

**Die Bedeutung der Rhizosphäre von *Bromus mollis* L.
als Ort erhöhter mikrobieller Aktivität im Boden
für eine mögliche Mineralisation von Xenobiotika**

Von der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften genehmigte Dissertation.

vorgelegt von

Diplom-Biologe

Manfred Aletsee

aus Aachen

Berichter: Universitätsprofessor Dr. Ingolf Schuphan
Universitätsprofessor Dr. Andreas Schäffer

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 2002

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online verfügbar.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1 Die Bedeutung des Xenobiotika-Eintrags in den Boden	1
1.2 Die Rhizosphäre	2
1.3 Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre	4
1.4 Hypothesen zum verstärkten Xenobiotika-Abbau in der Rhizosphäre	5
1.5 Gesamtbedeutung der Vegetation für die Dekontamination von Böden – Phytoremediation	7
1.6 Untersuchungen zum Xenobiotikaabbau in der Rhizosphäre – Möglichkeiten und experimentelle Unzulänglichkeiten	9
1.7 Zielsetzung der Arbeit	10
2. MATERIAL UND METHODEN	13
2.1 Konzeption der Versuche	13
2.1.1 Bodenwahl	14
2.1.2 Voruntersuchungen zur Pflanzenauswahl	15
2.1.3 Wahl der Wurzel-Messparameter	18
2.1.4 Wahl der mikrobiellen Messparameter	19
2.1.5 Chemikalienwahl	21
2.2 Charakterisierung des Systems Pflanze - Boden - Mikroorganismen (Durchwurzelungsversuche)	24
2.2.1 Versuchsaufbau und Durchführung	24
2.2.2 Probenahme (Boden)	24
2.2.3 Bestimmung der Wurzeloberfläche und -biomasse von <i>Bromus mollis</i>	25
2.2.4 Bestimmung des Durchwurzelungsgrads	27
2.2.5 Mikroorganismen-Abundanzbestimmung	28
2.2.5.1 Bestimmung der Gesamtkeimzahl mit dem Plattengussverfahren	28
2.2.5.2 Direktes Zählverfahren mit dem Fluoreszenzmikroskop	29

2.2.6	Physiologische Messparameter	31
2.2.6.1	Reduktase-Aktivität (DMSO-Test)	31
2.2.6.2	Substratinduzierte Respiration (Isermeyer-Ansatz)	32
2.3	Das kontrolliert belüftete Modell-Ökosystem zur vergleichenden Untersuchung des Xenobiotikaabbaus	34
2.3.1	Testprinzip	34
2.3.2	Aufbau der Vegetationskammer mit dem Modell-Ökosystem	34
2.3.3	Versuchsdurchführung	36
2.3.3.1	Einmischung der ¹⁴ C-markierten Verbindung in den Boden	36
2.3.3.2	Beschickung des Bodenträgers und Inbetriebnahme des Systems	37
2.3.4	Versuchsaufarbeitung und Bilanzierung	38
2.4	Statistische Auswertung	40
3.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	41
3.1	Charakterisierung des Systems Pflanze - Boden - Mikroorganismen (Durchwurzelungsversuch)	41
3.1.1	Bestimmung der Wurzelbiomasse und -oberfläche von <i>B. mollis</i>	41
3.1.2	Mikroorganismen-Abundanzbestimmung	52
3.1.3	Physiologische Parameter	55
3.1.3.1	Reduktaseaktivität (DMSO-Test)	55
3.1.3.2	Substratinduzierte Respiration	57
3.1.4	Korrelationsanalyse der Rhizosphärenparameter	59
3.1.4.1	Zusammenhang zw. Mikroorganismen-Abundanz u. Wurzeloberfläche	60
3.1.4.2	Zusammenhang zw. Reduktaseaktivität u. Wurzeloberfläche	61
3.1.4.3	Zusammenhang zw. Substratinduzierter Respiration u. Wurzeloberfläche	62
3.1.4.4	Zusammenhang zw. Reduktaseaktivität u. Mikroorganismen-Abundanz	63
3.1.4.5	Zusammenhang zwischen Substratinduzierter Respiration und Mikroorganismen-Abundanz	64
3.1.4.6	Zusammenfassung der Korrelationsanalyse	65
3.2	Dekontamination von Xenobiotika in der Rhizosphäre	66
3.2.1	Abbau und Mineralisation von p-Nitrophenol	66
3.2.2	Abbau und Mineralisation von Pyren	68
3.3	Korrelation der Pyren-Mineralisation mit den mikrobiellen Parametern	72

4. ZUSAMMENFASSENDER DISKUSSION	75
4.1 Versuchskonzept, Eignung der Materialien und Aussagekraft der verwendeten Versuchsmethoden	75
4.2 Gesamtbetrachtung	78
5. ZUSAMMENFASSUNG	81
6. LITERATURVERZEICHNIS	83
7. ANHANG	91

1. EINLEITUNG

1.1 Die Bedeutung des Xenobiotika-Eintrags in den Boden

In den vergangenen Jahrzehnten ist ein stetiger Anstieg der Immission von Xenobiotika¹ in die Biosphäre festzustellen. Ursache dafür sind die Intensivierung der landwirtschaftlichen Produktion und eine global zunehmende Industrialisierung. Insgesamt gelangen weltweit ca. 1000 chemische Verbindungen mit biozider Wirkung in die Umwelt, wobei ihre Gesamtmenge ca. 1 Mill. Tonnen pro Jahr beträgt (FÜHR et al. 1989).

Als bedeutendste „Stoffgruppen“ dieser sogenannten Xenobiotika sind, neben den in der Landwirtschaft eingesetzten Pestiziden, die durch Verbrennungsvorgänge und sonstige industrielle Prozesse freigesetzten Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAKs), Polychlorierten Biphenyle (PCBs) sowie Schwermetalle zu nennen. Das Gefahrenpotential der Pestizide liegt in ihrer grundsätzlich organismenspezifischen Toxizität sowie in ihrem großflächigen und mengenmäßig bedeutenden Einsatz (Inlandabsatz BRD 1998: 39.000 Tonnen; HAIDER & SCHÄFFER 2000). Das Gefahrenpotential der emittierten PAKs, PCBs und Schwermetalle liegt neben ihrer Toxizität und ihren teilweisen genotoxischen Eigenschaften vorwiegend in ihrer Persistenz.

Sind Atmosphäre und Hydrosphäre eher die Kompartimente, die für die weltweite Ausbreitung der Schadstoffe verantwortlich sind und in denen sie eine meist überschaubare Verweildauer aufweisen, so ist die Pedosphäre, der Boden, dasjenige Umweltkompartiment, in dem diese Stoffe über größere Zeiträume verbleiben und akkumulieren (FÜHR et al. 1989, BALLSCHMITER 1992).

Hieraus ergibt sich die Gefahr, dass in den Boden eingetragene toxische oder gar mutagene Substanzen die Boden-Biozönose verändern und sie in ihrer natürlichen Funktion schädigen. Darüber hinaus können kontaminierte Böden - unabhängig von ihrer unmittelbaren Schädigung - auch als vorübergehendes Depot für Xenobiotika und ihrer Abbauprodukte fungieren und u.U. einen Eintrag ins Grundwasser, einen (Wieder-)Eintrag in die Atmosphäre oder gar eine Akkumulation von Schadstoffen in der Nahrungskette induzieren.

Da sämtliche terrestrischen Ökosysteme in ihrer Funktion abhängig von der Unversehrtheit des Bodens sind und nicht zuletzt der Boden als Agrarproduktionsraum für die menschliche

¹ Xenobiotika: alle Stoffe, die durch menschliche Tätigkeit in die Umwelt gelangen oder als Folge menschlicher Tätigkeit in der Biosphäre entstehen oder in deutlich höherer Konzentration als natürlicherweise auftreten (STREIT 1991).

Ernährung von besonderer Bedeutung ist, sollte der Schutz der Pedosphäre vor Schädigung ein primäres Anliegen sein. Um so erstaunlicher ist, dass, im Gegensatz zur Luft und zum Wasser, der Boden erst in jüngster Zeit als Schutzgut durch das Bundesbodenschutzgesetz (BBodSchG) zum 01.03.1999 gesetzlich anerkannt ist (PEINE 1999). Laut Gesetzestext soll insbesondere als Grundpflicht gelten: „Vorsorge, damit der Boden langfristig durch stoffliche und physikalische Einwirkungen in seiner ökologischen Leistungsfähigkeit nicht überfordert wird“ (BBodSchG 1998). Auch über die nationalen Grenzen hinweg soll in Zukunft der Schutz des Bodens innerhalb der EU seine gesetzliche Grundlage finden (BMU 1997, 1999).

Neben den vielfältigen Problemen, die der Eintrag von Xenobiotika in den Boden für Ökosysteme und Nahrungsketten mit sich bringt, ist im Boden aber auch die Möglichkeit des biologischen Abbaus und der Mineralisation von Xenobiotika gegeben. Maßgeblich trägt hierzu die komplexe Struktur des Bodens und die Vielfalt der chemischen und physikalischen Prozesse bei. Boden besteht aus mineralischen Verwitterungsprodukten des anstehenden Gesteins sowie organischen Zersetzungs- und Umwandlungsprodukten der Vegetation und bietet den unterschiedlichsten Organismen, vorwiegend Bakterien, Pilzen, Protozoen und Bodenarthropoden sowie den Wurzeln seiner ihn bedeckenden Vegetation Lebensraum. Insbesondere den Wurzeln der Pflanzen und dem von ihnen beeinflussten Boden, der Rhizosphäre, kommt dabei eine herausragende Rolle zu.

1.2 Die Rhizosphäre

Im Zusammenhang mit der Bedeutung der Vorgänge im Wurzelraum für die Ertragsleistung von Feldfrüchten findet erstmals bei HILTNER (1904) der Begriff Rhizosphäre Erwähnung. Nach CURL & TRUELOVE (1986) ist die Rhizosphäre definiert als eine Zone erhöhter mikrobieller Biomasse und Aktivität in der Wurzel-Boden-Grenzschicht. Der Rhizosphären-Boden unterscheidet sich von nicht bepflanzten Boden durch den Wurzeinfluss.

Der Einfluss der Wurzeln auf ihre Umgebung ist vielfältig. Er beruht in erster Linie auf der Exsudatausscheidung und dem Abstoßen von Zellmaterial (Abb. 1-1). Die organische Masse (Mucigel), die dabei der Rhizosphäre zugeführt wird, kann in Abhängigkeit von der Pflanzenart, ihrem Alter und Umweltbedingungen zwischen 12 und 40% der photosynthetisch fixierten Biomasse betragen. (BARBER & MARTIN 1976, CARSON 1974, LYNCH 1982, LYNCH & WHIPPS 1990). Diese Mengen entsprechen auch Messungen von SAMTSEVICH (1965), der

bei Getreide pro 10 g oberirdischen Biomassezuwaches 3 g Ausscheidungsprodukte der Wurzeln ermittelte. Zumeist handelt es sich hierbei um leicht metabolisierbare Substanzen (LYNCH 1982). Neben Zuckern und Aminosäuren sind nahezu alle in Pflanzen auffindbare Stoffgruppen vertreten. Darüber hinaus findet man auch hochkomplexe Zellstrukturen, wie sie in der abgestoßenen Kalyptra oder in absterbenden Wurzelhaaren vorliegen (CAMPBELL 1985, CURL & TRUELOVE 1986). Die ausgeschiedenen Exsudatmengen variieren je nach Wurzelregion (FRENZEL 1960, PEARSON & PARKISON 1961, ROVIRA & DAVEY 1974) und Alter der Pflanze (SMITH 1970, VANCURA & HANZLIKOVA 1972). Bakterien, wie *Azospirillum spec.* und *Pseudomonas putida*, sind darüber hinaus fähig, die Exsudatfreisetzung aus Wurzeln zu fördern (PRIKRYL & VANCURA 1980). Neben erhöhten Konzentrationen von Kohlenwasserstoffen in der Rhizosphäre verursachen die Pflanzenwurzeln auch signifikante Veränderungen des Sauerstoff- und Kohlendioxid-Gehalts, des pH-Wertes, des Redox-Potentials und damit der Löslichkeit anorganischer Nährstoffe (CURL & TRUELOVE 1986).

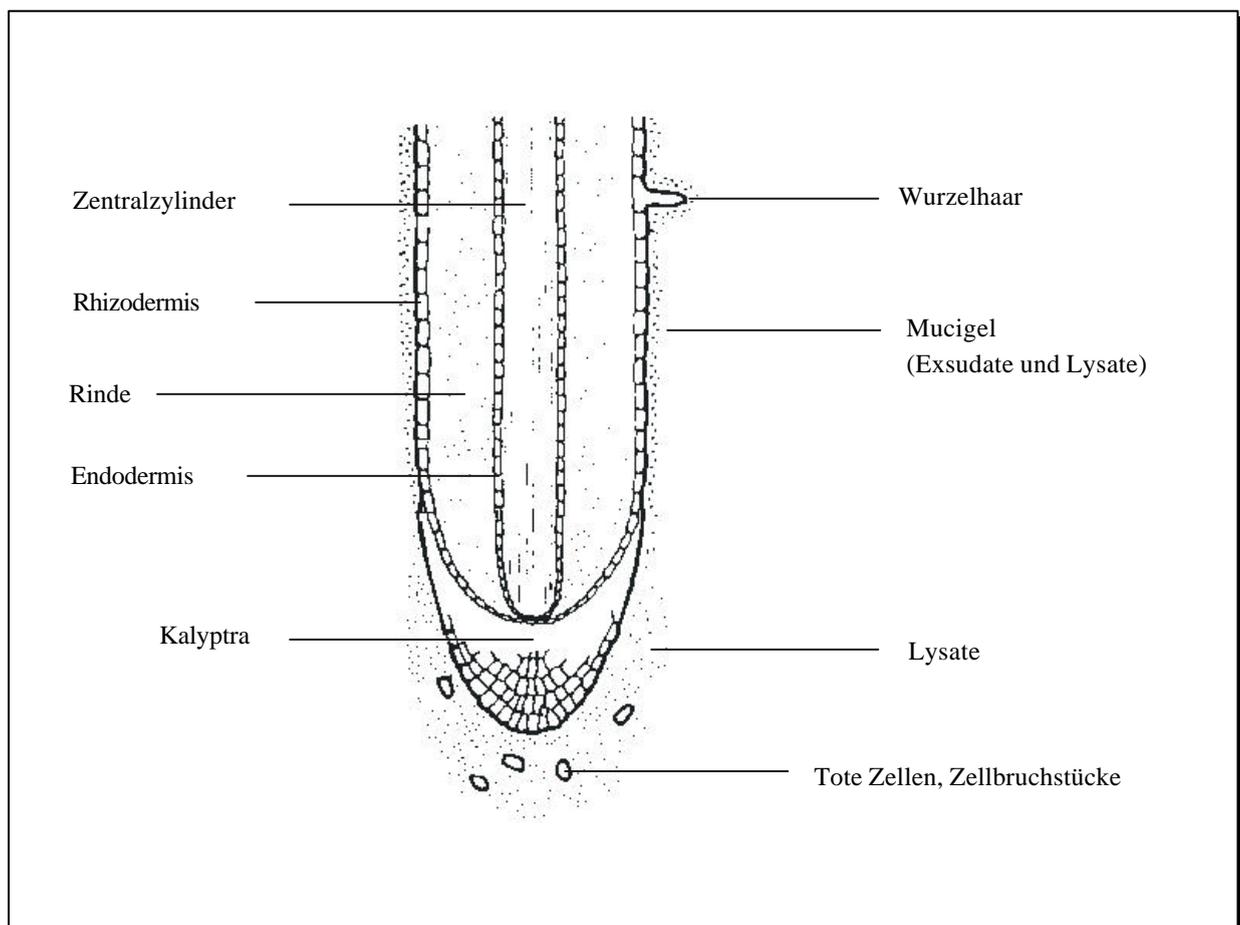


Abb. 1-1: Wurzelspitze mit Rhizosphäre (nach LYNCH, 1983, verändert).

Außer der erhöhten Bereitstellung von Kohlenstoff- und Energiequellen bietet das Wurzelsystem mit seiner Oberfläche auch ein hervorragendes Substrat für die Kolonisation von Mikroorganismen (ATLAS & BARTHA 1992, CURL & TRUELOVE 1986, BOLTON et al. 1993). Im Besonderen haben die Exsudat-Ausscheidungen der Wurzeln einen großen Einfluss auf die Mikroorganismen in der Rhizosphäre. Oftmals kann eine erhöhte Mikroorganismen-Abundanz bzw. -Biomasse gegenüber nicht-Rhizosphären-Boden festgestellt werden (CHENG & COLEMAN 1990, LEE & BANKS 1993). Die Erhöhung kann zwischen zirka dem Doppelten bei *Medicago sativa*, *Kochia scoparia* und *Lolium perenne* bis dem 100-fachen bei *Triticum aestivum*, *Zea mays* bzw. *Pisum sativum* liegen (GÜNTHER & FRITSCHKE 1996, PERKOVICH et al. 1996). Nicht nur die Abundanz erhöht sich, es werden auch verschiedene Mikroorganismen unterschiedlich gefördert, und z.T. wird die Rhizosphäre auch von solchen besiedelt, die in nicht-Rhizosphären-Boden nicht vorkommen (KATZNELSON 1946, ROVIRA & DAVEY 1974). Eine erhöhte mikrobielle Aktivität in der Rhizosphäre konnte über verschiedene Messparameter festgestellt werden: So beobachtete GÜNTHER & FRITSCHKE (1996) zumindest zeitweise eine um das 6-fache erhöhte Basalrespiration von 2 auf 12 $\mu\text{g CO}_2/\text{g} \times \text{h}$ in der Rhizosphäre von *Lolium perenne*, SEIBERT et al. (1981) beobachten eine erhöhte Dehydrogenaseaktivität in der Rhizosphäre von *Triticum aestivum* und BOYLE & SHANN (1995) beobachteten eine um 125% erhöhte ^{14}C -Acetat-Aufnahme in mikrobielle Lipide im Rhizosphärenboden von Monokotyledonen. Letztere beobachteten außerdem eine 50%ige Erhöhung der mikrobiellen Aktivität im Rhizosphärenboden von Monokotyledonen im Vergleich zu Dikotyledonen. Hierbei entwickelt das Wurzelsystem von Gräsern mit seiner sekundären Homorhizie eine relativ zur Biomasse größere Oberfläche als z.B. Pfahlwurzeln oder andere Wurzelsysteme der Dikotylen (ATLAS & BARTHA 1992).

1.3 Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre

Der verstärkte Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre verschiedener Pflanzen wurde vielfach nachgewiesen. Sowohl Pestizide als auch nicht im Pflanzenschutz verwendete Umweltchemikalien wurden untersucht. Die Tabelle 1-1 stellt die wichtigsten organischen Verbindungen und die entsprechenden Pflanzenarten zusammen, in deren Rhizosphäre experimentell ein erhöhter Abbau nachgewiesen wurde:

Tab. 1-1: Organische Verbindungen, für die ein erhöhter Abbau in der Rhizosphäre der angegebenen Pflanze(n) festgestellt wurde.

Verbindung/ Stoffgruppe	Pflanzenart	AUTOR
2,4-D (2,4-Dichlorpenoxyacetat)	<i>Saccharum officinarum</i>	SANDMANN & LOOS 1984, BOYLE & SHANN 1995
Parathion und Diazinon	<i>Phaseolus vulgaris</i>	HSU & BARTHA 1979
Mecoprop	<i>Triticum aestivum</i>	LAPPIN et al. 1985
Atrazin	<i>Kochia scoparia</i>	PERKOVICH et al. 1996
PCP (Pentachlophenol)	<i>Agropyron desertorum</i>	FERRO et al. 1994
2-Chlorbenzoesäure	<i>Elymus dauricus</i>	SICILIANO & GERMIND 1997
PAKs: Benz[a]anthrazen, Dibenz[a,h]anthrazen, Benzo[a]pyren, Chrysen	<i>Medicago sativa, Panicum virgatum, Poacea sp.</i>	APRILL & SIMS 1990, PRADHAN et al. 1998
Pyren	<i>Medicago sativa, Lolium perenne, Zea mays, Pisum sativum, Paspalum notatum</i>	REILLEY et al. 1996, GÜNTHER & FRITSCH 1996, REYNOLDS et al. 1999
TCE (Trichlorethylen)	<i>Pinus taeda, Glycine max, Lespedeza cuneata</i>	ANDERSON & WALTON 1991
Tenside (z.B. Dodecyl- alkylbenzoesulfonat)	<i>Typha spec., Glycine max, Zea mays</i>	FEDERLE & SCHWAB 1989, KNAEBEL & VESTAL 1992

1.4 Hypothesen zum verstärkten Xenobiotika-Abbau in der Rhizosphäre

Der Abbau von Xenobiotika im Boden ist abhängig zum einen von der Struktur der abzubauenen Verbindungen und zum anderen von der Enzymausstattung der vorhandenen Mikroorganismen. Dieser Abbau kann grundsätzlich metabolisch oder cometabolisch erfolgen. Im ersten Fall wird der Fremdstoff als Energie- oder/und C-Quelle genutzt, im zweiten Fall wird er im Verlaufe des Umsatzes von Nahrungsstoffen in stoffwechselphysiologische Vorgänge mit einbezogen ohne als Energie- oder C-Quelle dem Organismus zu dienen. Wurzeln können beide Vorgänge mit den von ihnen ausgeschiedenen Exsudaten fördern, wodurch die mikrobielle Abundanz und Aktivität erhöht und somit der Fremdstoffabbau gegenüber nicht-Rhizosphären-Boden verstärkt wird (CHENG & COLEMAN 1990).

Der Nachweis eines cometabolischen Abbaus von Xenobiotika ist äußerst schwierig. Viele Autoren vermuten einen cometabolischen Abbau von höherkernigen PAK's und z.B. auch von Trichlorethylen und begründen ihre Annahme damit, dass einerseits deren verstärkter Abbau in der Rhizosphäre nachgewiesen wurde und andererseits die Rhizosphären-Mikroorganismen auf verschiedenen einfach abbaubaren Komponenten, wie z.B. Phenol, Ethylen, Propylen u.a.m., als alleinige C-Quelle wachsen, jedoch nicht auf den höherkernigen PAK's oder z.B. Trichlorethylen (CRAWFORD et al. 1993, HOPKINS et al. 1993, FAN & SCOW 1993). RASOLOMANANA & BALANDREAU (1987) schließen im Fall des Stickstoff-fixierenden Bakteriums *Bacillus polymyxa* in der Rhizosphäre von *Oryza sativa* ebenfalls auf einen cometabolischen Abbau von Ölrückständen. *Bacillus polymyxa* war nur in Anwesenheit von Glucose oder Exsudaten einer steril gewachsenen Reis-Pflanze fähig die Ölrückstände zu metabolisieren.

Weitere Hypothesen zur Begründung des beobachtbaren verstärkten Abbaus von Xenobiotika in der Rhizosphäre gegenüber nicht-Rhizosphären-Boden sollen im folgenden aufgeführt werden:

REILLEY et al. (1996) kamen z.B. nach Experimenten, in denen sie durch Zugabe organischer Säuren (Exsudat-Simulation) eine zusätzliche Mineralisierung von Pyren im Rhizosphärenboden bewirken konnten, zu dem Schluss, dass die Wurzelexsudate durch Erhöhung der Bioverfügbarkeit der Fremdstoffe deren mikrobiellen Abbau verstärken.

Andere Autoren vertreten die These, dass die Ausscheidungsprodukte der Pflanzen die Artenzusammensetzung der Mikroorganismen in der Rhizosphäre verändern und dass Pflanzen durch Ausscheidung von Strukturanaloga von Xenobiotika, solche Mikroorganismen spezifisch fördern, deren Dekontaminationsleistung gegenüber nicht-Rhizosphären Mikroorganismen erhöht ist (SANDMANN & LOOS 1984). So konnten DONNELLY et al. (1994) eine Förderung der Abundanz und Aktivität PCB-abbauender Mikroorganismenstämme (*Pseudomonas putida* LB 400 und *Corynebacterium* sp. MB1) bei einer Phenolkonzentration von 200 µg/cm³ Boden nachweisen. FLETCHER & HEGDE (1996, HEGDE & FLETCHER 1995) beobachteten wiederum, dass die verschiedensten Pflanzen in der Lage sind Phenolderivate über ihre Wurzeln auszuschleiden und in der Rhizosphäre anzureichern. So stellten sie in der Rhizosphäre von *Morus rubra* einen Anstieg der Phenolderivat-Konzentration von 1 µg/cm³ auf 111 µg/cm³ innerhalb 90 Tagen fest. Auch LISTE & ALEXANDER (2000) wiesen in der Rhizosphäre von steril aufgezogenen *Festuca arundinacea* eine vier- bis fünffach erhöhte Pyren Konzentration im Vergleich zu unbepflanzten Boden nach. Die gleichen Untersuchungen in nicht sterilem Boden ergaben keine erhöhte Pyren-Konzentration in der

Rhizosphäre. Diese Studien unterstützen somit die Hypothese einer selektiven Förderung von Mikroorganismen, die fähig sind den Wurzelexsudaten strukturanaloge Fremdstoffe abzubauen, während andere Mikroorganismen unterdrückt werden (RICE 1984).

Einen sehr komplexen Abbauvorgang vermuten LAPPIN et al. (1985): Sie isolierten eine Mikroorganismengemeinschaften (*Pseudomonas spec. Flavobacterium, Acinotobacter, etc.*) aus der Weizenrhizosphäre, die auf Mecoprop (Phenoxypropionsäurederivat, Herbizid) als alleiniger C- und Energiequelle wachsen konnten. Keine der Mikroorganismenarten vermochte alleine Mecoprop zu nutzen. Diese Beobachtung unterstützt, wie auch andere Autoren bestätigen, die Theorie des synergistischen Abbaus von Xenobiotika durch Mikroorganismengemeinschaften (BORDELEAU & BARTHA 1968, Daane et al. 2001, FEINBERG et al. 1980, GUNNER & ZUCKERMAN 1968, SENIOR et al. 1976).

Außerdem könnten auch einige spezifische Pflanzenenzyme außerhalb der Wurzel nützlich für Dekontaminationsprozesse sein (SCHNOOR et al. 1995).

Schließlich können je nach Pflanzenart oder Fremdstoff einzelne oder mehrere der aufgeführten ökologischen Abbaumechanismen ihren Beitrag zur erhöhten Dekontamination von Xenobiotika in der Rhizosphäre leisten.

Offen bleibt allerdings weiterhin die Frage, wodurch die Mineralisation quantitativ am meisten beeinflusst ist: durch die Oberflächenstruktur der Wurzeln, den selektiven Einfluss der Exsudate oder durch die spezifischen Eigenschaften des Wurzel-Mikroorganismen-Systems (z.B. N₂-Fixierung bzw. Mycorrhiza, etc., ANDERSON & WALTON 1991).

1.5 Gesamtbedeutung der Vegetation für die Dekontamination von Böden – Phytoremediation

Pflanzen können nicht nur durch einen verstärkten Abbau von Xenobiotika in ihrer Rhizosphäre einen Beitrag zur Dekontamination verunreinigter Böden leisten. Auch durch aktive bzw. passive Aufnahme, Translokation in die verschiedensten Pflanzenorgane und anschließender Metabolisierung tragen Pflanzen zu einem nicht unerheblichen Maße zum Abbau von Xenobiotika in Böden bei (DIETZ & SCHNOOR 2001, Abb. 1-2). Für Böden, die mit geringen Schwermetallkonzentrationen kontaminiert sind, schlagen BAKER et. al (1988, 1989, PIERZYNSKI et al. 1994) die Nutzung bzw. Detoxifizierung mit hyperakkumulierenden Bäumen (erreichen einen Gehalt von > 1mg Schwermetall pro Gramm Trockensubstanz) vor. In Agrarkulturen, in denen die oberirdische Biomasse geerntet wird, spielt die Förderung der

Mikroorganismen durch den Abbau der zurückbleibenden Wurzelbiomasse eine zusätzliche wichtige Rolle: In diesem Fall können zum Ende der Vegetationsperiode Pestizidrückstände mineralisiert werden, die sonst z.B. ins Grundwasser gelangen. So konnten SEIBERT et al. (1981) nach der Getreideernte im durchwurzelten Boden in Verbindung mit einer erhöhten mikrobiellen Biomasse und Dehydrogenaseaktivität einen dreifach erhöhten Abbau von Atrazin im Vergleich zum nicht-durchwurzelten Boden beobachten.

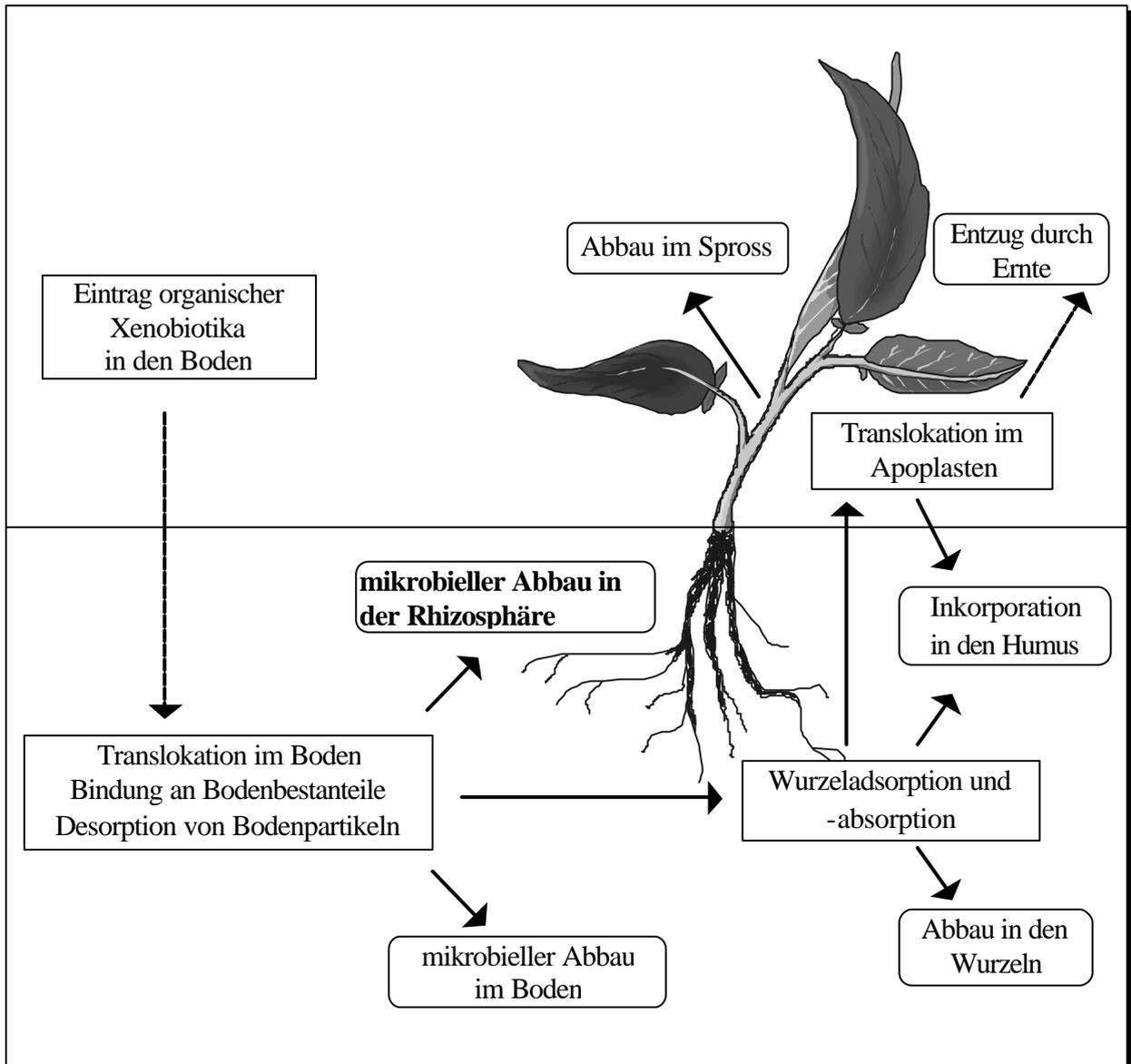


Abb.1-2: Möglicher Beitrag der Pflanzen zur Dekontamination von Xenobiotika im Boden (Schema nach CUNNINGHAM & BERTI 1993, verändert).

- | | | | |
|---|--------------------------|---|--------------------------------------|
|  | - Translokationsprozesse |  | - Abbau- und Detoxifikationsprozesse |
|  | - Ein- bzw. Austrag |  | - Vorgänge im Pflanze-Boden-System |

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Dekontamination von Böden mit Pflanzen (engl.: Phytoremediation) eine prädestinierte Technik für großflächige, oberflächliche und diffuse Bodenkontaminationen, z.B. auch an Straßenrändern mit relativ schwer löslichen Xenobiotika, ist (ANDERSON et al. 1993, CUNNINGHAM & BERTI 1993, CUNNINGHAM et al. 1995). Durch die Förderung geeigneter Vegetation auf solchen kontaminierten Böden, kann die biologische Aktivität der autochthonen Organismengemeinschaft und damit der Schadstoffabbau erhöht werden (GÜNTHER & FRITSCH 1996). Eine Dekontamination belasteter Böden mit Pflanzen wird in Zukunft für nicht-flüchtige Organika und Schwermetalle eine große Rolle spielen, da andere herkömmliche Methoden weniger umweltfreundlich (Zerstörung der Bodenoberfläche), wesentlich aufwendiger und sehr viel kostspieliger sind. So ermitteln CUNNINGHAM & OW 1996, dass die Kosten für in-situ Dekontaminationsverfahren mit Pflanzen um 2-4 Zehnerpotenzen günstiger sein können als konventionelle Dekontaminationsverfahren, deren Kosten sich auf 100 bis 1000 DM pro Tonne belaufen.

1.6 Untersuchungen zum Xenobiotikaabbau in der Rhizosphäre – Möglichkeiten und experimentelle Unzulänglichkeiten

Als Schnittstelle zwischen Pflanzenwurzel und Boden hat die Rhizosphäre eine herausragende Bedeutung für alle terrestrischen Ökosysteme. Aufgrund ihrer räumlichen und funktionellen Komplexität, ihrer zeitlichen Dynamik und der Vielfalt der in ihr lebenden Organismengemeinschaft ist eine Untersuchung der Rhizosphäre immer mit großen Schwierigkeiten bezüglich Standardisierung und Reproduzierbarkeit verbunden. So gestalten sich im allgemeinen Studien zur Untersuchung des Wurzelraums von Pflanzen methodisch äußerst schwierig und oftmals unbefriedigend (CAMPBELL & GREAVES 1990).

Viele Autoren nutzen z.B. für die Abundanzbestimmung der Mikroorganismen in der Rhizosphäre auch heute noch das Plattenverfahren, d.h. es werden nur diejenigen Mikroorganismen erfasst, die auf dem jeweiligen Nährmedium wachsen und Kolonien bilden. Es wird jedoch schon seit langem vermutet, dass nur maximal 10% der tatsächlich vorhandenen Mikroorganismen-Abundanz der Rhizosphäre mit dieser Technik erfasst wird (CAMPBELL & GREAVES 1990). Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass sich die Ergebnisse des Plattenverfahrens nicht proportional zu denen von Direktbestimmungen verhalten (CARMICHAEL & PFAENDER 1997). Die größten Fortschritte bei der Ermittlung

absoluter und vergleichbarer Mikroorganismen-Abundanzwerte wurden durch die Fluoreszenzmikroskopie erzielt (NEVELL et al. 1986).

Auch wurde bei Mineralisationsstudien von Xenobiotika in der Rhizosphäre selten die Aktivität der Mikroorganismen parallel erfasst, obwohl sie eine wichtige Voraussetzung für den Abbau der Xenobiotika und die Interpretation von Abbaukinetiken ist. Nicht zuletzt wurden Untersuchungen zur zeitlichen und räumlichen Entwicklung des Wurzelsystems und der damit verbundenen Exsudatausscheidung - d.h. der eigentlichen primären Ursache für einen durch Mikroorganismen in der Rhizosphäre geförderten Xenobiotikaabbau - fast vollständig vernachlässigt. Korrelationen des Fremdstoff-Abbaus mit dem Wurzelzuwachs wurden nur ausnahmsweise durchgeführt und nur HEGDE & FLETCHER (1996) konnten eine positive Korrelation zwischen dem Längenzuwachs der Wurzeln von *Morus rubra* und ihrer für die Mikroorganismenförderung entscheidende Phenolausscheidungen feststellen.

Zusammenfassend lässt sich ableiten, dass der Zusammenhang zwischen der Struktur und Morphologie von Wurzelsystemen, dem selektiven Einfluss von Wurzelexsudaten sowie der spezifischen Mikroorganismen-Pflanze-Interaktionen einerseits und dem Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre andererseits bis heute ungenügend untersucht ist (ANDERSON et al. 1993, HABY & CROWLEY 1996).

1.7 Zielsetzung der Arbeit

In Verbindung mit der Dekontaminationsleistung der Rhizosphäre soll in dieser Arbeit bei allen Untersuchungen das System Pflanzenwurzel-Mikroorganismen-Boden im Vordergrund stehen. In dem zu entwickelnden Versuchssystem sollen insbesondere Wurzel- und mikrobielle Parameter der Rhizosphäre über einen mehrwöchigen Zeitraum quantifiziert und untereinander in Beziehung gesetzt werden. Es gilt das System soweit zu standardisieren und zu optimieren, dass signifikante und wiederholbare Ergebnisse erhältlich sind. Neben der Optimierung und Kontrolle der Bodenfeuchte, die in erheblichem Maße die mikrobielle Abundanz und Aktivität beeinflusst, gilt es insbesondere eine Pflanzenart zu ermitteln, durch die nicht nur messbare Unterschiede im Vergleich zum unbepflanzten Boden, sondern auch reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden können. Die Wahl fiel auf die Weiche Trespe (*Bromus mollis* L., Poacea), die, wie alle Gräser mit sekundärer Homorhizie, eine gleichmäßige Durchwurzelung des Bodens erreicht und, wie sich zeigte, unter Laborbedingung gut wüchsig ist. Eine Vergleichbarkeit der Bedingungen des Systems mit

Freilandbedingungen, d.h. eine Versuchsdurchführung mit naturnaher Temperatureinstellung, Bodenfeuchte und insbesondere Bodenzusammensetzung ist anzustreben.

