das Kalluswachstum optimal ist. Neben der Kontrolle ohne 2,4-D wurden 5 verschiedene 2,4-D Konzentrationen jeweils mit und ohne Aktivkohle getestet (Tab. 1):

Tab. 1: Varianten des Medienscreenings

| Aktivkohle | 0,3 % | 0 % |
|--------------|-------|-----|
| 2,4-D [mg/l] | 0 | 0 |
| | 0,5 | 0,5 |
| | 1 | 1 |
| | 10 | 10 |
| | 25 | 25 |
| | 100 | 100 |

Ausgangsmedium ist MS-Medium mit 1mg/l BAP.
Auf den beschriebenen Varianten wurden unterschiedliche Explantattypen kultiviert.

Der Versuch wurde 2 mal durchgeführt (Versuch I und II). Pro Explantattyp wurden mindestens 10 bis 15 Explantate pro Schale kultiviert. Davon ausgenommen waren die Sprossspitze, weil ihre Anzahl durch die Zahl der vorhandenen Seitentriebe limitiert war. Die Aufstellung der Explantate erfolgte bei 24°C im Dunkeln (Stein and Stephens, 1991); (Valverde et al., 1987).

Nach 5 Monaten wurden die Explantate auf MS-Nährmedium ohne Wachstumsregulatoren mit oder ohne Aktivkohle umgesetzt und bei 24°C und einer Tageslänge von 16 Stunden kultiviert. Nach 10 bzw. 13 Wochen und nach 19 bzw. 22 Wochen Kulturdauer wurde die Entwicklung der Explantate fotografisch festgehalten.

Kultivierung der *in vitro* entstandenen Wurzeln

5 Monate nach der Präparation wurden entstandene Wurzeln vom Kallus getrennt und in ca. 1 cm lange Stücke geschnitten. Diese Wurzelexplantate wurden auf MS-Medium mit oder ohne Aktivkohle weiterkultiviert.

10 Wochen danach wurden die Wurzelexplantate auf Sprossinduktionsmedium überführt. Dieses MS-Medium enthielt keine Aktivkohle, aber unterschiedliche Konzentrationen an Wachstumsregulatoren. 3 Varianten wurden getestet:

1. 0,01 mg/l 2,4-D
2. 1 mg/l BAP
3. 0,5 mg/l BAP
4. 0,05 mg/l BAP nach Jühlke (1997)

Ergebnisse und Diskussion

Präparation basaler Seitensprosse

In der Literatur werden die für die *in vitro* Kultur am besten geeigneten Sprossspitze aus Sämlingen herauspräpariert (Stein and Stephens, 1991); (Valverde et al., 1987). In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, Sprossspitze aus den basalen Seitentrieben von im Gewächshaus gezogenen Mutterpflanzen zu präparieren und Kalluskulturen aus ihnen zu etablieren. Diese Methode hat den Vorteil, dass die Mutterpflanze ungestört weiter wachsen kann und immer wieder neue Seitentriebe produziert, die wiederum als Ausgangsmaterial für weitere Versuche zur Verfügung stehen. Ausserdem ist der Genotyp der Pflanze bekannt, so dass Pflanzen mit geeigneten Merkmalskombinationen züchterisch bearbeitet bzw. hochvermehrt werden könnten.

Entwicklung der unterschiedlichen Explantattypen in der *in vitro* Kultur

Nach Präparation der ersten Versuchsreihe traten Sterilitätsprobleme auf. Deshalb wurden die Pflänzchen für Versuch II vor der Präparation kurz in 96 % Ethanol getaucht, bevor sie in die NaOCl-Lösung überführt wurden. Die Ausbeute an sterilen Explantaten konnte so deutlich erhöht werden.

Die Entwicklung der Explantate wurde regelmässig bonitiert (Tab. 2 bis 5). Die Bonituren zu Versuch I sind im Anhang aufgeführt (Tab. 6 bis 9), weil zahlreiche Explantate unsteril wurden. Die Ergebnisse sind weniger aussagekräftig, als die von Versuch II. Ein Vergleich der Ergebnisse lässt allerdings Gemeinsamkeiten erkennen (s.u.). 2 und 4 Monate nach der Präparation wurden die Kulturen fotografiert.

Auffällig war, dass die jungen, den Sprossscheitel umgebenden, Blätter sich in der *in vitro* Kultur „ziehharmonika-ähnlich“ auffalteten, oft allerdings ohne Kallus zu bilden (Abbildung 1). Deshalb wurde während der Bonitur zwischen Wachstum (☆ in den Tabellen) und Kallusbildung (K in den Tabellen) unterschieden. Leider kam es auch bei Versuch II zu Ausfällen durch Unsterilitäten. Die dargestellten Ergebnisse können also nur Tendenzen beschreiben. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse muss durch grösser angelegte Versuche gesichert werden, die im Rahmen dieses Stipendiums nicht durchgeführt werden konnten.

Die in den Tabellen dargestellten Ergebnissen zeigen, dass die vier Explantattypen unterschiedlich auf die *in vitro* Kultur reagieren (Tab. 2 bis 5):

Äussere Bereiche (Epidermis und primäre Rinde) eines alten Blattgrundes

Weder unterschiedliche Auxinkonzentrationen noch die An- oder Abwesenheit von Aktivkohle im Nährmedium kann die Entwicklung von Kallus induzieren. Die Explantate werden glasig und im Laufe der Kultur braun.

Bei *Euphorbia pulcherrima* sind es gerade die äusseren Bereiche des Hypokotylabschnittes, die embryogen sind (Brandau, 1996). Allerdings handelt es sich hier um Hypokotylabschnitte, die dicht unter dem Sprossmeristem liegen. Wahrscheinlich ist das Gewebe des alten Blattgrundes bei *Bactris gasipaës* schon sehr stark ausdifferenziert und deshalb in der *in vitro* Kultur nicht mehr in der Lage zu dedifferenzieren.

Innere Bereiche (Markparenchym und Leitbündel) eines alten Blattgrundes

Die inneren Bereiche des alten Blattes wachsen am besten, wenn Aktivkohle im Medium vorhanden ist. Optimal ist eine 2,4-D Konzentration von 0,5 bis 1 mg/l. Auffällig ist, dass ein weiteres Optimum bei sehr hohen Auxinkonzentrationen (50 bis 100 mg/l) zu finden ist. Auch hier ist das Wachstum besonders gut, wenn Aktivkohle im Medium vorhanden ist.

Junge Blätter und Sprossscheitel

Die Explantate der jungen Blätter (umgeben Sprossscheitel/Meristem) und der Sprossscheitel reagieren in der *in vitro* Kultur ähnlich. Im Gegensatz zu den inneren Bereichen des alten Blattes wachsen sie besser, wenn dem Nährmedium keine Aktivkohle zugegeben wurde. Die optimale 2,4-D Konzentration im Medium beträgt 0,5 bis 1 mg/l. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Versuch I (s. Tab. 6 bis 9 im Anhang) erzielt. Auffällig ist, dass sich die Explantate der jungen Blätter im Verlauf der Kultur „ziehharmonika-ähnlich“ auffächerten, aber relativ wenig Kallus bildeten (Abbildung 1 und 2). Die Sprossscheitel bilden lockeren, sehr gut wüchsigen Kallus, der als Ausgangsmaterial für die *in vitro* Vermehrung am geeignetsten erschien. Leider ist die verfügbare Menge an Sprossscheiteln naturgemäss kleiner als die der jungen Blattscheiden, da nur ein Sprossscheitel pro Seitentrieb vorhanden ist. Ausserdem ist die Präparation nicht ganz einfach, da die Meristeme oft tief im Stamm der Mutterpflanze verborgen zu finden sind.



Abbildung 1: Kallusbildung an Blattscheidenexplantaten (Medium mit Aktivkohle und 1mg/ml 2,4-D)

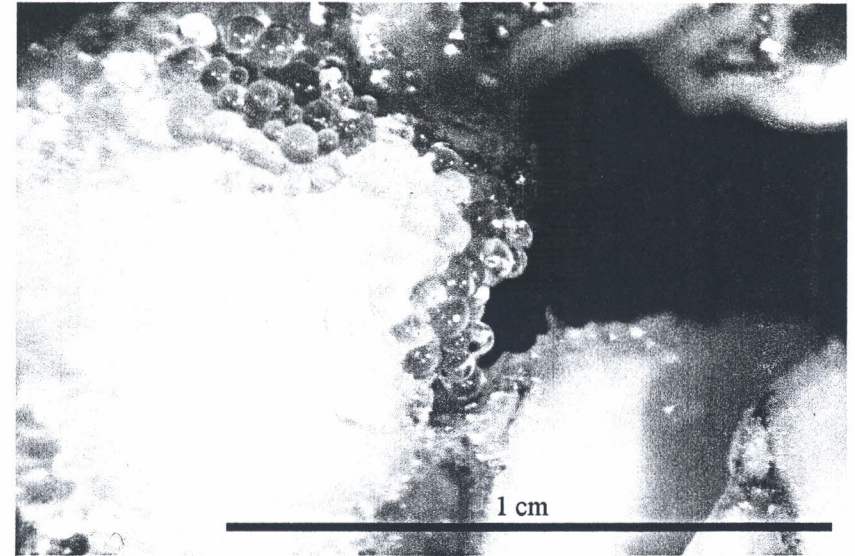


Abbildung 2: Detailaufnahme des Kallus (Blattscheidenexplantat, Medium mit Aktivkohle und 1 mg/l 2,4-D)

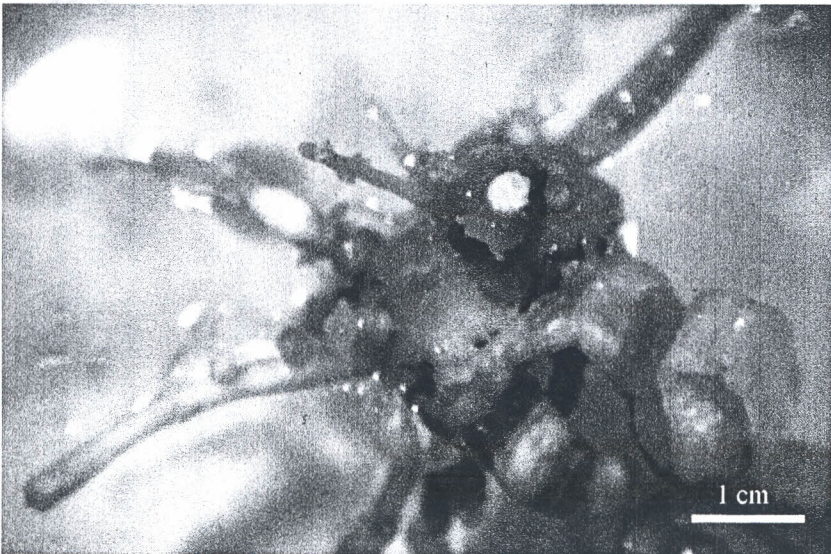


Abbildung 3: Wurzelbildung an Blattscheidenexplantaten (Medium ohne Aktivkohle mit 1mg/l 2,4-D)

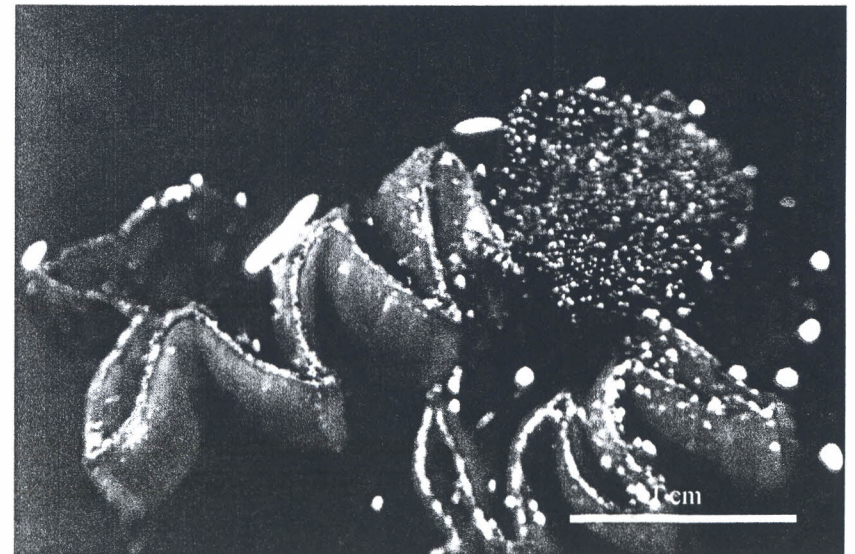


Abbildung 4: Verbräutes Blattscheidenexplantat / verbräuter Kallus (Medium mit Aktivkohle und 1 mg/l 2,4-D)

Für die Massenvermehrung von grossem Interesse ist die Bildung von Wurzeln auf Explantaten der jungen Blattscheiden (Tab. 5 und Abbildung 3). Dies geschah mit und ohne Aktivkohle bei einer 2,4-D Konzentration von 1 mg/l. Die direkte Bewurzelung der basalen Seitentriebe von *Bactris gasipaës* funktioniert nicht. Sollte es gelingen, *in vitro* Wurzeln zu erzeugen, könnten über Organogense zahlreiche Pflanzen regeneriert werden. Auch in Versuch I konnte zu Beginn der Kultur die Entstehung von Wurzelspitzen beobachtet werden. Diese sehr kleinen Wurzelspitzen verschwanden allerdings im Laufe der Kultur. Nach 17 Wochen Kulturdauer wurde auch bei Versuch I die Entwicklung von Wurzeln beobachtet (s. Tab. 9 im Anhang), und zwar ebenfalls bei einer Konzentration von 1 mg/l 2,4-D im Nährmedium. Erste Versuche zur Regeneration von Sprossen aus den entstandenen Wurzeln auf Sprossinduktionsmedien unterschiedlich Zusammensetzung schlugen fehl.

Tab. 2: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch II (Bonitur 6 Wochen nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|--------|--------|-----------------|---------------|---------------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------|-------------|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b | - b |
| innen (altes Blatt) | - b | - b | ☆ (K) (b) | ☆ K | (☆) K b | ☆ K | - b | - b | - b | - b | - b | ☆ K | ☆ K b | ☆ K b |
| junge Blätter | - b | - b | ☆ | ☆ (b) | ☆ | ☆ | ☆ b | (☆) | ☆ b | - | ☆ | - | ☆ | ☆ |
| Sprossscheitel | - b | - b | ☆ K | ☆ K (b) | ☆ K | ☆ K b | | | | | | ☆ K | | |

Ausgangsmaterial für die Präparation waren Seitentriebe von im Gewächshaus gezogenen Mutterpflanzen. 4 Explantattypen wurden kultiviert: **äussere Bereiche** des ältesten stengelumfassenden Blattgrundes (enthält Epidermis und primäre Rinde), **innere Bereiche** desselben Blattes (enthält Markparenchym und Leitbündel), **junge**, den Sprossscheitel umgebende, **Blätter** und **meristematisches Gewebe** (Sprossscheitel). Das MS-Medium (Rezept s. Anhang) enthielt 1 mg/l BAP und unterschiedliche Konzentrationen an 2,4-D (0; 0,5; 1; 10; 25; 50 und 100 mg/l) und 0 oder 0,3 % Aktivkohle (in der Tabelle mit - und + gekennzeichnet). Folgende Merkmale wurden regelmässig bonitiert:

Explantat gewachsen: ☆

Explantat nicht gewachsen: -

Kallusbildung: K

Explantat/Kallus braun geworden: b

Entwicklung von Wurzeln: W

keine Eintragung: Auswertung aufgrund von Unsterilitäten nicht möglich

Tab. 3: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch II (Bonitur bzw. Fotos 10 Wochen nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|---|---|-----|---|-----|---|-----|-----|-----|---|----|---|-----|-----|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | | - | - |
| | b | b | b | b | b | b | b | b | b | b | | | b | b |
| innen (altes Blatt) | - | - | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | (☆) | (☆) | ☆ | | | | ☆ | ☆ |
| | b | b | K | K | b | K | (K) | (K) | K | | | | K | K |
| | | | | | | | b | b | b | | | | b | b |
| junge Blätter | | | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | (☆) | (☆) | | - | | ☆ | (☆) |
| | | | | | K | K | b | b | (K) | | | | b | |
| | | | | | (b) | | | | b | | | | | |
| Sprossscheitel | | | ☆ | ☆ | | | | | | | | | ☆ | |
| | | | K | K | | | | | | | | | K | |