In einem kontrolliert belüfteten Modellökosystem grundsätzlich gleichen Aufbaus soll dann im Weiteren der Beitrag der Rhizosphäre hinsichtlich der Dekontamination potentieller Fremdstoffe im Boden untersucht und mit den ermittelten Wurzel- und mikrobiellen Parametern korreliert werden. Die Verwendung ^{14}C -markierter Substanzen ermöglicht eine vollständige Bilanzierung der Metabolisations- und Mineralisationsprodukte (SCHUPHAN 1986). Als Modellsbstanzien dienten p-Nitrophenol, ein Metabolit der Insektizide Parathion und Methylparathion (LICHTENSTEIN & SCHULZ 1964) und Pyren als einen typischen Vertreter persistenter ubiquitär vorhandener Umweltchemikalien aus der Gruppe der Polycyclischen Aromatischen Kohlenwasserstoffe.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Konzeption der Versuche

Ökologische Untersuchungen im Boden erweisen sich aufgrund der komplexen funktionalen und strukturellen Zusammenhänge auch in begrenzten Bodenkörpern als äußerst schwierig und aufwendig. Um unter Laborbedingungen zum einen eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erreichen, zum anderen aber auch weiterhin eine Übertragbarkeit der Aussagen auf Freilandbedingungen zu gewährleisten, sind umfangreiche Voruntersuchungen und Überlegungen zum Versuchsaufbau, zum verwendeten Material (Boden, Pflanzen, Chemikalien) sowie zu der Wahl geeigneter Messparameter notwendig (s.u.). Neben der komplexen Struktur des Bodens selbst werden mehrwöchige ökologische Studien im Boden zusätzlich durch die zeitlich einwirkenden Variablen erschwert. Folgende Variablen im Boden sind dabei von besonderer Bedeutung: täglicher Temperatur- und Feuchtewechsel, hoher Anteil an reaktiven Oberflächen sowie eine sehr große Artenvielfalt an Mikroorganismen mit bedeutenden Populationsschwankungen. Auf die Mikroorganismen wirken darüber hinaus in dem Nebeneinander der verschiedenen Mikrokompartimente zwar vorwiegend aerobe, zeitweilig jedoch auch anaeroben Einflüsse (FÜHR et al. 1989).

Die räumlich und zeitlich sich verändernde Komplexität der Bodenstruktur wird in der Rhizosphäre durch den zusätzlichen Einfluss der sich entwickelnden Wurzeln um ein Vielfaches erhöht und ist der hauptsächliche Grund für die große Schwierigkeit, das Schicksal von Boden-kontaminierenden Substanzen zu verfolgen. Insbesondere durch den Einbau der Substanzen und Metaboliten in Pflanzenlignin und Bodenhumus (CUNNINGHAM et al. 1995) wird die Bilanzierbarkeit und Verfolgung der Mineralisationsdynamik von Xenobiotika in Abbaueversuchen erschwert. Sie ist aber wesentliche Voraussetzung, um für physiologische Parameter eine geeignete Bezugsgröße zu schaffen. Als einzige exakt bilanzierende Analysemethodik für die Erfassung aller Xenobiotikaausgangs- und Umwandlungsanteile kommt deshalb nur der Einsatz der Radiotracer-Technik unter Verwendung radioaktiv markierter Substanzen in Betracht. Diese wiederum schränkt die Handhabung und insbesondere den Umfang der Versuche stark ein, da auch das flüchtige Mineralisationsprodukt $^{14}\text{CO}_2$ der verwendeten Xenobiotika erfasst werden muss. Deshalb wurden für die Ermittlung der Wurzelparame-ter sowie der mikrobiellen und physiologischen Parameter vergleichende Versuche von Rhizosphären- und nicht-Rhizosphären-Boden ohne Tracer-Einsatz in

offenen Pflanzkästen durchgeführt (Durchwurzelungsversuche). Für die Ermittlung der Abbaudynamik der radioaktiv markierten Xenobiotika mußten dagegen Versuche in speziell modifizierten Vegetationskammern angesetzt werden. Voraussetzung für die anschließende Zusammenführung und Korrelation der Ergebnisse ist dabei die Einhaltung gleicher Ausgangs- und Randbedingungen in beiden Versuchsanordnungen insbesondere der klimatischen Faktoren (Bodenfeuchte, Licht und Temperatur).

2.1.1 Bodenwahl

Als Boden wurde sowohl für die Pflanzversuche (Rhizo-Versuche) mit *Bromus mollis* als auch für die Abbauprobversuche im Modellökosystem ein nachweislich Pestizid-unbelasteter Ackerboden (Versuchsgelände der RWTH-Aachen, Gut Melaten) verwendet.

Bei der Wahl des Bodens sollte einerseits darauf Rücksicht genommen werden, dass zum einen seine Struktur eine repräsentative Probenahme während der Versuchsdurchführung ermöglicht und dass zum anderen auch eine Übertragbarkeit der erzielten Ergebnisse auf Freilandbedingungen sichergestellt ist. Ein mäßig nährstoffreicher, lehmiger Ackerboden (s. Tab. 2-1 u. 2-2) weist aufgrund seiner Bewirtschaftungsweise eine relativ homogene Struktur auf und repräsentiert sowohl Pestizid-belastete als auch durch diffusen Eintrag sonstiger Umweltchemikalien belastete Böden. Auch entspricht ein ins Labor eingebrachter und in die Pflanzkästen eingefüllter Boden vielen ungeschichteten und strukturlosen Oberböden kontaminierter Ruderalstandorte bzw. gepflügter Äcker. Der Einsatz solcher Oberböden sollte eine qualitative Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf Freilandverhältnisse ermöglichen, wobei eine quantitative Übertragbarkeit, aufgrund des stark wechselnden Einflusses der im Freiland herrschenden Witterungsbedingungen, nur eingeschränkt erlaubt ist.

Da für die beiden Testverbindungen p-Nitrophenol und Pyren der direkte Beitrag der Pflanzen auf ihren Abbau zum einen aufgrund der hohen Abbaurate durch Bodenmikroorganismen (für p-Nitrophenol: u.a. LOKKE 1985, s. Seite 22) zum anderen aufgrund der geringen Aufnahme in die Pflanze vernachlässigbar ist, wurde auf vergleichende Abbaustudien mit Pflanzen in sterilem Boden verzichtet. Darüber hinaus beeinflusst das Fehlen der Mikroorganismen im Boden im hohen Maße das Wurzelwachstum und insbesondere die Entwicklung der Wurzelhaare, wodurch ein Vergleich der Ergebnisse zwischen Rhizosphären-Boden und nicht-Rhizosphären-Boden in Frage gestellt wäre (BOWEN & ROVIRA 1961).

Tab. 2-1: Bodenparameter des für die Versuche eingesetzten Bodens (Boden: Versuchsgelände RWTH-Aachen, Gut Melaten; Analyse: Landwirtschaftskammer Rheinland, LUFA).

Bodenart	sandiger Lehm
pH-Wert	7,0
P	0,24 mg/g
K	0,12 mg/g
Mg	0,04 mg/g
NO ₃ -N im Oberboden (0-30cm)	3,27 g/cm ²
NH ₄ -N im Oberboden (0-30cm)	0,45 g/cm ²

Tab. 2-2: CHN-Analyse des für die Versuche eingesetzten Bodens (Boden: Versuchsgelände RWTH-Aachen, Gut Melaten; (Automatic Elemental Analyser CARLO ERBA 1106 nach KIRSTEN 1983) Eichprobe: Cyclohexanon-2,4-Dinitrophenylhydrazon C₁₂H₁₄N₄O₄ M=278,27; Mittelwerte aus drei Messungen).

Element	mg/ g Boden
C	38,1
H	6,4
N	3,8

2.1.2 Voruntersuchungen zur Pflanzenauswahl

Für die Hauptversuche wurde eine weitverbreitete Monokotyle, *Bromus mollis* L. (Weiche Tresse), verwendet. Die Versuchspflanze sollte aus experimentellen Gründen folgende Eigenschaften aufweisen: sie sollte einen schnellen Biomassezuwachs des Wurzelsystems zeigen, eine Erhöhung der mikrobiellen Aktivität im Boden bewirken und nicht zu letzt eine messbare Erhöhung der Dekontaminationsleistung in ihrer Rhizosphäre gegenüber nicht-Rhizosphärenboden verursachen.

Zunächst war jedoch Voraussetzung für die Wahl der Pflanze, dass es sich um eine anpassungsfähige Wildpflanze mit ausreichend großer ökologischer Amplitude handelt, die einerseits kontaminierte Standorte, z.B. Ränder von Hauptverkehrsstraßen oder Abraumhalden besiedelt bzw. potentiell besiedeln kann und andererseits eine ausreichende Keimungsfähigkeit unter Laborbedingungen aufweist. Nach entsprechenden Keimungsversuchen kamen *Cichorium intybus*, *Lolium perenne* und *Bromus mollis* in die engere Wahl. *Cichorium intybus* ist eine typische Ruderalpflanze der Wegränder und Schuttplätze und gehört zur Familie der Asteraceae (Landolt 1991). *Lolium*

perenne und *Bromus mollis* gehören dagegen beide zur Familie der Poacea, wobei ersteres ein typisches und häufiges Weidegras der *Lolio-Cynosuretum*- und *Lolio-Plantaginetum*-Assoziation und letzteres ein weitverbreitetes Weide- und Wiesengras sämtlicher *Arrhenatheretalia*-Gesellschaften ist. Beide Grasarten sind aber auch häufig in der Weg- und Straßen begleitenden Ruderalflora anzutreffen (*Polygonion* bzw. *Sisymbrium*, KLAPP & OPITZ VON BOBERFELD 1990, FOERSTER 1983).

Im Gegensatz zu der Pfahlwurzel von *Cichorium* verfügen die beiden Gräser mit ihrer, für die meisten Monokotylen typischen, sekundären Homorhizie (TROLL 1967) über ein gleichmäßig verzweigtes Wurzelsystem und ermöglichen somit eine wesentlich homogenere Durchwurzelung des Bodens - eine wichtige Voraussetzung für eine repräsentative Probenahme. Darüber hinaus wird von verschiedenen Autoren die Vergrößerung der Wurzeloberfläche durch die feine Verzweigung des Wurzelsystems als entscheidend für die Kolonisation durch Mikroorganismen erachtet. Aufgrund dessen wird Gräsern ein deutlicher Vorteil für die Dekontamination verunreinigter Böden eingeräumt (ATLAS & BARTHA 1992, APRILL & SIMS 1990). Als Maß für eine erhöhte Dekontaminationsleistung des Bodens wird oft der Nachweis einer erhöhten mikrobiellen Aktivität angesehen. So schließen auch BOYLE & SHANN (1995) von einer 50%igen Erhöhung der mikrobiellen Aktivität (^{14}C -Acetat-Aufnahme und ^{14}C -Einbau in mikrobielle Lipide) im Rhizosphärenboden von Monokotyledonen im Vergleich zu Dikotyledonen auf eine verstärkte Umbau- und Abbauleistung durch monokotyle Pflanzen. Sie vernachlässigten jedoch dabei das Wurzelsystem der unterschiedlichen Pflanzen quantitativ zu charakterisieren, so machen sie weder Angaben zur Wurzelbiomasse noch zur Wurzeloberfläche.

In Vorversuchen mit *Cichorium*, *Lolium* und *Bromus* zeigte sich dann auch weniger eine Abhängigkeit der mikrobiellen Aktivität von der verwandtschaftlichen Zugehörigkeit der Pflanze und auch nicht von der entwickelten Wurzelbiomasse, sondern von der entwickelten Wurzeloberfläche: Die Wurzelbiomasse pro Bodenvolumen betrug nach 28 Tagen bei allen drei Pflanzenarten ca. 4 mg/g, wobei die von *Bromus mollis* sogar mit 3,5 mg/g den niedrigsten Wert aufweist. Dagegen erreicht die Wurzeloberfläche von *Bromus* den vier bis fünffachen Wert gegenüber denjenigen von *Cichorium* und *Lolium* (Tab. 2-3). Diese Entwicklung korreliert offensichtlich mit der mikrobiellen Aktivität in der Rhizosphäre von *Bromus mollis*, die zumindest nach drei bzw. vier Wochen deutlich höher ist, als in der Rhizosphäre von *Cichorium* und *Lolium* (Abb. 2-1). *Bromus mollis* vereinigt somit wichtige Eigenschaften, wie gute Keimungsfähigkeit unter Laborbedingungen, Ausbildung eines homogen verteilten Wurzelsystems als Voraussetzung für eine repräsentative Probenahme und

Entwicklung eines schnell wachsenden Wurzelsystems mit großer Oberfläche, in Verknüpfung mit einer signifikanten Erhöhung der mikrobiellen Aktivität in seiner Rhizosphäre im angestrebten Versuchszeitraum. *Bromus mollis* zeigte sich somit als eine ideal geeignete Versuchspflanze, um dichte- und altersabhängige Wurzeloberflächenentwicklungen, mikrobielle Aktivitäts- und Abundanzentwicklungen sowie den Xenobiotikaabbau in seiner Rhizosphäre zu charakterisieren.

Tab. 2-3: Entwicklung der Wurzelbiomasse (mg, TM=Trockenmasse) und der Wurzeloberfläche (mm²) von *Lolium perenne*, *Bromus mollis* und *Cichorium intybus* pro Probenzylinder (55 cm³).

Versuchstag	<i>Lolium</i>		<i>Bromus</i>		<i>Cichorium</i>	
	Wurzel-TM	Wurzel-OF	Wurzel-TM	Wurzel-OF	Wurzel-TM	Wurzel-OF
7	1,6	460	0,9	1327	2,5	796
14	1,9	546	2,8	4130	2,8	892
21	1,8	517	1,7	2507	3,8	1210
28	4,0	1149	3,5	5162	4,2	1338

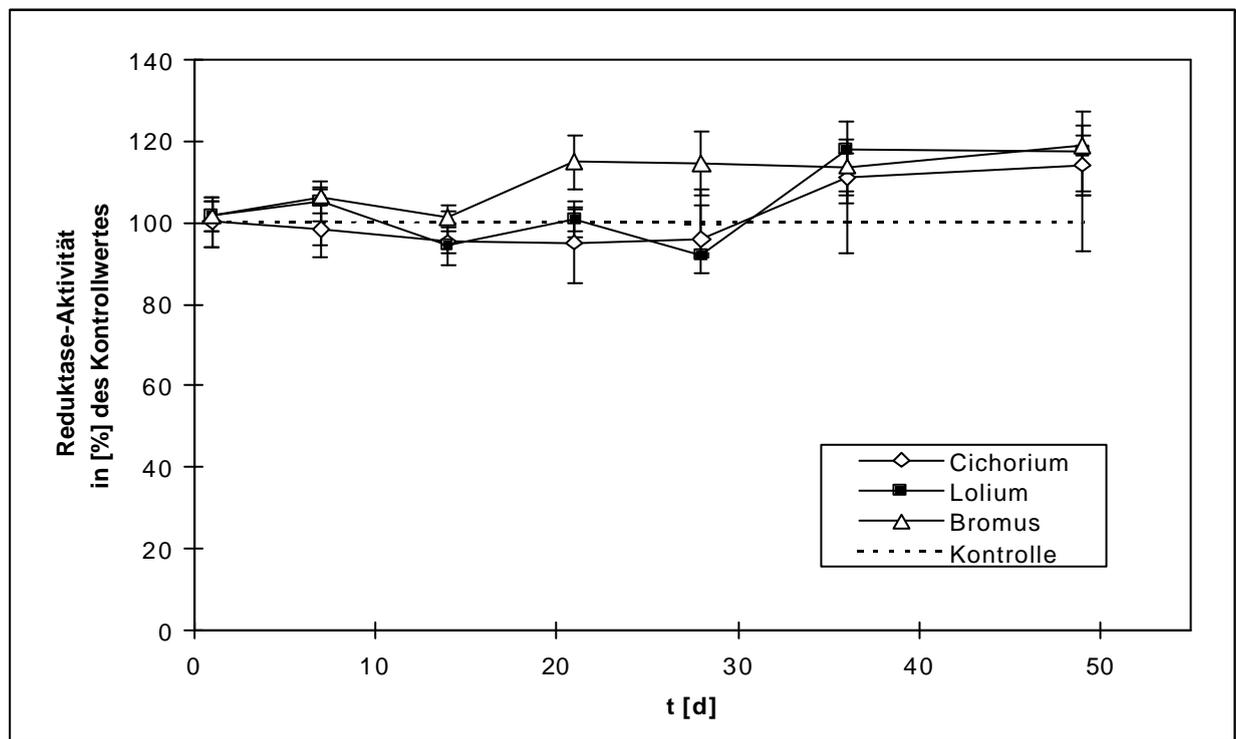


Abb. 2-1: Entwicklung der Reduktaseaktivität in der Rhizosphäre von *Cichorium intybus*, *Lolium perenne* u. *Bromus mollis* in [%] des Kontrollwertes (nicht-Rhizosphären-Boden) (Mittelwerte aus vier Messungen einer Bodenprobe je Ansatz, mit Darstellung der Standardabweichung der Mittelwerte).

2.1.3 Wahl der Wurzel-Messparameter

Die Charakterisierung des Wurzelsystems erfolgte über die Wurzel-Oberflächenbestimmung und über die Bestimmung der Wurzel-Biomasse.

Für den mikrobiellen Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre ist das Wurzelsystem der Pflanze und seine Entwicklung von entscheidender Bedeutung. Um so bemerkenswerter ist, dass eine Charakterisierung des Wurzelsystems bei in der Literatur beschriebenen Untersuchungen als Grundvoraussetzung für die Dekontaminationsleistung der Rhizosphären-Mikroorganismen fast nie erfolgte. Deshalb blieben sicher auch die Mechanismen und kausalen Zusammenhänge in der Rhizosphäre unbefriedigend geklärt und blieb die Frage bislang unbeantwortet, welchen quantitativen Einfluss das Wurzelsystem, seine Struktur und freigesetzte Wurzelexsudate bzw. spezifische Eigenschaften des Wurzel-Mikroorganismen-Systems haben (z.B. Stickstoff-fixierende Bakterien, Mycorrhiza-Pilze etc.; ANDERSON & WALTON 1991).

In der vorliegenden Arbeit sollten daher zu untersuchende Wurzelparameter als Messgrößen gewählt werden, die möglichst allgemeingültige Aussagen und Beziehungen zu mikrobiellen Messparametern der Rhizosphäre zulassen. Dabei ist die Bestimmung der Wurzelbiomasse über die Trockenmasse ein mit wenig Aufwand zu erfassender Parameter, allerdings mit dem Nachteil, dass er durch die Kohlendioxid-Fixierung des Photosynthese-Apparates eher mit den oberirdischen Pflanzenteilen im Zusammenhang steht und sich weniger proportional zu der Menge an ausgeschiedenen Exsudaten verhält. So gelang HEGDE & FLETCHER (1996) auch keine Korrelation der Phenolausscheidung der Wurzel von *Morus rubra* mit deren Biomasseentwicklung ($r = 0,26$) wohl aber mit deren Längenentwicklung ($r = 0,79$). Noch günstiger als die Bestimmung von Wurzellängen, scheint jedoch eine Wurzeloberflächen-Bestimmung zu sein. Der Oberfläche kommt als strukturelle und physiologische Grenzschicht zwischen Pflanzenwurzel und dem sie umgebenden Boden eine herausragende Bedeutung zu. Die Bestimmung der Wurzeloberfläche ist relativ aufwendig. So musste die von CARLEY & WATSON (1966) vorgeschlagene titrimetrische Methode zur Wurzeloberflächen-Bestimmung mit einer CaCl_2 -Lösung nach Vorversuchen verworfen werden, da die Gewichtsunterschiede zwischen den einzelnen Wägeschritten aufgrund des relativ kleinen Gesamtwurzelsystems der Einzelpflanzen zu gering und wegen Dehydrierungserscheinungen durch die Salzlösung nicht reproduzierbar waren. Als Konsequenz erfolgte hier die Oberflächen-Bestimmung durch eine relativ aufwendige direkte mikroskopische Vermessung der Wurzellängen und -durchmesser und anschließender Berechnung der Oberfläche (EVANS 1977). Diese Vorgehensweise

ermöglichte über die Quantifizierung der Oberflächenentwicklung hinaus auch eine Charakterisierung der Struktur des Wurzelsystems mit Angaben zur anteiligen Wurzelhaar-Oberfläche. Auf eine darüber hinausgehende Charakterisierung des Wurzeinflusses auf mikrobielle Parameter in der Rhizosphäre, z.B. durch eine Bestimmung der Exsudatausscheidung, wurde hier verzichtet, weil diese mit der hier beschriebenen Versuchsanordnung nicht erfasst werden konnte. Auch werden in der Literatur die kausalen physiologischen Zusammenhänge zwischen spezifischen Ausscheidungsprodukten der Wurzeln, den Mechanismen der mikrobiellen Förderung sowie des potentiellen Abbaus von Xenobiotika sehr kontrovers diskutiert.

2.1.4 Wahl der mikrobiellen Messparameter

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Abundanzbestimmung der Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Ausbildung des Feinwurzelsystems der Pflanzen den Bezug liefern können, pflanzenspezifische Einflüsse auf den Xenobiotika-Abbau im Boden zu erkennen. Daher kommt den Mikroorganismen in der vorliegenden Untersuchung eine besondere Bedeutung zu: Sie werden vom Wurzelsystem der Pflanze gefördert und könnten in der Rhizosphäre eine verstärkte Dekontamination bedingen. Wesentliche Voraussetzung für die Wahl der mikrobiellen Messparameter war, dass sie einerseits unspezifisch und experimentell leicht erfassbar sein sollten, andererseits aber trotz geringer zur Verfügung stehender Bodenmengen (bei möglichst geringer Störung des Gesamtsystems) signifikante und reproduzierbare Ergebnisse erbringen mussten. Darüber hinaus sollten einerseits physiologische Parameter andererseits aber auch die mikrobielle Abundanz erfasst werden, um der Frage nachzugehen, ob eine Abundanzveränderung sich auch in der mikrobiellen Gesamtaktivität manifestiert bzw. ob eine Aktivitätserhöhung auch mit einer Abundanzerhöhung verknüpft ist.

Um die Entwicklung und Aktivität der Mikroorganismen in der Rhizosphäre von *Bromus mollis* zu quantifizieren, wurde einerseits **mittels Fluoreszenzmikroskopie eine Direktzählung der Bakterien vorgenommen** und andererseits mit Hilfe zweier physiologischer Messparameter, **der Substratinduzierten Respiration und der DMSO-Reduktion** (Dimethylsulfoxid), **die mikrobielle Aktivität bestimmt**.

Für die Abundanzbestimmung wurde die bewährte Methode der Lebendzählbestimmung mittels Acridin-Orange-Färbung und Fluoreszenzmikroskopie genutzt (DOBBINS & PFAENDER 1988, GHORSE & BALKWILL 1983, NEVELL et al. 1986). Abundanzbestimmungen mittels Kolonie-Bildung auf unspezifischen Nährmedien (z.B. R2A-Agar), wie in Vorversuchen verwendet, ergeben zum

einen erhebliche Abweichungen (1-2 Zehner Potenzen) in den Absolutwerten gegenüber der Lebendzahlbestimmung. Zum anderen ist es aufgrund der starken Schwankungen der Mittelwerte und der hohen Varianz der Einzelwerte nicht möglich die Mikroorganismen-Abundanz nach diesem Verfahren mit der Wurzelentwicklung zu korrelieren. (Abb. 2-2, s. auch CARMICHAEL & PFAENDER 1997). Die meisten Autoren, die einen verstärkten Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre beschreiben, nutzen für die Abundanzbestimmung der Mikroorganismen in der Rhizosphäre auch heute noch das Plattenverfahren. Es wird jedoch schon seit langen vermutet, dass nur maximal 10% der tatsächlich vorhandenen Mikroorganismen-Abundanz der Rhizosphäre mit dieser Technik erfasst wird (CAMPBELL & GREAVES 1990).

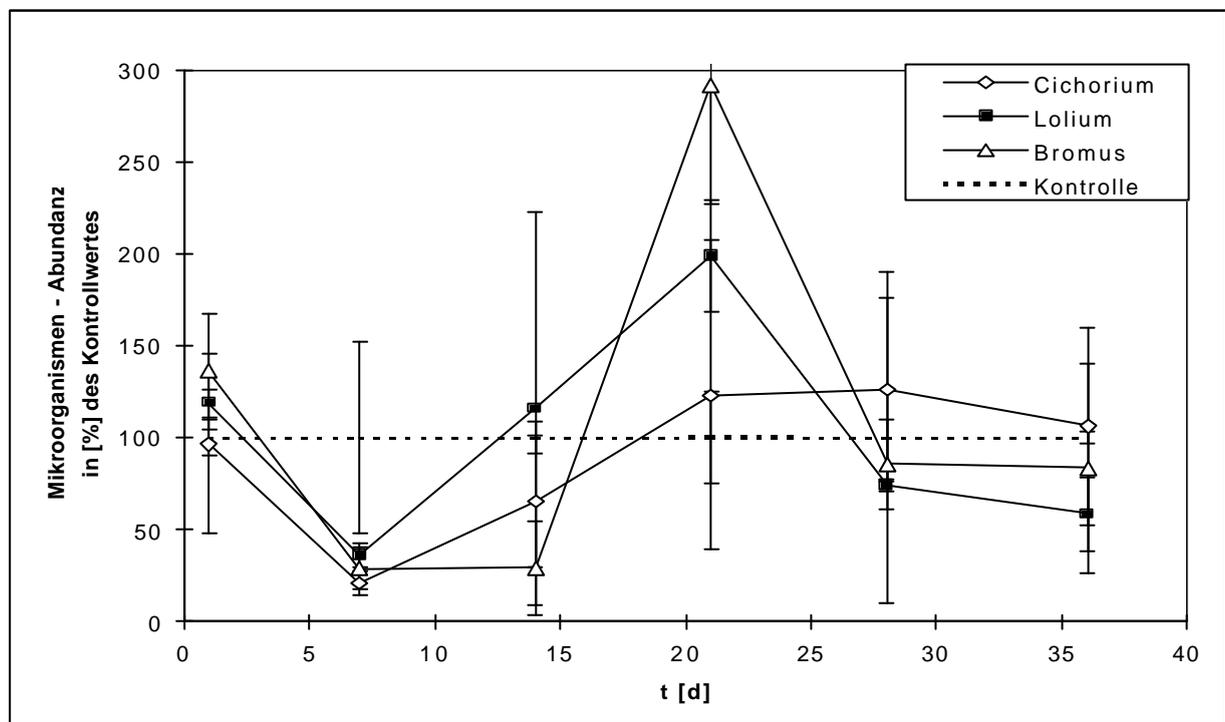


Abb. 2-2: Entwicklung der Mikroorganismen - Abundanz (Plattenversuch, siehe 2.2.5.1) in [%] des Kontrollwertes (unbepflanzter Ansatz) in der Rhizosphäre von *Cichorium intybus*, *Lolium perenne* u. *Bromus mollis*. (Mittelwerte aus zwei Bodenproben mit je vier Messungen je Verdünnungsreihe, mit Darstellung der Standardabweichung der Mittelwerte)

Darüber hinaus wurde auf eine Artdifferenzierung verzichtet, da diese nur sinnvoll ist, wenn die jeweiligen Mikroorganismenarten auch am Abbau der Umweltchemikalie beteiligt sind. Die Fähigkeit zum Abbau der hier verwendeten Modellsubstanzen p-Nitrophenol und Pyren ist allerdings nur in Ausnahmefällen bekannt und deshalb kann der Anteil ihrer potentiellen Abbauleistung nicht quantifiziert werden.

Um über die reine Abundanz- bzw. Biomassebestimmung hinaus die physiologische Aktivität der Mikroorganismen zu charakterisieren, wurden zwei physiologische Messparameter zur

Quantifizierung gewählt: Die "Substrat Induzierte Respiration" stellt dabei einen für aerob lebende Mikroorganismen unspezifischen, leicht handhabbaren Stoffwechselfparameter dar (ANDERSON & DOMSCH 1978), der auch als geeignetes potentiell Maß für einen oxidativen Abbau von Xenobiotika durch Mikroorganismen im Boden dienen kann, unabhängig davon ob es sich im Einzelfall, um eine Substratnutzung oder eine cometabolischen Abbau handelt. Auch die Messung der Reduktaseaktivität mittels DMSO-Test gilt als empfindlicher und unspezifischer Indikator für die mikrobielle Aktivität, da zum einen belegt ist, dass eine sehr große Anzahl von Mikroorganismen unter Laborbedingungen fähig ist DMSO zu reduzieren und da das Reduktionsprodukt (DMS) schon bei sehr niedrigen Konzentrationen gaschromatographisch detektiert werden kann (ALEF & KLEINER 1989, ZINDER & BROCK 1978). Die Bestimmung dieses Leistungsparameters eignet sich daher auch für kleine Mikroorganismen-Populationen bzw. kleine Bodenmengen. Auch soll nach SPARLING & SEARLE (1993) die DMSO-Reduktion im Boden durch vorhandene Wurzeln wenig beeinflusst werden.

2.1.5 Chemikalienwahl

¹⁴C-markiertes p-Nitrophenol und Pyren dienten als Modellsubstanzen, um den Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre im Vergleich mit unbepflanzten Boden zu demonstrieren und zu quantifizieren (Abb. 2-3).

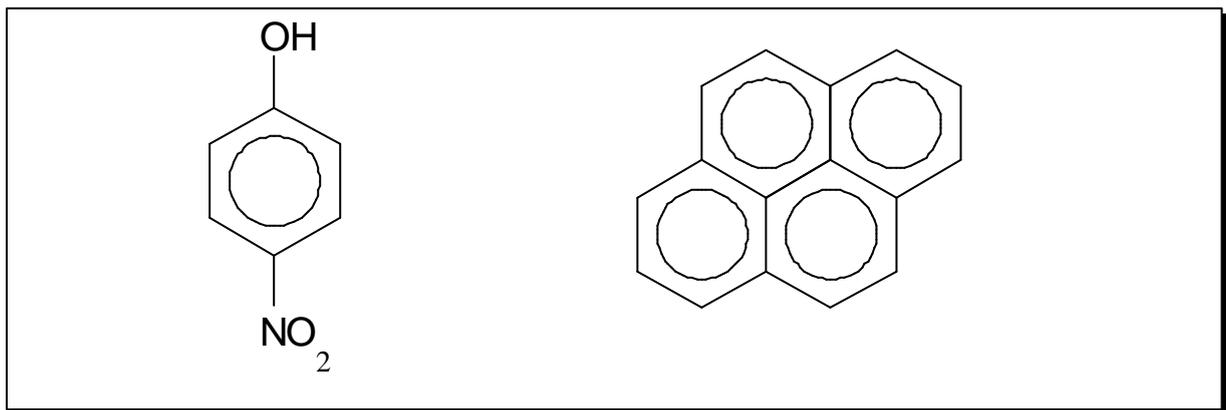


Abb. 2-3: Strukturformeln von p-Nitrophenol und Pyren.

Es wurden gezielt Substanzen ausgewählt, die häufig in die Umwelt gelangende Stoffgruppen repräsentieren: p-Nitrophenol als ein Umwandlungsprodukt von Pestiziden und Pyren als ein typischer Vertreter, der bei unvollständigen Verbrennungen in die Umwelt entlassen wird. Damit messbare Unterschiede ihres Abbaus in Abhängigkeit von der Bodendurchwurzelung erkennbar werden, mussten ihre in der Literatur beschriebenen Halbwertszeiten im Rahmen der geplanten

Versuchszeiten liegen. Diese waren wiederum vorgegeben durch den Biomassezuwachs der Pflanze und der Größe des Pflanzsystems. Die Substanzen sollten weiterhin bedeutende ubiquitär und großflächig in die Umwelt eingetragene Stoffe repräsentieren, die durch ihren diffusen Eintrag in der Realität eine oberflächennahe Kontamination des Bodens bewirken. Dadurch sollte eine Übertragbarkeit der Experimente auf naturnahe Gegebenheiten ermöglicht werden. Mikrobieller Abbau und Persistenz sollten so ausbalanciert sein, dass der Beitrag der Rhizosphäre zum Chemikalienabbau sicher nachweisbar wird. Von untergeordneter Bedeutung war dagegen, ob die Modellsubstanzen ein bekanntes Gefahrenpotential für die Umwelt im allgemeinen oder für die Bodenbiozönose im speziellen besitzen. Die Halbwertszeiten der beiden auszuwählenden Chemikalien sollten sich im Boden signifikant unterscheiden, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, zumindest bei einer der beiden Substanzen einen signifikanten Unterschied im Abbaupotential zwischen Rhizosphären-Boden und nicht-Rhizosphären-Boden festzustellen.

Der Stoff **p-Nitrophenol** ist ein Metabolit z.B. der im Pflanzenschutz weit verbreiteten Insektizide Parathion und Methylparathion (LICHTENSTEIN & SCHULZ 1964). Nach seiner Bildung wird er im Boden unter aeroben Bedingungen von verschiedenen Mikroorganismen, wie z.B. *Pseudomonas* sp. und *Bacillus* sp., abgebaut, wobei die Angaben zur Halbwertszeit stark differieren und in Abhängigkeit vom Alter der Kontamination zwischen ca. 20 Stunden und 10 Tagen liegen (LOKKE 1985, SUDHAKAR-BARIK & SETHUNATHAN 1978 HATZINGER & ALEXANDER 1995, RAYMOND & ALEXANDER 1971, SPAIN et al. 1980). Eine vollständige Mineralisation beobachteten ALEXANDER & LUSTIGMAN (1966) nach 16 Tagen bei 25 °C, GRIFFITHS & WALKER (1970) dagegen schon nach 7 Tagen.

Aufgrund seines Oktanol-Wasser-Koeffizienten von ca. $K_{ow} = 1,8$ (BROWN & ADAMS 1983, USEPA 1979), zeigt p-Nitrophenol eine gewisse Lipophilie und nach Bell et al. (1988) einerseits einen erhöhten RCF von ca. 2,2 (root concentration factor), aber andererseits auch eine gute Wasserlöslichkeit und so auch einen maximalen TSCF von 0,8 (transpiration stream concentration factor). Dadurch sind die gute Bioverfügbarkeit und Abbaubarkeit durch Mikroorganismen und Pflanzen begründet, welche bei Pflanzen in dem Versuchszeitraum von wenigen Wochen vernachlässigbar sind. Der Stoff p-Nitrophenol erschien auf der Basis dieser vorhandenen Literaturdaten somit als geeignete Testsubstanz für Abbaueversuche in der Rhizosphäre von *Bromus mollis*.

Pyren ist ein typischer Vertreter aus der Gruppe der Polyaromatischen Kohlenwasserstoffe. Viele höherkernigen PAKs sind mutagen und/oder karzinogen (HARVEY 1991, PHILLIPS 1985) und

werden in der Nahrungskette akkumuliert (HARKEY et al. 1995). Sie sind Reaktionsprodukte unvollständiger Verbrennungsvorgänge organischer Stoffe und können natürlichen oder anthropogenen Ursprungs sein (BLUMER 1976, SUESS 1976). Die diffuse und ubiquitäre Verbreitung über die Atmosphäre stellt den wichtigsten Kontaminationsweg des Bodens und der Vegetation dar. Die höherkernigen PAKs verbleiben aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit und geringen Flüchtigkeit in den oberflächennahen Bodenschichten, beziehungsweise akkumulieren in den oberirdischen Vegetationsteilen (PARK et al. 1990, REILLEY et al. 1996, CARMICHAEL & PFAENDER 1997). PAKs sind aufgrund ihrer Persistenz, Toxizität und großflächigen Verbreitung hinsichtlich Schadstoffbelastung in Böden von herausragender Bedeutung (KÖNIG et al. 1991). Typische Hintergrundkonzentrationen in nicht industrialisierten Gebieten liegen bei 50 bis 80 µg PAKs pro kg Pflanze (HANCOCK et al. 1970, EDWARDS 1986). Signifikant erhöhte PAK-Gehalte (u.a. Pyren, Anthracen, Fluoranthren) konnten von HAUTALA (1995) in Moosen (*Pleurozium schreberii*) in bis zu 60m Entfernung entlang von Straßen nachgewiesen werden. An Industriestandorten, z.B. den Steinkohlenabraumhalden des Aachener Reviers, können PAK-Konzentrationen bis zu 100 mg/kg Boden auftreten (hier vorwiegend Phenanthren und Naphthalin und deren Alkylderivate; PÜTTMANN & GOBEL 1988).

Die wichtigsten PAK-abbauenden Organismen im Boden sind Bakterien der Gattung *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus* und *Nocardia* (SHABAD & COHAN 1972), aber auch Eukaryonten, insbesondere Weißfäule-Pilze, wie *Phanerochaete chrysosporium* und *Pleurotus ostreatus*, sind in der Lage PAKs (u.a. Pyren) zu mineralisieren (ESCHENBACH et al. 1995, AUST 1990), wobei als Metaboliten karzinogene Epoxide nachgewiesen wurden (SUTHERLAND 1992). Bei PAKs mit drei oder mehr Ringen ist parallel zum steigenden Kow-Wert eine verstärkte Adsorption am Boden (KNOX et al. 1993) festzustellen mit der Folge, dass sich die Bioverfügbarkeit vermindert und die Persistenz erhöht. So werden für Pyren in Böden Halbwertszeiten von 30 bis 70 Tagen angegeben (COOVER & SIMS 1987, GÜNTHER & FRITSCH 1996), andere Autoren wiesen aber auch wesentlich höhere Halbwertszeiten von bis zu 5 Jahren nach (CRAWFORD et al. 1993). Im Vergleich zu Mineralisationsdaten anderer PAKs, liegen die Werte von Pyren bezüglich der hier angestrebten Versuchsdauer von ca. 6-8 Wochen sehr günstig. Darüber hinaus liegen für Pyren auch Abbaudaten in der Rhizosphäre verschiedener Pflanzen vor. So konnten REILLEY et al. (1996) einen erhöhten Abbau von Pyren in der Rhizosphäre von *Medicago sativa* und GÜNTHER & FRITSCH 1996 in der Rhizosphäre von *Lolium perenne*, *Zea mays* und *Pisum sativum* im Vergleich zum nicht durchwurzelten Boden nachweisen.

2.2 Charakterisierung des Systems Pflanze - Boden - Mikroorganismen (Durchwurzelungsversuche)

2.2.1 Versuchsaufbau und Durchführung

Für einen Versuchsdurchlauf wurden die Samen von *Bromus mollis* (Bezug: CONRAD APPEL, Darmstadt) in drei Pflanzkästen (L: 60 cm, B: 11 cm, T: 9 cm) ausgebracht, die mit gesiebter Erde (2 mm, Herkunft: Gut Melaten, Aachen) befüllt waren. Ein vierter Kasten wurde nicht bepflanzt und diente als Kontrolle. In Versuchsansatz B1 wurden 11,1g, in Ansatz B2 3,7g und in Ansatz B3 1,2g Saatgut je Kasten ausgebracht. Um eine konstante Bodenfeuchte zu gewährleisten, wurden die Pflanzkästen mit je 6 "BLUMAT"-Befeuchtungskegeln bestückt, die jeweils mit einem Wasserreservoir in Kontakt standen (Abb. 2-4). Diese automatischen Wasserspender bestehen aus einem porösen Tonkegel und einem Versorgungsschlauch, der Wasser aus einem Vorratsbehälter bezieht. Ihre Funktionsweise ist teilweise hydrostatisch bedingt, d.h. mit der Höhe des Wasserspiegels im Vorratsbehälter im Verhältnis zur Bodenoberfläche lässt sich die abgegebene Wassermenge regulieren. Sonst wird sie durch die Saugspannung des Bodens geregelt. Die Vorratsbehälter wurden regelmäßig auf einen vorgegebenen Wasserpegel gehalten und die zugefügte Wassermenge protokolliert. Die Bodenfeuchte wurde auf ca. 25% Vol. eingeregelt. Sie wurde mit einer Sonde (IMKO GmbH, TRIME-FM mit Stabsonde P2M) gemessen. Artfremde Keimlinge wurden regelmäßig entfernt.

Die Pflanzen wurden in einer Klimakammer bei konstanter Temperatur (20°C) angezogen. Die tägliche Beleuchtungsdauer betrug 12h. Als Lichtquelle dienten Quecksilberdampflampen (HQI-TS, 400 W/D, OSRAM; 20000 lux in Vegetationshöhe).

2.2.2 Probenahme (Boden)

Jede Woche wurden Bodenproben ausgestochen und von Wurzelmaterial sorgfältig befreit. Pro Pflanzkasten, sowie Kontrollkasten wurden 3 Bodenproben an unterschiedlichen Stellen entnommen, die jeweils in drei Teilproben aufgeteilt wurden. So standen pro Pflanzkasten 9 Bodenproben für die Untersuchung bereit. Vor der Probenahme wurde auf einheitliche Bodenfeuchte geachtet.



Abb. 2-4: Pflanzkästen mit BLUMAT-Befeuchtungskegeln und Feuchtigkeitsmessgerät mit Stabsonde (hier: *Cichorium intybus* (links) und *Bromus mollis* (rechts) im Vorversuch).

2.2.3 Bestimmung der Wurzeloberfläche und -biomasse von *Bromus mollis*

Für die Wurzeloberflächenbestimmung wurden aus den jeweiligen Bodenproben einige Exemplare entnommen, wobei anhaftende Bodenpartikel unter fließendem Wasser vorsichtig entfernt wurden (Abb. 2-5). In einer mit Wasser gefüllten Petrischale konnte nun die Oberfläche der ausgebreiteten Wurzel mit Hilfe einer Stereolupe bzw. einem Mikroskop bestimmt werden. Die einzelnen Wurzellängen (L) und -durchmesser (D) wurden mit Hilfe eines Objektmikrometers ausgemessen. Das Wurzelwerk wurde in drei Kategorien (Hauptwurzeln W1 (mit $D > 0,2$ mm), Nebenwurzeln W2 (mit $D < 0,2$ mm) und Wurzelhaare) unterteilt. Die Wurzelhaare wurden an exemplarischen Stellen pro Längeneinheit gezählt und ausgemessen. Später wurden die dabei ermittelten Längen auf die mit dem Objektmikrometer gemessenen Wurzelgesamtlängen umgerechnet, wobei der Anteil mit Wurzelhaaren besetzter Wurzel im Versuchsverlauf, d.h. mit dem Alter der Pflanze, einfließen mußte. Zur Berechnung der Oberfläche wurden Wurzel und Wurzelhaare näherungsweise als Zylinder behandelt (Wurzeloberfläche = $2L\pi r$).



Abb. 2-5: Wurzelsystem von *Bromus mollis*.

Berechnung der Wurzeloberfläche:

Formel zur Berechnung der Wurzeloberfläche:

$$W\text{-OF [mm]}^2 = (L_{W1} \times D_{W1} \times \pi) + (L_{W2} \times D_{W2} \times \pi) + (L_{Wh} \times D_{Wh} \times \pi \times d_{Wh} \times (L_{W1} + L_{W2}))$$

L_{W1}, L_{W2} : Summe der Länge aller Wurzeln 1.Ordnung bzw. aller Wurzeln 2.Ordnung

L_{Wh} : Mittelwert der Länge der Wurzelhaare

D_{W1}, D_{W2}, D_{Wh} : Mittelwert der Durchmesser der Wurzeln 1.Ordnung, 2.Ordnung bzw. der Wurzelhaare [mm]

d_{Wh} : Mittelwert der Dichte der Wurzelhaare = die Anzahl der Wurzelhaare pro Länge des Wurzelzylinders [mm⁻¹]

Zur Bestimmung der Wurzelbiomasse wurde die gewaschene Wurzel getrocknet (24 h, 60°C) und anschließend gewogen.

2.2.4 Bestimmung des Durchwurzelungsgrads

Für die Korrelationsanalyse zwischen mikrobiellen Parameter und der Wurzelentwicklung, ist der Durchwurzelungsgrad eine wichtige Bezugsgröße. Der Durchwurzelungsgrad wird hier als Gesamtwurzeloberfläche pro Bodentrockenmasse definiert. Als Basisdaten dienten einerseits die mittleren Wurzeloberflächen pro Pflanze (s.o.) und andererseits die mittlere Anzahl auf einer definierten Bodenoberfläche wachsenden Pflanzen. Da die Keimlinge schon nach zwei Wochen eine gleichmäßige Durchwurzelung des Pflanzkasten hinsichtlich seiner Tiefe erreichten, wurde diese bei allen Berechnungen als Nährungswert für die vertikale Ausdehnung des durchwurzelten Bodenkörpers zu Grunde gelegt. Somit konnte aus dem Produkt von Pflanzenanzahl und durchschnittlicher Wurzeloberfläche pro Pflanze die Gesamtwurzeloberfläche pro definiertem Bodenvolumen bzw. -trockenmasse und damit der Durchwurzelungsgrad berechnet werden. Ab der 5. Versuchswoche musste auf eine direkte Bestimmung der Wurzeloberfläche verzichtet werden, da zu diesem Zeitpunkt die Durchwurzelung des Bodens und die Verflechtungen der Wurzeln untereinander so stark fortgeschritten war, dass die Wurzeln den Einzelpflanzen nicht mehr zu zuordnen waren. Ab diesem Zeitpunkt musste der Durchwurzelungsgrad indirekt über die Wurzelbiomasse ermittelt werden. Hierzu wurden die Trockenmassen der Pflanzen bestimmt. Dabei wurden die Pflanzen in Spross, Saatkorn (nach dem 22. Versuchstag nicht mehr vorhanden) und Wurzel zerteilt, die einzelnen Teile bei 60°C im Trockenschrank 24h getrocknet und anschließend auf einer Mikrowaage (SARTORIUS, 2002 MP1) gewogen.

Berechnung des Durchwurzelungsgrades:

Formel zur Berechnung des Durchwurzelungsgrades:

$$\text{Durchwurzelungsgrad [mm}^2 \times \text{g}^{-1}] = \frac{\text{W-OF [mm}^2\text{]}}{\text{TM [g]}}$$

W-OF [mm²]: Wurzeloberfläche [mm²]:

TM [g]: Proben-trockenmasse [g]

Für Versuchsserie 1 des Durchwurzelungsversuchs gilt:

nicht-korrigierte Berechnung: Für $t[d] = 15, 22, 29, 36$ berechnet aus direkten Messungen; für $t[d] = 8, 43, 50, 58, 65$ berechnet aus dem Trockengewicht.

korrigierte Berechnung: Für $t[d] = 15, 22, 29, 36$ berechnet aus direkten Messungen; für $t[d] = 8, 43, 50, 58, 65$ Werte korrigiert um die altersbedingte Änderung des Wurzeloberflächen-Trockengewichts-Verhältnisses und der altersbedingten Abnahme der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung.

Für Versuchsserie 2 des Durchwurzelungsversuchs gilt:

nicht-korrigierte Berechnung: Für $t[d] = 8, 13, 21, 34, 41$ berechnet aus direkten Messungen; für $t[d] = 48, 54, 63$ berechnet aus dem Trockengewicht.

korrigierte Berechnung: Für $t[d] = 8, 13, 21, 34, 41$ berechnet aus direkten Messungen; für $t[d] = 48, 54, 63$ Werte korrigiert um die altersbedingte Änderung des Wurzeloberflächen-Trockengewichts-Verhältnisses und der altersbedingten Abnahme der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung.

2.2.5 Mikroorganismen-Abundanzbestimmung

2.2.5.1 Bestimmung der Gesamtkeimzahl mit dem Plattengussverfahren

Testprinzip:

Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl mittels Plattengussverfahren beruht darauf, dass die im Boden vorhandenen Mikroorganismen durch systematische Verdünnungsschritte vereinzelt werden und durch anschließende Bebrütung auf entsprechenden Nährmedien die einzelnen Keime makroskopisch sichtbare, auszählbare Kolonien bilden (ALEF 1991). Der Nachteil der Methode besteht darin, dass nur ein geringer Anteil an Mikroorganismen kultivierbar ist (s. 2.1.4). Durch die Wahl eines unspezifischen Nährmediums sollte eine möglichst hohe Anzahl an verschiedenen Mikroorganismen erfasst werden.

Durchführung:

Für die Abundanzbestimmung mittels Plattentest wurden je 0,5 g Boden (Frischgewicht) in Reagenzgläser (15ml) eingewogen und unter Zugabe von 9,5 ml 1%iger Natrium-Pyrophosphat-Lösung 20 min geschüttelt. Dadurch wurden Kalkkonglomerate im Boden aufgeschlossen. Aus dieser Suspension wurden dann mit steriler 0,8%iger NaCl-Lsg. Verdünnungsreihen angelegt. Von

der Verdünnungsstufe $1:10^6$ wurden jeweils vier x 0,5 ml auf R₂A-Agar (18,2g/l) in Petrischalen ausplattiert und 7 Tage bei 20°C inkubiert. Nach der 7-tägigen Inkubationszeit wurden die Kolonien ausgezählt.

Abundanzberechnung:

Formel zur Berechnung der Mikroorganismen-Abundanz:

$$\text{MO-Abundanz x Boden [g]}^{-1} = \frac{\text{MO}_P \times F_V}{\text{TM [g]}}$$

MO_P: Mittelwert der Mikroorganismen-Abundanz pro Petrischale

F_V: Verdünnungsfaktor (10^7)

TM: Bodentrockenmasse [g]

2.2.5.2 Direktes Zählverfahren mit dem Fluoreszenzmikroskop

Testprinzip:

Das Verfahren beruht auf der Untersuchung von gefärbten Bodensuspensionen in Agarfilmen mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie (PARKINSON et al. 1971). Im Gegensatz zum Plattenverfahren hat das direkte Zählverfahren den Vorteil, dass sämtliche lebenden Zellen erfasst werden, auch solche, die auf Kulturmedien nicht zu Kolonien heranwachsen. So kann die Anzahl erfasster Mikroorganismen pro gegebener Bodenmenge um das ca. 1000fache höher liegen als Koloniezählungen auf Agarmedien. Insbesondere in der Rhizosphäre muss davon ausgegangen werden, dass der Anteil an nicht koloniebildenden Mikroorganismen besonders hoch ist.

Durchführung:

Je 0,5 g Bodenprobe (Frischgewicht) wurden in Schott-Reagenzgläser eingewogen und mit 4,5 ml steriler 1% Natrium-Pyrophosphat-Lösung versetzt. Nach gründlichem Mischen in waagerechter Lage auf einem Schüttler (20 min), zur Auflösung von Kalkkonglomeraten, wurde jeweils 1 ml der Suspension mit 18 ml 1% Natrium-Pyrophosphat-Lösung verdünnt und mit 1 ml auf ca. 50° C erwärmter 1% Agarlösung überschichtet. Nach kurzem kräftigen Schütteln wurden jeweils 10µl der

Suspension zügig auf Objektträger ausgestrichen. Es wurde jeweils eine Fläche von 1 cm² bestrichen, die zuvor mit einem Diamantstift abgegrenzt wurde. Nach halbstündigen Trocknen wurde der Ausstrich 3x in der Bunsenbrennerflamme hitzefixiert und mit einer 0,002% Acridinorange-Lösung gefärbt. Hierzu wurde das Präparat 5 min mit der Farblösung überschichtet und mit sterilem aqua dest ca. 30 s gespült, um eine Hintergrundfluoreszenzstrahlung zu vermeiden. Das Präparat ist getrocknet und im Dunkeln mehrere Wochen haltbar.

Für die Zählung wurde das Präparat mit einer 3% Natrium-Thiosulfat-Lösung überschichtet und im Auflichtfluoreszenzmikroskop mit Blauanregung bei 1000facher Vergrößerung betrachtet (Mikroskop: Leitz Wetzlar Dialux 20 E3 mit Aufsatz Type 307-148.002; Lichtquelle: Quecksilberhochdrucklampe 12V, 100 Watt; Filter: KP 500). Der Farbstoff differenziert bei Reinkulturen zwischen lebenden (grün gefärbten) und toten (orange gefärbten) Zellen bzw. Bodenpartikeln (rot gefärbt).

Abundanzberechnung:

Formel zur Berechnung der Mikroorganismen-Abundanz:

$$\text{MO-Abundanz x Boden [g]}^{-1} = \frac{\text{MO}_S \times A \text{ [mm}^2\text{]} \times F_V}{\pi \times r^2 \text{ [mm]}^2 \times \text{TM [g]}}$$

MO_S: Mittelwert der Mikroorganismen-Abundanz pro Sehfeld

A: Ausstrichfläche auf dem Objektträger (100 mm²)

F_V: Verdünnungsfaktor (2,5x10⁴)

r: Radius des Sehfeldes (0,08 mm)

TM: Bodentrockenmasse [g]

2.2.6 Physiologische Messparameter

2.2.6.1 Reduktase-Aktivität (DMSO-Test)

Testprinzip:

Der Test beruht auf der Fähigkeit fast aller Bodenmikroorganismen, Dimethylsulfoxid (DMSO) zu Dimethylsulfid (DMS) zu reduzieren (ZINDER & BROCK 1978). Das flüchtige DMS kann leicht gaschromatographisch bestimmt werden und diese Methode zeigt gute Übereinstimmung mit anderen enzymatischen Summenparametern der Bodenmikroflora wie Bodenatmung, Ammonifikation oder Dehydrogenase-Aktivität (ALEF & KLEINER 1989). Bei der Probenahme ist zu beachten, dass Wurzelreste sorgfältig entfernt werden, da sie selbst durch ihre Reduktaseaktivität die Messergebnisse verfälschen können.

Durchführung:

Je 0,5 g Boden (Frischgewicht) aus dem unmittelbaren Wurzelbereich wurde in Schraubkappengläser von 12 ml Volumen überführt. Wurzelreste wurden zuvor mit einer Pinzette sauber entfernt. Jedes Glas wurde mit 125 µl einer 10%igen wässrigen DMSO-Lösung versetzt, mit einem Teflonseptum und Schraubdeckel gasdicht verschlossen und bei 20° für 24h inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden je Glas 250 µl der Gasphase mit einer gasdichten Hamilton-Spritze entnommen und der DMS-Gehalt gaschromatographisch bestimmt (HP 5890 Series II; Säule HP1; 5% Methyl Silicone Gum; 25 m x 0,2 mm x 0,33 µm film thickness; split ratio 20:1 isotherm bei 100°C; FID). Die Retentionszeiten lagen zwischen 2,2 und 2,4 min. Da keine störenden weiteren Verbindungen im Luftraum der Gläschen vorlagen, konnten viele Proben hintereinander im gleichen Lauf (Abstand 15-20 s) auf die Säule gegeben werden. Dadurch konnte die Messung der Proben sehr effektiv gestaltet werden. Die Beprobung der Systeme und Durchführung des DMSO-Tests wurde einmal wöchentlich durchgeführt.

Parallel zur Probeentnahme für den DMSO-Test wurden immer auch Bodenproben für die Trockenmassebestimmung entnommen (0,5 g Boden; Trocknung 24 h bei 60°C).

Berechnung:

Da sich die DMSO-Reduktionsrate auf Gramm Bodentrockenmasse und Zeit bezieht, müssen sowohl die Inkubationszeit als auch die Trockenmasse jeder Probe mit in die Berechnung der Reduktionsraten einfließen.

Formel zur Berechnung der DMSO-Reduktionsrate:

$$\text{DMSO-Reduktionsrate} = \frac{A_P \times \text{DMS}_{St} [\text{ng}] \times V_{Fl} [\text{ml}]}{A_{St} \times \text{TM} [\text{g}] \times t [\text{h}] \times V_{GC} [\text{ml}]}$$

A_P : Mittelwert der Probenpeakfläche

A_{St} : Mittelwert der Standardpeakfläche

DMS_{St} : Menge des eingespritzten DMS-Standards; 88,44 ng

V_{fl} : Volumen der Standardprobenflasche; 12 ml

TM: Bodentrockenmasse [g]

t: Inkubationszeit [h]

V_{GC} : GC-Einspritzvolumen; 0,25 ml

2.2.6.2 Substratinduzierte Respiration (Methode nach Isermeyer; leicht abgeändert)**Testprinzip:**

Alle aerob lebenden Organismen nehmen Sauerstoff für ihre Stoffwechselprozesse auf und geben das entstehende Kohlendioxid an ihre Umgebung ab. Das gebildete Kohlendioxid kann in NaOH gebunden und durch Titration quantifiziert werden. Dabei ist die Kohlendioxidentwicklung (Bodenrespiration) ein Maß für die Aktivität der Mikroorganismen. Durch Zugabe eines leicht verstoffwechselbaren Substrats sind auch in kleinen Bodenproben quantifizierbare Unterschiede der mikrobiellen Aktivität erfassbar (BECK et al. 1993).

Durchführung:

Je 10 g Boden (Frischgewicht) wurden 2 h luftgetrocknet (Bodenfeuchte: ca. 15% Vol.) und in einen 100 ml Erlenmeyerkolben überführt (Abb. 2-6). Anschließend wurde die Probe mit 100 mg D-Glukose-Pulver versetzt und durch Umschwenken in den Boden eingemischt. Die optimal zu veratmende Glukosemenge wurde zuvor ermittelt (s. Abb. 2-7). Ein Silikonstopfen mit an ihm befestigten 10 ml Natriumhydroxid (Titrisol 0,1 M) enthaltenden Kunststoffgefäß diente als Verschluss des Kolbens (Abb. 2-6). Die Inkubationszeit betrug 20 h bei 22°C. Nach der Inkubation wurde das NaOH mit 1 ml gesättigter BaCl₂-Lösung versetzt und nach Zugabe von 3-4 Tropfen Indikatorlösung (Phenolphthalein) mit einer 0,05 M Salzsäure-Lösung bis zum Umschlag von rosa nach farblos titriert. Bodentrockenmasse-bestimmung: Trocknung 24 h bei 60° C.



Abb. 2-6: Reaktionsgefäß für die Substratinduzierte Respiration.

Berechnung:

Formel zur Berechnung der Respirationsrate:

$$\text{CO}_2 \text{ [mg]} \times \text{Boden [g]}^{-1} \times \text{t [h]}^{-1} = \frac{1,1 \text{ [mg x ml}^{-1}] \times (\text{V}_B \text{ [ml]} - \text{V}_V \text{ [ml]})}{\text{TM [g]} \times \text{t [h]}}$$

1,1 : Faktor: Verbrauch von 1 ml 0,5 M HCL entspricht der Bildung von 1,1 mg CO₂ [mg x ml⁻¹]

V_B : Mittelwert des HCL-Verbrauchs für den Blindwert [ml]

V_V : Mittelwert des HCL-Verbrauchs für die Vollprobe [ml]

TM: Bodentrockenmasse [g],

t: Inkubationszeit [h]

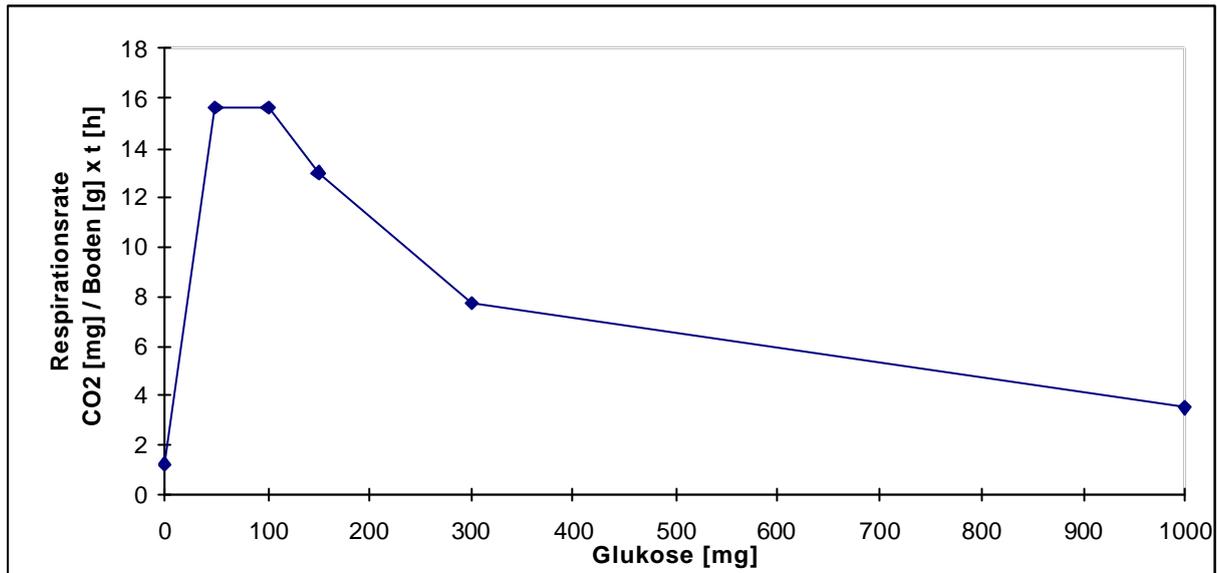


Abb.2-7: Respirationsrate in Abhängigkeit von der zugesetzten Glukosemenge zur Bestimmung der maximalen CO₂-Freisetzung (Mittelwert aus 3 Parallelmessungen).

2.3 Das kontrolliert belüftete Modell-Ökosystem zur vergleichenden Untersuchung des Xenobiotikaabbaus

2.3.1 Testprinzip

Als Modell-Ökosystem wird hier ein aus den Komponenten Boden, Luft und Organismen zusammengesetzter vereinfachter Ökosystemausschnitt verstanden. Da dieser in einem Behälter eingeschlossen wird, besteht die Möglichkeit, eine applizierte Chemikalie quantitativ in den verschiedenen Systemkompartimenten zu verfolgen. Aus den gewonnenen Daten können quantitative Aussagen über Verflüchtigung, Versickerung, Akkumulation, Translokation in Organismen aber auch über Mineralisierung und Metabolismus abgeleitet werden (SCHÄRER 1983). Die Verwendung eines Modell-Ökosystems in einer kontrolliert belüfteten Vegetationskammer mit Sorptionseinrichtungen für flüchtige organische Stoffe sowie für das Mineralisierungsprodukt ¹⁴CO₂ erlaubt weiterhin eine vollständige Bilanzierungen einer ¹⁴C-markierten Chemikalien und ihrer Metaboliten.

2.3.2 Aufbau der Vegetationskammer mit dem Modell-Ökosystem

Das Kernstück der Versuchsanordnung ist ein zylindrischer Glasbehälter (1) mit Planschliff (2) (Abb. 2-8 u. 2-9). Durch einen Aufsatz (3) mit mehreren Schlifföffnungen kann das Gefäß luftdicht verschlossen werden. Ein Glaseinsatz nimmt die Systemkompartimente Boden und Pflanzen auf und

dient als Kulturgefäß (4). Der Einsatz ist in den oberen zwei Dritteln durch eine Glasplatte und im unteren Drittel durch eine Gaze zweigeteilt (5), so dass zwei identische im oberen Teil getrennte im unteren Teil kommunizierende Bodenräume entstehen. Zweck dieses zweigeteilten Aufbaus ist die Schaffung von zwei identischen Bodenräumen mit möglichst gleichmäßiger Bodenfeuchte bei Vermeidung von gegenseitigem Austausch der applizierten Chemikalie. Der Luftraum ist durch eine Glasplatte (6) gasdicht in zwei Hälften getrennt, so dass flüchtige Metaboliten und insbesondere $^{14}\text{CO}_2$ getrennt abgeführt werden können. Die Öffnungen im Gefäßaufsatz ermöglichen durch spezielle Belüftungsaufsätze (7) mit angeschlossener Membranpumpe (11) einen kontinuierlichen Luftaustausch. Zwischen Belüftungsaufsatz und Membranpumpe befindet sich das Sorptionssystem, bestehend aus dem Träger für zwei Polyurethanschaumstopfen (8) zur Adsorption der flüchtigen organischen Stoffe und zwei Waschflaschen (9, 10) mit der $^{14}\text{CO}_2$ -Absorptionsflüssigkeit (Monoethanolamin, Methylglykol und Wasser, im Verhältnis: 1:1:1). Des weiteren kann mit Hilfe eines Gaszählers der Luftdurchsatz bestimmt werden.

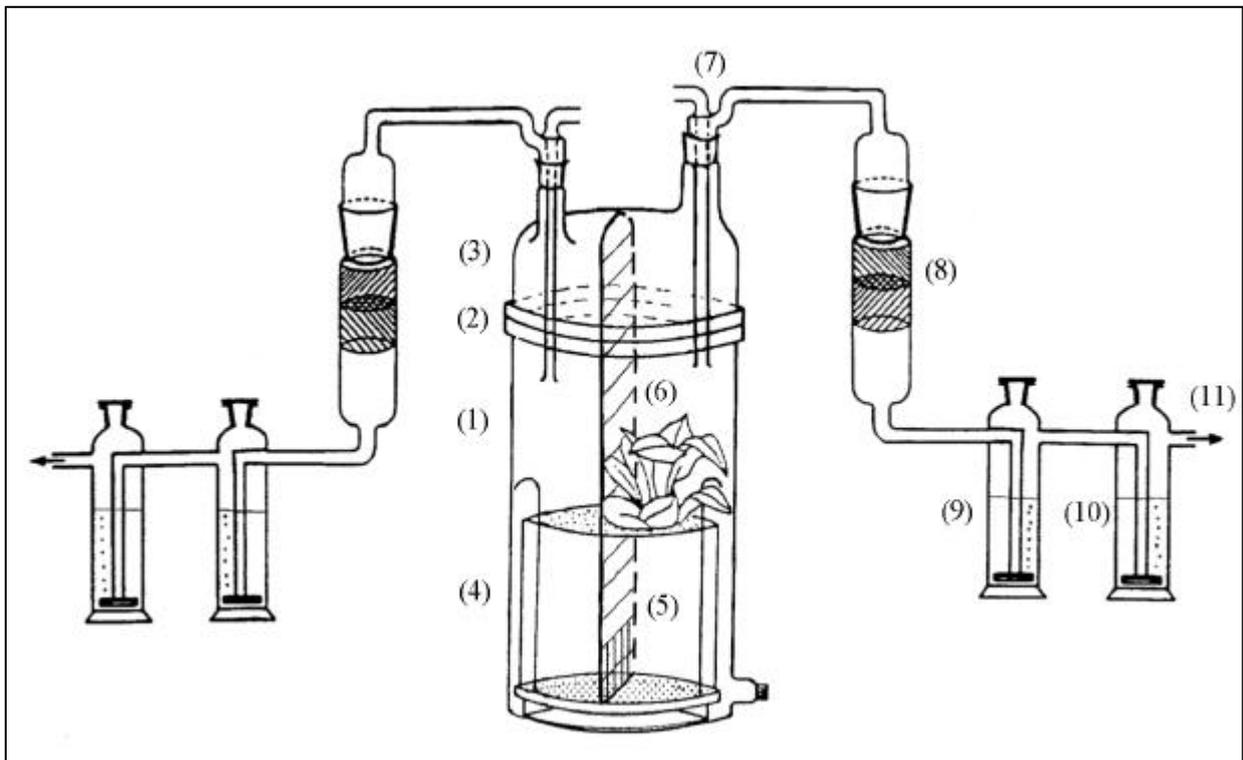


Abb. 2-8: Vereinfachtes Aufbauschema der Vegetationskammer: linke Hälfte ohne Bepflanzung, rechte Hälfte mit Bepflanzung (und Rhizosphären-Bildung). Erklärung siehe Text.

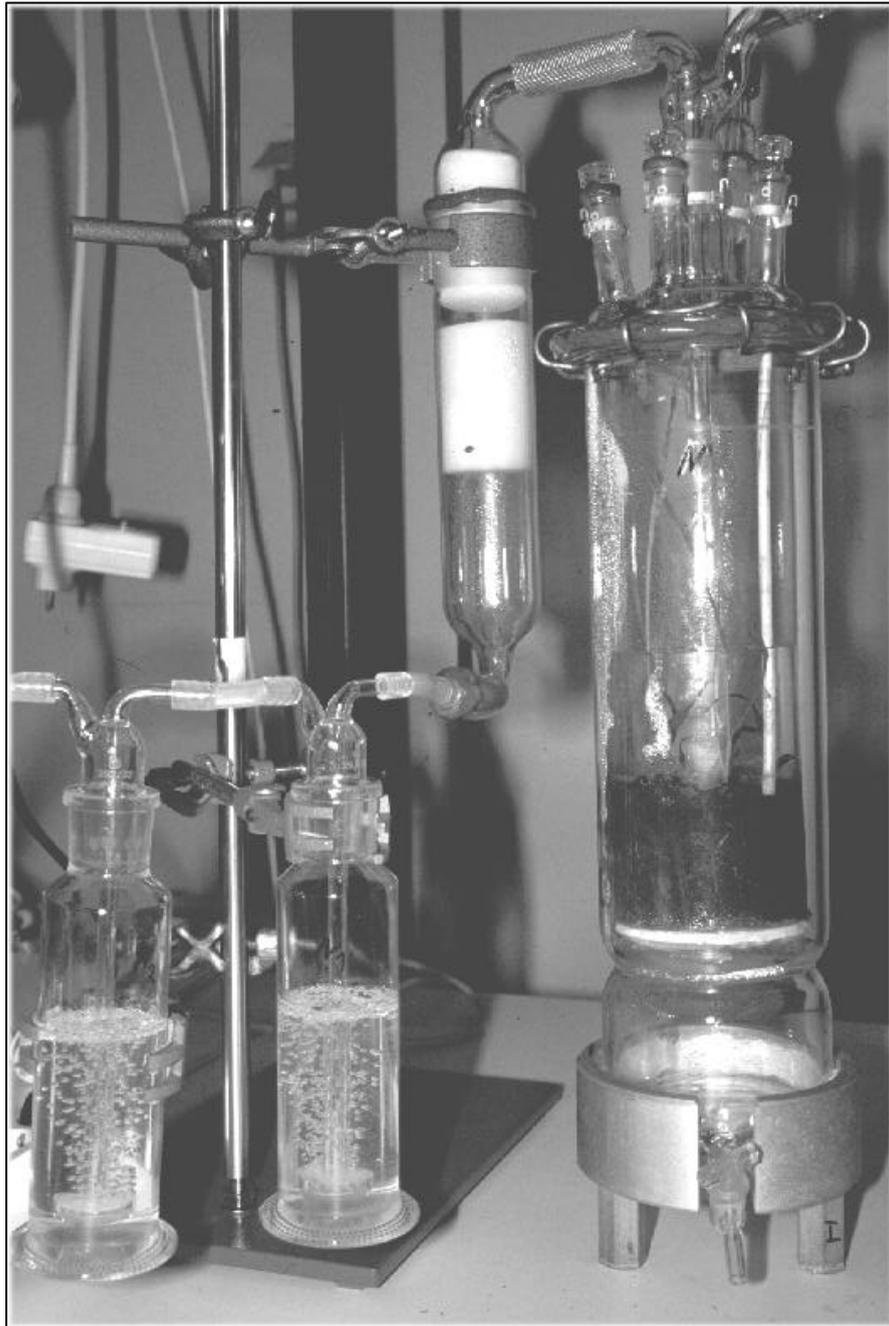


Abb. 2-9: Die Vegetationskammer mit $^{14}\text{CO}_2$ -Absorptionssystem der linken Kammerhälfte.

2.3.3 Versuchsdurchführung

2.3.3.1 Einmischung der ^{14}C -markierten Verbindung in den Boden

Zunächst wurde mittels einer Hamilton-Pipette die Applikationslösung mit der radioaktiv markierten Chemikalie in einem Rundkolben ($V = 2\text{L}$) auf 20 g Quarzsand aufgezogen (Applikationsdaten s. Tab. 2-4). Dabei wurde die Lösung vorsichtig unter ständigem Schütteln auf den Quarzsand getropft

und anschließend das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer verdampft. Nach Zugabe von 900 g Boden (Frischgewicht, Wassergehalt: 16 % Vol.) wurde der Glaskolben bis zur gleichmäßigen Verteilung des Quarzsandes geschüttelt (5min). Die gleichmäßige Verteilung des Quarzsandes und damit der Radioaktivität war sowohl optisch gut zu überprüfen (weiße Sandkörner in der dunklen Erde) als auch mittels Extraktion und anschließender Messung im Scintillationszähler nachzuweisen (s. Anhang, Tab. A-29). Es stellte sich heraus, dass das Schütteln des verschlossenen Kolbens mit der Hand am praktikabelsten war und die besten Resultate lieferte.

Tab. 2-4: Applikationsdaten der Abbauversuche in der Vegetationskammer.

p-Nitrophenol	
Konzentration der Stammlösung	150.000 dpm/ μ l in Chloroform
Applikationsvolumen	70 μ l
Aktivitätsmenge	10,5 Mill. dpm = 4,8 μ Ci
Pyren	
Konzentration der Stammlösung	20.000 dpm/ μ l in Ethanol
Applikationsvolumen	600 μ l
Aktivitätsmenge	12 Mill. dpm = 5,5 μ Ci

2.3.3.2 Beschickung des Bodenträgers und Inbetriebnahme des Systems

Das Bodengemisch wurde nun in zwei gleich schwere Teile geteilt und in die zwei Hälften des Einsatzes der Vegetationskammer eingefüllt. Nach dem Einsähen der *Bromus*-Samen in die eine Hälfte der Vegetationskammer wurden diese mit ca. 30 g zurückbehaltenen Boden abgedeckt, so dass die Füllmenge je Hälfte exakt 460 g Bodengemisch betrug (Tab. 2-5).

Nach erstmaligem Bewässern des Bodens wurde die Vegetationskammer bei laufender Pumpe mit dem Belüftungsaufsatz (7) im Planflansch-Deckel verschlossen. Durch zusätzliche äußere Sicherung aller Schlitze mit dauerelastischem Kitt (AQUA-FERMIT), konnte die Gasdichtigkeit sichergestellt werden. Bereits zuvor wurden die Schaumstopfen-Träger (8) jeweils mit zwei vorgereinigten PU-Schaumstopfen bestückt, und je Systemhälfte wurden die zwei Waschflaschen (9, 10) mit jeweils 150 ml der $^{14}\text{CO}_2$ -Absorptionsflüssigkeit befüllt.

Um eine ausreichende und konstante Bodenfeuchtigkeit in den Vegetationskammern zu erzielen, wurde durch die Schlifföffnungen mittels Pipette die Bodenoberfläche gegossen. Die Bodenfeuchte wurde mit einem Feuchtemessgerät (IMKO GmbH, TRIME-FM mit Stabsonde P2M) überprüft und auf ca. 25 % Vol. über die gesamte Versuchsdauer gehalten.

Tab. 2-5: System- und Versuchsdaten (pro Systemhälfte).

Bodenmenge	460 g (Frischgewicht)
Bodenoberfläche	35 cm ²
Bepflanzung	<i>Bromus mollis</i> L. bzw. keine Bepflanzung
Pflanzdichte	B2 (s. 2.2.1)
Kammervolumen	2 l
Luftstrom	20 l/h
Luftaustausch	10 x Systemvolumen/h
Temperatur	22°C (ca. 13 h)/ 19°C (ca. 11 h)
Beleuchtung	12 h/d, 20000 lux
Bodenfeuchte	ca. 25% Vol.
Versuchsdauer	28 d (p-Nitrophenol) bzw. 52 d (Pyren)

2.3.4 Versuchsaufarbeitung und Bilanzierung

Am Versuchsende wurden zunächst die oberirdischen Pflanzenteile abgeschnitten und das Frischgewicht bestimmt. Die Wurzeln wurden mit Hilfe einer Pinzette dem zum Versuchsende trockenen Boden unter mechanischer Zerlegung des Bodenkörpers entnommen. An den Wurzeln anhaftende Bodenpartikel wurden durch kurzes Schütteln der Wurzeln in der Boden-Extraktionslösung in diese überführt. Die von den Wurzeln aufgenommene bzw. im Boden verbliebene Aktivität wurde getrennt ermittelt.