Legende s. Tab. 2

Tab. 4: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch II (Bonitur 14 Wochen nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|---|---|-----|---|-----|---|----|-----|-----|---|----|-----|-----|-----|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - | | - | - | - | - | - | - | - | | | | - | - |
| | b | | b | b | b | b | b | b | b | | | | b | b |
| innen (altes Blatt) | - | | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | | | ☆ | | | | ☆ | (☆) |
| | b | | K | K | K | K | | | K | | | | K | (K) |
| | | | | b | b | b | | | b | | | | b | b |
| junge Blätter | | | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | (☆) | ☆ | | - | (☆) | | |
| | | | K | b | K | K | b | b | (K) | | | | b | |
| | | | | | (b) | b | | | b | | | | | |
| Sprossscheitel | | | ☆ | ☆ | | | | | | | | | ☆ | |
| | | | K | K | | | | | | | | | K | |
| | | | | b | | | | | | | | | | |

Legende s. Tab. 2

Tab. 5: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch II (Bonitur und Fotos 19 Wochen nach Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|---|---|-----|---|---|---|----|---|-----|---|----|-----|-----|---|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - | | - | - | - | - | - | - | - | | | | - | - |
| | b | | b | b | b | b | b | b | | | | | | |
| innen (altes Blatt) | - | | ☆ | V | ☆ | ☆ | - | - | ☆ | | | | | - |
| | b | | K | K | K | K | b | | K | | | | | b |
| | | | | b | b | b | | | b | | | | | |
| junge Blätter | | | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | ☆ | | - | ☆ | | |
| | | | K | K | K | K | b | b | (K) | | | (K) | | |
| | | | | b | b | b | | | b | | | b | | |
| | | | | | W | W | | | | | | | | |
| Sprossscheitel | | | | | | | | | | | | | | |

Legende s. Tab. 2

Stein und Stephens (1991) und Valverde et al. (1987) konnten nachweisen, dass die optimale Auxinkonzentration für die Kallusinduktion bei *Bactris gasipaës* sehr hoch ist (20 bis 100 mg/l 2,4-D). Dies entspricht dem 2. Optimum für die inneren Bereiche des alten Blattgrundes bei den hier dargestellten Ergebnissen, das allerdings nach längerer Kulturdauer hinfällig

wird, da die Kalluskulturen braun werden (Abbildung 4). Die jungen Blattscheiden und die Sprossscheitel bildeten am meisten Kallus, wenn das Nährmedium 0,5 bis 1 mg/l 2,4-D enthielt. Auch der Zusatz von Aktivkohle hatte hier keinen positiven Einfluss. Die Entstehung von Wurzeln konnte ebenfalls bei 1 mg/l 2,4-D beobachtet werden.

Im Gegensatz zu den in der Literatur dargestellten Ergebnissen konnten weder Organogenese noch somatische Embryogenese induziert werden. Ein Grund dafür könnte sein, dass das Ausgangsmaterial für die Versuche einige aus Brasilien stammende Gewächshauspflanzen waren, also nur sehr wenig Genotypen getestet wurden. Auch Stein und Stephens (1991) konnten nur auf 4 der 18 getesteten Genotypen somatische Embryonen beobachten. Des weiteren handelt es sich bei *Bactris gasipaës* offensichtlich um eine Pflanze, die *in vitro* sehr schwer zu kultivieren ist („recalcitrant species“). Grund dafür können z.B. endogene Bakterien sein, die zu Sterilitätsproblemen führen. Problematisch ist des weiteren, dass die Kalluskulturen besonders wenn sie dem Licht ausgesetzt sind, braun werden (Abbildung 4).

Die Etablierung gut funktionierender Regenerationssysteme für *Bactris gasipaës* scheint in grosser Ferne. Nur ein gross angelegtes Forschungsvorhaben könnte die hier dargestellten Probleme lösen.

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Anlage von *in vitro* Kulturen aus Schösslingen von *Bactris gasipaës* möglich ist. Vorteil ist, dass die Mutterpflanze erhalten bleibt und ein bekannter Genotyp mit den gewünschten Merkmalskombinationen kultiviert werden kann. Die untersuchten Explantattypen reagierten in der *in vitro* Kultur sehr unterschiedlich. Während die äusseren Bereiche der älteren Blattscheide unter den getesteten Bedingungen keinen Kallus bildeten, entstand bei den anderen Explantattypen (innerer Bereich der älteren Blattscheide, junge Blattscheiden und Sprossscheitel) Kallus. Die Reaktion der unterschiedlichen Explantate wurde von der Konzentration an 2,4-D im Medium und dem Vorhandensein von Aktivkohle beeinflusst. Die „optimale“ Zusammensetzung des Nährmediums war dabei für die inneren Bereiche des älteren Blattes anders als für die jungen Blätter und die Sprossscheitel. Unterschiedliche Explantattypen bilden also unter verschiedenen Bedingungen Kallus.

Eine Induktion von somatischen Embryonen konnte nicht beobachtet werden. Allerdings wurden auf Explantaten der jungen Blattscheiden Wurzeln gebildet. Diese Rhizogenese ist von besonderem Interesse, weil Schösslinge im Gewächshaus nicht bewurzeln. Sollte es gelingen, *in vitro* Wurzeln zu regenerieren, könnten über die Induktion von Sprossen zahlreiche Pflanzen vermehrt werden. Erste Versuche zur Sprossinduktion mit den gebildeten Wurzeln schlugen fehl.

Die durchgeführten Experimente zeigen, dass die Anlage von Kalluskulturen und die Induktion der Organogenese möglich ist. Die Etablierung funktionierender Regenerationssysteme für *Bactris gasipaës* ist mit Schwierigkeiten verbunden, die nur durch gross angelegte Versuchsreihen überwunden werden können. Es besteht also weiterhin enormer Forschungsbedarf.

Literaturverzeichnis

- ARAÚJO, R. D. C., BENECKE, I., ABIKO, C. Y., ANTONIO, E., DA SILVA, M., GASPAROTTO, L., and LIEBEREI, R.** Root characteristics of *Bactris gasipaës* H.B.K. Lieberei, R., Voß, K., and Bianchi, H. Proceedings of the Third SHIFT-Workshop Manaus, March 15-19, 1998. 359-371. 1998.
- ARIAS MOREIRA, O.** Organogenesis in peach palm (*Bactris gasipaës* H.B.K.) *in vitro*. *Horticultural abstracts*,**56**, 704 (1986)
- BRANDAU, K.** Somatische Embryogenese in *in vitro* Kulturen des Weihnachtssterns. Extrazelluläre Proteine und embryogene Kompetenz. *Dissertation am Fachbereich Biologie der Universität Hamburg*,(1996)
- CARRERA, L.** Isolation and characterisation of Pejibaye starch. *Journal of Applied Botany*,**73**, 122-127 (1999)
- CLEMENT, C. R. and MANSCHARDT, R. M.** A review of the importance of spines for pejibaye heart-of-palm production. *Scientia Horticulturae*,**83**, 11-23 (2000)
- CLEMENT, C. R., MANSCHARDT, R. M., CAVALETTO, C. G., DEFRANK, J., MOOD, J. JR., NAGAI, N. Y., FLEMING, K. and ZEE, F.** Pejibaye Heart-of-Palm in Hawaii: From Introduction to Market. *Progress in new crops* (J.Janick, ed.), *ASHS Press, Arlington, VA*,500-507 (1996)
- DE ALMEIDA, M. and KERBAUY, G. B.** Micropropagation of *Bactris gasipaës* (Palmae) through flower bud culture. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*,**8**, 2215-217 (1996)
- JÜHLKE, N.** Untersuchungen zu Differenzierungsprozessen bei *in vitro* Kulturen von *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch. *Diplomarbeit am Fachbereich Biologie der Universität Hamburg*,(1997)
- MORA-URPI, J.** Peach-palm (*Bactris gasipaës*). *Neglected Crops: 1492 from an Different Perspective.Plant Production and Protection Series No.26.FAO, Rome, Italy, J.E.Hernándo Bermejo and J.León (eds.)*,211-221 (1994)
- MORA-URPI, J., VARGAS, E., LÓPEZ, C. A., VILLAPLANA, M., ALLÓN, G. and BLANCO, C.** The Pejibaye Palm (*Bactris gasipaës* H.B.K.). *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Universidad de Costa Rica*,(1984)
- MORTON, J. F.** Pejibaye (*Bactris gasipaës*). *Fruits of warm climates*,12-14 (1987)
- MURASHIGE, T. and SKOOG, F.** A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*,**15**, 473-497 (1962)
- ROJAS-VARGAS, S., RAMIREZ, P. and MORA-URPI, J.** Isoenzyme polymorphism in four races and one hybrid of *Bactris gasipaës* (Palmae). *Revista de Biología Tropical*,**47**, 755-761 (1999)
- STEIN, M. and STEPHENS, C.** Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and activated charcoal on somatic embryogenesis of *Bactris gasipaës* H.B.K. *Turrialba*,**41**, 196-201 (1991)