Flüchtigkeit organischer Verbindungen:

Die in den PU-Schaumstopfen adsorbierten flüchtigen Bestandteilen wurden je Systemhälfte mit 400 ml Chloroform-Methanol-Lösung (2:1) extrahiert und Aliquote der Lösung im Scintillationszähler vermessen. (Scintillationscocktail: Quicksave A ZINSSER ANALYTIC, Scintillationszähler, LS 5000 TD BECKMANN)

Mineralisierungsprodukt $^{14}\text{CO}_2$:

Die $^{14}\text{CO}_2$ -Absorptionsflüssigkeit wurde in Abhängigkeit vom Versuchszeitpunkt alle 2-4 Tage gewechselt und im Scintillationszähler (s.o.) vermessen.

Extrahierbare Rückstände in den Pflanzen:

Sprosse und Blätter wurden zerkleinert (Stüklänge 0,5 mm), mit Bligh-Dyer (Chloroform-Methanol 1:2) im Ultratorax zermahlen, 24 h eingefroren und extrahiert. Die dem Boden entnommenen Wurzelteile wurden separat zerschnitten, zermahlen, eingefroren und extrahiert. Die Suspensionen wurden abgenutscht und die Filtrate vermessen.

Extrahierbare Rückstände im Boden:

Je Systemhälfte wurden die Bodenkörper zur besseren Handhabung in fünf Fraktionen geteilt. Diese Bodenfraktionen wurden mit je 100 ml Bligh-Dyer Lösungsmittel-Gemisch 24 h geschüttelt und dann abfiltriert (Kaltextraktion). Drei Aliquote der vereinigten Filtrate wurden im Scintillationszähler vermessen.

Nichtextrahierbaren Rückstände in den Pflanzen und im Boden:

Die Filter mit den extrahierten Pflanzenteilen wurden getrocknet, geviertelt und im Oxidizer (Oxidizer 500, R.J. HARVEY INSTR. CORPORATION/ ZINSSER) auf Radioaktivität quantitativ untersucht (Tab. 2-6). Ebenfalls wurden die extrahierten Bodenfraktionen im Abzug getrocknet und von jeder Fraktion wurden 5 Proben zu je 0,5 g verbrannt. Das bei der Verbrennung entstehende CO_2 wurde in Oxidizer-Cocktail (Oxysolve C-400, ZINSSER ANALYTIC) aufgefangen und durch die Vermessung im Scintillationszähler der ^{14}C -Gehalt der Proben bestimmt.

Tab. 2-6: Einstellung des Oxidizers.

Parameter	Einstellung
Eingangstemperatur	900°C
Katalysatortemperatur	680°C
Verbrennungsdauer	3 min
N ₂ -Fluss	350 ml/min
O ₂ -Fluss	350 ml/min

2.4 Statistische Auswertung

Um die Korrelation zwischen den verschiedenen Wurzel- und mikrobiellen Parametern zu erkennen, erfolgte eine Auswertung der Ergebnisse mit Hilfe einer nicht-linearen Regression. Da die beobachteten Parameter Wachstumsprozessen unterworfen sind, wurde folgerichtig eine Exponentialfunktion als Grundlage für die Regressionskurven gewählt (KINDER et al. 1982, Abb. 2-10).

$$f(x) = y_0 + a \cdot e^{-0,5 \left(\frac{\ln \frac{x}{c}}{b} \right)^2}$$

Abb. 2-10: Exponentialfunktion der Regressionskurve n.

Mit:

y₀ = Verschiebung auf der y-Achse, wobei in den dargestellten Graphen stets $y_0 = 100\%$, da die Messparameter immer relativ zum Kontrollwert berechnet wurden.

a = $y_{\max} - y_0$, d.h. der Faktor, der die Differenz zwischen der Maximalkapazität des Messparameters (Mikroorganismen-Abundanz, mikrobielle Aktivität) unter durchwurzelten Bedingungen und dem mittlere Kontrollwert unter wurzelfreien Bedingungen beschreibt.

c = Verschiebung von y_{\max} , d.h. derjenige Bezugswert (hier: Wurzeloberfläche), bei dem der Messparameter seine Maximalkapazität erreicht, da für $x = c$ gilt: $f(x) = y_0 + a = y_{\max}$

b = Dämpfungsfaktor, je größer b desto geringer ist die Dämpfung, d.h. derjenige Faktor, der bestimmt ob die Maximalkapazität y_{\max} bei gegebenem c zügig oder langsam erreicht wird, bzw. ob der Messparameter anschließend zügig oder langsam abfällt. Der Faktor b beschreibt allgemein die Wachstum- bzw. Aktivitätsbedingungen auch, wenn diese sicherlich in den vorliegenden Experimenten vor und nach Erreichen der Maximalkapazität nicht nur mehreren sondern auch unterschiedlichen Ursachen zu Grunde liegen.

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

3.1 Charakterisierung des Systems Pflanze - Boden - Mikroorganismen

3.1.1 Bestimmung der Wurzelbiomasse und -oberfläche von *Bromus mollis* (Durchwurzelungsversuch)

Bromus mollis weist, wie alle Poaceae mit sekundärer Homorhizie ein sehr gleichmäßig feinverzweigtes Wurzelsystem auf (s. Abb. 2-5). Bei genauerer Betrachtung ist jedoch auch bei *Bromus mollis* eine Einteilung der Wurzeln in Alters- und Größenklassen möglich, die sich abhängig von Umweltfaktoren unterschiedlich entwickeln. Um einerseits ein besseres Verständnis für die Wurzelentwicklung zu erhalten, andererseits diese auch mit den im folgenden gemessenen mikrobiellen und physiologischen Parametern der Rhizosphäre zu korrelieren, sollte eine möglichst differenzierte Analyse des Wurzelsystems von *Bromus mollis* erfolgen. Bei der differenzierten Betrachtung der Wurzelentwicklung wurde nach folgenden Parametern unterschieden:

- altersabhängig variierende Wurzelparameter,
- dichteabhängig variierende Wurzelparameter u.
- konstante (unabhängige) Wurzelparameter.

Wurzelbiomasse

Die Entwicklung der Wurzelbiomasse pro Bodentrockenmasse ergibt bei beiden durchgeführten Versuchsserien vom Zeitpunkt der Keimung ($t = 8$ d) bis zum Versuchsende (ca. 9. Woche), unabhängig von der Einsaatdichte, einen stetigen und ansteigenden z.T. annähernd exponentiellen Verlauf (Abb. 3-1a u. 3-1b). In beiden Versuchen werden Maximalwerte von ca. 200 mg Wurzel-Trockensubstanz pro Gramm Boden zum Versuchsende erreicht.

In Abhängigkeit von der Einsaatdichte zeigen sich in der graphischen Darstellung anfangs nur geringe, ab der vierten Woche, spätestens jedoch ab der fünften Woche, deutliche Unterschiede: Diejenigen Ansätze mit den höheren Einsaatdichten zeigen erwartungsgemäß in

beiden Versuchen in der entwickelten Biomasse pro Bodentrockenmasse einen stärkeren Zuwachs. In der höchsten Einsaatdichte werden im Vergleich zur niedrigsten Einsaatdichte zunächst zwei- bis dreifach höhere Biomassewerte erreicht, bevor sie in der fünften Woche das maximal fünffache erreichen. Verläuft diese Entwicklung in den beiden Versuchen zuerst parallel, so zeigt sich ab der sechsten Versuchswoche ein deutlicher Unterschied: Im Gegensatz zu Versuch 2 erreichen die Biomassewerte in Versuch 1 schon in der siebenten Woche in allen Ansätzen, d.h. unabhängig von der Einsaatdichte, einen fast gleichen Wert. Diese Entwicklung zeigt sich zwar auch im 2. Versuch, jedoch erst zum Versuchsende zu beobachten. Insgesamt spiegelt die Entwicklung der Wurzelbiomasse eine Expansion des Wurzelsystems wieder, die im Versuchsverlauf durch intraspezifische Konkurrenz überlagert wird. Diese führt erwartungsgemäß bei den höheren Einsaatdichten früher zu Wachstumshemmung und verursacht bei der höchsten Einsaatdichte noch im Versuchszeitraum rückläufige prozentuale Wurzelbiomasse-Zuwachsraten.

Raumknappheit im Wurzelraum und damit einher gehender Nährstoffmangel ist als Grund für die eintretende Hemmung zu vermuten. Durch auftretende Mangelsymptome, wie beginnende Blattchlorosen und schmalere Blattspreiten bei den Einzelpflanzen in den Ansätzen mit der höchsten Einsaatdichte, wird diese Vermutung belegt.

Bei einer über 9 Wochen hinaus verlängerten Versuchsdauer ist zu vermuten, dass auch bei den niedrigeren Einsaatdichten intraspezifische Konkurrenz auftritt. In der Entwicklung der Wurzelbiomassewerte wird ebenfalls ein Sättigungsverlauf eintreten und bei ausbleibender Nährstoffzufuhr bzw. unzureichender Remobilisierung von Nährstoffen aus totem Pflanzenmaterial ist ein wieder abnehmender Kurvenverlauf zu erwarten.

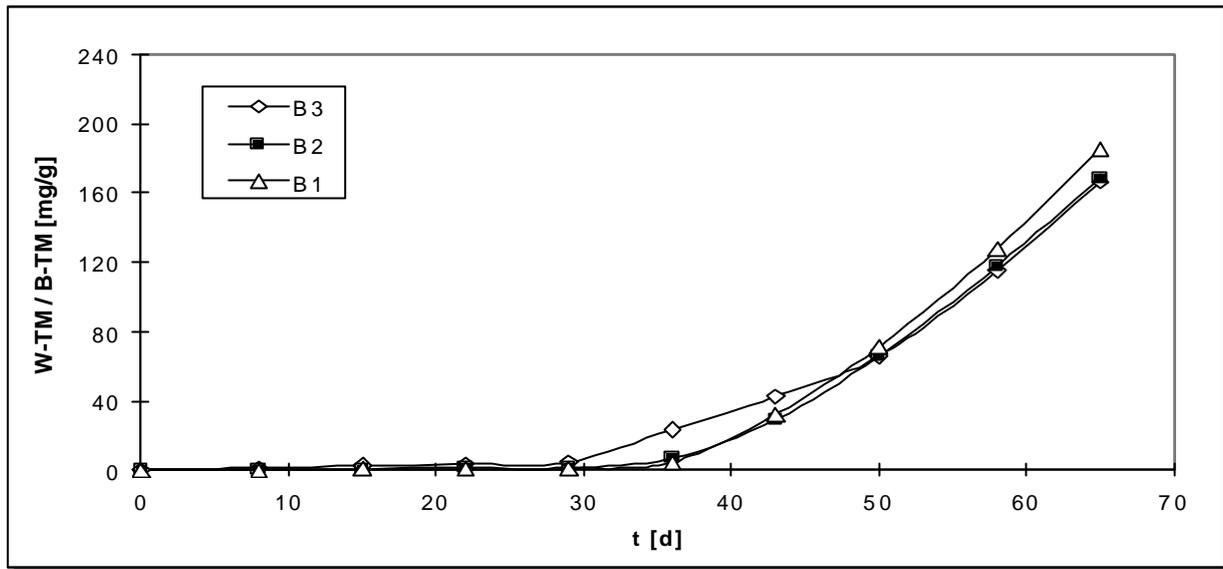


Abb. 3-1a: Entwicklung der Durchwurzelung dargestellt als Wurzel-Trockenmasse (W-TM) pro Boden-Trockenmasse (B-TM) in Abhängigkeit von der Einsaatdichte von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm²; Versuch 1).

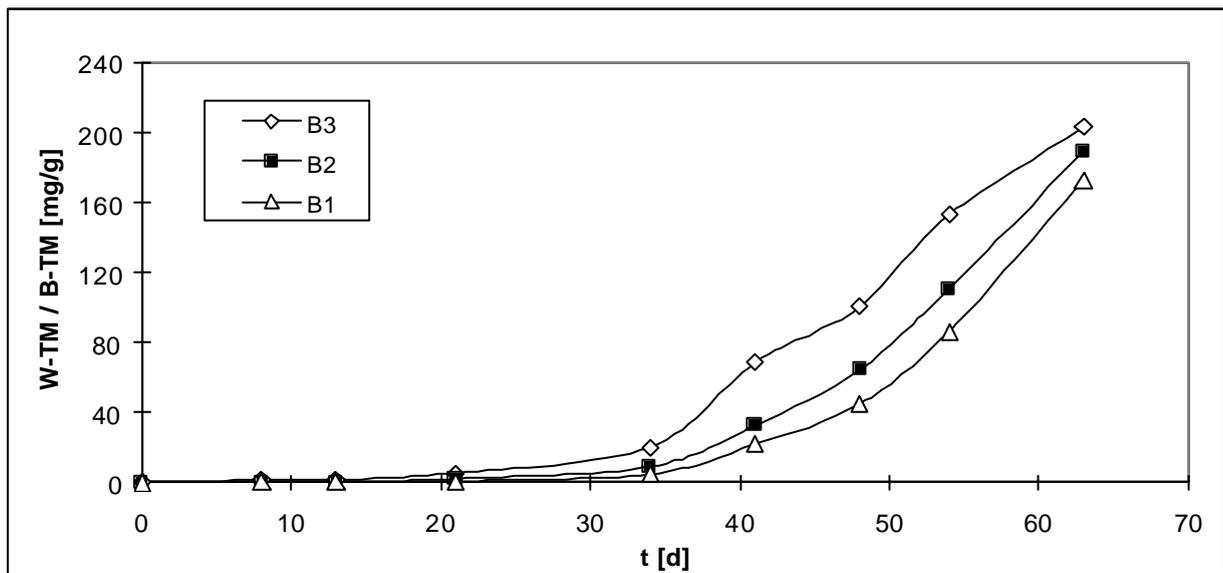


Abb. 3-1b: Entwicklung der Durchwurzelung dargestellt als Wurzel-Trockenmasse (W-TM) pro Boden-Trockenmasse (B-TM) in Abhängigkeit von der Einsaatdichte von *Bromus mollis* (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17 Pfl./cm²; Versuch 2).

Wurzelhaare

Betrachtet man isoliert die Wurzelhaare, so fällt auf, dass diese unabhängig vom Wuchsort, d.h. von ihrer Lage im Wurzelsystem, sowohl einen sehr konstanten Durchmesser (ca. 10 μm) als auch eine unerwartet konstante Länge aufweisen (ca. 0,6 mm; Abb. 3-2). Die Ausbildung der Wurzelhaare wird in den vorliegenden Versuchsserien weder vom Alter der Wurzel noch von intraspezifischen Konkurrenzsituationen beeinflusst.

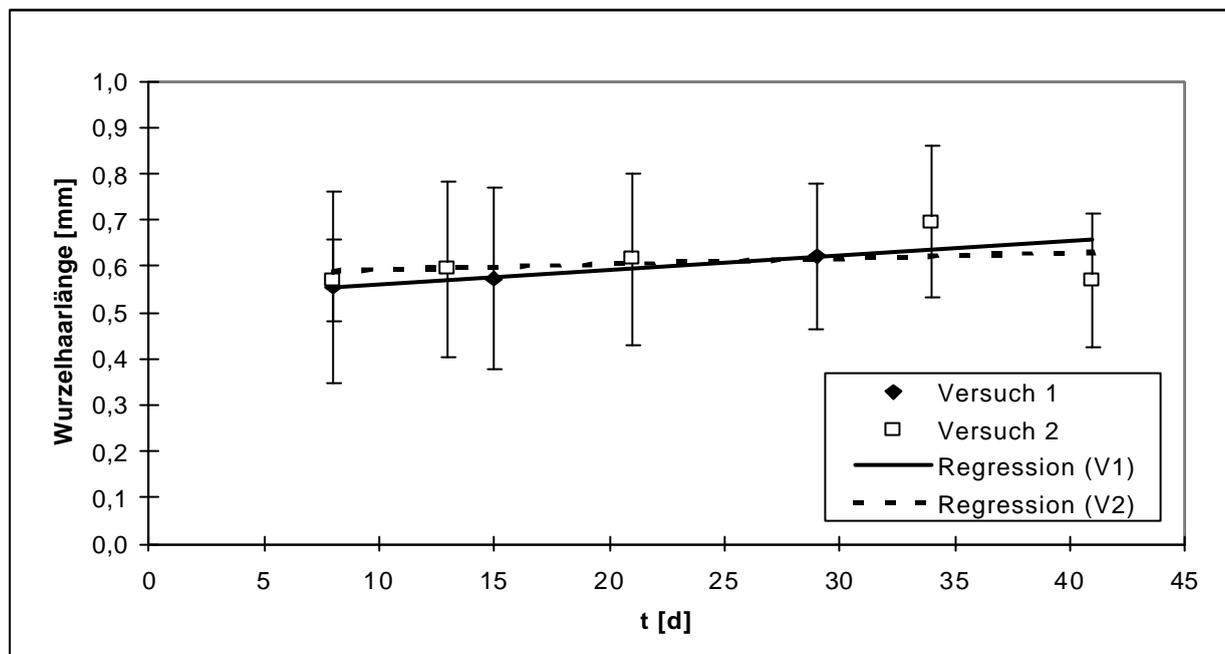


Abb. 3-2: Wurzelhaarlänge in Abhängigkeit des Wurzelwachstums von *Bromus mollis* (Mittelwerte mit Standardabweichung, $n \approx 15$ Messungen je Datenpunkt, je Datenpunkt drei Pflanzen jeweils mit $n=5$, davon je Pflanze $n=3$ an Wurzeln 2.Ordnung und $n=2$ an Wurzeln 1.Ordnung; Mittelwert über alle Messpunkte: 0,58 mm (V1) bzw. 0,61 mm (V2).

Wurzelhaardichte

Für die Berechnung der gesamten Wurzeloberfläche ist neben der Einzelwurzelhaaroberfläche die Erfassung der Dichte der Wurzelhaare wichtig. Um eine genaue Berechnung der Wurzelhaardichte zu ermöglichen, wurden die Wurzeln von *Bromus mollis* in Abhängigkeit von ihrem Durchmesser in Wurzeln 1.Ordnung (W1, $\varnothing = 300-350 \mu\text{m}$) und Wurzeln 2. Ordnung (W2, $\varnothing = 100-150 \mu\text{m}$) unterteilt.

Im Gegensatz zu ihrer Morphologie konnten bei der Dichte der Wurzelhaare pro Wurzellänge deutliche alters- und ordnungsabhängige Unterschiede in Einzelversuchen festgestellt werden (Abb. 3-3). So wurden anfangs sowohl an W1 als auch an W2 gleichermaßen viele Wurzelhaare gezählt. Im Gegensatz zu der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 2.Ordnung, die sich auf einen konstanten Level einpendelte ($N_{W2} = 35$ Wurzelhaare/mm Wurzellänge), nahm sie an den Wurzeln 1.Ordnung (W1) mit zunehmenden Alter stetig ab und erreichte zum

Versuchsende ($t = 65$ d) mit ca. 15 Wurzelhaaren pro Millimeter ihr Minimum. Diese Entwicklung deutet nicht nur auf die begrenzte Lebensdauer der Wurzelhaare hin, sondern auch auf einen grundlegenden Funktionswandel der betreffenden Wurzelabschnitte: Der alternde Wurzelabschnitt verliert mit dem Verlust der Wurzelhaare auch die Funktion des Ionenaustausches und der Nährstoffaufnahme, bis sich schließlich seine Bedeutung auf Stütz- und Haltefunktionen sowie auf die Bedeutung als Grundbaustein für das Gesamtverzweigungs- und Leitsystem beschränkt.

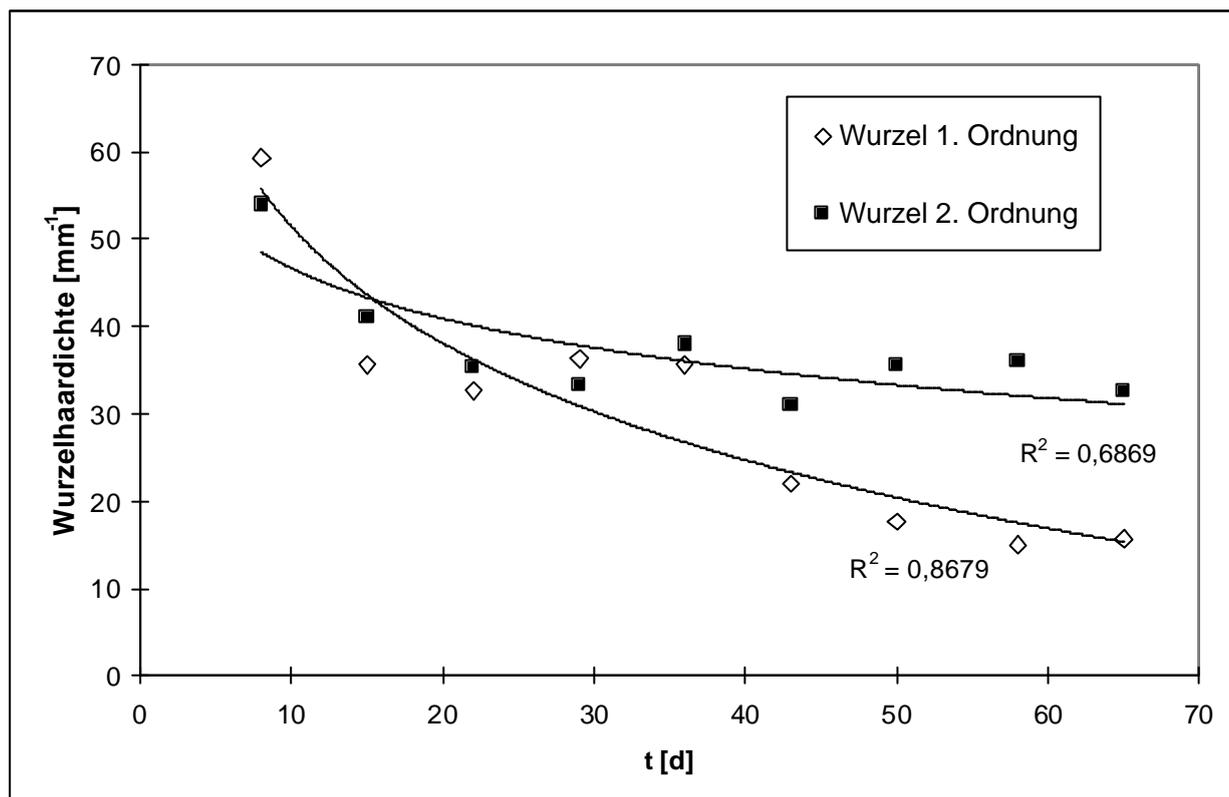


Abb. 3-3: Veränderung der Wurzelhaardichte von *Bromus mollis* in Abhängigkeit von der Zeit und vom Wurzeldurchmesser. W1: $\bar{A} = 300-350 \mu\text{m}$ bzw. W2: $\bar{A} = 100-150 \mu\text{m}$.] (Mittelwerte von $n=3$).

Wurzeloberfläche

Ähnlich der Biomasseentwicklung zeigt auch die Entwicklung der Wurzeloberfläche pro Bodentrockenmasse (Abb. 3-4a und 3-4b) in beiden Versuchen zumindest in der unkorrigierten Auftragung einen exponentiellen Verlauf. Diese Parallelität ist darauf zurückzuführen, dass ab der fünften Versuchswoche die Wurzeloberfläche aus der Wurzelbiomasse berechnet wurde. Eine direkte Bestimmung der Wurzeloberfläche war aufgrund der zunehmenden Verflechtung ab der fünften Versuchswoche nicht mehr möglich. Die Berechnung der Wurzeloberfläche aus der Biomasse ergibt jedoch nur dann ein sinnvolles Ergebnis, wenn eine direkte Proportionalität zwischen der Entwicklung der Wurzeloberfläche

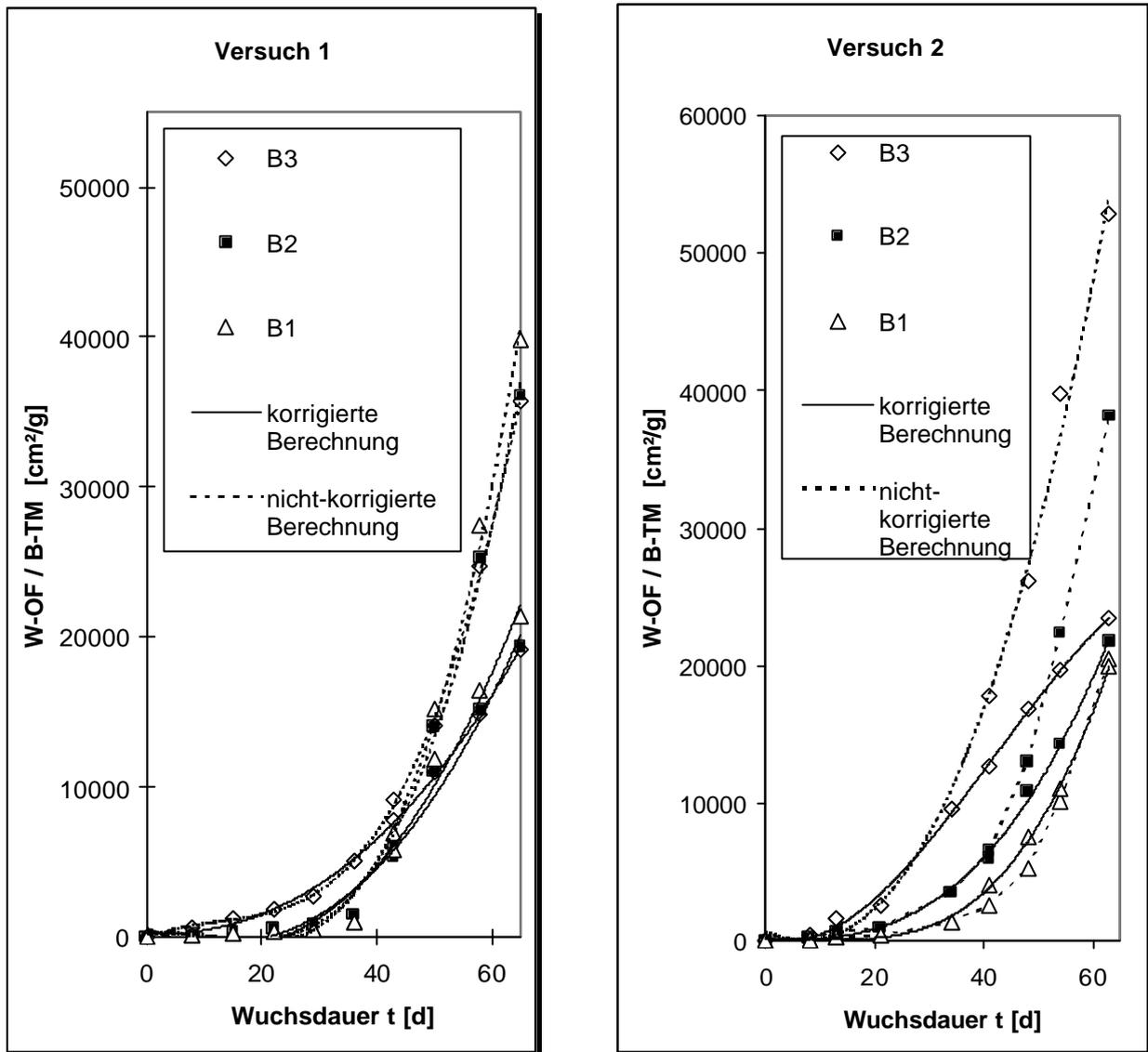


Abb. 3-4a: Darstellung des Durchwurzelungsgrades, als Wurzel-Oberfläche (W-OF) pro Boden-Trockenmasse (B-TM) in Abhängigkeit von der Wuchsdauer bei drei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm²; Versuch 1). Korrigierte Berechnung: Werte korrigiert um die altersbedingte Änderung des Wurzeloberflächen-Trockenmasse-Verhältnisses und der altersbedingten Abnahme der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung.

Abb. 3-4b: Darstellung des Durchwurzelungsgrades, als Wurzel-Oberfläche (W-OF) pro Boden-Trockenmasse (B-TM) in Abhängigkeit von der Wuchsdauer bei drei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17 Pfl./cm²; Versuch 2). Korrigierte Berechnung: Werte korrigiert um die altersbedingte Änderung des Wurzeloberflächen-Trockenmasse-Verhältnisses und der altersbedingten Abnahme der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung.

und der Biomasse besteht. Dieser Zusammenhang konnte durch Messungen an vereinzelt Pflanzen jedoch nicht bestätigt werden, weil sich zwei voneinander unabhängige Größen im Verlauf der Wurzelentwicklung ändern: Zum einen erfolgt eine altersabhängige Änderung des Verhältnisses Wurzellänge/Wurzelrockenmasse ($W-L/W-TM$), zum anderen eine Änderung des Verhältnisses Wurzelhaar-/Gesamtwurzel-Oberfläche (2.).

1. Änderung des Wurzellängen/Wurzelrockenmasse-Verhältnisses: Abbildung 3-5 zeigt eindeutig eine Altersabhängigkeit des Wurzellängen-Wurzelrockenmasse-Verhältnisses. Zunächst steigt dieses zugunsten der Wurzellänge stark an, bevor es dann, ab der dritten Woche, wieder auf den Ausgangswert von 100 mm/mg Trockenmasse abfällt. Die Entwicklung beim jungen Keimling mag darin begründet sein, dass die Wurzel zunächst vorwiegend für die Wasserversorgung der Pflanze verantwortlich ist, wogegen die Nährstoffversorgung noch vom Samen geleistet wird. Die dann im weiteren Verlauf des Pflanzenwachstums zunehmende Verzweigung und Expansion des Wurzelsystems führt zu einer Sklerotisierung der älteren Wurzel, mit der Folge, dass sich das Verhältnis zugunsten der Wurzelrockenmasse verschiebt.

2. Änderung des Wurzelhaar-Gesamtwurzel-Oberflächenverhältnisses: Wie oben beschrieben und in Abbildung 3-5 dargestellt, nimmt die Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung altersabhängig stark ab (ca. 50%). Da jedoch der Anteil der Wurzeln 1. Ordnung an der Gesamtwurzellänge im gleichen Zeitraum von ca. 50 % auf unter 10% sinkt, bleibt der Anteil der Wurzelhaaroberfläche an der Gesamtwurzeloberfläche mehr oder weniger konstant. Dieser beträgt schon eine Woche nach Keimung der Pflanzen (2. Versuchswoche) ca. 50% und pendelt sich dann zum Versuchsende auf knapp 60% der Gesamtwurzeloberfläche ein (Abb. 3-6).

Die Einbeziehung der altersbedingten Veränderung des Verhältnisses Wurzellänge/Wurzelrockenmasse und der altersbedingten Wurzelhaarverminderung an den Wurzeln 1. Ordnung in die Berechnung der Gesamtwurzeloberfläche pro Bodentrockenmasse ergibt ab der 5. Versuchswoche wesentlich geringere Absolutwerte gegenüber der unkorrigierten Berechnung (bis max. 65%; Versuch 2, B1, $t=63d$). Diese Entwicklung wird vorwiegend durch die Verringerung des $W-L/W-TM$ -Verhältnisses bestimmt, da sich dieses um ca. 30% vermindert. Dagegen ist die 50%ige Wurzelhaarverminderung die an den Wurzeln 1. Ordnung zu beobachten vernachlässigbar, da die Länge der Wurzeln 1. Ordnung zum Versuchsende hin weniger als 10% der Gesamtwurzellänge beträgt.

Insgesamt zeigt sich bei der korrigierten Berechnung der Wurzeloberflächenentwicklung ein flacherer Verlauf mit wesentlich niedrigeren Werten als bei der nicht-korrigierten Berechnung. Als Konsequenz zeigt sich zumindest im Versuch 2 auch viel deutlicher als bei der Biomasseentwicklung ein Konkurrenzeffekt bei der höchsten Einsatzdichte.

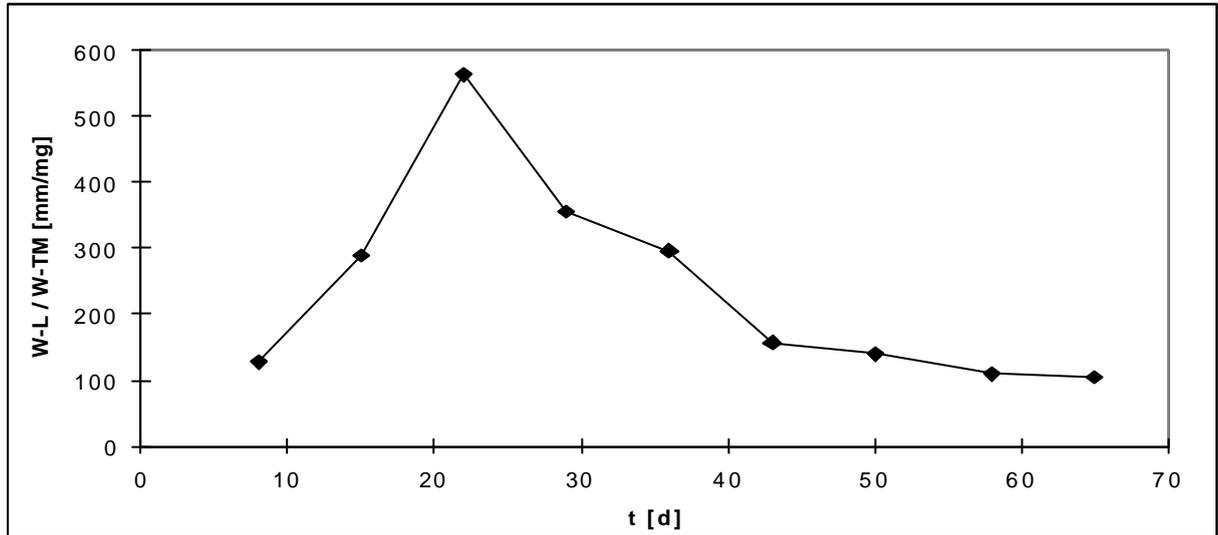


Abb. 3-5: Verhältnis Wurzellänge (W-L) zu Wurzelrockenmasse (W-TM) von *Bromus mollis* in Abhängigkeit von der Wachstumsdauer. Für $t = 8-43$ d Mittelwerte ($n = 3$), für $t = 50-65$ d Einzelwerte.

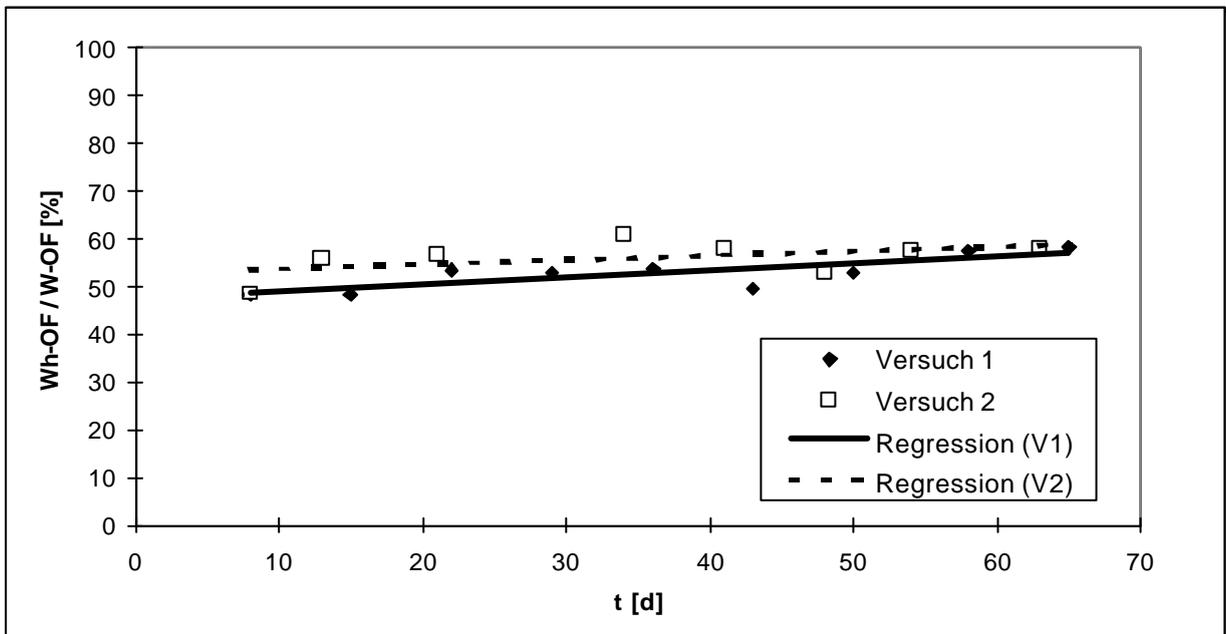


Abb. 3-6: Anteil der Wurzelhaaroberfläche (Wh-OA) an der Gesamtoberfläche der Wurzel (W-OA) von *Bromus mollis* in Abhängigkeit von der Wachstumsdauer. Bis $t = 36$ d (V1) bzw. $t = 34$ d (V2) direkte Messung, ab $t = 43$ d (V1) bzw. $t = 41$ (V2) berechnet.

Gesamtpflanze

Wenn über das Wurzelsystem hinaus die Entwicklung der Gesamtpflanze charakterisiert werden soll, ist im besonderen eine Analyse der Entwicklung des Spross-Wurzel-Biomasseverhältnisses von Interesse, da es zeigt, ob Einsaatdichte- bzw. altersabhängige Phänomene der Wurzelentwicklung sich auch in der Sprossentwicklung manifestieren.

Abbildung 3-7 zeigt sowohl den zeitlichen Verlauf als auch die Abhängigkeit von der Einsaatdichte des Spross-Wurzel-Trockenmasse-Verhältnisses der Pflanzen aller drei Ansätze in beiden Versuchen. Die Regressionskurve über alle Datenpunkte zeigt zunächst eine deutliche Zunahme der relativen Sprosstrockenmasse bis dieses ca. das 6-fache der Wurzel-trockenmasse erreicht, bevor es dann wieder abfällt und sich zum Versuchsende ein Einsaatdichte unabhängiges Spross-Wurzel-Biomasse-Verhältnis von 2:1 einstellt.

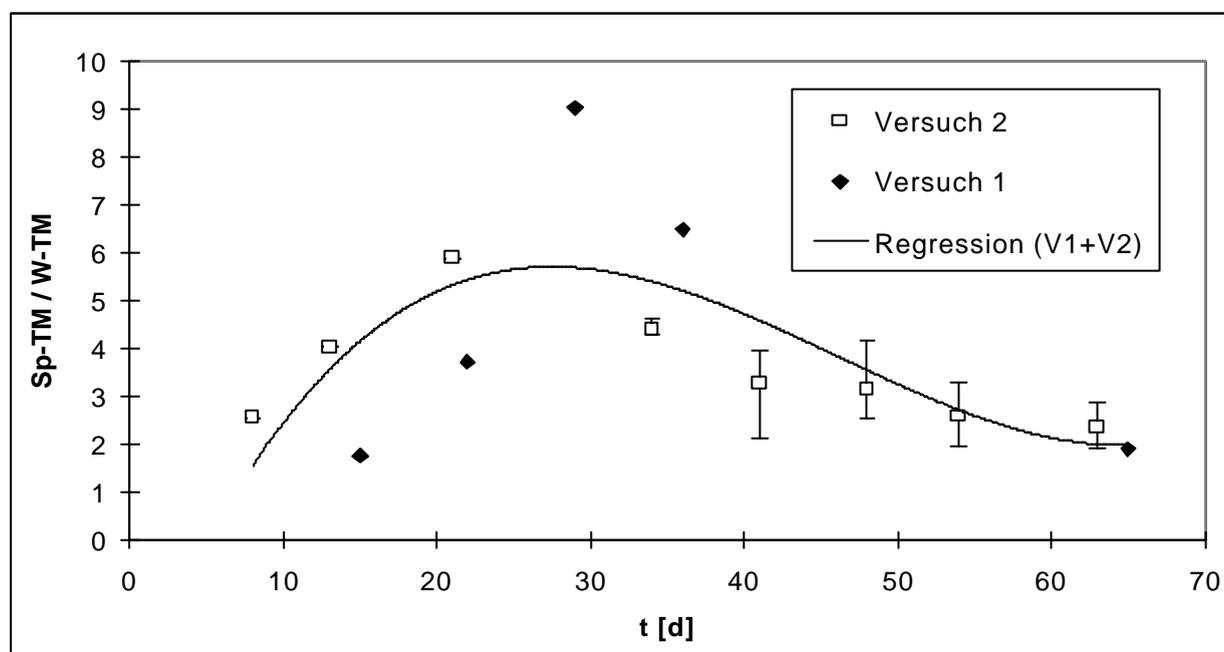


Abb.3-7: Zeitliche Entwicklung des Spross-Wurzel-Trockenmasse-Verhältnisses von *Bromus mollis*. Dargestellt sind für beide Versuchsreihen die Mittelwerte der drei Ansätze (B1, B2, B3) und die maximalen Abweichung vom Mittelwert ab dem Zeitpunkt, ab dem sich dichteabhängige Unterschiede zeigten (V2: ab d=34, V1: für d=65).

Diese Entwicklung kann folgendermaßen gedeutet werden: Die Pflanze profitiert anfangs von den Speicherstoffen im Samen, d.h. die Wurzel ist vornehmlich für die Wasserversorgung verantwortlich. Da in allen Ansätzen immer eine ausreichende Bodenfeuchte durch das Bewässerungssystem garantiert wurde, investiert die Pflanze vermehrt in den oberirdischen Teil, der für die Photosynthese und damit für den Stoffaufbau wichtig ist. Sind etwa in der dritten Versuchswoche die Reserven des Samens erschöpft (s. Tab. A-5, A-9), muß das Blattsystem so weit entwickelt sein, dass die Pflanze ausreichend mit Kohlenhydraten versorgt werden kann. Nun investiert die Pflanze wieder vermehrt in das Wurzelsystem, um

für die wachsende Biomasse ausreichend bodenbürtige Nährstoffe wie Stickstoff, Phosphor etc. zu erschließen.

Wie die maximalen Abweichungen vom Mittelwert des Spross-Wurzel-Trockenmasseverhältnisses zeigen, ist nur ein geringer dichteabhängiger Effekt zu erkennen: Unabhängig von der mehr oder weniger ausgeprägten intraspezifischen Konkurrenz im Wurzelraum ist das Spross-Wurzel-Trockenmasseverhältnis recht konstant, d.h. bei den Ansätzen mit höherer Einsaatdichte nimmt nicht nur der Biomassezuwachs der Wurzeln im Vergleich zu den niedrigeren Einsaatdichten ab sondern proportional hierzu auch der Biomassezuwachs des Sprosses.

Zusammenfassung der Ergebnisse zur Wurzelentwicklung

Die differenzierte Analyse des Wurzelsystems von *Bromus mollis* führte zu folgenden Ergebnissen:

- Über den Versuchszeitraum von ca. 9 Wochen waren **unabhängig** von der Einsaatdichte die Parameter Wurzelhaardurchmesser, Wurzelhaarlänge, Wurzelhaardichte an den Wurzeln 2. Ordnung sowie das Verhältnis Wurzelhaaroberfläche/Gesamtwurzeloberfläche **konstant**.
- **Altersabhängig** verhielten sich im Rahmen der Versuchsdauer folgende Parameter: Die Biomasse- und Wurzeloberflächenentwicklung korrelierte mit dem Alter der Pflanzen positiv (sowohl bezogen auf die Bodentrockenmasse als auch gemessen pro Pflanze). Das Verhältnis Wurzellängen/Wurzelrockenmasse und das Biomasseverhältnis Spross/Wurzel korrelierten zunächst ebenfalls positiv mit dem Alter der Pflanzen, hier zeigt sich jedoch im fortgeschrittenen Versuchsverlauf eine negative Korrelation. Der Anteil der Wurzeln 1.Ordnung an der Gesamtwurzelbiomasse und die Wurzelhaardichte an den Wurzel 1.Ordnung zeigen während der gesamten Versuchsdauer eine negative Korrelation mit dem Alter der Pflanzen.
- Bei der Entwicklung der Wurzelbiomasse und der Wurzeloberfläche konnte im Versuchsverlauf eine Abhängigkeit von der **Einsaatdichte** beobachtet werden. So entwickelten sich die Wurzelbiomasse und die Wurzeloberfläche der Einzelpflanzen zunächst unabhängig von der Einsaatdichte bis ab der 3. bzw. 4. Woche eine deutliche negative Korrelation mit der Einsaatdichte beobachtet werden konnte. Auch der zeitliche Verlauf der Entwicklung pro Bodentrockenmasse insbesondere in der höchsten Einsaatdichte B3 zeigt im Versuchsverlauf eine negative Korrelation.

Des weiteren ergibt die Analyse der Einsaatdichte-abhängigen Wurzeloberflächenentwicklung ein differenzierteres Bild im Vergleich zu der Wurzelbiomasseentwicklung. Im vorliegenden Versuch ist dies insbesondere im Sättigungsverlauf des Ansatzes mit der höchsten Einsaatdichte zu beobachten. Die Oberfläche der Wurzel bestimmt - als Grenzschicht zwischen Wurzel und Boden - mehr als ihre Biomasse das Geschehen in der Rhizosphäre und sollte sich damit auch viel besser als Messparameter für die Interpretation der im Folgenden untersuchten Rhizosphären-Effekte eignen.

3.1.2 Mikroorganismen-Abundanzbestimmung

Das direkte Zählverfahren mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops ergibt die tatsächliche Mikroorganismen-Abundanz. Sie liegt bei allen Ansätzen zu Beginn beider Versuche bei einem recht konstanten Ausgangswert von ca. 3×10^9 lebenden Bakterienzellen pro Gramm Boden Trockensubstanz (Abb. 3-8a u. A-1). Im Gegensatz zu den physiologischen Parametern, „Reduktaseaktivität“ und „Substratinduzierte Respiration“, ist bei der Abundanzbestimmung jedoch schon nach zwei Wochen ein deutlicher Effekt bei den höheren Einsaatdichten festzustellen: Gegenüber der Kontrolle und auch der niedrigsten Einsaatdichte hat sich die Anzahl der Bakterienzellen hier mehr als verdoppelt (Abb. 3-9a u. 3-9b). Im weiteren Versuchsverlauf steigen die Mikroorganismenzahlen im Rhizosphärenboden der höchsten Einsaatdichten weiter stetig an, bis sie zu Beginn der siebten Versuchswoche ihre Maximalwerte erreichen, die mit ca. 18×10^9 um das sechsfache höher als die Ausgangswerte liegen.

Mit einer zweiwöchigen Verzögerung nimmt auch die Zellzahl in dem Ansatz mit der niedrigsten Einsaatdichte deutlich zu, erreicht sein Maximum auf gleichem Niveau, wie die beiden höheren Einsaatdichten, aber erst zum Versuchsende.

Eine noch stärkere Verzögerung zeigt sich im unbepflanzten Kontrollansatz. Hier steigt die Bakterienzahl erst in der sechsten Versuchswoche an, aber dann auch um so deutlicher und erreicht zumindest in Versuchserie 1 mit 14×10^9 Zellen einen ähnlich hohen Endwert wie alle bepflanzten Ansätze. In Versuchserie 2 verfehlt der Kontrollansatz zum Versuchsende mit 10×10^9 Zellen nur knapp die in den bepflanzten Ansätzen erreichten Werte.

Durch den Vergleich der Kurvenverläufe beider Versuchsserien ist folgende Zusammenfassung möglich:

1. Die zum Versuchsende erreichten hohen Abundanzwerte sind nicht nur unabhängig von der Einsaatdichte sondern grundsätzlich auch von der Rhizosphäre unabhängig.
2. Die zum Versuchsende erreichten hohen Abundanzwerte sind allein von der Versuchsanordnung abhängig, möglicherweise durch die konstante Temperatur und Feuchte bedingt.
3. Die Geschwindigkeit der Zunahme der Mikroorganismen-Abundanz ist signifikant abhängig von der Einsaatdichte von *Bromus mollis*.

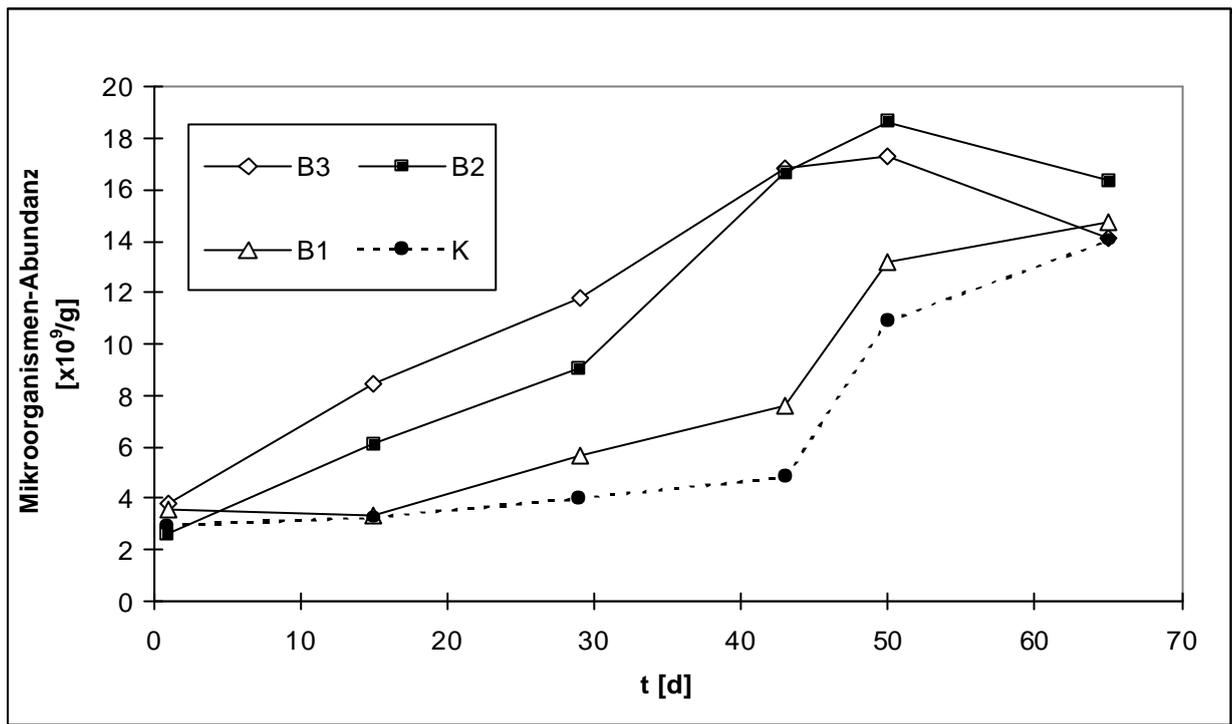


Abb. 3-8a: Entwicklung der absoluten Mikroorganismen-Abundanz in Abhängigkeit von der Zeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm², Mittelwerte aus 20 Sehfeldauszählungen einer Bodenprobe je Ansatz im Fluoreszenzmikroskop, Versuchserie 1).

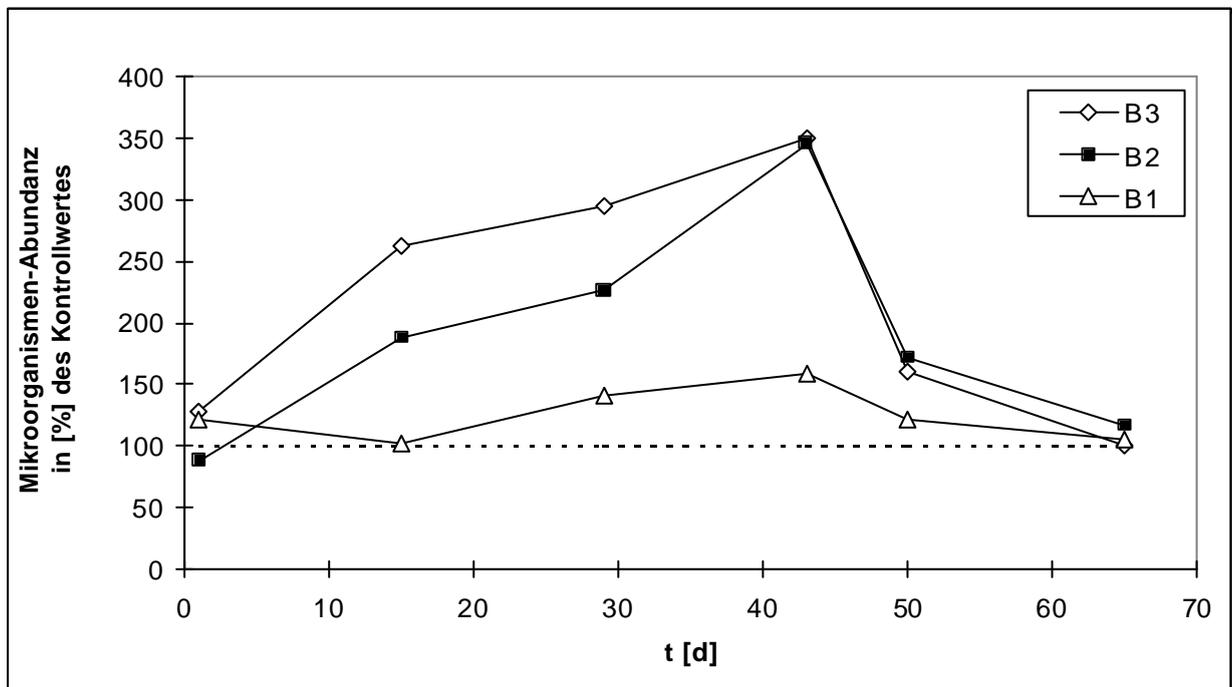


Abb. 3-9a: Entwicklung der absoluten Mikroorganismen-Abundanz in [%] des Kontrollwertes in Abhängigkeit von der Zeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm², Mittelwerte aus 20 Sehfeldauszählungen einer Bodenprobe je Ansatz im Fluoreszenzmikroskop, Versuchserie 1).

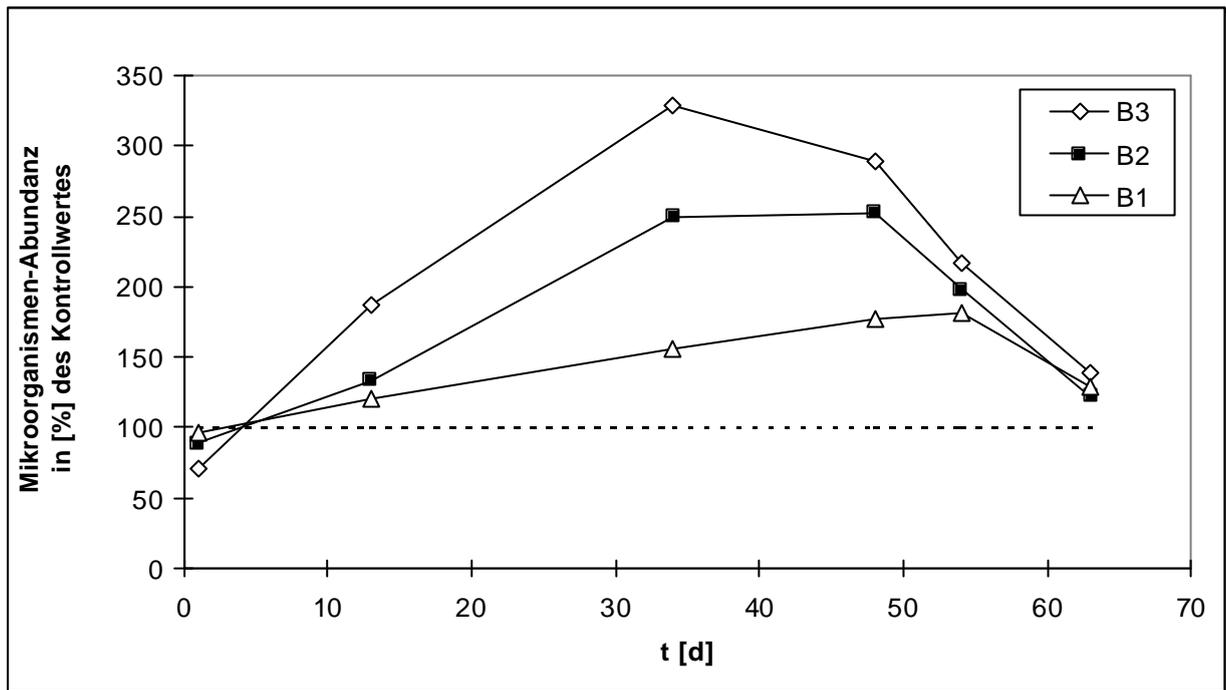


Abb. 3-9b: Entwicklung der absoluten Mikroorganismen-Abundanz in [%] des Kontrollwertes in Abhängigkeit von der Zeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17 Pfl./cm², Mittelwerte aus 20 Sehfeldauszählungen einer Bodenprobe je Ansatz im Fluoreszenzmikroskop, Versuchserie 2).

3.1.3 Physiologische Parameter

3.1.3.1 Reduktaseaktivität (DMSO-Test)

Die Absolutwerte der ermittelten Reduktaseaktivität nehmen zunächst in allen Ansätzen ab (Abb. 3-10). Da die Werte unabhängig von der Einsaatdichte bzw. auch in der unbepflanzten Kontrolle parallel auf gleichem Niveau verlaufen wird der Grund für die Abnahme der Reduktaseaktivität im allgemeinen Versuchsdesign zu suchen sein und nicht im Bewuchs, zumal in der ersten Woche in der die Abnahme am stärksten ist, die Pflanzen noch kaum gekeimt waren. Für die weitere Betrachtung ist dieses Anfangsphänomen vernachlässigbar, weil die Messungen zum Zeitpunkt hoher Durchwurzelung im Vordergrund standen.

Ab der dritten Versuchswoche sind dann in Abhängigkeit von der Einsaatdichte deutliche Unterschiede zu beobachten: Die Reduktaseaktivität im Boden mit der höchsten Einsaatdichte (B3) steigt bis über 50 % oberhalb des Niveaus der Kontrolle (Abb. 3-11).

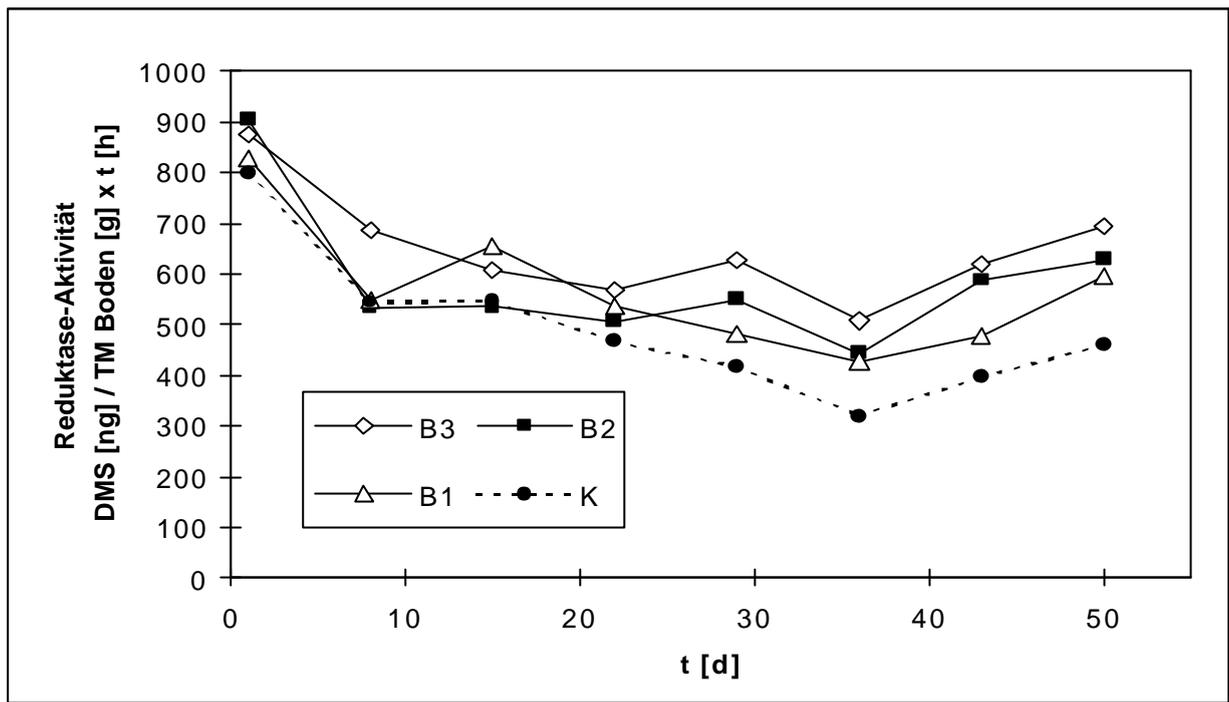


Abb.3-10: Entwicklung der Reduktaseaktivität in Abhängigkeit von der Versuchszeit im Rhizosphärenboden bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm²) bzw. im unbepflanzten Kontrollboden (Mittelwerte der Messungen aus drei Bodenproben je Ansatz, Versuchserie 1).

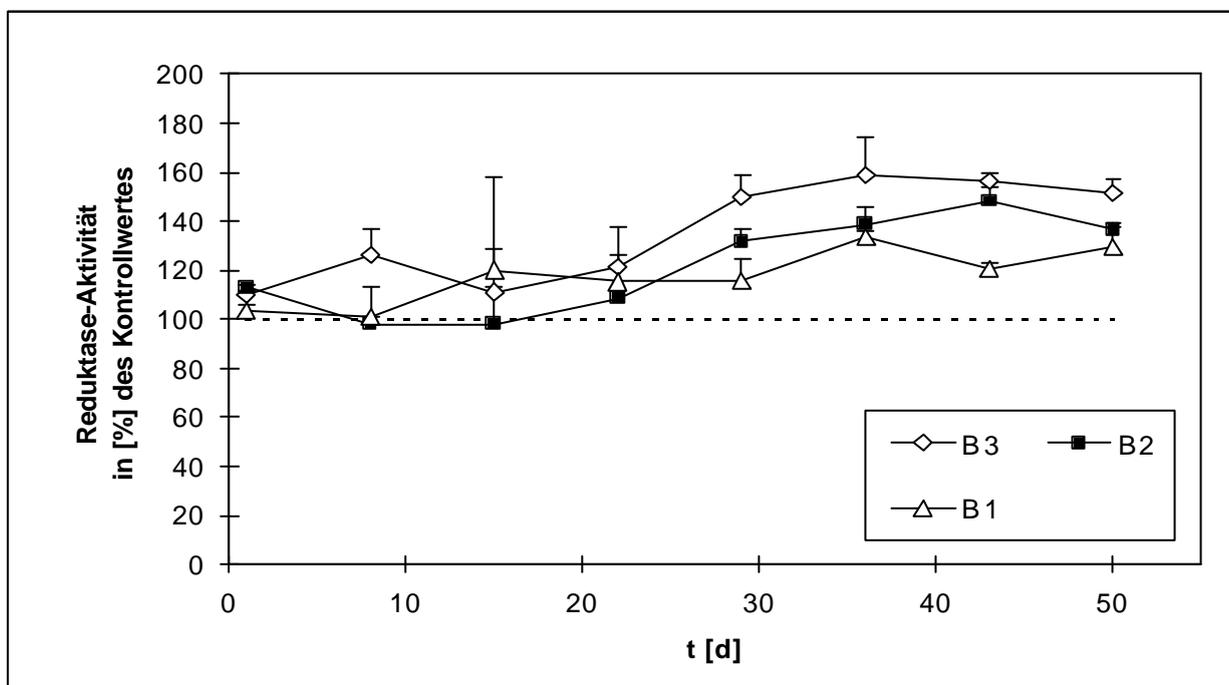


Abb.3-11: Entwicklung der Reduktaseaktivität in [%] des Kontrollwertes in Abhängigkeit von der Versuchszeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm², Mittelwerte der Messungen aus drei Bodenproben je Ansatz, Versuchserie 1).

Die Werte der niedrigeren Einsaatdichten (B2 und B1) verlaufen annähernd parallel zu B3 auf einem etwas niedrigerem Niveau. Zum Versuchsende hin (t=50d) nimmt die Reduktaseaktivität in Ansatz B2 und auch B3 leicht ab, wogegen sie in B1 noch zunimmt. Es zeigt sich hier möglicherweise, ähnlich wie bei der Substratinduzierten Respiration und der Mikroorganismen-Abundanz beobachtet, der Beginn einer sich unabhängig vom Bewuchs entwickelnden Reduktaseaktivität.

Am 58. Versuchstag wurde eine sprunghaft gestiegene Reduktaseaktivität festgestellt (Tab. A-24). Diese muss auf eine unzureichende Trennung von Boden und Wurzelpartikeln - verursacht durch den hohen Durchwurzelungsgrad - zurückgeführt werden.

3.1.3.2 Substratinduzierte Respiration

Auch die graphische Darstellung der Ergebnisse von Messungen des 2. physiologischen Messparameters, der Substratinduzierte Respiration, zeigt zunächst eine vom Bewuchs und der Einsaatdichte unabhängigen Verlauf. Im Unterschied zur Reduktaseaktivität bleiben die Respirationsmittelwerte jedoch konstant (Abb. 3-12 u. A-2). Damit stellt die Substratinduzierte Respiration einen vom Versuchsdesign unabhängigen Messparameter dar, eine Beobachtung, die sich grundsätzlich auf die Ergebnisinterpretation und -bewertung positiv auswirkt.

Im weiteren Versuchsverlauf zeigt sich dann eine deutliche Abhängigkeit der Substratinduzierten Respiration von der Einsaatdichte, bei der die höchste Einsaatdichte (B3) Werte bis zu 100% oberhalb der Kontrolle erreicht. Ab der siebenten Woche verringern sich die Respirations-Werte in den Bodenproben der hohen Einsaatdichten deutlich. Eine Tendenz die sich am Versuchsende manifestiert und bei einer Auftragung gegen die Kontrolle schon ab der 5. Versuchswoche deutlich in Erscheinung tritt (Abb. 3-13a u. 3-13b).

In Analogie zur verzögerten Reduktaseaktivitätsentwicklung zeigt sich auch bei der Entwicklung der Substratinduzierten Respiration eine zeitlich verzögerte Abhängigkeit von der Einsaatdichte, dass heißt vom Durchwurzelungsgrad des Bodens. Zum Versuchsende stellt sich jedoch auch bei der Respiration ein von der Einsaatdichte unabhängiger Wert ein.

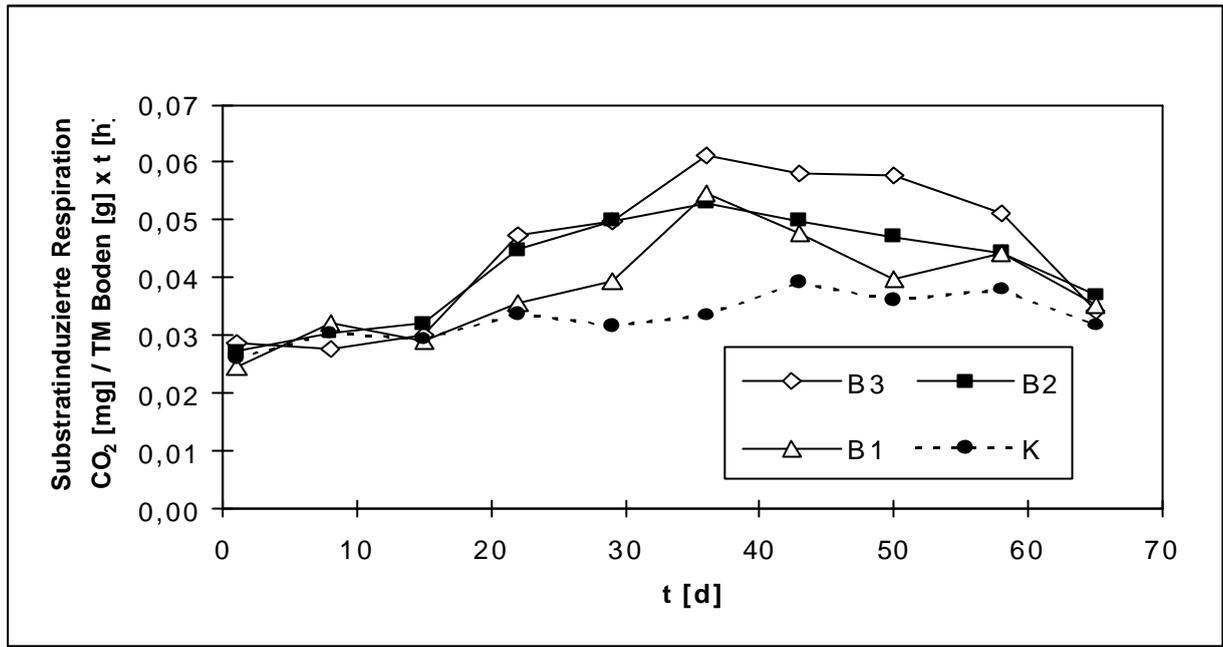


Abb. 3-12: Entwicklung der Substratinduzierten Respiration in Abhängigkeit von der Versuchszeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm²) und des unbepflanzten Kontrollbodens (Mittelwerte aus 3 Bodenproben mit je einer Messung; Versuchserie 1).

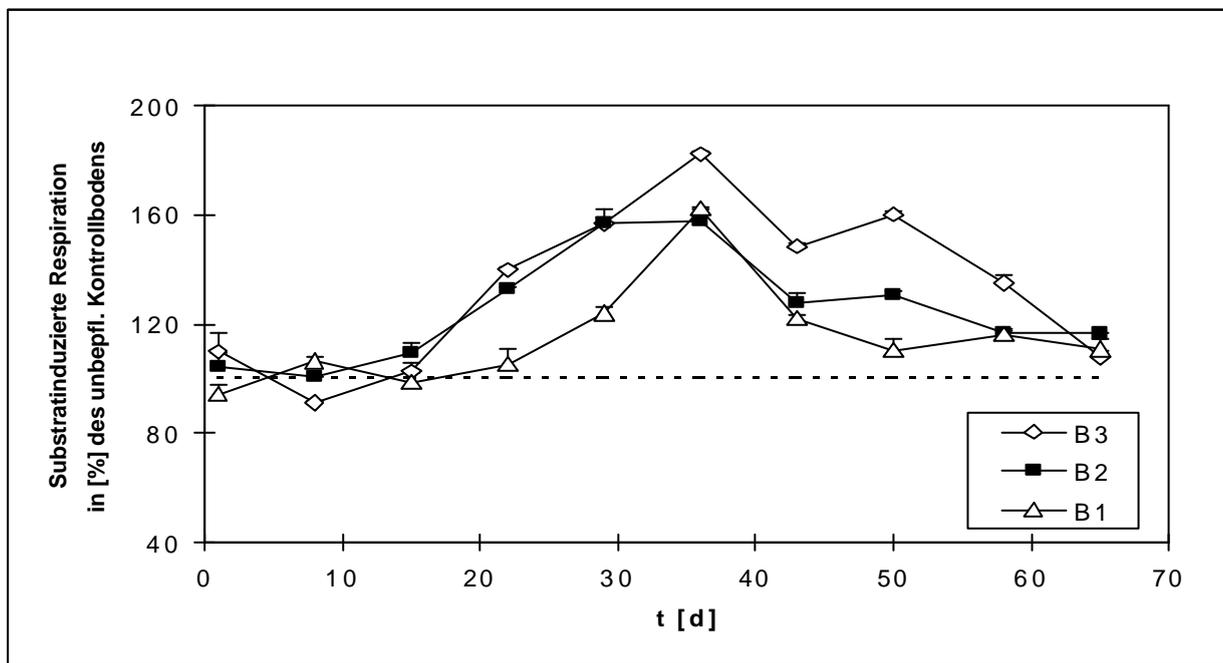


Abb. 3-13a: Entwicklung der Substratinduzierten Respiration in [%] des Kontrollwertes in Abhängigkeit von der Versuchszeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21 Pfl./cm², Mittelwerte mit Standardabweichung aus 3 Bodenproben mit je einer Messung; Versuchserie 1).

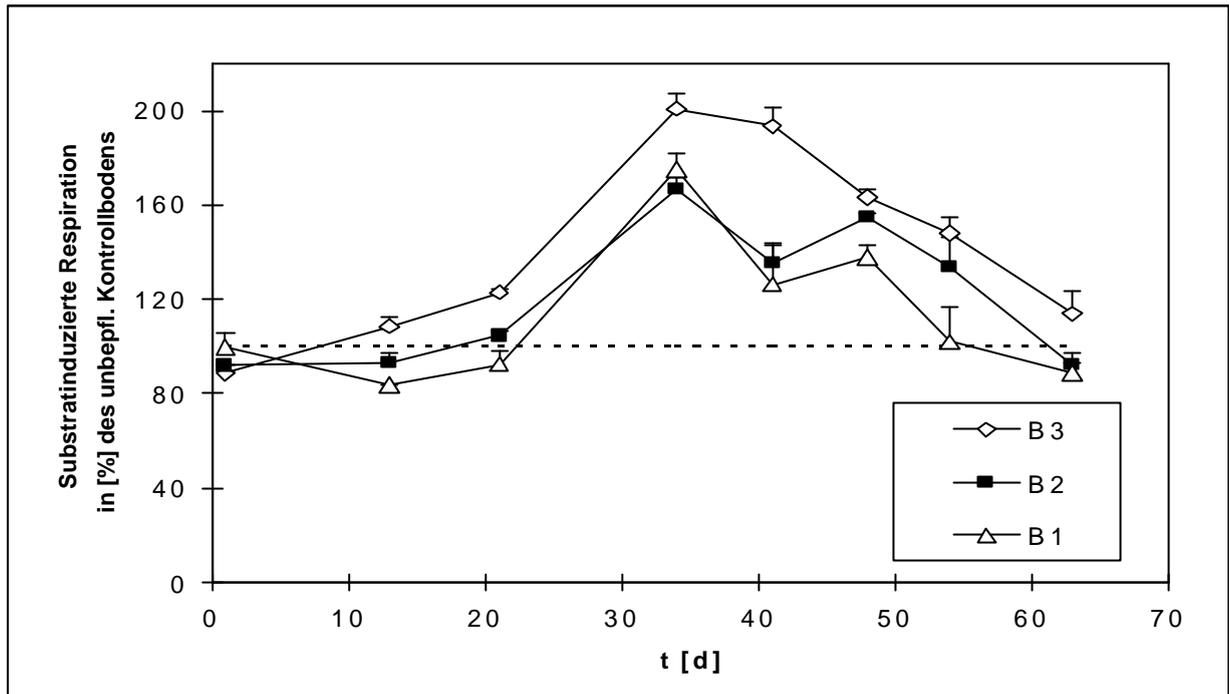


Abb. 3-13b: Entwicklung der Substratinduzierten Respiration in [%] des Kontrollwertes in Abhängigkeit von der Versuchszeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17 Pfl./cm², Mittelwerte mit Standardabweichung aus 3 Bodenproben mit je einer Messung; Versuchserie 2).