VALVERDE, R., ARIAS, O. and THORPE, T. A. Picloram-induced somatic embryogenesis in pejobaye palm (*Bactris gasipaës* H.B.K.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **10**, 149-156 (1987)

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------|--|
| 2,4-D | 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure |
| BAP | 6-Benzylaminopurin |
| MS | Nährmedium nach Murahige und Skoog |
| SHIFT | Studies on Human Impact on Forests and Foodplains in the Tropics |

Anhang

Tab. 6: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch I (Bonitur 14 Tage nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----|--------|----|---|----|---|-----|---|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - | b | - | b | - | b | - | - | - | - | - | - | - | - |
| innen (altes Blatt) | b W | b W | b W | b W | ☆ W | ☆ W | | | | | | | | |
| junge Blätter | (☆) | (☆) | ☆ | ☆ | | | | ☆ W | | | | | | |
| Sprossscheitel | | | | | | | | | | | | | | |

Ausgangsmaterial für die Präparation waren Seitentriebe von im Gewächshaus gezogenen Mutterpflanzen. 4 Explantattypen wurden kultiviert: **äussere Bereiche** des ältesten stengelumfassenden Blattgrundes (enthält Epidermis und primäre Rinde), **innere Bereiche** desselben Blattes (enthält Markparenchym und Leitbündel), **junge**, den Sprossscheitel umgebende, **Blätter** und **meristematisches Gewebe** (Sprossscheitel). Das MS-Medium (Rezept s. Anhang) enthielt 1 mg/l BAP und unterschiedliche Konzentrationen an 2,4-D (0; 0,5; 1; 10; 25; 50 und 100 mg/l) und 0 oder 0,3 % Aktivkohle (in der Tabelle mit - und + gekennzeichnet). Folgende Merkmale wurden regelmässig bonitiert:

Explantat gewachsen: ☆

Explantat nicht gewachsen: -

Kallusbildung: K

Explantat/Kallus braun geworden: b

Entwicklung von Wurzeln: W

keine Eintragung: Auswertung aufgrund von Unsterilitäten nicht möglich

Tab. 7: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch I (Bonitur 3 Wochen nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|---|-----|-----|-------------|---|---|----|--------|----|---|----|---|-----|---|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - | b | - | b | - | b | | | | | | | | |
| innen (altes Blatt) | - | b | - | b | - | b | | | | | - | | | |
| junge Blätter | | (☆) | ☆ | ☆ | ☆ | | | ☆ | | | | | | |
| Sprossscheitel | | | | ☆ K b | | | | ☆ K | | | | | | |

Legende s. Tab. 6

Tab. 8: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch I (Bonitur 13 Wochen nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------|----|-------------|----|---|----|---|-----|---|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - b | | - b | - b | - b | - b | | - b | | | | | | |
| innen (altes Blatt) | - b | | | - | - b | (☆) (K) b | | | | | | | | |
| junge Blätter | | - b | ☆ K | ☆ b | ☆ b | ☆ K (b) | | ☆ b | | | - | | - | |
| Sprossscheitel | | | | | | | | ☆ K b | | | | | | |

Legende s. Tab. 6

Tab. 9: Entwicklung unterschiedlicher Explantattypen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums: Versuch I (Bonitur 17 Wochen nach der Präparation)

| 2,4-D [mg/l] | 0 | | 0,5 | | 1 | | 10 | | 25 | | 50 | | 100 | |
|-------------------------|--------|---|--------|-------------|-------------|--------|----|--------|----|---|----|---|-----|---|
| Aktivkohle | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + |
| aussen (altes Blatt) | - b | | - b | - b | - b | - b | | - b | | | | | | |
| innen (altes Blatt) | - b | | - b | (☆) b | - b | | | | | | - | | | |
| junge Blätter | | | ☆ b | ☆ K b | ☆ b W | | | ☆ b | | | - | | | |
| Sprossscheitel | | | | | | | | ☆ b | | | | | | |

Legende s. Tab. 6

Nährmedium nach Murshige und Skoog (1962)

| Verbindung | ppm [mg/l] | Stammlösung mg in ml Aqua dest. | | auf 1 l Medium |
|---|------------|------------------------------------|------|-------------------|
| NH ₄ NO ₃ | 1650 | 33000 | | 50 ml |
| KNO ₃ | 1900 | 38000 | | |
| CaCl ₂ x 2 H ₂ O | 440 | 8800 | | |
| MgSO ₄ x 7 H ₂ O | 370 | 7400 | 1000 | |
| KH ₂ PO ₄ | 170 | 3400 | | |
| MnSO ₄ x H ₂ O | 16,9 | 338 | | |
| ZnSO ₄ x 7 H ₂ O | 8,6 | 172 | | |
| H ₃ BO ₄ | 6,2 | 620 | 100 | 1 ml |
| NaFeEDTA | 37,5 | 375 | 10 | 10 ml |
| KI | 0,83 | 830 | | 1 ml |
| Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O | 0,25 | 250 | | |
| CuSO ₄ x 5 H ₂ O | 0,025 | 25 | 1000 | |
| CoCl x 6 H ₂ O | 0,025 | 25 | | |
| Thiamin HCl | 0,1 | 10 | 100 | 1 ml |
| Nicotinsäure | 0,5 | 50 | 100 | 1 ml |
| Pyridoxin HCl | 0,5 | 50 | 100 | 1 ml |
| Gycin | 2,0 | 20 | 100 | 10 ml |
| Inosit | 100 | 1000 | 100 | 10 ml |
| Saccharose | 30000 | | | 30 g |
| pH Wert | | 5,8 | | |

Anhang 8

Rekultivierung brachliegender Monokulturflächen (DLR Projekt Nr. 01LT 0009)

Universität Hamburg, Institut für Angewandte Botanik, Prof. Dr. Reinhard Lieberei

Teilprojekt 5

Indikatorwert der spontanen Vegetation unterschiedlich vorgeutzter Terra-Firme-Standorte Zentralamazoniens für die Landwirtschaft

Forschungs- und Entwicklungsauftrag zwischen

Universität Hamburg (Auftraggeber)

und

Dr. Helmut Preisinger, Wissenschaftlicher Gutachter,
Alsterdorfer Straße 513 B, 22337 Hamburg (Auftragnehmer)

Auftragsnummer: 0339457 A

Förderzeitraum: 1. Oktober 1996 bis 30. September 2000

Administrativer Teil zum Abschlußbericht¹

1. Zielsetzungen des Vorhabens

Nach Abschluß der 1. Antragsphase des SHIFT-Projekts "Rekultivierung ..." lagen Ergebnisse aus den bis dahin durchgeführten vegetationsökologischen Untersuchungen vor, die Anlaß zu der Einschätzung gaben, daß die anthropogen geprägte Vegetation Amazoniens eine Indikation wichtiger Standortfaktoren-Komplexe aufgrund einfacher autökologischer Merkmale der Pflanzenarten wie Wuchs- und Lebensformen-Zugehörigkeit und morphologischer Merkmale gestatten würde. Im Anschlußantrag wurde deshalb ein vegetationsökologisches Teilprojekt zum Thema "Indikatorwert der spontanen Vegetation" formuliert, dessen Ergebnisse Grundlagen für eine zukünftige Bewertung der landwirtschaftlichen Nutzbarkeit amazonischer Standorte liefern könnten. Im Gegensatz zu Europa ist ein derartiger Ansatz für Amazonien grundsätzlich neu, so daß auf Vorarbeiten nicht zurückgegriffen werden konnte. Vielmehr wurde ein eigenständiger Ansatz entwickelt, der lt. Antrag die folgenden Teilziele beinhaltet:

Teilziel 1:

Erfassung wichtiger autökologischer Merkmale häufiger Sekundärwaldarten (= autökologischer Ansatz).

Teilziel 2:

"Funktionale Beschreibung" von Sukzessionsstadien der Vegetation, die auf der landwirtschaftlichen Versuchsfläche und den der Versuchsfläche angrenzenden Sekundär- und Primärwäldern auftreten (= synökologischer Ansatz).

¹Ausführliche Darstellungen der Zielsetzungen, des Untersuchungskonzepts und der Ergebnisse finden sich im Antrag v. 23.01.1996 bzw. im ausführlichen Ergebnisbericht vom April 2001.

Teilziel 3:

Entwicklung eines vorerst einfachen, praktisch anwendbaren Zeigerwertsystems, vor allem für die Indikation der *Vornutzung von Standorten* (und damit für die landwirtschaftliche Eignung der Standorte). Die Untersuchungen hierzu erfolgen an der Versuchs-Mischkulturplantage und den angrenzenden Primär- und Sekundärwald-Versuchsflächen sowie weiteren Vergleichsstandorten.

Teilziel 4:

Partielle Analyse des Feldversuchs unter Einsatz multivariater Analyseverfahren und unter Kenntnis und versuchsweisem Einsatz des entwickelten Indikatorsystems.

Teilziel 5:

Vergleich von Strukturmerkmalen der Sekundärvegetation Zentralamazoniens (Beispiel: SHIFT-Versuchsfläche bei Manaus) mit der Ostamazoniens (Beispiel: SHIFT-Versuchsflächen bei Igarapé-Açu, Pará).

Die Arbeiten beinhalteten die Fortführung der im 1. Projektteil begonnenen vegetationskundlichen Untersuchungen unter einem erweiterten Blickwinkel. So wurden die folgenden Studien zusammen mit den bestehenden und in der Zwischenzeit erweiterten Datensätzen in das Projekt integriert:

- ◆ Regenerationsvorgänge in unterschiedlich anthropogen beeinflussten Vegetationstypen des Untersuchungsgebietes bei Manaus (Doktorarbeit Frau M. Skatulla, in Vorber.),
- ◆ Morpho-physiologische Merkmale von 13 häufigen Arten unterschiedlicher taxonomischer Zugehörigkeit (gemeinsam durchgeführt mit Frau M.O. Aguiar und Herrn R. R. de Moraes (Stipendiaten des CNPq) und Dr. O. Dünisch (BuFo Hamburg), sowie mit Frau K. Richter, Staatsexamens-Kandidatin) sowie
- ◆ Spontane Vegetation auf den Flächen von Kleinbauern in der Nähe von Manaus (M. Skatulla und H. Preisinger, in Zusammenarbeit mit R. dos R. Guimarães, EMBRAPA Amazônia Ocidental).

Eine nicht in den Projektzielen formulierte Aufgabe, jedoch als Grundlage für alle oben aufgeführten Ziele zwingend notwendig, war die Weiterführung und der Ausbau der bereits im 1. Projektteil installierten Pflanzensammlung an der EMBRAPA, die zuletzt etwa 1.000 Pflanzenarten der lokalen Flora enthielt. Da ein Export auch eines Teils der Sammlung nach Deutschland nicht möglich war, wurde mindestens ein Exemplar jeder der gesammelten Arten auf Negativfilm in professioneller Qualität fotografiert. Die Sammlung steht somit auch für zukünftige Nachprüfungen und Vergleiche zur Verfügung.

2. Organisation und Durchführung

Die Arbeiten wurden federführend vom Auftragnehmer in Deutschland und Brasilien durchgeführt, wobei in den Jahren 1996 bis 2000 jeweils zwei- bis dreimonatige Arbeitsaufenthalte an der EMBRAPA Amazônia Ocidental, Manaus, stattfanden. Die Koordination der Arbeiten in Manaus bei Abwesenheit des Auftragnehmers wurden von Frau M. Skatulla und Frau M. O. Aguiar wahrgenommen. Chemische Analysen von Pflanzenmaterial wurden freundlicherweise vom Bodenkundelabor der EMBRAPA durchgeführt.

Tab. 1:

Übersicht über die beteiligten Institutionen und Personen des Teilprojekts 5 "Vegetation"

Deutschland

| | |
|--|--|
| Universität Hamburg, Institut für Angewandte Botanik | |
| Prof. Dr. Reinhard Lieberei | Projektleiter |
| Dr. Helmut Preisinger | Konzeption und Leitung des Teilprojekts (Wissenschaftlicher Gutachter, F+E- Auftrag durch Universität Hamburg) |
| Dipl.-Biol. Martina Skatulla | Doktorandin (Arbeitsthema: "Regenera- tionsvorgänge in Sekundärwäldern Zen- tralamazoniens") |
| Frau Katja Richter | Lehramtskandidatin für das Höhere Lehramt (Examensarbeit über "Autöko- logie von <i>Bellucia</i> spp.") |

in Zusammenarbeit mit:

| | |
|---|----------------------------------|
| Universität Ulm, Abt. Spezielle Botanik | |
| Prof. Dr. Gerhard Gottsberger | (Blütenbiologie) |
| Dr. Albert-Dieter Stevens | (Blütenbiologie) |
| Bundesanstalt für Forst- und Holzwirtschaft Hamburg | |
| Dr. Oliver Dünisch | (Ökophysiologie von Forstbäumen) |

Brasilien

| | |
|---|---|
| EMBRAPA Amazônia Ocidental, Manaus-AM | |
| Dr. Luadir Gasparotto | Projektleiter |
| MSc Madalena Otaviano Aguiar | Stipendiatin des CNPq (Pflanzenanato- mie) |
| MSc Ronaldo Ribeiro de Morais | Stipendiat des CNPq (Pflanzenanatomie, <i>in Zusammenarbeit</i>) |
| INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus-AM | |
| Abt. Botanik, Herbarium | |
| Herr Luiz F. Coêlho | Technischer Mitarbeiter (Spezialist der amazonischen Flora; Pflanzenbestim- mung) |

Tab. 2: Zeitplan für die Durchführung der Arbeitsbereiche des Teilprojekts 5 "Vegetation"

| Arbeitsbereiche | | | Jahre | | | | |
|--|---|--|-------|----|----|----|----|
| | | | 96 | 97 | 98 | 99 | 00 |
| Analyse der Vegetation von Brache- und Plantagenstandorten | Vergleichende autökologische Untersuchungen von häufig vorkommenden Pflanzenarten in den Untersuchungsflächen | Untersuchung zu morpho-physiologischen Merkmalen der Sekundärwaldarten | | | | | |
| | | Untersuchungen zur Dynamik der Blattentwicklung von Referenzarten | | | | | |
| | | Studien zur Blattanatomie und -morphologie (Stipendiatin des CNPq, M. O. Aguiar) | | | | | |
| | | Nährelementmuster in den Pflanzenorganen der Referenzarten | | | | | |
| | Synökologische Untersuchungen in unterschiedlichen Sukzessionsstadien der Sekundärvegetation (einschl. der spontanen Vegetation des SHIFT-Feldexperiments) | Analyse der Flora | | | | | |
| | | Strukturanalysen der Vegetation | | | | | |
| | | Studien zur Sukzession der Sekundärvegetation | | | | | |
| | Untersuchungen zur Regeneration der Sekundärvegetation (Dissertationsarbeit von Frau M. Skatulla, die eigene syn- und autökologische Untersuchungen einschließen) | | | | | | |
| Vergleichende Untersuchungen von landwirtschaftlichen Versuchsflächen in Zentral- und Ostamazonien | | | | | | | |
| Analyse des SHIFT Feldversuchs, Schwerpunkt: spontane Vegetation und Zeigerwert | | | | | | | |
| Artenliste mit autökologischen Merkmalen | | | | | | | |

Die EMBRAPA hat als landwirtschaftliches Forschungsinstitut keine Tradition in der Durchführung vegetationsökologischer Arbeiten und deshalb auch kein ausgebildetes Personal für diesen Bereich. Die fachlichen Arbeiten vor Ort mußten daher mit einer äußerst begrenzten personellen Ausstattung durchgeführt werden (vgl. Tab. 1). Das wirkte sich u.a. limitierend auf die Anzahl der Pflanzenarten der Sekundärvegetation aus, die autökologisch untersucht werden konnten (13 Arten). Dank der ausgezeichneten Zusammenarbeit mit der Abteilung Phytopathologie der EMBRAPA, in der das SHIFT-Projekt untergebracht war, war es trotzdem möglich, die gesetzten Ziele innerhalb des vorgegebenen Zeitrahmens zu erreichen.