3.1.4 Korrelationsanalyse der Rhizosphärenparameter

Zwei im Versuchskonzept aufgestellte Hypothesen sollen hier überprüft, quantifiziert und interpretiert werden. Zum einen, in wie weit der Durchwurzelungsgrad, insbesondere die zunehmende Wurzeloberfläche pro Bodeneinheit, die Mikroorganismen in ihrer Abundanz und in ihrer physiologischen Aktivität beeinflusst und zum anderen, ob und in wie weit die Aktivität der Mikroorganismen sich in deren Abundanz widerspiegelt. Hierzu wurden einerseits die Abundanz und die physiologischen Parameter (jeweils in Prozent der Kontrolle) gegen die Wurzeloberfläche und andererseits die physiologischen Parameter gegen die Mikroorganismen-Abundanz aufgetragen. Bei letzteren wurden die Absolutwerte verwendet, um eine Integration der Kontrollansätze in die Korrelationsanalyse zu ermöglichen. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu bedenken, dass die Einzeldaten nicht aus zeitgleichen Parallelansätzen, wie z. B. in einem konzentrationsabhängigen Toxizitätstest erlangt wurden, sondern aus ein und dem selben Versuch über eine längere Zeitspanne hinweg. Aufgrund von „Alterungsprozessen“ im Boden während des Versuchsverlaufs, zum Beispiel durch Änderung der Nährstoffverfügbarkeit, sind Überlagerungseffekte nicht auszuschließen.

3.1.4.1 Zusammenhang zwischen Mikroorganismen-Abundanz und Wurzeloberfläche

Abbildung 3-14 zeigt den Zusammenhang zwischen der Mikroorganismen-Abundanz und der Wurzeloberfläche in Versuchserie 1 und 2. Die logistische Regression ergibt eine Optimumkurve mit steilem Anstieg bis zu einem Maximum von ca. dem dreifachen der ursprünglichen Mikroorganismen-Abundanz bei einem Durchwurzelungsgrad von ca. 4000 cm²/g. Die geringe Streuung der Werte beider Versuchserien in diesem Bereich deutet auf eine direkte positive Korrelation der Abundanz mit der Wurzeloberfläche hin. Grundsätzlich müsste die Kurve insgesamt einen sigmoidalen Verlauf mit einem mehr oder weniger hohen Sättigungswert aufweisen. Sie fällt jedoch im weiteren Verlauf deutlich ab. Die Ursache für die eintretende negative Korrelation der Mikroorganismen-Abundanz mit dem Durchwurzelungsgrad ist jedoch keinesfalls in einer Hemmung der Mikroorganismen durch das Wurzelwachstum, sondern vielmehr durch den Anstieg der Mikroorganismen-Abundanzen in den Kontrollansätzen verursacht (s. 3.1.2).

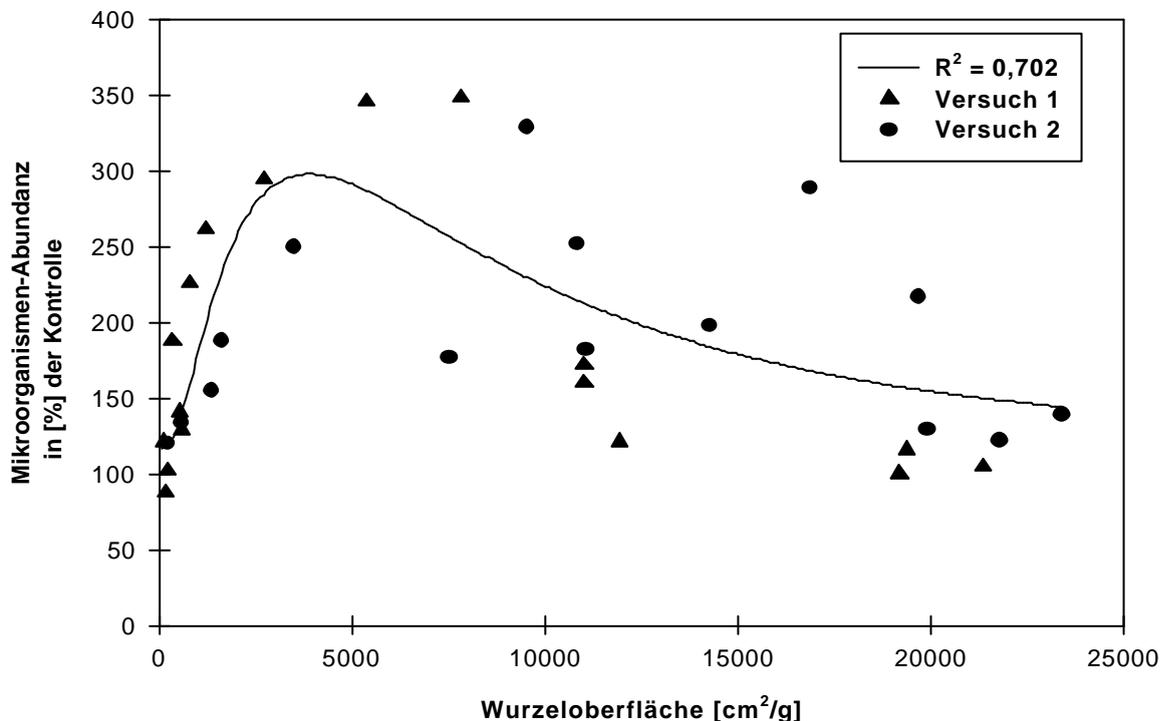


Abb. 3-14: Korrelation der Mikroorganismen-Abundanz des Bodens mit dem Durchwurzelungsgrad des Bodens (Wurzeloberfläche pro Bodentrockenmasse, Versuchserie 1 u. 2).

3.1.4.2 Zusammenhang zwischen Reduktaseaktivität und Wurzeloberfläche

Abbildung 3-15 zeigt den Zusammenhang zwischen der Reduktaseaktivität und der Wurzeloberfläche. Auch hier zeigt die logistische Regression eine Optimumkurve mit einem Maximum der Reduktaseaktivität von zirka dem Anderthalbfachen des Ausgangswertes bei einem Durchwurzelungsgrad von ca. 5000 cm²/g (Abb. 3-15). Im Unterschied zur Abhängigkeit der Mikroorganismen-Abundanz von der Wurzeloberfläche zeigt sich hier ein wesentlich schwächerer Abfall der Kurve und insgesamt eine geringere Streuung. Der hohe Bestimmtheitsgrad deutet auf eine gute Korrelation der Reduktaseaktivität mit der Wurzeloberfläche hin. Im Vergleich zur Korrelation mit der Mikroorganismen-Abundanz und der Substratinduzierten Respiration ist hier allerdings zu beachten, dass nur eine Versuchserie mit Werten bis zum 50. Versuchstag zur Verfügung stand.

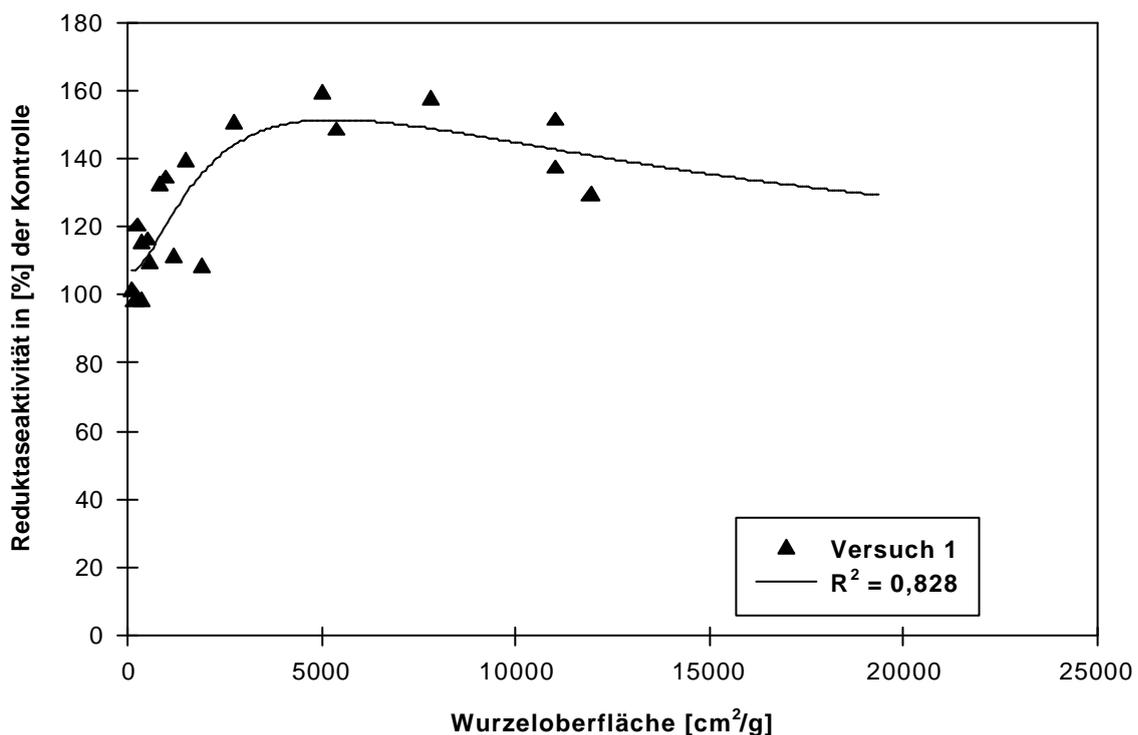


Abb.3-15: Korrelation der mikrobiellen Aktivität des Bodens (Reduktaseaktivität) mit dem Durchwurzelungsgrad des Bodens (Wurzeloberfläche pro Bodentrockenmasse, Versuchserie 1).

3.1.4.3 Zusammenhang zwischen Substratinduzierter Respiration und Wurzeloberfläche

Der Verlauf der logistischen Regression der Substratinduzierten Respiration in Abhängigkeit von der Wurzeloberfläche ist fast identisch mit dem entsprechenden Verlauf der Reduktaseaktivität: Auch die Substratinduzierte Respiration korreliert positiv mit dem Durchwurzelungsgrad bis sie einen Sättigungswert erreicht. Das Maximum liegt ebenfalls bei dem Anderthalbfachen des Ausgangswertes bei einem Durchwurzelungsgrad von ca. 4000 cm²/g (Abb. 3-16). Im Unterschied zur Abhängigkeit der Reduktaseaktivität von der Wurzeloberfläche zeigt die Substratinduzierte Respiration jedoch eine wesentlich stärkere Streuung, die auch in dem deutlich geringeren Bestimmtheitsgrad zum Ausdruck kommt. Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, dass vom Durchwurzelungsgrad unabhängig weitere im Versuchsverlauf schwankende Parameter die Substratinduzierte Respiration der Mikroorganismen beeinflussen.

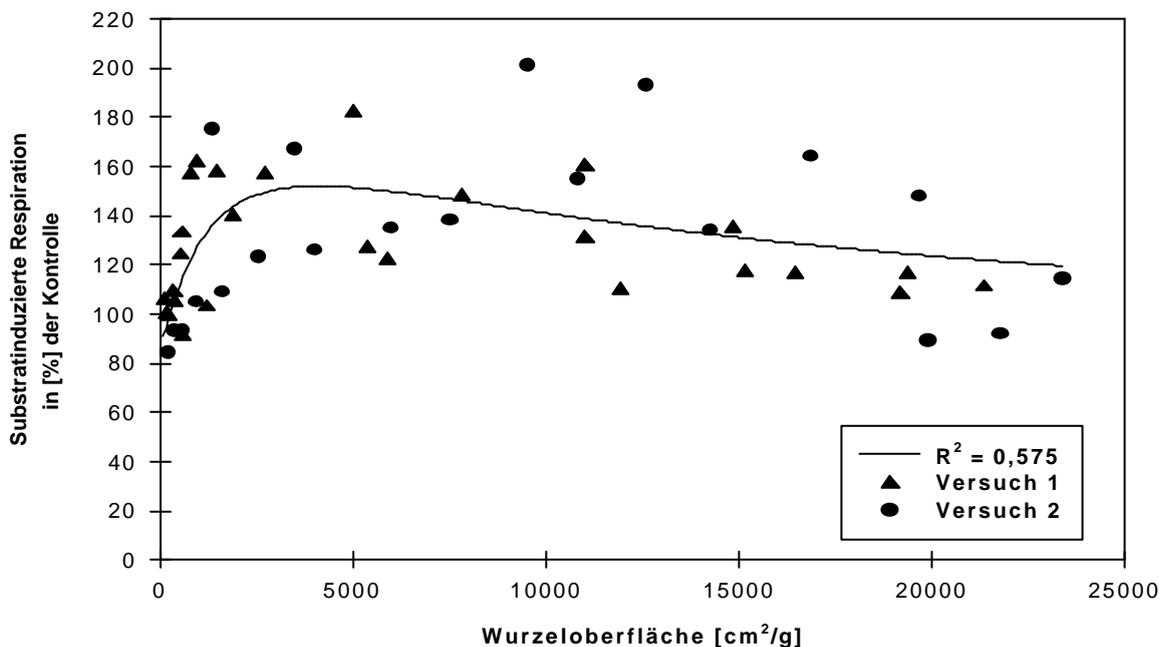


Abb. 3-16: Korrelation der mikrobiellen Aktivität des Bodens (Substratinduzierte Respiration) mit dem Durchwurzelungsgrad des Bodens (Wurzeloberfläche pro Bodentrockenmasse, Versuchserie 1 u. 2).

3.1.4.4 Zusammenhang zwischen Reduktaseaktivität und Mikroorganismen-Abundanz

Die lineare Regression der Auftragung der Reduktaseaktivität gegen die Mikroorganismen-Abundanz zeigt eine Linearität mit geringer Steigung (Abb. 3-17). Bei Betrachtung der Abszisse wird deutlich, dass eine (zumindest bei niedrigen Abundanzwerten) zu vermutende direkte Proportionalität zwischen Reduktaseaktivität und Mikroorganismen-Abundanz unter den vorliegenden Versuchsbedingungen mit der einhergehenden Entwicklung zu hohen Mikroorganismendichten in einen Sättigungsverlauf mündet. Diese Sättigung kann grundsätzlich durch zwei Phänomene verursacht sein: Zum einen wird zwischen den Mikroorganismen intra- und interspezifische Konkurrenz aufgrund mangelnder Nährstoffverfügbarkeit oder inhibierender Ausscheidungen auftreten. Zum anderen kann sich hier, durch die spezifischen Änderungen in der Rhizosphäre, das Artenspektrum der Mikroorganismen in den Versuchsbedingungen dahingehend ändern, dass Mikroorganismenarten mit hoher DMSO-Reduktionsleistung von solchen mit geringerer abgelöst werden. Das erste Phänomen ist im vorliegenden Fall plausibel und wird zwingend einen Sättigungsverlauf bedingen, wogegen das zweite Phänomen als Ursache mit einer wesentlich geringeren Wahrscheinlichkeit auftritt, da mit der Reduktaseaktivität ein sehr

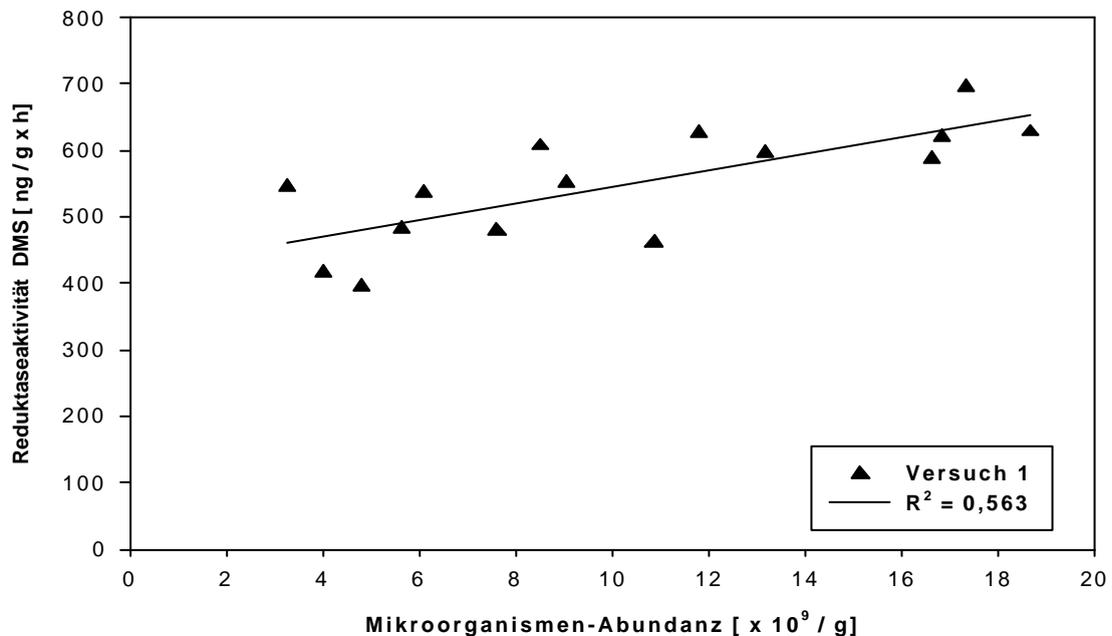


Abb. 3-17: Korrelation der Mikrobiellen Aktivität des Bodens (Reduktaseaktivität) mit der Mikroorganismen-Abundanz des Bodens (Versuchserie 1).

unspezifischer physiologischer Parameter gewählt wurde. Aufbauend auf der Hypothese einer zunehmenden Konkurrenz bzw. Inhibierung zwischen den Mikroorganismen, sichtbar durch die nicht vorhandene direkte Proportionalität, wird schon hier die mangelnde Eignung des Parameters Abundanz für die Beschreibung der Dekontaminationsfähigkeit der Rhizosphäre deutlich.

3.1.4.5 Zusammenhang zwischen Substratinduzierter Respiration und Mikroorganismen-Abundanz

Der zweite physiologische Messparameter, die Substratinduzierte Respiration, verläuft in Abhängigkeit von der Mikroorganismen-Abundanz ganz ähnlich wie die oben dargestellte und diskutierte Reduktaseaktivität (Abb. 3-18). Auch hier repräsentiert der dargestellte Ausschnitt einen Teil des Sättigungsbereichs des Gesamtverlaufs und ist wie in Kap. 3.1.4.4 zu begründen. Im Vergleich zur Reduktaseaktivität zeigt die Substratinduzierte Respiration jedoch, trotz größerer Stichprobe, einen geringeren Bestimmtheitsgrad: Die hohe Streuung der Datenpunkte deutet darauf hin, dass der Messparameter entweder empfindlicher auf Schwankungen der Versuchsbedingungen reagiert als die Reduktaseaktivität, oder aber die Messmethode größere Schwankungen zulässt.

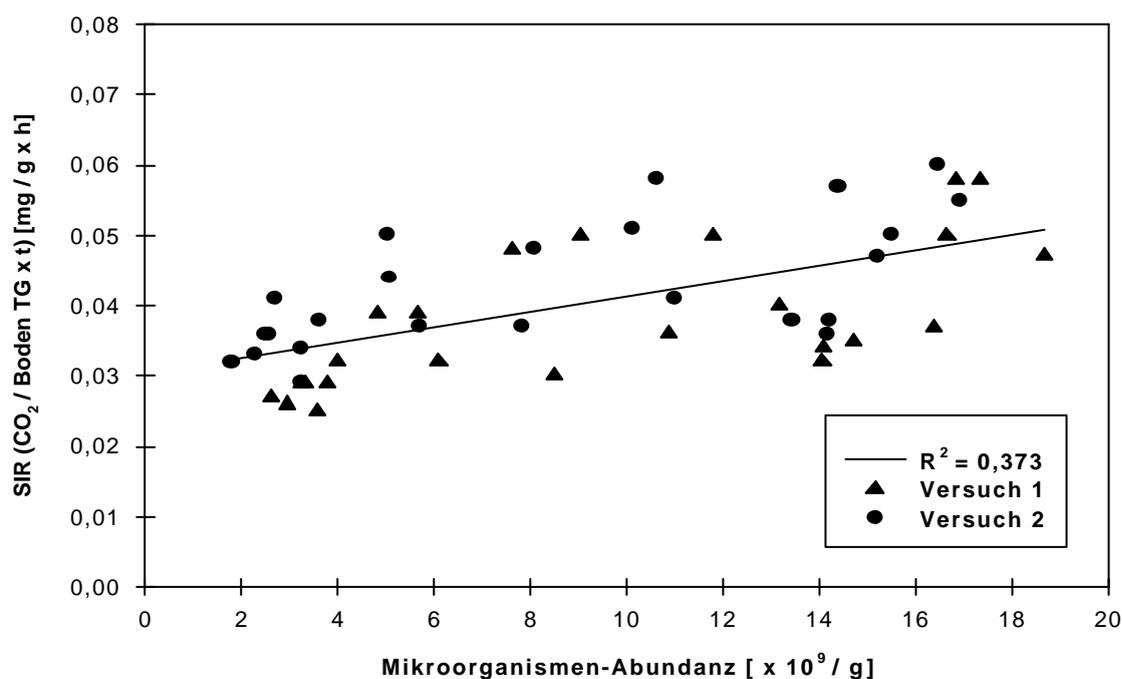


Abb. 3-18: Korrelation der Mikrobiellen Aktivität des Bodens (Substratinduzierte Respiration) mit der Mikroorganismen-Abundanz des Bodens (Versuchserie 1 u. 2).

3.1.4.6. Zusammenfassung der Korrelationsanalyse

Die Korrelationsanalyse der Mikroorganismen-Abundanz sowie der physiologischen Parameter mit der Wurzeloberfläche einerseits und der physiologischen Parameter mit der Mikroorganismen-Abundanz andererseits hat zu folgenden Ergebnissen geführt:

- 1) Bis zu einem Durchwurzelungsgrad von ca. 4000-5000 cm²/g ergibt sich zwischen der Mikroorganismen-Abundanz bzw. den physiologischen Parametern der Rhizosphäre und der Wurzeloberfläche eine positive Korrelation, d.h. in diesem Bereich bewirkt das Wachstum des Wurzelsystems eine direkte Förderung sowohl der Abundanz als auch der Aktivität der Mikroorganismen.
- 2) Die Mikroorganismen-Abundanz erreicht maximal das Dreifache des Kontrollwertes, wogegen die beiden physiologischen Parameter maximal das Anderthalbfache erreichen. Die Parallelität der Korrelation der physiologischen Parameter mit der Wurzeloberfläche begründet folgende Hypothese: Die durch den Durchwurzelungsgrad erhöhte Aktivität der Mikroorganismen ermöglicht theoretisch auch eine etwa 50%ige Erhöhung der Umsatzkapazität eines im Boden vorliegenden Fremdstoffes, wogegen die Mikroorganismen-Abundanz allein kein direktes Maß für die Dekontaminationsfähigkeit des Bodens darstellt.
- 3) Die nach den Maxima zu beobachtende Streuung der Werte in den Korrelationsanalysen deutet auf einen zunehmend wurzelunabhängigen Einfluss auf die physiologischen Parameter sowie der Mikroorganismen-Abundanz hin. Als mögliche, die Mikroorganismen in der Rhizosphäre beeinflussenden Parameter, sind hier insbesondere Feuchtigkeitsschwankungen und Schwankungen in der Nährstoffverfügbarkeit zu nennen.
- 4) Die mangelnde Nährstoffverfügbarkeit, verursacht durch den Biomassezuwachs der Pflanzen, aber auch der Mikroorganismen selbst, überlagert als zusätzlich während des Versuchsverlaufs auftretender Faktor den Einfluss des Wurzelwachstums und führt zu einer mehr oder weniger negativen Korrelation zwischen physiologischen Parametern und dem Durchwurzelungsgrad (zur negativen Korrelation der Mikroorganismen-Abundanz mit dem Durchwurzelungsgrad zum Versuchsende siehe 3.1.2.).
- 5) Die Korrelation der beiden physiologischen Messparameter, der Reduktaseaktivität und der Substratinduzierten Respiration, mit der Mikroorganismen-Abundanz ergibt jeweils eine lineare Abhängigkeit mit leicht positiver Steigung eines insgesamt vermuteten Sättigungsverlaufs.

3.2 Dekontamination von Xenobiotika in der Rhizosphäre

3.2.1 Abbau und Mineralisation von p-Nitrophenol

Wie die ^{14}C -Bilanzierung des Abbauersuchs mit ^{14}C -p-Nitrophenol im Modellökosystem zeigt, wurde der Ausgangsstoff innerhalb von vier Wochen mit über 90% fast vollständig mineralisiert, unabhängig ob der Boden mit *Bromus mollis* bepflanzt oder unbepflanzt war (Tab. 3-1). Nur unbedeutende Mengen von p-Nitrophenol bzw. seiner Metaboliten konnten im Boden wiedergefunden werden. Auch ihr Anteil in den Pflanzen war verschwindend gering.

Tab. 3-1: ^{14}C -Bilanzierung des Abbaus von ^{14}C -p-Nitrophenol im Modellökosystem, bezogen auf die applizierte Radioaktivität.

Kompartiment	% Radioaktivität bezogen auf die Ausgangsmenge ^{14}C -p-Nitrophenol	
	bepflanzt	unbepflanzt
Luftraum ($^{14}\text{CO}_2$)	93,68	91,88
Boden (extrahierbar)	2,52	3,30
Boden (nicht extrahierbar)	0,29	0,43
Wurzel (extrahierbar)	0,01	-
Wurzel (nicht extrahierbar)	n.b.	-
Spross (extrahierbar)	0,02	-
Spross (nicht extrahierbar)	n.b.	-
Summe (^{14}C-Wiederfindungsrate)	96,52	95,61

Betrachtet man die $^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung im Einzelnen, so wird deutlich, dass nach einem Versuchstag bereits die Halbwertszeit $T_{1/2}$ für den Abbau von p-Nitrophenol schon am zweiten (!) Versuchstag nach der Applikation erreicht ist (Abb. 3-19). Innerhalb nur einer Woche sind unter den gegebenen Versuchsbedingungen in beiden Systemhälften - zu einem Zeitpunkt, an dem die *Bromus*-Samen gerade eben gekeimt sind - 80% der applizierten Menge von p-Nitrophenol mineralisiert. Auch in den folgenden Versuchswochen zeigt sich in beiden Systemhälften weiter ein annähernd paralleler Verlauf der kumulativen $^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung. Erst bei einem direkten Vergleich der $^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung pro Probenahmetag zeigt sich im bepflanzten System in der dritten Versuchswoche eine um ca. 50% erhöhte Mineralisationsrate (Abb. 3-20, Tab. A-29).

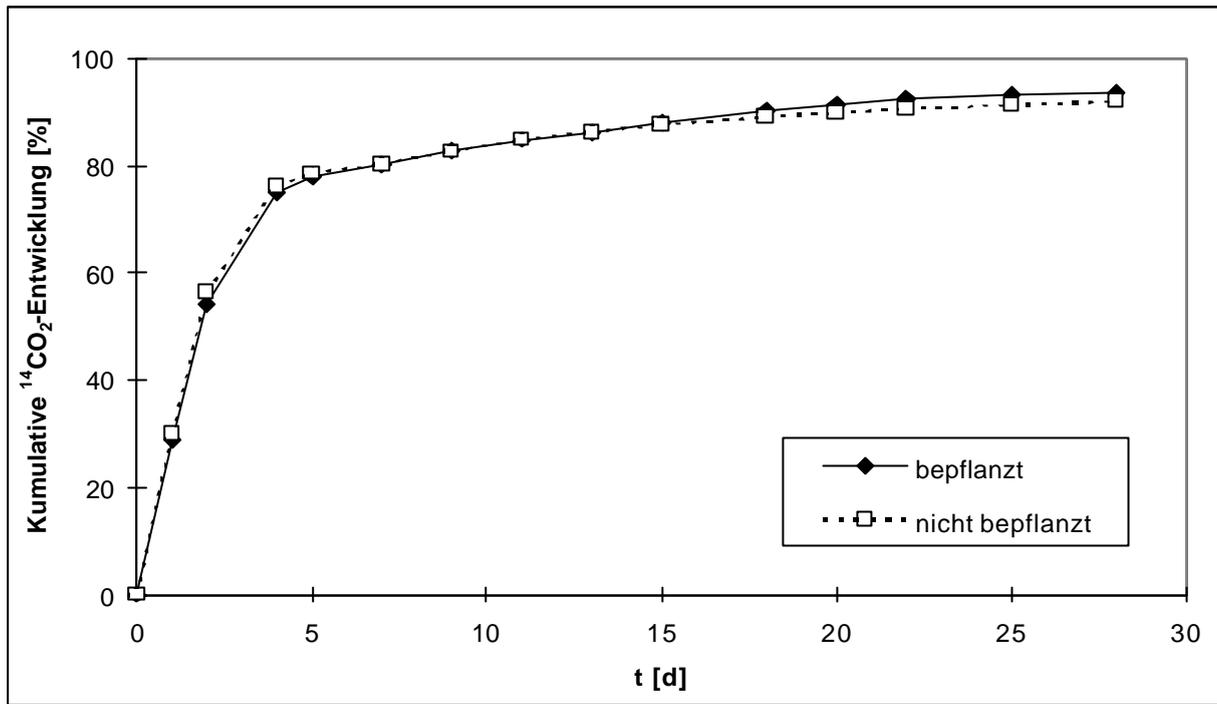


Abb.3-19: Mineralisation von pNitrophenol im Modellökosystem in Abhängigkeit von der Zeit bezogen auf die ^{14}C -Ausgangsradioaktivität.

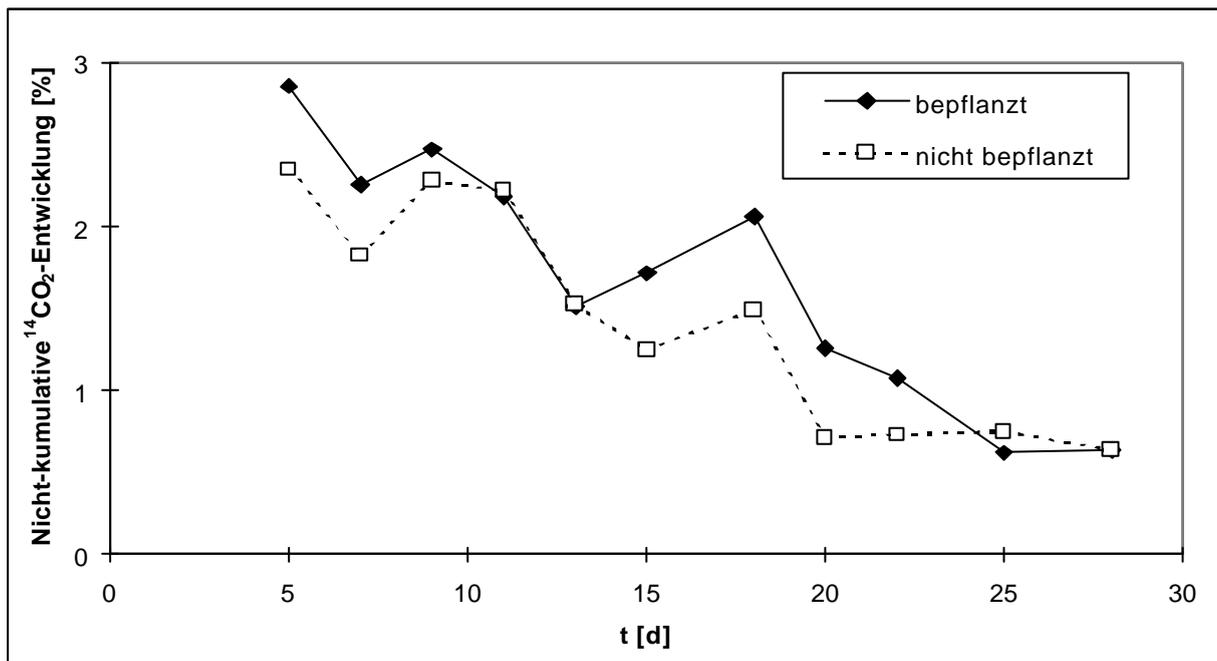


Abb.3-20: Mineralisation von pNitrophenol im Modellökosystem in Abhängigkeit von der Zeit bezogen auf die ^{14}C -Ausgangsradioaktivität. Zur besseren Darstellung des Rhizosphären-Effekts sind nur die Messwerte ab dem 5. Versuchstag aufgetragen.

Trägt man die als $^{14}\text{CO}_2$ freigesetzte Radioaktivität ab dem 5. Versuchstag auf, zeigt sich die erhöhte Mineralisation im bepflanzten System nach der Keimung von *Bromus mollis*. Die sehr kurze Halbwertszeit von p-Nitrophenol im Boden lässt den Einfluss der Rhizosphäre nur unvollständig – zeitlich zu spät – zum Zuge kommen. Deshalb sollte mit einer persistenteren Verbindung dieser Effekt unter den gegebenen Versuchsbedingungen deutlicher erkennbar werden.

3.2.2 Abbau und Mineralisation von Pyren

Pyren ist für seinen relativ langsamen Abbau im Boden bekannt (COOVER & SIMS 1987, GÜNTHER & FRITSCH 1996, CRAWFORD et al. 1993). Diese Substanz sollte deshalb den Einfluss der Rhizosphäre auf den Abbau von Xenobiotika deutlicher widerspiegeln als p-Nitrophenol. In den beiden Abbauversuchen mit ^{14}C -Pyren zeigt sich im Vergleich mit p-Nitrophenol zunächst trotz längerer Versuchsdauer ($t=52\text{d}$) eine deutlich geringere zwischen 30 und 40% liegende Mineralisationsrate (Tab. 3-2 u. 3-3). Dieses Phänomen ist sowohl mit der für die höherwertigen PAK's allgemein gültigen geringeren Bioverfügbarkeit als auch höheren Persistenz zu begründen.

Die im Modellökosystem verbliebene Radioaktivität konnte sowohl in den unbepflanzten als auch in den bepflanzten Systemhälften überwiegend durch Extraktion aus dem Boden wiedergewonnen werden und eine ausreichende Bilanzierung sicherstellen. Die Anteile nicht-extrahierbarer Rückstände im Boden (s. Tab. 3-2 u. 3-3) und auch die Radioaktivitätsmengen in den unterschiedlichen Pflanzenteilen waren nur von untergeordneter Bedeutung, so dass gefolgert werden kann, dass Einlagerungs- sowie Umwandlungsprozesse, insbesondere in den Pflanzen, für den Mineralisationsverlauf in den Versuchen unerheblich waren.

Tab. 3-2: ^{14}C -Bilanzierung des Abbaus von ^{14}C -Pyren im Modellökosystem bezogen auf die applizierte Radioaktivität (Versuch A).

Kompartiment	% Radioaktivität bezogen auf die Ausgangsmenge ^{14}C -Pyren	
	bepflanzte	unbepflanzte
Luftraum ($^{14}\text{CO}_2$)	36,50	27,51
Boden (extrahierbar)	55,55	63,08
Boden (nicht extrahierbar)	3,54	4,21
Wurzel (extrahierbar)	0,29	-
Wurzel (nicht extrahierbar)	0,08	-
Spross (extrahierbar)	0,07	-
Spross (nicht extrahierbar)	0,02	-
Summe (^{14}C-Wiederfindungsrate)	95,59	94,81

Tab. 3-3: ^{14}C -Bilanzierung des Abbaus von ^{14}C -Pyren im Modellökosystem bezogen auf die applizierte Radioaktivität (Versuch B).

Kompartiment	% Radioaktivität bezogen auf die Ausgangsmenge ^{14}C -Pyren	
	bepflanzt	unbepflanzt
Luftraum ($^{14}\text{CO}_2$)	43,02	32,31
Boden (extrahierbar)	55,08	62,30
Boden (nicht extrahierbar)	2,73	2,58
Wurzel (extrahierbar)	0,41	-
Wurzel (nicht extrahierbar)	0,12	-
Spross (extrahierbar)	0,06	-
Spross (nicht extrahierbar)	0,01	-
Summe (^{14}C-Wiederfindungsrate)	101,43	97,19

Die kumulative $^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung zeigt in beiden Systemhälften beider Parallelversuche zunächst einen konstanten Anstieg, der nach ca. 2 bis 3 Wochen in den unbepflanzten Systemhälften abflacht (Abb. 3-21). In den bepflanzten Systemhälften ist jedoch deutlich zu Beginn der dritten Versuchswoche, d.h. zu dem Zeitpunkt an dem sich das Wurzelsystem von *Bromus mollis* entwickelt, ein zusätzlicher Mineralisationsschub zu beobachten.

In Abbildung 3-22 ist die Mineralisationsrate in den bepflanzten Systemhälften (obere Kurven) sowie zum Vergleich die Wurzeloberflächenentwicklung aus den Pflanzversuchen (s. Kap. 3.1.1) dargestellt. Die Mineralisationsrate in den bepflanzten Systemhälften – hier als kumulative Auftragung relativ zu der Mineralisationsrate in den unbepflanzten Systemhälften dargestellt – verläuft bis zum 20. Versuchstag mit der Mineralisationsrate in den unbepflanzten Systemhälften auf gleichem Niveau bevor sie deutlich ansteigt und zum Versuchsende um ca. 30% höher liegt. Dies bedeutet auch, dass trotz Keimung von *Bromus mollis* nach ca. 7 Versuchstagen zunächst keine erhöhte Mineralisationsrate im bepflanzten System zu beobachten ist. Der Rhizosphären-Effekt – die Mineralisationserhöhung aufgrund der wurzelinduzierten Erhöhung der mikrobiellen Aktivität – setzt mit deutlicher Verzögerung ca. drei Wochen nach Versuchsbeginn ein. In Abbildung 3-23 ist die Mineralisationsrate in den bepflanzten Systemhälften pro Probenahmetag relativ zu der Mineralisationsrate in den unbepflanzten Systemhälften dargestellt. Der Verlauf der Regressionskurve zeigt noch anschaulicher die erhöhte Mineralisation in dem bepflanzten System: Der Mittelwert beider Versuche liegt in der dritten bis sechsten Woche um ca. 80% höher als in den unbepflanzten

Kontrollhälften. Zum Versuchsende hin, d.h. zu einem Zeitpunkt, an dem die Gesamtwurzeloberfläche noch weiter zunimmt (Abb. 3-22), fällt die erhöhte Mineralisation im bepflanzt System jedoch deutlich ab (Abb. 3-23).