3. Ergebnisse und ihre Bewertung im Hinblick auf die Antragsziele

Die vorliegende Studie basiert auf der vegetationskundlichen Untersuchung von Beispielstandorten der Terra Firme Zentralamazoniens, die in unterschiedlichem Ausmaß durch Nutzung verändert sind. Im Mittelpunkt des Interesses steht dabei die SHIFT-Versuchsplantage auf dem Gelände der EMBRAPA nördlich von Manaus, Amazonas. Der Ansatz stützt sich auf die Untersuchung der *Flora* und von *Strukturmerkmalen der Vegetation* der Beispielstandorte. Unter "Struktur" wird in diesem Zusammenhang "die Organisation der pflanzlichen Individuen im Raum, die einen Standort bilden" und als Elemente der Struktur alle "morphologischen Elemente" verstanden, aus denen sich die Vegetationsdecke zusammensetzt. Das Hauptziel der Studie ist die Indikation von Standortbedingungen aufgrund der aktuellen Vegetation. Hierzu ist die Kenntnis des ökologischen Verhaltens der beteiligten Pflanzenarten notwendig. Letzteres kann teilweise aus der Morphologie der Pflanzen vorhergesagt werden. Die Suche nach morphologischen Merkmalen, denen ökologische Funktionen zukommen (morpho-physiologische Merkmale), ist daher ein für den Ansatz wichtiger Aspekt. Als Strukturmerkmale mit funktionaler Bedeutung für die Vegetation kommen hier sowohl übergeordnete Strukturelemente zum Einsatz wie Wuchsform, Schichtung und Deckung, als auch morphologische Elemente i.e.S. wie z.B. die Oberflächenstruktur von Blättern.

Als erster Schritt für eine funktionale Beschreibung der anthropogen geprägten Terra-Firme-Vegetation Zentralamazoniens wurde ein Wuchsformensystem anhand der Vegetation des Untersuchungsgebietes entwickelt und die auftretenden Arten in das System eingeordnet. Das System ist an die anthropogene Vegetation angepaßt und aus Gründen der Praxisgerechtigkeit so einfach wie möglich gehalten. Die probeweise Klassifikation der Florenspektren verschiedener Vegetationstypen (extensiv genutzter Primärwald, verschiedene Sekundärwaldstadien sowie spontane Vegetation der Versuchsplantage und der Nutzflächen von Kleinbauern) ergab, daß das Wuchsformensystem in der jetzigen Form geeignet ist, um verschiedene Sukzessionsstadien zu differenzieren. Wie die Ergebnisse zeigen, ist es mit Hilfe der Wuchsformenstruktur und der mit den Wuchsformtypen gekoppelten ökologischen Eigenschaften außerdem möglich, vergleichend Rückschlüsse auf unterschiedliche Umweltqualitäten zu ziehen (z.B. unterschiedliche Dauer und Intensität der Vornutzung von Flächen). In der jetzigen Form ist die Klassifikation der Bäume in "Niedrige", "Mittlere" und "Hohe Bäume" allerdings noch vorläufig. Die genannte Klassifikation war aufgrund des autökologischen Kenntnisstandes die derzeit einzig verfügbare. Da die drei Klassen nicht zwangsläufig einheitliche Funktionstypen umfassen, müßten sie später zugunsten einer einfachen, aber gut begründeten, funktionsbezogenen Klassifikation aufgegeben werden. Ähnliches gilt für die Gruppe "Holzige Lianen", die Arten mit sehr unterschiedlichem ökologischen Verhalten umfaßt und daher einer Revision bedarf. Im Ergebnisbericht sind das Wuchsformensystem nebst Beschreibung und die Klassifikation der Pflanzenarten in Form einer Artenliste wiedergegeben (Kap. 9.1 und 9.2, Anhang). Die ersten größeren Datensätze, an denen die Tauglichkeit des Wuchsformensystems erprobt werden konnte, waren acht Beispiel-Vegetationstypen von Standorten unterschiedlicher Vornutzung aus Zentral- und Ostamazonien (Preisinger, Baar & Denich 1998). Die Auswertung mit Hilfe einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) ergab ein Ordinationsmodell, welches die Richtungen progressiver und regressiver Sukzession erkennen ließ. Die dazugehörigen Vegetationstypen waren durch charakteristische Wuchsformenspektren gekennzeichnet. Allerdings zeigte sich auch hier, daß die Klassifikation der Bäume in die drei oben genannten Typen die Interpretationsmöglichkeit der Ergebnisse beeinträchtigt.

Die vergleichende Wuchsformenanalyse von Probestellen im extensiv genutzten Primärwald, im 8jährigen Sekundärwald und in der Versuchsplantage, getrennt durchgeführt nach Baum- und Strauch-/Krautschicht zeigt, in welcher Weise die amazonische Waldvegetation auf zunehmende Intensitäten und Häufigkeiten von Störungsereignissen (wie Tritt, mechanische Beschädigungen wie Abschlagen von Ästen, Roden und Brennen) reagiert. So nimmt die Anzahl der Arten "Hoher Bäume" bereits nach dem ersten Roden und Brennen des Primärwaldes drastisch ab. Die genaue Analyse der Sekundärwald-Probestellen ergibt jedoch eine noch hohe Anzahl von Baumarten in der Strauch-/Krautschicht, also von Jungpflanzen. Die beiden Schichten sind floristisch deutlich unterschieden. Beides läßt auf lange Sicht eine progressive Sukzession in Richtung auf eine primärwaldähnliche Vegetation erwarten, eine ungestörte Entwicklung vorausgesetzt. Eine Schlüsselrolle in der Sukzession der Sekundärwälder des Untersuchungsgebietes spielt offenbar der Wuchsformtyp "Treelet", der im Wuchsformensystem als wenig verzweigte, vglw. kurzlebige holzige Pflanze mit wenigen, großen Blättern, die sich überwiegend generativ fortpflanzt, definiert wurde. Treelets sind durch zahlreiche Arten unterschiedlicher Familien in den Sekundärwäldern des Untersuchungsgebietes vertreten. In den Untersuchungsflächen besonders auffällig ist die große Anzahl von *Miconia*-Arten (Fam. Melastomataceae), die größtenteils diesem Wuchsformtyp angehört. In dem autökologischen Ansatz, der eine Untersuchung morphologischer Merkmale mit funktionaler Bedeutung für die Pflanze ist und der den synökologischen Ansatz ergänzt, wurde deshalb mit der Untersuchung von 6 Arten der Familie Melastomataceae begonnen, die den Wuchsformtypen "Treelets", "Kleine Bäume" und "Mittelgroße

Bäume" angehören.

Die vergleichenden autökologischen Untersuchungen an *Miconia tomentosa*, *M. phanerostyla*, *Bellucia dichotoma*, *B. grossularioides* und *Miconia pyrifolia* ergaben, daß die 6 Arten eine Sequenz mit zunehmender Wuchshöhe und Biomasse bilden, an die bestimmte morphologische Merkmale (u.a. der Wuchsform, der Blätter, der Nährelementverteilung in den Pflanzenorganen) gekoppelt sind (Preisinger et al. 1999). Die detaillierte, vergleichende Untersuchung der beiden taxonomisch und morphologisch sehr ähnlichen Arten *Bellucia dichotoma* und *B. grossularioides* gibt außerdem Hinweise darauf, welche morphologischen Unterschiede zu unterschiedlichem ökologischen Verhalten der Arten führen (Richter 1999). Das sind vor allem Größe, mechanische Struktur und chemische Inhaltsstoffe (phenolische Substanzen) der Blätter. Die Reihe wurde später auf 13 Arten erweitert, und zwar durch Arten, die anderen Pflanzenfamilien als Melastomataceae angehören (Ergebnisbericht, Kap. 4). Anatomische Merkmale der Blätter und des Holzes dieser Arten wurden vergleichend untersucht. Die grundlagenorientierten Ergebnisse aus diesen Arbeiten wurden in ausführlichen Berichten dargestellt (Morais 1998, Aguiar 2000). Die aus den Untersuchungen abgeleiteten funktionalen Pflanzentypen beziehen sich auf das Spektrum der untersuchten Sukzessionsstadien des Sekundärwaldes im Untersuchungsgebiet. Die Ergebnisse legen den Schluß nahe, daß eine Klassifikation häufiger Arten der amazonischen Flora nach morpho-physiologischen Merkmalen, bzw. nach Funktionsmerkmalen, im Prinzip möglich wäre. Die Anzahl der Arten und der morphologischen Merkmale, die im Rahmen dieses Forschungsauftrages untersucht werden konnten, sind allerdings zu gering, um daraus eine allgemein gültige funktionale Klassifikation abzuleiten. Die autökologischen Untersuchungen an den 13 Arten führten deshalb nicht zu einer grundsätzlichen Erweiterung oder Änderung des Wuchsformensystems, jedoch zu seiner inhaltlichen Präzisierung. Im Ergebnisbericht sind die Kombinationen aus morphologischen Merkmalen und ökologischem Verhalten bezüglich Störung und Stress (i.S. von Grime 1979), die für die einzelnen Wuchsformentypen charakteristisch sind, in Form einer Synopsis dargestellt (Kap. 9.1, Tab. 9.2).

Die spontane Vegetation in der SHIFT-Versuchsplantage wurde während des 8 Jahre währenden Projekts in ihrem räumlich-zeitlichen Muster bezüglich der floristischen und strukturellen Merkmale und unter Einsatz des Wuchsformensystems analysiert. Im Mittelpunkt des Interesses standen dabei die folgenden Fragen:

- 1 Wie entwickelt sich die spontane Vegetation in den z.T. räumlich weit auseinanderliegenden Parzellen, in den verschiedenen Pflanzsystemen und unter dem Einfluß des Plantagen-Managements (= Tritt, Freischlagen der Nutzpflanzen und flächendeckende Entfernung von Wildpflanzen, Düngungsmaßnahmen und Ernte)?
- 2 Kann man aufgrund von Änderungen der spontanen Vegetation auf Änderungen von Standortqualitäten schließen (= Indikation von Standortänderungen)?
- 3 Welche Prognosen lassen sich aufgrund der Entwicklung der spontanen Vegetation für die langfristige Nutzbarkeit der Standorte aufstellen?

zu 1:

Die Vegetationsanalysen zeigten zu Beginn des Experiments (1993) in der langgezogenen Versuchsfläche einen räumlichen Gradienten bezüglich Flora und Wuchsformenspektrum von Block A nach Block E (Preisinger et al. 1994, Abschlußbericht 1996: Kap. 3.5.2), der seine Ursachen mit hoher Wahrscheinlichkeit in der unterschiedlich langen Vornutzung von Teilflächen hat. Dieser Gradient ließ sich auch noch 5 Jahre später feststellen, jedoch erfolgte aufgrund des Plantagen-Managements eine gewisse Nivellierung der Unterschiede. Letztere bestehen u.a. in \pm steigenden Anteilen der Wuchsformtypen "Kräuter mit Rhizomen", "Sträucher" und "Horstgräser" und fallenden Anteilen der Bäume (Jungwuchs) von Block A nach Block E des Feldexperiments. In der räumlich-zeitlichen Analyse des Feldexperiments in Form eines Ordinationsmodells (Ergebnisbericht 2001, Kap. 3.4.5) zeichnet sich bezüglich der floristischen Zusammensetzung der *räumliche Gradient* zu Beginn des Experiments ab (1993) und der *zeitliche Gradient* vor allem zwischen den ersten beiden Jahren des Plantagen-Managements (1993-1995). Während dieser Zeitspanne verschoben sich die Verhältnisse der Wuchsformen-Zusammensetzungen vor allem zugunsten der Lianen und Sträucher und zuungunsten der regenerierenden Bäume und der Horst- und Rhizomgräser. Die Gesamt-Artenzahl zeigt im gleichen Zeitraum eine abnehmende Tendenz. Dagegen stiegen von 1995 bis 2000 die Anteile der Horst- und Rhizomgräser wieder an, desgleichen die der (dikotylen) Kräuter und der Sträucher. Außerdem ist eine abnehmende Tendenz der Gesamt-Bedeckung der spontanen Vegetation zu verzeichnen. Die Entwicklung der Vegetation in den verschiedenen Pflanzsystemen ist deutlich verschieden: In den Monokultursystemen finden sich höhere Artenzahlen als in den Mischkultursystemen. Das kann darauf zurückgeführt werden, daß Störungsintensität und -frequenz für die Wildpflanzen aufgrund der höheren Pflegeintensität in den Mischkultursystemen höher als in den Monokultursystemen sind. Ein Effekt der durchgeführten Düngungsmaßnahmen auf die spontane Vegetation läßt sich nicht feststellen. Die multivariate Analyse der Flora aller Parzellen, in denen Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) gepflanzt wurde (Pflanzsysteme 1, 2, 3 und 7) zeigt anhand der geernteten Fruchtgewichte von Cupuaçu, daß die Nutzpflanze in den Parzellen der Blöcke D und E niedrigere Ernteerträge erbringt als in den übrigen Blöcken des Experiments. Aus dem graphisch dargestellten Ergebnis der multivariaten Analyse, dem Ordinationsmodell, lassen sich daher sowohl die Pflanzenarten und Wuchsformtypen herauslesen, die unproduktive Standortbedingungen anzeigen (z.B. Adlerfarn, *Pteridium aquilinum*) und Wuchsformtypen "Horstgräser" und "Rhizomgräser") als auch diejenigen, die produktive Standorte anzeigen (z.B. Lianen wie Kudzu, *Pueraria phaseoloides*).

zu 2 (Seite 7):

Wie die oben dargestellten Ergebnisse zeigen, ist es möglich, aufgrund des Zeigerwertes der spontanen Vegetation Aussagen zu Standortbedingungen und -änderungen zu machen. Im vorliegenden Fall bestimmen die Faktorenkomplexe "Dauer und Intensität der Vornutzung" und "Art des aktuellen Plantagen-Managements" Flora und Strukturmerkmale der aktuellen, spontanen Vegetation. Es handelt sich hierbei um Standortfaktoren der Störung und des Stresses (Begriffe im Sinne von Grime 1979), die sich einer direkten Messung entziehen und

die nur auf indirektem Wege, durch den Indikatorwert der Vegetation, erfaßbar sind. Es kann davon ausgegangen werden, daß es als Folgen länger andauernder Plantagenutzung zu Änderungen des Kleinklimas hin zu "trockeneren" Bedingungen kommt. Dasselbe gilt für den Oberboden des gelben Latosol, der nach längerer Nutzung als Plantagenstandort aufgrund der dünnen Vegetationsdecke, bedingt durch den \pm regelmäßig erfolgenden Rückschnitt der spontanen Vegetation, während der regenarmen Jahreszeit austrocknen kann und seine bodenphysikalischen Eigenschaften ändert. Die weiter oben genannten Zeiger für länger genutzte Standorte, ausdauernde Horst- und Rhizomgräser, können auf solchen (zeitweilig trockenen) Standorten noch siedeln, da sie über tief reichende Wurzeln oder Rhizome als Speicherorgane verfügen.

zu 3 (Seite 7):

Die Ernteergebnisse der Mischkulturparzellen und die Entwicklung der spontanen Vegetation in den 8 Projektjahren zeigen, daß die landwirtschaftliche Nutzbarkeit für diese Nutzungsdauer nicht in Frage gestellt ist. Die weiter oben erläuterten räumlichen und zeitlichen Entwicklungstendenzen der spontanen Vegetation deuten jedoch darauf hin, daß auch die Standortnutzung durch Mischkulturen zu tendenziell trockeneren Standorten führt, die unter den vorliegenden klimatischen und Bodenverhältnissen sowie dem durchgeführten Plantagenmanagement die Nutzbarkeit der Standorte zeitlich begrenzen wird. Beobachtungen zeigen, daß in einigen Parzellen vegetationsfreie Flecken entstanden sind, die - zusammen mit dem Wegesystem - Ausgangspunkte für eine Degradation der Standorte und/oder Bodenerosion darstellen können (z.B. Parzelle a9). Das Problem der Behandlung der spontanen Vegetation in amazonischen Plantagen ist bisher ungelöst: Der Agronom betrachtet die spontane Vegetation gemeinhin als Konkurrenzfaktor für die Nutzpflanzen und führt eine meist mechanische Bekämpfung durch, die die Entstehung einer nur dünnen Vegetationsdecke zuläßt, die längerfristig zur Degradation und schließlich zur Standortaufgabe führt. Die Einsaat von Bodendeckern wie *Pueraria* bietet zweifellos einige Vorteile (s. Beispiel oben: positive Korrelation zwischen der Produktivität von Cupuaçu und der Deckung der Lianen), jedoch lehnen die Kleinbauern den Einsatz von *Pueraria* meist ab, weil sie den damit verbundenen Arbeitsaufwand (= Freihalten der Nutzpflanzen von der Liane) nicht leisten können (mdl. Mitt. von Kleinbauern). Außerdem führt das Einbringen von *Pueraria* längerfristig zu einer drastischen Abnahme der Artenzahlen in der spontanen Vegetation, wodurch eine Regeneration des Waldes im Falle einer Auflassung der Fläche verhindert oder zumindest stark verzögert würde. Werden die Nutzpflanzen dagegen nicht von Wildwuchs freigehalten, werden sie überwachsen und erbringen aufgrund von Konkurrenzvorgängen mit den Wildpflanzen keine ökonomisch akzeptablen Erträge.