Zusammenfassend belegen die Ergebnisse der Versuchsanalyse überzeugend den Zusammenhang zwischen der Rhizosphärenentwicklung von *Bromus mollis* und der erhöhten Abbaurate von Pyren. Die Umweltchemikalie Pyren zeichnet sich unter den gegebenen Bedingungen als gut geeignete Modellsubstanz aus.

Darüber hinaus belegt der parallele Verlauf der Mineralisationskurven beider Abbauprobungen in Abbildung 3-22 eindrucksvoll die Reproduzierbarkeit des Versuchs. Der nicht-stetige Verlauf der Messwerte in Abbildung 3-23 deutet auf Schwankungen in den Versuchsbedingungen hin. Hierfür kommt z.B. die Bodenfeuchte, die aufgrund von Transpirationsvorgängen am ehesten Schwankungen unterliegt, als Ursache in Betracht.

Da zwischen erhöhter $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung in den bepflanzt Systemhälften und der Wurzeloberflächenentwicklung keine direkte Proportionalität besteht, lassen die Versuchsergebnisse keine Korrelation zwischen Mineralisationsrate und Wurzeloberflächenentwicklung zu. Im folgenden Kapitel soll jedoch die beobachtete Mineralisationserhöhung in der mit *Bromus mollis* bepflanzt Systemhälfte des Pyren-Abbauprobungen mit den in den Pflanzversuchen gewonnen mikrobiellen Parametern korreliert werden.

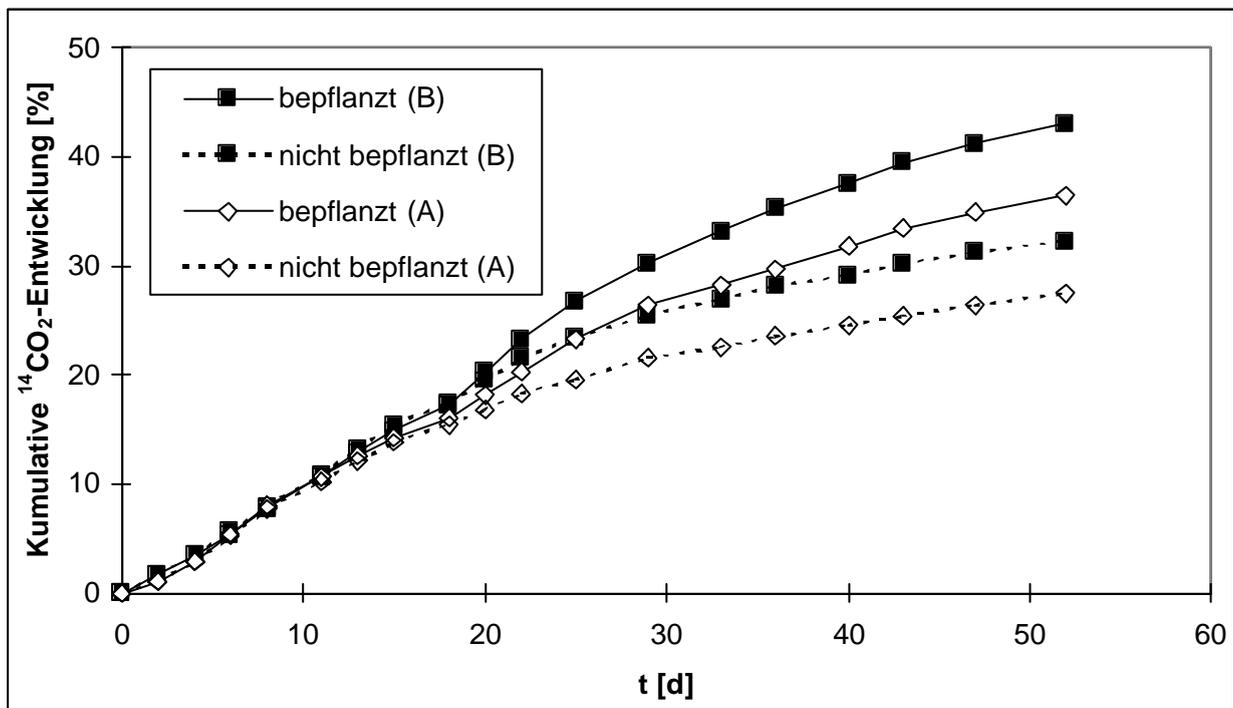


Abb.3-21: Mineralisation von Pyren im Modellökosystem in Abhängigkeit von der Zeit bezogen auf die ^{14}C -Ausgangsradioaktivität.

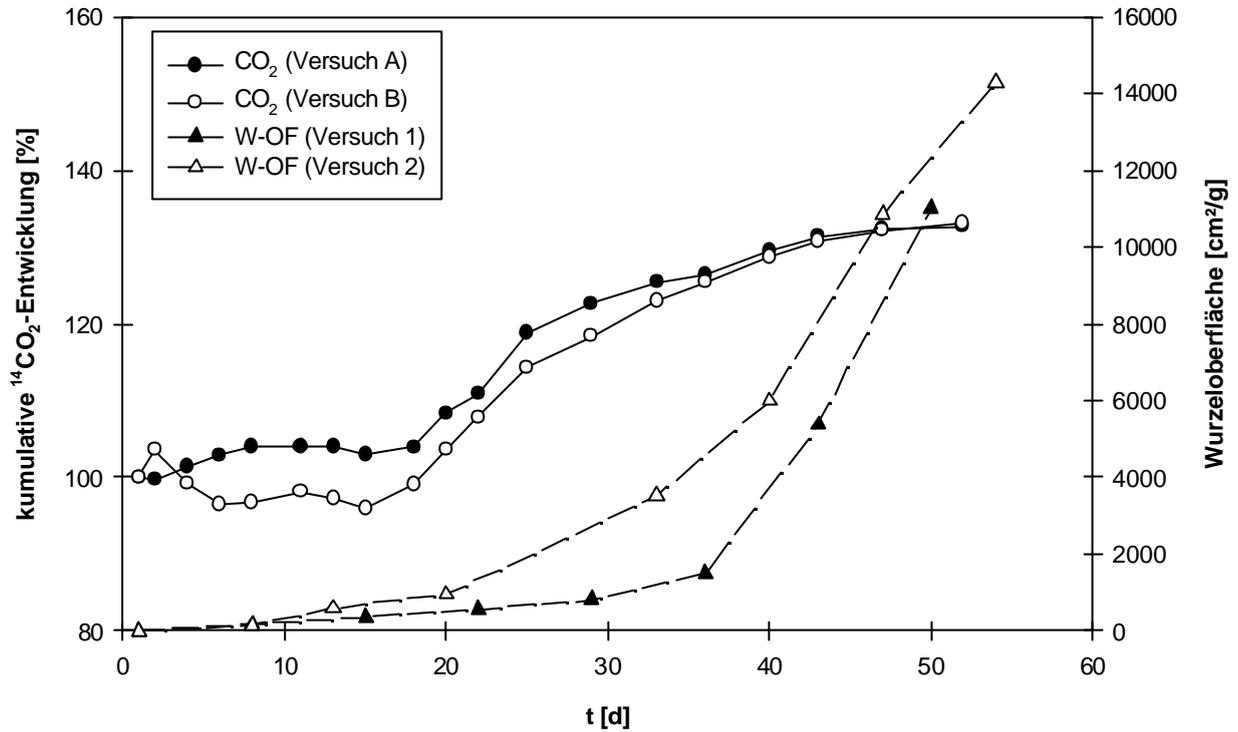


Abb.3-22: Kumulative $^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung in den bepflanzen Systemhälften ($^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung in den unbepflanzten Kontrollhälften = 100%; Pyren-Abbauversuch A u. B; obere Kurven) und Wurzeloberflächenentwicklung aus den Pflanzversuch 1 und 2 (s. Kap 3.1.1).

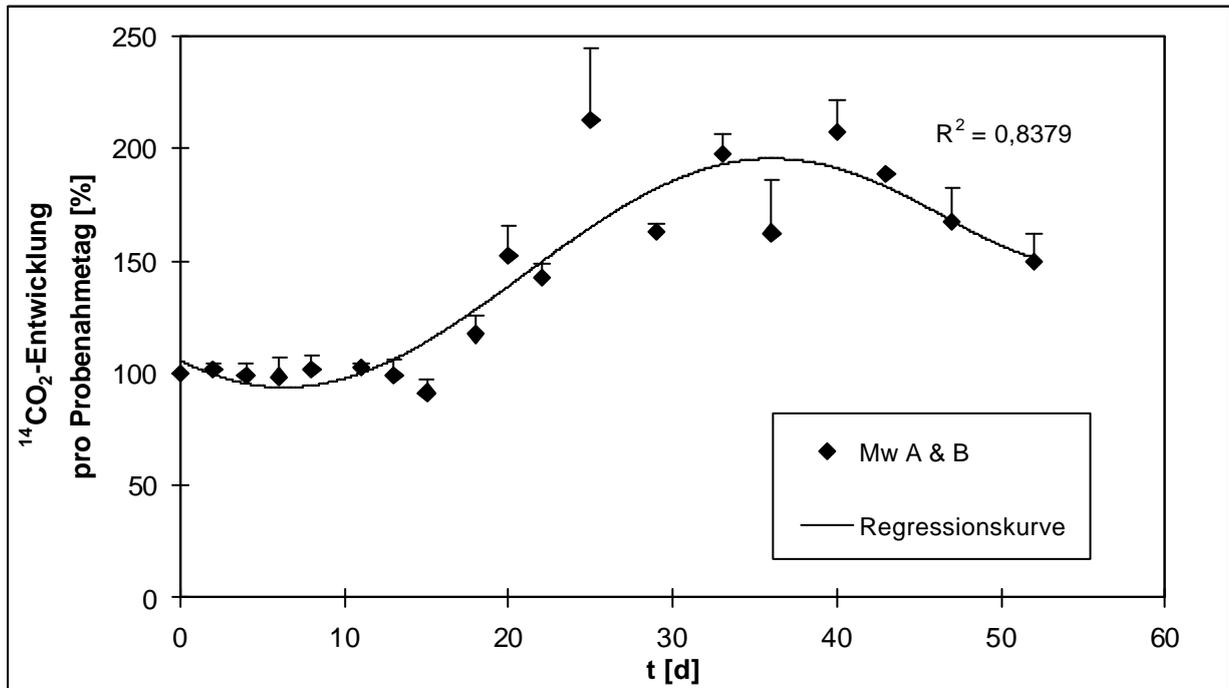


Abb.3-23: $^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung pro Probenahmetag in den bepflanzen Systemhälften ($^{14}\text{CO}_2$ -Entwicklung in den unbepflanzten Kontrollhälften = 100%; Mittelwerte der Pyren-Abbauversuch A u. B mit Standardabweichung).

3.3 Korrelation der Pyren-Mineralisation mit den mikrobiellen Parametern

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Pyren-Abbauversuche mit den mikrobiellen Parametern der Pflanzversuche (Versuch A und B, Ansätze: B2, Kap. 3.1.2) verglichen. Zu diesem Zweck wurde die prozentuale Erhöhung der Pyren-Mineralisation in den bepflanzt Systemhälften der Abbauversuche gegen die prozentuale Erhöhung der mikrobiellen Abundanz bzw. der physiologischen Parameter der Pflanzversuche aufgetragen (Abb. 3-24 bis Abb. 3-26). Die Messwerte aus den nicht-bepflanzten Systemhälften der Abbauversuche bzw. Kontrollansätzen der Pflanzversuche dienten dabei jeweils als Bezugswerte und wurden gleich 100 Prozent gesetzt. Die Korrelation der Relativwerte hat den entscheidenden Vorteil, dass auftretende Abweichungen in dem Versuchsverlauf zwischen Abbau- und Pflanzversuch - z.B. aufgrund unterschiedlicher Bodenfeuchte an vergleichbaren Messtagen - weitgehend eliminiert werden. Darüber hinaus werden auch systematische Fehler, die aufgrund des nicht exakt übereinstimmenden Versuchsaufbaus - z.B. im Zusammenhang mit verminderten bzw. verstärkten Transpirations- und/oder Evaporationsvorgänge aufgrund unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit - theoretisch zu nicht vergleichbaren Absolutwerten führen können, eliminiert.

Bei Analyse der Kurvenverläufe in den drei Abbildungen zeigt sich sowohl zwischen dem erhöhten Pyren-Abbau und der erhöhten Mikroorganismen-Abundanz (Abb. 3-24), als auch zwischen Pyren-Abbau und den physiologischen Parametern, der Substratinduzierten Respiration (Abb. 3-25) und der Reduktaseaktivität (Abb. 3-26), eine deutliche Proportionalität. Im ersten Fall ergibt die Regressionsgrade eine geringe Steigung von $a = 0,5$ in den beiden folgenden Abhängigkeiten liegt die Steigung nahe $a = 1$ bzw. höher. Daraus kann man ableiten, dass eine durch die Wurzelentwicklung verdoppelte Mikroorganismen-Abundanz den Pyren-Abbau nur um 50% fördert. Erhöht sich jedoch die Aktivität der Mikroorganismen um 100%, so wird auch die Pyren-Mineralisation um 100% gesteigert. Diese Beobachtung ermöglicht folgende Hypothese: Die Gesamtaktivität der Mikroorganismen im Boden ist der potentiellen Abbauleistung direkt proportional.

Auch das relativ geringe Bestimmtheitsmaß der Regressionsgeraden in Abb. 3-24 deutet auf den indirekten Zusammenhang zwischen Abundanz und erhöhter Mineralisationsrate hin. Hierbei ist allerdings zu beachten, dass die Mineralisationsdaten mit einer begrenzten Anzahl von Lebendzahlmessungen aus zwei Pflanzversuchen korreliert wurden. Der stark abweichende Datenpunkt in Abbildung 3-24 (offene Raute) bezeichnet den Zeitpunkt an dem

im Pflanzversuch die Mikroorganismen-Abundanz schon stark erhöht war, was sich allerdings noch nicht unmittelbar in einer Mineralisationserhöhung im Abbauersuch manifestiert.

Das höhere Bestimmtheitsmaß der Regressionsgeraden der physiologischen Parameter (Abb. 3-25 u. Abb. 3-26) ist auf die schon gezeigte direkte Abhängigkeit zwischen mikrobieller Aktivität und Abbauleistung zurückzuführen. Die Substratinduzierte Respiration (Abb. 3-25) bestätigt diese direkte Abhängigkeit, da auch hier die Daten von zwei Pflanzversuchen zur Berechnung der Regressionsgeraden genutzt wurden. Das noch höhere Bestimmtheitsmaß der Regressionskurve in Abb. 3-26 (Reduktaseaktivität) ist dagegen zumindest z.T. auf die Nutzung der Daten nur eines Pflanzversuchs zurückzuführen.

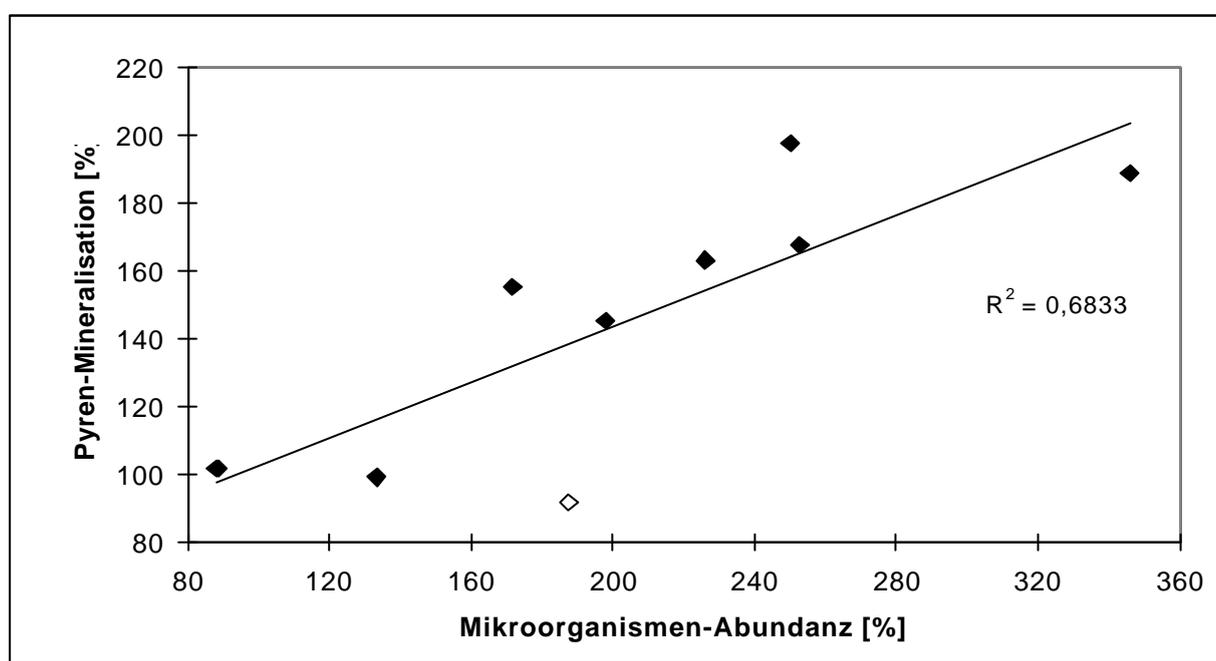


Abb. 3-24: Korrelation der Pyren-Mineralisation (Abbauersuch) mit der Mikroorganismen-Abundanz (Pflanzversuch) in der Rhizosphäre (offener Datenpunkt: siehe Text). Als Bezugswerte (100%) dienen jeweils die unbepflanzten Kontrollansätze.

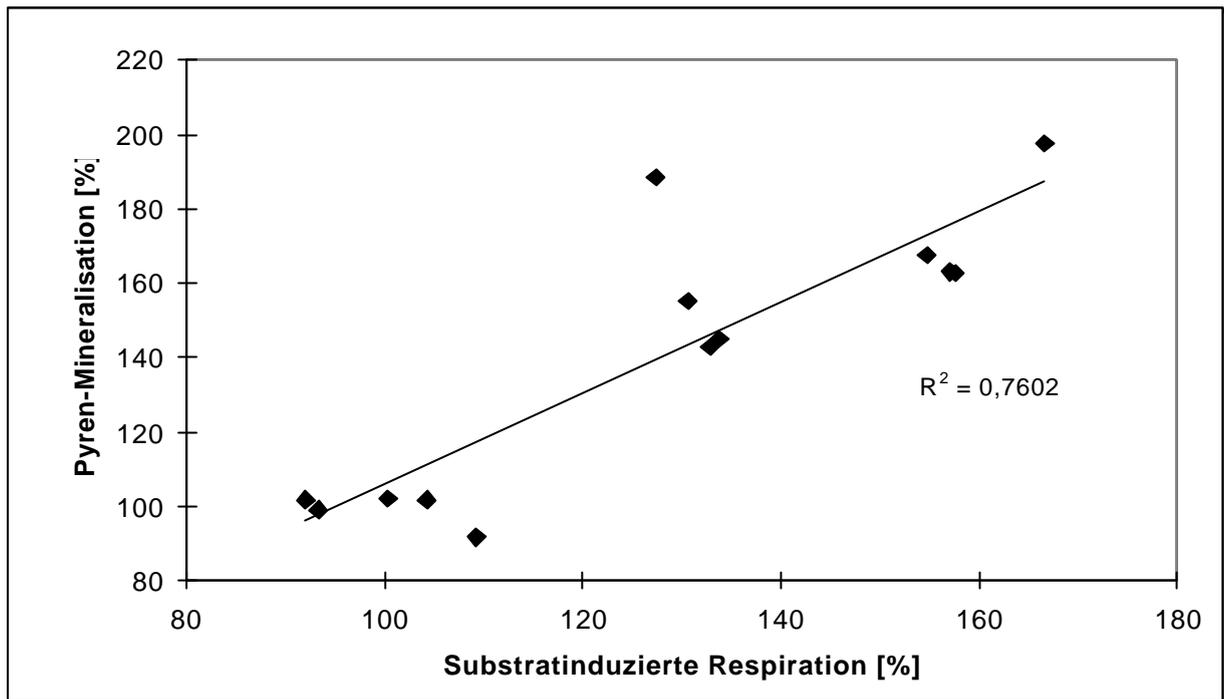


Abb. 3-25: Korrelation der erhöhten Pyren-Mineralisation (Abbauversuch) mit der erhöhten mikrobiellen Aktivität (Substratinduzierten Respiration, Pflanzversuch) in der Rhizosphäre. Als Bezugswerte (100%) dienen jeweils die unbepflanzten Kontrollansätze.

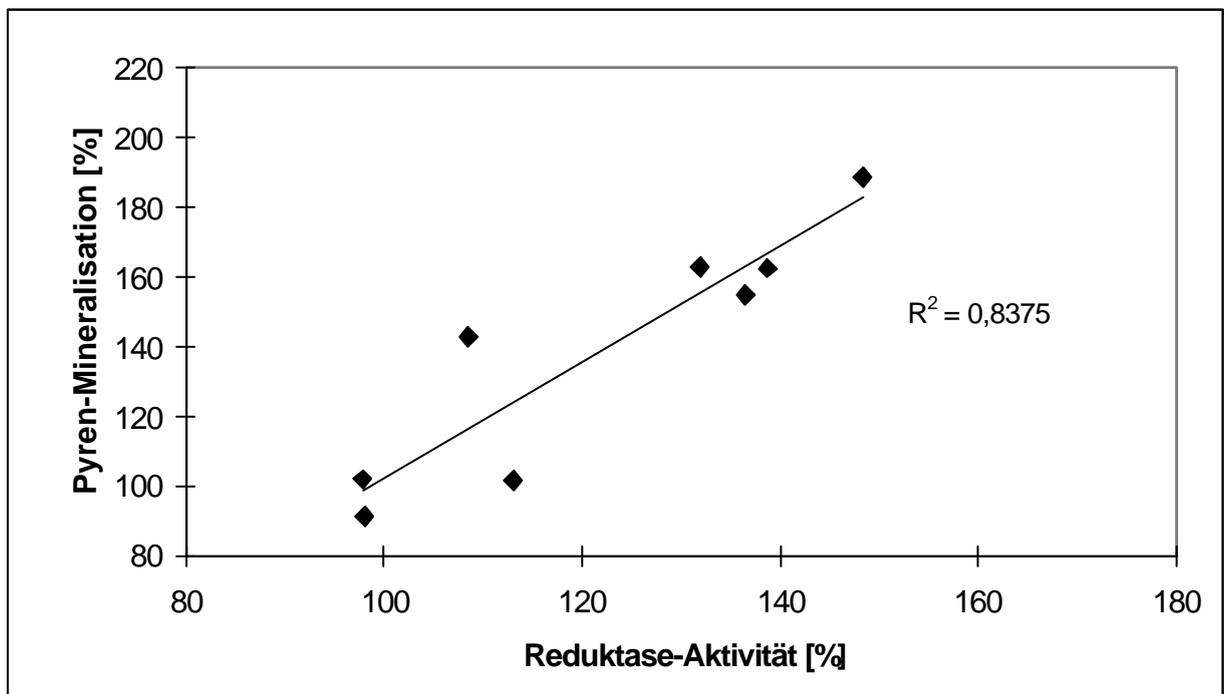


Abb. 3-26: Korrelation der erhöhten Pyren-Mineralisation (Abbauversuch) mit der erhöhten mikrobiellen Aktivität (Reduktaseaktivität, Pflanzversuch) in der Rhizosphäre. Als Bezugswerte (100%) dienen jeweils die unbepflanzten Kontrollansätze.

4. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION

Die Rhizosphäre ist ein hochkomplexer Ökosystemausschnitt, der zudem methodisch äußerst schwierig zu bearbeiten ist (CAMPBELL & GREAVES 1990). Zahlreiche Arbeiten dienten in der Vergangenheit der Untersuchung und Ergründung spezifischer Fragestellungen, insbesondere der erhöhten Dekontaminationsleistung von Rhizosphärenböden im Vergleich mit unbepflanzten Böden (s. Kap. 1.3, 1.4 u. 1.5). In wenigen zusammenfassenden Darstellungen wird versucht, aus der Fülle von Detailkenntnissen Erklärungsmodelle für das Geschehen in der Rhizosphäre zu entwickeln. Sie resümieren jedoch, zumeist aufgrund der nicht vergleichbaren Versuchsbedingungen, z.T. auch aufgrund der unzureichenden Aussagekraft bestimmter angewandeter Methoden, mit der Feststellung, dass die Zusammenhänge in der Rhizosphäre hinsichtlich ihrer Dekontaminationsleistung fast vollständig ungeklärt seien (ANDERSON & WALTON 1991, ANDERSON et al. 1993, HABY & CROWLEY 1996).

Die vorliegenden Untersuchungen versuchen anhand einer übergreifenden Betrachtung, einen Beitrag zum tiefergehenden Verständnis für die Komplexität der Vorgänge in der Rhizosphäre zu leisten. Hierbei ist neben der quantitativen Erfassung mikrobieller Parameter und der Erfassung des Xenobiotikaabbaus in der Rhizosphäre, die Einbeziehung der Wurzelentwicklung ein zentraler Punkt. Darüber hinaus ist von entscheidender Bedeutung, die zu untersuchenden Fragestellungen mit den verschiedenen Messparametern unter vergleichbaren Versuchsbedingungen zu bearbeiten. Das hierfür notwendige Versuchskonzept, die verwendeten Materialien und Methoden und die erzielten Ergebnisse sollen im folgenden abschließend diskutiert werden.

4.1 Versuchskonzept, Eignung der Materialien und Aussagekraft der verwendeten Versuchsmethoden

Aufgrund der erzielten Versuchsergebnisse sollen hier zu folgenden Punkten Ergänzungen sowie eine abschließende Bewertung zu den in Kapitel 2.1 angeführten Argumente erfolgen: Versuchskonzept hinsichtlich der Verwendung zeitlich parallel verlaufender Studien, verwendete Pflanzenart, verwendeter Boden, Wurzel-Messparameter, mikrobielle Messparameter und Chemikalienwahl.

Konzeption der Versuche

Das Versuchskonzept baut im wesentlichen auf die parallele Durchführung von einfachen Durchwurzelungsversuchen mit unterschiedlichen Einsaatdichten bzw. einer unbepflanzten Kontrolle auf. Dieses Konzept hat sich im wesentlichen bewährt. Insbesondere wurde hierdurch die Verwendung eines ‚natürlichen‘ Bodens ermöglicht - eine Grundvoraussetzung für die Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf Freilandbedingungen.

Der Vorteil paralleler Ansätze zeigt sich insbesondere bei einer nicht-stabilisierten Ausgangslage. Stimmen z.B. die Lagerbedingungen des Bodens vor Versuchsbeginn nicht exakt mit den Randbedingungen während des Versuchablaufs überein, so ist eine von der eigentlichen Versuchsvariabel unabhängige Dynamik der Messgröße möglich, die nur durch den Bezug der Messwerte auf die Werte einer parallel angesetzten Kontrolle eliminiert werden kann (s. Reduktaseaktivität, Kap. 3.1.3). Darüber hinaus liegt der Vorteil paralleler Versuchsansätze auch in der Ausblendung systematischer Fehler, wie sie durch Temperatur-, Feuchte- oder Lichtschwankungen oder auch allgemeiner „Bodenentwicklungen“ (s. Mikroorganismen-Abundanz, Kap. 3.1.2) während des Versuchsverlaufs auftreten können.

Wahl der Pflanzenart

Die nach den Vorversuchen mit verschiedenen Pflanzenarten gewählte Poaceae *Bromus mollis*, hat sowohl in den anschließenden Durchwurzelungsversuchen, als auch in den Abbauversuchen ihre Eignung zur Beantwortung der komplexen Fragestellungen bewiesen.

Zunächst ermöglicht ihr Wurzelsystem aufgrund der sekundären Homorhizie eine ausreichend exakte Wiedergabe des Wurzelwachstums. Darüber hinaus zeigte sich in der Rhizosphäre von *Bromus mollis*, wohl aufgrund der sekundären Homorhizie in Verbindung mit der hohen Wurzelbiomasse-Zuwachsrates, die postulierte Abbauleistung (s. auch BOYLE & SHANN 1995).

Wahl der Wurzel-Messparameter und der mikrobiellen Messparameter

Die Messungen zur Charakterisierung der Wurzelentwicklung, der mikrobiellen Aktivität und der Abundanz ergaben für die Fragestellung weiterführende Ergebnisse. So konnte in Abhängigkeit von der Wurzeloberflächen-Zuwachsrates grundsätzlich ein Anstieg bei allen untersuchten mikrobiellen Messparametern beobachtet werden. Bekräftigt wird dies eindrucksvoll in der (Wurzel)-dichteabhängigen Entwicklung der mikrobiellen Messgrößen.

Dieses Ergebnis unterstreicht die Eignung des Parameters Wurzeloberfläche als Bezugsgröße für mikrobielle Entwicklungen in der Rhizosphäre.

Jedoch konnten auch deutliche Grenzen in der Abhängigkeit zwischen der gemessenen Wurzelentwicklung und der mikrobiellen Parameter festgestellt werden. So ist z.B. die Mikroorganismen-Abundanz keineswegs nur von der Wurzelentwicklung abhängig. Viel entscheidender war die unter den gegebenen Versuchsbedingungen allgemein ansteigende Tendenz der Mikroorganismen-Abundanz, wie sie sich beim Kontrollansatz (ohne Wurzeinfluss) deutlich zeigte. Diese Tendenz, aber auch die erhöhte Geschwindigkeit der Mikroorganismenzunahme in den bepflanztten Ansätzen, konnten auch GÜNTHER & FRITSCH (1996) bei *Lolium perenne* L. feststellen.

Darüber hinaus ist aber oftmals keine Parallelität bzw. Proportionalität zwischen Wurzeloberflächenentwicklung und den mikrobiellen Parameter festzustellen. Insbesondere nach längeren Wachstumszeiträumen zeigt sich bei den mikrobiellen Parametern schon viel früher als bei der Wurzeloberfläche eine Abschwächung in der Steigung. Hier zeigt sich deutlich, dass die Wurzeloberfläche zwar als räumliche und funktionale Grenzschicht zwischen Pflanze und Boden als Basisparameter sehr nützlich ist, aber aufgrund der unterschiedlichen physiologischen Zustände der Wurzelabschnitte Interaktionen in der Rhizosphäre, insbesondere Abundanz- und physiologische Entwicklungen der Mikroorganismen, nur bedingt repräsentieren kann. Der Einfluss des physiologischen Zustands der Wurzelabschnitte auf die mikrobiellen Messparameter zeigt sich nicht nur in Abhängigkeit von der Wurzelentwicklung (Wurzelalter) sondern selbstverständlich auch in Abhängigkeit vom Durchwurzelungsgrad (Wurzeldichte) (s. Ergebnisse).

Um den Einfluss der Wurzel besser beschreiben zu können, sollte in zukünftigen Untersuchungen auch der physiologische Zustand der Wurzelabschnitte untersucht und in die Rhizosphärenanalyse einbezogen werden.

Die Entwicklung der mikrobiellen Aktivität zeigt mit der Mikroorganismenabundanz-Entwicklung einen grundsätzlich proportionalen Zusammenhang (Kap. 3.1.4). Allerdings zeigt sowohl der Zusammenhang zwischen Reduktaseaktivität und Mikroorganismenabundanz als auch zwischen Substratinduzierter Respiration und Mikroorganismenabundanz eine hohe Streuung und somit ein geringes Bestimmtheitsmaß. Auch hier zeigt sich wieder, ähnlich wie zwischen Wurzeloberflächenentwicklung und physiologischem Zustand der Wurzel, der tendenzielle Zusammenhang zwischen Mikroorganismenabundanz und physiologischem Zustand der Mikroorganismen. Da die physiologische Gesamtaktivität der Mikroorganismen jedoch nicht allein von deren Abundanz

abhängig ist, sind Messparameter aus beiden Bereichen eine sinnvolle Ergänzung für die Analyse von Rhizosphärenvorgängen. Dabei kann für die Abundanzbestimmung, wie schon unter Kap. 2.1.4 diskutiert, nur die hier verwendete Methode der Lebendzahlbestimmung zur Anwendung kommen.

Die beiden physiologischen Messparameter haben sich erwartungsgemäß bewährt, da sie grundlegende Stoffwechselforgänge lebendiger Mikroorganismenzellen erfassen. Die Reduktaseaktivität zeigt dabei den methodischen Nachteil, dass sie bei hoher Wurzelichte im Boden nicht mehr bestimmbar ist, wogegen die Substratinduzierte Respiration den Nachteil eines höheren Streuungsgrades aufweist.

Abbauversuche

Die beiden verwendeten Chemikalien unterscheiden sich deutlich in ihrer mikrobiellen Abbaubarkeit. Die Abbauversuche haben gezeigt, dass der Einfluss von Pflanzen auf die Abbauleistung der Mikroorganismen im Boden bei leicht (schnell) abbaubaren Chemikalien (p-Nitrophenol) vernachlässigbar ist. Bei relativ langsam abbaubaren Chemikalien - hier Pyren- ist der Rhizosphären-Effekt jedoch deutlich erkennbar. Wie die Versuche gezeigt haben, kann im Falle von Pyren die Abbauleistung in der Rhizosphäre von *Bromus mollis* um bis zu 30%, gegenüber der nicht bepflanzten Kontrolle, erhöht sein. In der Rhizosphäre von *Lolium perenne*, *Zea may* und *Pisum sativum* konnten GÜNTHER & FRITSCH (1996) ebenfalls einen deutlich beschleunigten Abbau von Pyren gegenüber unbepflanzten Boden feststellen. Die hier und in der Literatur vorliegenden Ergebnisse erlauben den Schluss, dass der Rhizosphären-Effekt bei persistenten Chemikalien besonders dann noch wesentlich deutlicher hervortritt, wenn durch die Wurzeln spezifische zum Chemikalienabbau fähige Mikroorganismen gefördert werden (SANDMANN & LOOS 1984, DONNELLY et al. 1994). Die Korrelation zwischen den Ergebnissen zum Chemikalienabbau und denen aus Messungen der physiologischen Mikroorganismen-Messparameter zeigt eine direkte Proportionalität, wodurch bekräftigt wird, dass die mikrobielle Aktivität auch ein direktes Maß für die Abbauleistung der Mikroorganismen darstellt. Die Mikroorganismenabundanz spiegelt diese dagegen nur bedingt wieder. Die Mineralisation von Pyren setzt sowohl gegenüber der Erhöhung der Mikroorganismenabundanz als auch gegenüber der Wurzelentwicklung zeitlich verzögert ein. Dies wird durch folgenden Gedankengang, beruhend auf grundlegende ökologische Gesetzmäßigkeiten zur Ressourcennutzung, plausibel: In der Besiedlungsphase eines Bodenkörpers durch das Wurzelsystem einer Pflanze und im folgenden durch eine

erhöhte Population von Mikroorganismen, werden zunächst die leicht verfügbaren Nährstoffe genutzt, bevor beim Eintritt zunehmender intra- und interspezifischen Konkurrenz auf weniger leicht verfügbare Nährstoffe, u.a. auch Xenobiotika, zurückgegriffen wird. Die Nutzung dieser Nährstoffe ist wiederum energieaufwendiger und bewirkt daher eine gleichzeitige, d.h. parallelverlaufende Aktivitätserhöhung.

4.2 Gesamtbetrachtung

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eindeutig, dass die Abbauleistung in der Rhizosphäre von *Bromus mollis* im Vergleich zu unbepflanztem Boden bezüglich des hier eingesetzten Pyrens erhöht ist. Dabei ist die Erhöhung der Abbauleistung indirekt auf das Wurzelwachstum von *Bromus mollis* und direkt auf die Aktivitätserhöhung der Mikroorganismen zurückzuführen. Die Aktivitätserhöhung beruht wiederum zum Teil auf einer Abundanzenerhöhung der Mikroorganismen. Die Abundanzenerhöhung ist nur bezüglich ihrer Dynamik ein Effekt der Wurzelentwicklung, nicht aber bezüglich ihrer Absolutwerte. Hier zeigt sich, dass die Wurzeloberfläche und die Mikroorganismenabundanz als beschreibende Messparameter tendenzielle Aussagen zulassen, dass sie aber durch Messparameter, die den physiologischen Zustand der Wurzeln bzw. der Mikroorganismen beschreiben, ergänzt werden müssen. Dies ist im Bereich der Mikroorganismen mit den unspezifischen Messparametern Substratinduzierte Respiration und Reduktaseaktivität weitgehend gelungen. Um die direkte Auswirkung der Wurzelentwicklung auf die Mikroorganismen quantifizieren zu können, sollte bei weiterführenden Untersuchungen ein physiologischer Messparameter eingeführt werden, der den Aktivitätszustand der Wurzel(-abschnitte) beschreibt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde in einem speziell entwickelten Versuchsaufbau der Zusammenhang zwischen der Wurzelentwicklung und dem Abbau von Xenobiotika in der Rhizosphäre von *Bromus mollis* L. (Poacea) untersucht. Sowohl die gleichmäßige Wurzelverzweigung (sekundäre Homorhizie) der Versuchspflanze, als auch die unter den gegebenen Versuchsbedingungen und dem vorgegebenen Versuchszeitraum ausreichend hohe Produktionsrate der Wurzelbiomasse (ca. 200 mg/ g Bodentrockenmasse innerhalb 9 Wochen) waren wichtige Voraussetzungen, um signifikante und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. In Durchwurzelungsversuchen wurden zunächst Wurzeloberflächenzuwachs und parallel zur Wurzelentwicklung sowohl die mikrobielle Abundanz (Lebendzählbestimmung) als auch die mikrobielle Aktivität (Substratinduzierte Respiration und Reduktaseaktivität) im Boden bzw. in der Rhizosphäre erfasst. Die parallele Messung der Parameter bei unterschiedlichen Einsaatdichten diente der Eliminierung systematischer Fehler und der statistischen Absicherung der Ergebnisse. Unabhängig von der Aussaatdichte korrelierten die mikrobiellen Parameter positiv mit dem Anstieg des Durchwurzelungsgrades bis zu einer Wurzel-Oberflächenentwicklung von $W\text{-OF} = 4000$ bis 5000 cm^2 pro g Bodentrockenmasse. Die Mikroorganismen-Abundanz erreichte dabei im Boden der bepflanzen Ansätzen das Dreifache ($n = 16 \times 10^9 \times \text{g}^{-1}$) des unbepflanzten Kontrollbodens, wogegen die Werte beider physiologischer Parameter das Anderthalbfache erreichten (Reduktaseaktivität: $\text{DMS} / \text{TM Boden} \times t = 600 \text{ ng} / \text{g} \times \text{h}$ bzw. Substratinduzierte Respiration: $\text{CO}_2 / \text{TM Boden} \times t = 0,06 \text{ mg} / \text{g} \times \text{h}$).