Die Untersuchung von Mechanismen der Regeneration der amazonischen Waldvegetation, die als Dissertationsarbeit erscheinen wird (Skatulla, in Vorber.; Auszug s. Ergebnisbericht, Kap. 5) folgt im wesentlichen dem weiter oben dargestellten Konzept (vergleichende Analyse der Flora und Strukturmerkmalen von Beispielstandorten). Als "Strukturmerkmale" stehen hier die morphologischen Elemente des Vegetationsbestandes im Vordergrund, die einen Bezug zur generativen und vegetativen Ausbreitung haben (z.B. Dichte der Jungpflanzen, räumlich-zeitliche Muster der Blüten- und Fruchtbildung sowie Ausbreitungstypen). Die Ergebnisse dieser Arbeit werden u.a. die Präzisierung von Prognosen der Vegetationsentwicklung in aufgelassenen landwirtschaftlichen Nutzflächen ermöglichen.

Ein Großteil der Ergebnisse und Erfahrungen, die im Laufe der Projektarbeit gewonnen wurden, gingen in die Klassifikation von mehr als 1.000 Gefäßpflanzenarten bezüglich der autökologischen Merkmale "Wuchsformtyp" und "Ausbreitungstyp" ein (s. Artenliste im Ergebnisbericht, Kap. 9.2).

4. Praktische Umsetzbarkeit der Ergebnisse

Grundlegende Ergebnisse der Untersuchungen sind eine Erweiterung der autökologischen Kenntnisse von mehr als 1.000 häufigen Gefäßpflanzenarten vor allem der Sekundärvegetation, z.T. auch der Primärvegetation des Untersuchungsgebietes, sowie synökologischer Zusammenhänge in den genannten Vegetationstypen. Die Klassifikation der Arten in Wuchsformtypen ermöglicht eine Indikation der Vornutzung von Standorten, bzw. der vorangegangenen Störung ihrer Vegetation. Der dargestellte Ansatz ermöglicht die *quantitative Darstellung* struktureller Unterschiede in der Vegetation, und zwar Unterschiede aufgrund von räumlichen Mustern oder zeitlichen Entwicklungen. Das wiederum ermöglicht *Prognosen* für zukünftige Vegetationsentwicklungen.

Beispiele für praxisorientierte Aussagen, die mit Hilfe des Untersuchungskonzepts möglich sind, wurden im vorangegangenen Kapitel genannt.

5. Perspektiven und Empfehlungen für weiterführende Untersuchungen

Die SHIFT-Experimentalfläche, bestehend aus dem landwirtschaftlichen Feldversuch und angrenzenden Primärwald- und Sekundärwaldflächen unterschiedlicher Sukzessionsstadien auf dem Gelände der EMBRAPA Amazônia Ocidental bei Manaus, ist nach 8 Jahren Projektarbeit ein Areal, welches u.a. *floristisch*, *vegetationsökologisch* und *nutzungsge-schichtlich* sehr gut untersucht bzw. bekannt ist. Die 1-ha-Sekundärwald-Referenzfläche und Parzellen im Primärwald wurden vegetationskundlich detailliert untersucht. So wurden z.B. in jeder der 10 x 10 m großen Parzellen im Jahr 1994 alle pflanzlichen Individuen mit Stammdurchmessern >1 cm erfaßt, bis zur Art bestimmt und die Stammdurchmesser ermittelt. Vor allem die Sekundärwald-Referenzfläche bietet sich deshalb für zukünftige Untersuchungen des weiteren Sukzessionsverlaufes an, um einerseits zu präzisen Vorstellungen über die Mechanismen der Sukzession des Terra-Firme-Waldes zu kommen und andererseits das autökologische Verhalten der beteiligten Arten zu studieren. Die Untersuchungen wären hier in Form einer *echten Zeitreihe* möglich, was die Aussagekraft der Ergebnisse deutlich erhöht. Es muß herausgestellt werden, daß derart detailliert untersuchte Areale in Amazonien sehr selten sind und daß es daher zwingend notwendig erscheint, die hierdurch ermöglichten grundlagenorientierten *und* angewandten Forschungsoptionen wahrzunehmen. Es wird deshalb empfohlen, die floristische und vegetationsökologische Analyse der Sekundärwald-

Referenzfläche in Abständen von ca. 10 Jahren zu wiederholen.

Der Ansatz der autökologischen Untersuchung einzelner Sekundärwaldarten, d.h. die Analyse der Zusammenhänge zwischen morphologischen Merkmalen der Arten und ihrem ökologischen Verhalten, konnte im Rahmen des Forschungsauftrages nur beispielgebend für wenige Arten durchgeführt werden. Es wird empfohlen, vergleichbare Analysen an anderen häufigen Arten der Terra-Firme-Sekundärwälder vorzunehmen, um langfristig zu einer funktionalen Klassifikation zumindest der Gefäßpflanzenarten der Sekundärwälder zu kommen. Da die Untersuchungen zwar arbeitsintensiv, aber mit niedrigen Investitionskosten für Geräte auskommen, könnten sie in Form von Master- und PhD-Arbeiten durchgeführt werden.

6. Zitate

- Aguiar, M.O. 2000. Características morfo-anatômicas de plantas de uma "Capoeira Amazônica". Relatório Final (CNPq), 62 pp.
- Grime, J.P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. Chichester: Wiley & Sons, 222 pp.
- Morais, R.R. de 1998. Estudo de espécies arbóreas com potencial para reflorestamento de áreas anandonadas e degradadas da Amazônia Ocidental. Relatório Final (CNPq), 33pp.
- Preisinger, H.; Coelho, L.F.; Siqueira, M. do S.G. & Lieberei, R. 1994. Analysis of growth-form types and floristic composition of the spontaneous vegetation in an agricultural test area near Manaus, Amazonas, Brazil. *Angew. Botanik* 68, 1/2, 40-46.
- Preisinger, H.; Feldmann, F.; Gasparotto, L. & Lieberei R. 1997. Rekultivierung degradierter, brachliegender Monokulturflächen in ausgewogene Mischkulturflächen unter besonderer Berücksichtigung bodenbiologischer Faktoren. Project SHIFT 0339457A / ENV-23 (BMBF - CNPq/IBAMA), Final Report, 105 pp + Append.
- Preisinger, H.; Baar, R. & Denich, M. 1998. Wirkung unterschiedlicher Vornutzungen auf die Wuchsformenstruktur spontaner Vegetation von landwirtschaftlichen Nutzflächen in Zentral- und ostamazonien, Brasilien. *Mitt. BFH* 190 (Proc. 8. Jahrestagung gtö), 264-270.
- Preisinger, H.; Dünisch, O.; Morais, R.R. de; Richter, K. & Araújo, R. da C. 1999. Comparative studies on morpho-physiological traits of six Amazonian species of *Bellucia* and *Miconia* (Melastomataceae) and implications for their ecological behaviour. *Mitt. BFH* 193, 113-133.
- Richter, K. 1999. Autökologische Untersuchungen an *Bellucia dichotoma* Cogn. und *Bellucia grossularioides* L.. Staatsexamensarbeit, Universität Hamburg, FB Biologie, 122 pp.
- Skatulla, M. in Vorber. Ausbreitung von Blütenpflanzen auf Versuchsflächen unterschiedlicher Vornutzung in Zentralamazonien. Diss. Universität Ulm, FB Biologie.

Hamburg, den 12. April 2001

Dr. Helmut Preisinger