In prinzipiell gleich aufgebauten, kontrolliert belüfteten Modellökosystemen wurde die Abbauleistung der Rhizosphäre von *Bromus mollis* mit Hilfe ^{14}C -markierter Chemikalien untersucht, um eine Korrelation der Wurzelentwicklung von *Bromus mollis* und der Abbauleistung der Rhizosphäre bezüglich organischer Substanzen zu ermöglichen. In beiden Versuchsreihen (Durchwurzelungsversuche und Abbaueversuche) wurde der gleiche „natürliche“ Boden verwendet. Dieser entstammte einem lehmigen Ackerstandort. Durch die Verwendung eines Ackerbodens mit entsprechender natürlichen Bodenzusammensetzung und -struktur sowie einer natürlichen Mikroorganismen-Ausgangspopulation, sollte trotz der standardisierten Laborbedingungen eine tendenzielle Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Freilandbedingungen ermöglicht werden. Als Xenobiotika wurden zwei unterschiedlich persistente ^{14}C -markierte Chemikalien, p-Nitrophenol und Pyren, verwendet. P-Nitrophenol repräsentiert zum Beispiel als Metabolit von Parathion exemplarisch ein Pestizid-

Umwandlungsprodukt, Pyren wurde exemplarisch für die weitverbreitete Stoffgruppe der Polyaromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK's) verwendet.

Die Abbauleistung der Rhizosphäre von *Bromus mollis* bezüglich der beiden Xenobiotika zeigte eindeutige Unterschiede: Der Abbau von p-Nitrophenol im Rhizosphären-Versuch war, im Vergleich zur unbepflanzten Kontrolle, nur unwesentlich erhöht. Dies ist auf die schnelle Abbaubarkeit von p-Nitrophenol durch Boden-Mikroorganismen zurückzuführen. Im Verlauf einer Woche - zu einem Zeitpunkt, an dem *Bromus mollis* kaum gekeimt war - waren 80% der applizierten Menge ¹⁴C-p-Nitrophenol bereits mineralisiert. Bei Einsatz der persistenteren Umweltchemikalie Pyren ist der Rhizosphären-Effekt dagegen deutlich zu sehen. Hier betrug die Mineralisationsrate im bepflanzten Rhizosphären-System nach sieben Wochen ca. 40% der applizierten Menge ¹⁴C-Pyren und war damit gegenüber der unbepflanzten Kontrolle um 30% erhöht.

Die Korrelation der Mineralisationsrate aus den Abbauprobversuchen mit der Entwicklung der Reduktaseaktivität bzw. der Substratinduzierten Respiration in den Durchwurzelungsversuchen zeigt eine direkte Proportionalität zwischen Abbauleistung und mikrobieller Aktivität in der Rhizosphäre. Die Mikroorganismen-Abundanz als Messparameter ist dagegen nicht in der Lage, die Entwicklung der Abbauleistung ausreichend wiederzugeben. Sowohl die Durchwurzelungsversuche als auch die Abbauprobversuche belegen, dass die Aktivitätserhöhung der Mikroorganismen ursächlich für die verstärkte Abbauleistung verantwortlich ist und indirekt von den strukturellen und physiologischen Veränderung des Wurzelsystems von *Bromus mollis* verursacht wird. Die Wurzeloberfläche allein ermöglicht als Messparameter zur Abbauleistung der Rhizosphäre von *Bromus mollis* nur tendenzielle Aussagen. Zum tiefergehenden Verständnis für die Vorgänge in der Rhizosphäre sollten bei zukünftigen Untersuchungen, neben Wurzeloberflächenmessungen, die Charakterisierung des physiologischen Zustands der Wurzel(-abschnitte) mit einbezogen werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ALEF K. & KLEINER D. (1989): Rapid and sensitive determination of microbial activity in soils and in soil aggregates by dimethylsulphoxide reduction. *Biology and Fertility of Soils*, **8**, 349-355.
- ALEF K. (1991): Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie. ecomed-Verlag, Landsberg/Lech.
- ALEXANDER M. & LUSTIGMAN B.K. (1966): Effects of chemical structure on microbial degradation of substituted benzenes. *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 410-413.
- ANDERSON T.A. & COATES J.R. (1994): Bioremediation through rhizosphere technology. ACS Symposium Series 563, Washington DC.
- ANDERSON T.A., GUTHRIE E.A. & WALTON B.T. (1993): Bioremediation in the rhizosphere. Plant roots and associated microbes clean contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 2630-2636.
- ANDERSON T.A. & WALTON B.T. (1991): Fate of ¹⁴C-trichlorethylene in soil-plant systems. ACS-Abstract, New York.
- ANDERSON T.H. & DOMSCH K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, **10**, 215-221.
- APRILL W. & SIMS R.C. (1990): Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*, **20**, 253-265.
- ATLAS R. & BARTHA R. (1992): Microbial ecology: fundamentals and applications. Benjamin/Cummings, Menlo Park.
- AUST S.D. (1990): Degradation of environmental pollutants by *Phanerochaete chrysosporium*. *Microb. Ecol.*, **20**, 197-209.
- BAKER A. (1989): Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, **1**, 81-126.
- BAKER A., BROOKS R. & REEVES R. (1988): Growing for gold...and copper...and zinc. *New Scientist*, **10**, 44-48.
- BALLSCHMITTER K. (1992): Transport und Verbleib organischer Verbindungen im globalen Rahmen. *Angew. Chem.*, **104**, 501-528.
- BARBER D.A. & MARTIN J.K. (1976): The release of organic substances by cereal root into soil. *New Phytol.*, **76**, 69-80.
- BECK T., ÖHLINGER R. & BAUMGARTEN A. (1993): Bestimmung der Biomasse mittels substratinduzierter Respiration (SIR). In: SCINNER F., ÖHLINGER R., KANDELER E. & MARGESIN R. (Hrsg.): Bodenbiologische Arbeitsmethoden. Springer-Verlag, Berlin.

- BELL R.M., SFERRA P.R., RYAN J.R. & VITELLO M.P. (1988): Studies of organic pollutant uptake by plants. In: WOLF K., VAN DER BRINK W.J. & COLON F.J. (eds.): Contaminated Soil'88. Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 451-458.
- BLUMER M. (1976): Polycyclic aromatic hydrocarbons in nature. *Sci. Am.*, **3**, 35-45.
- BMU (1997): Bodenschutz in Europa. *Umwelt*, 360.
- BMU (1999): Erstes Europäisches Bodenforum in Berlin – Bodenschutz und Bodenschutzpolitiken in der Europäischen Union. *Umwelt*, 586.
- BOLTON H., FREDERICKSON J.K. & ELLIOT L.F. (1993): Microbial ecology of the rhizosphere. In: METTING F.B. (ed.): Soil microbial ecology. Marcel Dekker, New York.
- BORDELEAU L.M. & BARTHA R. (1968): Ecology of a pesticide transformation: synergism of two soil fungi. *Soil Biol. Biochem.*, **3**, 175-184.
- BOWEN G.D. & ROVIRA A.D. (1961): The effects of micro-organisms on plant growth. I. Development of root and root hairs in sand and agar. *Pl. Soil*, **15**, 166-171.
- BOYLE J.J. & SHANN J.R. (1995): Biodegradation of phenol, 2,4-DCP, 2,4-D and 2,4,5-T in field collected rhizosphere and nonrhizosphere soils. *J. Environ. Qual.*, **24**, 782-785.
- BROWN K.W., ADAMS J (1983): Hazardous waste land treatment. Butterworth, Boston.
- Bundesbodenschutz-Gesetz (BodSchG) vom 17. März 1998. BGBl, I, S. 502.
- CAMPBELL R. (1985): Plant Microbiology. Edward Arnold, Baltimore, MD.
- CAMPBELL R. & GREAVES M. P. (1990): Anatomy and community structure of the rhizosphere. In: LYNCH J.M., (ed.): The rhizosphere. John Wiley & Sons, New York.
- CARLEY H.E. & WATSON R.D. (1966): A new gravimetric method for estimating root-surface areas. *Soil Sci.*, **102**, 289-291.
- CARMICHAEL L.M. & PFAENDER F.K. (1997): Polynuclear aromatic hydrocarbon metabolism in soils: relationship to soil characteristics and preexposure. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 666-675.
- CARSON E.W. (1974): The plant root and its environment. University of Virginia Press, Charlottesville.
- CHENG W. & COLEMAN D.C. (1990): Effect of living roots on soil organic matter decomposition. *Soil Biol. Biochem.*, **22**, 781-787.
- COOVER M.P. & SIMS R.C. (1987): The effect of temperature of polycyclic aromatic hydrocarbon persistence in an unacclimated agriculture soil. *Hazard. Waste Hazard. Mater.*, **4**, 69-82.
- CRAWFORD S.L., JOHNSON G.E. & GOETZ F.E. (1993): The potential for bioremediation of soils containing PAH's by composting. *Compost Science & Utilization*, **1**, 41-47.

- CUNNINGHAM S.C. & BERTI W. R. (1993): Remediation of contaminated soils with green plants: an overview. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, **29**, 207-212.
- CUNNINGHAM S.C. , BERTI W. R. & HUANG J.W. (1995): Phytoremediation of contaminated soils. *Tibtech.*, **13**, 393-397.
- CUNNINGHAM S.C. & OW D.W. (1996): Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.*, **110**, 715-719.
- CURL E.A. & TRUELOVE B. (1986): The rhizosphere. Springer-Verlag, Berlin.
- DAANE L.L., HARJONI I., ZYLSTRA G.J. & HAGGBLOM M.M. (2001): Isolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria associated with the rhizosphere of salt marsh plants. *Appl. Environ Microbiol.*, **67**, 2683-2691.
- DIETZ A.C. & SCHNOOR J.L. (2001): Advances in phytoremediation. *Environ. Health Perspect.*, **109**, 163-168.
- DOBBINS D.C. & PFAENDER F.K. (1988): Methodology of assessing respiration and cellular incorporation of radiolabelled substrates by soil microbial communities. *Microb. Ecol.*, **15**, 257-273.
- DONNELLY P.K., HEGDE R.S. & FLETCHER J.S.(1994): Growth of PCB-degrading bacteria on compounds from photosynthetic plants. *Chemosphere*, **28**, 981-988.
- EDWARDS N.T. (1986): Uptake, translocation and metabolism of anthracene in bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Environ. Toxicol. Chem.*, **5**, 659-665.
- ESCHENBACH A., KÄSTNER M., WIENBERG R & MAHRO B. (1995): Microbial PAH degradation in soil material from a contaminated site - mass balance experiments with *Pleurotus ostreatus* and different ¹⁴C-PAH. In: WOLF K., VAN DER BRINK W.J. & COLON F.J. (eds.): Contaminated Soil'95. Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 377-378.
- EVANS P.S. (1977): Comparative root morphology of some pasture grasses and clovers. *New Z. J. Agric. Res.*, **20**, 331-335.
- FAN S. & SCOW K.M. (1993): Biodegradation of trichloroethylene and toluene by indigenous microbial populations in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 1911-1918.
- FEDERLE T.W. & SCHWAB B.S. (1989): Mineralization of surfactants by microbiota of aquatic plants. *Appl. Environ Microbiol.*, **55**, 2092-2094.
- FEERO A.M., SIMS R.C. & BUGBEE B. (1994): Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. *J. Environ. Qual.*, **23**, 272-279.
- FEINBERG E.L., RAMAGE P.I.N. & TRUDGILL P.W. (1980): The degradation of n-alkylcycloalkanes by a mixed bacterial culture. *J. Gen. Microbiol.* **121**, 507-511.

- FLETCHER J.S. & HEGDE R.S. (1996): Release of phenols by perennial plant roots and their potential importance in bioremediation. *Chemosphere*, **31**, 3009-3016.
- FOERSTER E. (1983): Pflanzengesellschaften des Grünlandes in Nordrhein-Westfalen. Schriftenreihe der Landesanstalt für Ökologie, Landesentwicklung und Forstplanung Nordrhein-Westfalen, Recklinghausen.
- FRENZEL B. (1960): Zur Ätiologie der Anreicherung von Aminosäuren und Amiden im Wurzelraum von *Helianthus annuus* L. Ein Beitrag zur Klärung der Probleme der Rhizosphäre. *Planta*, **55**, 169-207.
- FÜHR F., STEFFENS W., MITTELSTAEDT W. & BRUMHARD B. (1989): Pflanzenschutzmittel: Gift in Boden und Grundwasser. Jahresb. Forschungszentrum Jülich, 1-15.
- GHIORSE W.C. & BALKWILL D.L. (1993): Enumeration and morphological characterization of bacteria indigenous to subsurface environments. *Dev. Ind. Microbiol.*, **24**, 213-244.
- GRIFFITHS D.C. & WALKER N. (1979): Microbiological degradation of parathion. *Meded. Fac. Landbouwwetensch. Rijksuniv. Gent*, **35**, 805-810.
- GÜNTHER T. & FRITCHE W. (1996): Phytoremediation - Förderung der Schadstoff-eliminierung aus Böden durch Mikroben-Pflanzen-Interaktionen. In: KREYSA G. & WIESNER J.: In-situ-Sanierung von Böden. 11. Dechema-Fachgespräch Umweltschutz, Frankfurt Main, 241-246.
- GUNNER H.B. & ZUCKERMAN B.M. (1968): Degradation of diazon by synergistic microbial action. *Nature*, **217**, 1183-1184.
- HABY P.A. & CROWLEY D.E. (1996): Biodegradation of 3-chlorobenzoate as affected by rhizodeposition and selected carbon substrates. *J. Environ. Qual.*, **25**, 304-3010.
- HAIDER K. & SCHÄFFER A. (2000) : Umwandlung und Abbau von Pflanzenschutzmitteln in Böden : Auswirkungen auf die Umwelt. Enke im Georg Thime Verlag, Stuttgart.
- HANCOCK J.L, APPLGATE H.G. & DOD J.D. (1970): Polynuclear aromatic hydrocarbons on leaves. *Atmos. Environ.*, **4**, 363-370.
- HARKEY G.A., VAN HOOF P.L & LANDRUM P.F. (1995): Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons from a historically contaminated sediment core. *Environ. Toxicol. Chem.*, **14**, 1551-1560.
- HARVEY R.G. (1991): Polycyclic aromatic hydrocarbon, chemistry and carcinogenicity. Cambridge University Press, New York.
- HATZINGER P.B. & ALEXANDER M. (1995): Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 537-545.
- HAUTALA E.-L. & ROY S. (1995): Moss-bags in monitoring polyaromatic hydrocarbons along a major highway. Fifth SETAC-Europe Congress, Copenhagen.

- HEGDE R.S. & FLETCHER J.S. (1995): Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of phytoremediation technology. *Chemosphere*, **32**, 2471-2479.
- HILTNER L. (1904): Über neuere Erfahrungen und Probleme aus dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arb. Dtsch. Landwirtsch. Ges.*, **98**, 59-78.
- HOPKINS G.D., SEMPRINI L. & MCCARTY P.L. (1993): Microcosm and in situ field studies of enhanced biotransformation of trichlorethylene by phenol-utilizing microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2277-2285.
- HSU T.-S. & BARTHA R. (1979): Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 36-41.
- KATZNELSON H. (1946): The rhizosphere effect of mangels on certain groups of microorganisms. *Soil Sci.*, **62**, 343-354.
- KINDER H.-P., OSIUS G. & TIMM J. (1982): Statistik für Biologen und Mediziner. Vieweg & Sohn, Braunschweig.
- KIRSTEN W.J. (1983): Organic elemental analysis. Ultramicro, micro, and trace methods. Academic Press, New York.
- KLAPP E. & v. BOBERFELD W.O. (1990): Taschenbuch der Gräser. Paul Parey, Berlin.
- KNAEBEL D. B. & VESTAL J.R. (1992): Effects of intact rhizosphere communities on the mineralization of surfactants in surface soils. *Can. J. Microbiol.*, **38**, 643-653.
- KNOX R.C., SABATINI D.A. & CANTER L.W. (1993): Subsurface transport and fate processes. Lewis Publ., Boca Raton, Fl.
- LANDOLT E. (1991): Rote Liste der Gefäßpflanzen der Schweiz. Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft, Bern.
- LAPPIN H.M., GREAVES M.P. & SLATER J.H. (1985): Degradation of the herbicide mecoprop [2-(22-methyl-4-chlorophenoxy)propionoc acid] by a synergistic microbial community. *Appl. Environm. Microbiol.*, **49**, 429-433.
- LEE E. & BANKS M.K. (1993): Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: a microbial study. *J. Environ. Sci. Health*, **A28**, 2187-2198.
- LICHTENSTEIN E.P. & SCHULZ K.R. (1964): The effects of moisture and microorganisms on the persistence and metabolism of some organophosphorus insecticides in soils, with special emphasis on parathion. *J. Econ. Ent.*, **57**, 618-627.
- LISTE H.H. & ALEXANDER M. (2000): Accumulation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere soil. *Chemosphere*, **40**, 11-14.

- LOKKE H. (1985): Degradation of 4-nitrophenol in two danish soils. *Environ. Pollution*, **38A**, 171-181.
- LYNCH J.M. (1983): Soil Biotechnology. Microbiological factors in crop productivity. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- LYNCH J.M. (1990): The rhizosphere. John Wiley & Sons, New York.
- LYNCH J.M. & WHIPPS J.M. (1990): Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*, **129**, 1-10.
- NEWELL S.Y., FALLON R.D. & TABOR P.S. (1986): Direct microscopy of natural assemblages. In: POINDEXTER J.S. & LEADBETTER E.R. (eds.): Bacteria in nature. Vol. 2, Plenum Press, New York.
- PARK K.S., SIMS R.C., DUPONT R.R., DUCETTE W.J. & MATTHEWS J.E. (1990): Fate of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in two soil types: Influence of volatilization, abiotic loss and biological activity. *Environ. Tox. Chem.*, **9**, 187-195.
- PARKINSON D.S., GARY T.R.G. & WILLIAMS S.T. (1971): Methods for studing the ecology of soil microorganisms. Blackwell, Oxford.
- PEARSON R. & PARKINSON D.S. (1961): The sites of excretion of ninhydrin-positive substances by broad bean seedlings. *Plant Soil*, **13**, 391-396.
- PEINE F.-J. (1999): Das Bundes-Bodenschutzgesetz. *Natur und Recht*, **21**, 121-127.
- PERKOVICH B.S., ANDERSON T.A., KRUGER E.L. & COATS J.R. (1996): Enhanced mineralization of [¹⁴C]atrazine in *Kochia scoparia* rhizospheric soil from a pesticide-contaminated site. *Pestic. Sci.*, **46**, 391-396.
- PHILLIPS D.H. (1985): Chemical carcinogens. In: FARMER P.B. & WALKER J.M. (eds.): The molecular basis of cancer. John Wiley & Sons, New York.
- PIERZYNSKI G.M., SCHNOOR J.L., BANKS M.K., TRACY J.C., LICHT L.A. & ERICKSON L.E. (1994): Vegetative remediation at superfund sites. In: HESTER R.E. & HARRISON R.M. (eds.): Mining and its environmental impact. Royal Society of Chemistry, Cambridge,UK, 49-69.
- PRADHAN S.P., CONRAD J.R., PATEREK J.R. & SRIVASTAVA V.J. (1998): Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites. *J. Soil Contamin.*, **7**, 467-480.
- PRIKRYL Z. & VANCURA V. (1980): Root exudates of plants. VI. Wheat root exudation as dependent on growth, concentration gradient of exudates and the presence of bacteria. *Plant Soil*, **57**, 69-83.
- PÜTTMANN W. & GOBEL W. (1988): Analytik von aromatischen Kohlenwasserstoffen in Abraummaterial aus dem Steinkohlenbergbau. *Wissenschaft und Umwelt*, **3**, 123-130.

- RAYMOND D.G.M. & ALEXANDER M. (1971): Microbial metabolism and cometabolism of nitrophenols. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1**, 123-130.
- RASOLAMANA J.L. & BALANDREAU J. (1987): Rule de la rhizospère dans la biodégradation de composés récalcitrants: cas d'une rizière polluée par des résidus pétroliers. *Rev. Écol. Biol. Sol.*, **24**, 443-457.
- REILLEY K.A., BANKS M.K. & SCHWAB A.P. (1996): Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J. Environ. Qual.*, **25**, 212-219.
- REYNOLDS C.M., WOLF D.C., GENTRY T.J., PERRY L.B., PIGEON C.S., KOENEN B.A., ROGERS H.B. & BEYROUTY C.A. (1999): Plant enhancement of indigenous soil micro-organisms: a low-cost treatment of contaminated soils. *Polar Record*, **35**, 33-40.
- RICE E.L. (1984): Allelopathy. Academic Press, Orlando, Florida.
- ROVIRA A.D. & DAVEY C.B. (1974): Biology of the rhizosphere. In: CARSON E.W. (ed.): The plant root and its environment. Univ. Virginia Press, Charlottesville, 153-204.
- SANDMAN E.R.I.C. & LOOS M.A. (1984): Enumeration of 2,4-D-degrading microorganisms in soils and crop plant rhizospheres using indicator media; high populations associated with sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Chemosphere*, **13**, 1073-1084.
- SCHNOOR J.L., LICHT L.A., MCCUTCHEON S.C., WOLFE N.L. & CARREIRA L.H. (1995): Phytoremediation of contaminated soils and sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 318-323.
- SCHUPHAN I. (1986): Determination of the quantitative ecochemical and ecotoxicological behaviour of pesticides using vegetation chambers with controlled ventilation conditions. *Plant Research Develop.*, **23**, 91-108.
- SEIBERT K. FÜHR F. & CHENG H.H. (1981): Experiments on the degradation of atrazine in the maize-rhizosphere. In: Theory and practical use of soil applied herbicides symposium. European weed resource society, 137-146.
- SENIOR E., BULL A.T. & SLATER J.H. (1976): Enzyme evolution in a microbial community growing on the herbicide dalapon. *Nature*, **263**, 476-479.
- SHABAD L.M. & COHAN Y. L. (1972): The contents of benzo[a]pyrene in some crops. *Arch. Geschwulstforsch.*, **40**, 237-246.
- SICILIANO S.D. & GERMIDA J.J. (1997): Bacterial inoculants of forage grasses that enhance degradation of 2-chlorobenzoic acid in soil. *Environ. Toxicol Chem.*, **16**, 1089-1104.
- SMITH W.H. (1970): Root exudates of seedlings and mature sugar maple. *Phytopathology*, **60**, 701-703.
- SPAIN J.C., PRITCHARD P.H. & BOURQUIN A.W. (1980): Effects of adaption on biodegradation rates in sediments/water cores from estuarine and freshwater environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**, 726-734.

- SPARLING G.P. & SEARLE P.L. (1993): Dimethyl sulphoxide reduction as a sensitive indicator of microbial activity in soil: The relationship with microbial biomass and mineralization of nitrogen and sulphur. *Soil Biol. Biochem.*, **25**, 251-256.
- STREIT B: (1991): Lexikon Ökotoxikologie. VCH-Verlag, Weinberg.
- SUDHAKAR-BARIK & SETHUNATHAN N. (1978): Metabolism of nitrophenols in flooded soils. *J. Environ. Qual.*, **7**, 349-352.
- SUESS M.J. (1976): The environmental load and cycle of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci. Tot. Environ.*, **6**, 239-250.
- SUTHERLAND J.B. (1992): Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *J. Ind. Microbiol.*, **9**, 53-62.
- TROLL W. (1967): Morphologie der höheren Pflanzen: Vegetationsorgane IV. Wurzel und Wurzelsysteme. Gebr. Borntraeger, Berlin.
- USEPA (1979): Water related environmental fate of 127 priority pollutants. Vol. 1 & 2. EPA-440/4-79-029b.
- VANCURA V. & HANZLIKOVA A. (1972): Root exudates of plants. IV. Differences in chemical composition of seed and seedlings exudates. *Plant Soil*, **36**, 271-282.
- ZINDER S.H. & BROCK T.D. (1978): Dimethyl sulphoxide reduction by microorganisms. *J. Gen. Microbiol.*, **105**, 335-342.

7. ANHANG

Abkürzungsverzeichnis

B1, B2, B3	Aussaaddichten v. <i>Bromus mollis</i> (B1 < B2 < B3)
DMS	Dimethylsulfid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dpm	decay counts per minute
K	nicht bepflanzter Kontrollansatz
Mw	Mittelwert
r ²	Bestimmtheitsmaß
Stabw	Standardabweichung
TM	Trockenmasse
W1	Wurzeln 1. Ordnung
W2	Wurzeln 2. Ordnung
W-OF	Wurzeloberfläche
Wh	Wurzelhaare

Tab. A-1: DMSO-Reduktionsrate - Reduktaseaktivität (Vorversuch).C - *Cichorium intybus*, L - *Lolium perenne*, B - *Bromus mollis*, K - Kontrolle,

je Ansatz vier Bodenproben, je Bodenprobe eine Messung,

Mw: Mittelwert der Messungen, Stabw: Standardabweichung,

Inkubationszeit der Proben: 24h (Bei t=21 Inkubationszeitzeit: 27h).

	Peakflächen					Reduktaseaktivität DMS [ng] / g x h			
	C	L	B	K	Stand.	C	L	B	K
t[d]=1	3888	3932	3932	3888	4424	416	421	421	416
	3865	4235	4235	3865	4846	377	414	414	377
	3913	4147	4147	3913	4609	402	427	427	402
	4255	3819	3819	4255	4626	435	391	391	435
	Mw					407	414	414	407
Stabw					24	16	16	24	
t[d]=7	3143	3249	3450	3379	4936	292	304	307	307
	2994	3289	3304	3241	4852	283	313	299	299
	3036	3263	3475	3127	5133	271	294	297	273
	3100	3221		3012	5298	268	281		255
	Mw					278	298	301	283
Stabw					11	14	5	24	
t[d]=14	3695	3531	3852	3928	4798	347	337	369	363
	3583	3482	3947	3741	4816	335	331	377	344
	3785	3890	3840	4118	4823	354	370	366	379
	3854	3629		4137	4851	358	343		378
	Mw					349	345	371	366
Stabw					10	17	6	16	
t[d]=21	4361	5466	5817	5020	5122	372	406	454	396
	5164	5308	6253	5262	5136	439	393	487	414
	4334	5822	5828	5377	5360	353	414	435	405
	4533	5775		5283	5592	354	393		382
	Mw					380	402	459	399
Stabw					41	10	26	14	
t[d]=28	3287	3768	3757	3520	4218	340	359	421	370
	3542	3695	3881	4099	4210	367	353	435	432
	3597	3815	3904	3710	4300	364	357	429	382
	3916	3637	4244	3351	4100	416	357	489	362
	Mw					372	356	443	387
Stabw					32	3	31	31	
t[d]=36	3897	3925	4155	3144	4497	372	385	401	310
	3702	3957	3924	3349	4774	333	366	356	311
	3859	4349	3790	3306	4679	354	410	351	313
	3943	3705	3755	3664	4520	375	362	360	359
	Mw					358	381	367	323
Stabw					19	22	23	24	
t[d]=49	4330	4383	4468	3561	3587	507	520	539	427
	4425	4720	4352	3658	3230	576	621	583	487
	4262	4298	4366	3882	3333	537	548	567	501
		4405		3918	3533		530		477
	Mw					540	555	563	473
Stabw					34	46	22	32	

Tab. A-2: Mikroorganismenabundanz - Plattenversuch (Vorversuch).C - *Cichorium intybus*, L - *Lolium perenne*, B - *Bromus mollis*, K - Kontrolle,

je Ansatz zwei Bodenproben (a u. b) je Bodenprobe eine Verdünnungsreihe mit je vier Messungen.

Mw: Mittelwert der Einzelwerte einer Verdünnungsreihe, Stabw (E): Standardabweichung der Einzelwerte,

Mw (a+b): Mittelwert aller Einzelwerte, Stabw (Mw): Standardabweichung der Mittelwerte (Mw),

Inkubationszeit der Proben: 7d (T=20°C).

		Abundanz pro g Boden (TM) x 10 ⁷							
		C (a)	C (b)	L (a)	L (b)	B (b)	B (a)	K (a)	K (b)
t[d]=1		11	32	29	19	37	19	21	11
		8	19	27	21	32	24	13	32
		21	24	16	35	19	13	21	19
		8	27	24	13	35	32	16	21
	Mw	12,0	25,5	24,1	22,1	30,7	22,1	18,1	20,7
	Stabw (E)	6,4	5,6	5,8	9,1	8,3	8,0	4,0	8,8
	Stabw (Mw)		18,8		23,1		26,4		19,4
t[d]=7		8	16	30	20	18	10	32	84
		5	10	22	13	16	8	37	71
		16	18	20	18	23	16	30	73
		8	13	20	20	26	13	42	78
	Mw	9,1	14,4	23,0	17,7	20,7	11,7	35,4	76,6
	Stabw (E)	4,5	3,4	4,7	3,6	4,7	3,4	5,5	5,6
	Stabw (Mw)		11,7		20,3		16,2		56,0
t[d]=14		25	13	10	55	0	18	31	23
		31	10	16	48	5	8	29	33
		23	13	13	50	3	16	26	30
		25	10	8	68	5	13	36	23
	Mw	26,1	11,7	11,7	55,1	3,2	13,6	30,6	26,9
	Stabw (E)	3,2	1,5	3,4	8,9	2,4	4,4	4,4	5,2
	Stabw (Mw)		18,9		33,4		8,4		28,8
t[d]=21		14	53	46	57	67	87	18	18
		22	41	41	75	47	114	10	36
		17	53	36	62	81	80	23	31
		14	44	64	39	64	73	36	39
	Mw	16,7	47,8	46,4	57,8	64,6	88,4	21,6	30,8
	Stabw (E)	3,9	6,4	12,2	14,9	13,7	18,0	10,7	9,1
	Stabw (Mw)		32,2		52,1		76,5		26,2
t[d]=28		81	45	37	40	32	55	77	15
		89	43	32	43	37	41	91	28
		76	59	43	33	32	57	83	23
		96	45	51	38	44	66	96	13
	Mw	85,6	48,3	40,7	38,2	36,3	54,5	86,8	19,4
	Stabw (E)	8,6	7,3	8,0	4,3	5,8	10,3	8,3	6,9
	Stabw (Mw)		66,9		39,5		45,4		53,1
t[d]=36		83	37	27	45	22	70	56	60
		87	52	22	43	19	77	66	70
		78	35	27	35	29	85	51	40
		78	30	25	40	27	47	56	50
	Mw	81,3	38,7	25,1	40,7	24,3	69,9	57,6	55,1
	Stabw (E)	4,6	9,7	2,3	4,3	4,4	16,2	6,2	12,9
	Stabw (Mw)		60,0		32,9		47,1		56,4
		30,1		11,0		32,3		1,7	

Tab. A-3: Wurzellängen, -durchmesser und -oberflächen von *Bromus mollis* sowie Anzahl Wurzelhaare pro Millimeter (Versuch1).

W1: Wurzel 1. Ordnung, W2: Wurzel 2. Ordnung, Wh: Wurzelhaar, Wges: Wurzel gesamt, Mw: Mittelwert, P1-P6: Pflanzen eines Versuchstages.

t [d]		Länge [mm]				Anzahl Wh [mm ⁻¹]	Durchmesser [mm]			Wurzeloberfläche [mm ²]			
		W 1	W 2	Wh einzeln	Wh gesamt		W 1	W 2	Wh	W1	W 2	Wh	Wges
8	P1	30		0,47	880	63	0,33		0,01	31		30	61
	P2	56		0,53	1900	64	0,40		0,01	70		66	135
	P3	45		0,47	956	45	0,30		0,01	43		33	76
	P4	16		0,69	702	64	0,39		0,01	19		24	44
	P5	14		0,68	449	47	0,39		0,01	17		16	32
	Mw										36		34
15	P1	91	120	0,52	4062	37	0,30	0,15	0,01	85	58	140	283
	P2	63		0,63	1597	40	0,26		0,01	52		55	107
	P3	42	80	0,68	2893	35	0,33	0,14	0,01	44	36	100	179
	P4	30	30	0,50	809	27	0,34	0,11	0,01	32	10	28	70
	P5	104		0,56	2159	37	0,29		0,01	93		75	168
	P6	29	15	0,57	623	25	0,32	0,14	0,01	29	7	22	57
Mw										56	28	70	144
29	P1	61	80	0,62	2887	33	0,33	0,17	0,01	63	41	100	204
	P2	140	120	0,64	5125	31	0,32	0,13	0,01	140	50	177	367
	P3	112	120	0,59	5198	38	0,33	0,14	0,01	116	54	180	349
	P4	122	140	0,65	5992	35	0,32	0,11	0,01	122	48	207	378
	P5	95	155	0,61	6116	40	0,28	0,12	0,01	82	59	211	352
	Mw										105	50	175
36	P1	285	259	0,55	10310	34	0,33	0,13	0,01	295	102	356	753
	P2	245	582	0,59	16704	34	0,34	0,12	0,01	258	211	577	1046
	P3	100	390	0,59	9897	34	0,32	0,12	0,01	100	148	342	590
	P4	109	304	0,59	8342	34	0,34	0,13	0,01	117	126	288	531
	P5	38	21	0,59	1192	34	0,30	0,10	0,01	35	7	41	83
	Mw										161	119	321

Tab. A-5: Wurzel-, Samen- und Sprosstrockenmasse von *Bromus mollis* (Versuch1).

Mw: Mittelwert, P1-P6: Pfl. eines Versuchstages, B1-B3 Ansätze mit verschiedenen Aussaatdichten.

t[d]		Trockenmasse [mg]			
		Wurzel	Samen	Spross	gesamt
15	P1	0,16	3,66	0,23	4,05
	P2	0,41	2,14	0,72	3,27
	P3	0,31	2,22	1,04	3,57
	P4	0,36	1,12	0,2	1,68
	Mw	0,31	2,29	0,55	3,14
22	P1	0,91	1,15	2,6	4,66
	P2	0,29	1,94	0,36	2,59
	P3	0,2	1,76	1,23	3,19
	P4	0,25	0,73	2,36	3,34
	P5	0,72	1,29	1,12	3,13
	P6	0,17	1,8	1,76	3,73
	Mw	0,42	1,45	1,57	3,44
29	P1	0,352		5,32	5,67
	P2	0,793		7,06	7,85
	P3	0,546		4,44	4,99
	P4	0,54		4,7	5,24
	P5	0,415		2,39	2,81
	Mw	0,53		4,78	5,31
36	P1	3,33		21,5	24,83
	P2	4,85		35,5	40,35
	P3	2,13		22,9	25,03
	P4	2,27		10,2	12,47
	P5	1,53		1,33	2,86
	Mw	2,82		18,29	21,11
65	B3-P1	10,51		45,64	56,15
	B3-P2	30,00		35,81	65,81
	B3-P3	19,76		51,22	70,98
	B3-Mw	20,09		44,22	64,31
	B2-P1	45,88		87,65	133,53
	B2-P2	79,09		104,55	183,64
	B2-P3	80,71		77,86	158,57
	B2-Mw	68,56		90,02	158,58
	B1-P1	83,57		217,14	300,71
	B1-P2	124,29		224,29	348,57
B1-P3	145,00		335,00	480,00	
B1-Mw	117,62		258,81	376,43	

Tab. A-6: Wurzeltrockenmasse von *Bromus mollis* (Versuch1).

t[d] = 15,22,29,36,65 Mittelwerte (s.o.); t[d] = 8,43,50,58 graphisch ermittelt, B1-B3: Ansätze mit verschiedenen Aussaatdichten.

t(d)	W-TM [mg]		
	B3	B2	B1
8	0,15	0,15	0,15
15	0,31	0,31	0,31
22	0,42	0,42	0,42
29	0,53	0,53	0,53
36	2,82	2,82	2,82
43	5,12	11,90	20,32
50	7,90	26,70	45,00
58	13,90	48,00	81,00
65	20,09	68,56	117,62

Tab. A-7: Wurzellängen, -durchmesser und -oberflächen von *Bromus mollis* sowie Anzahl Wurzelhaare pro Millimeter (Versuch2).

W1: Wurzel 1. Ordnung, W2: Wurzel 2. Ordnung, Wh: Wurzelhaar, Wges: Wurzel gesamt, Mw: Mittelwert, P1-P6: Pflanzen eines Versuchstages.

t [d]		Länge [mm]				Anzahl Wh [mm ⁻¹]	Durchmesser [mm]			Wurzeloberfläche [mm ²]			
		W 1	W 2	Wh einzeln	Wh gesamt		W 1	W 2	Wh	W1	W 2	Wh	Wges
8	P1	12		0,59	353	50	0,32		0,011	12	0	12	24
	P2	32		0,54	938	54	0,38		0,011	38	0	32	71
	P3	21		0,58	729	60	0,36		0,011	24	0	25	49
	Mw									25	0	23	48
13	P1	35	90	0,40	2802	56	0,31	0,12	0,011	34	34	97	165
	P2	86	58	0,69	4254	43	0,33	0,16	0,011	89	29	147	265
	P3	54		0,70	1803	48	0,33		0,011	56	0	62	118
	Mw									60	21	102	183
21	P1	45	68	0,77	4886	56	0,32	0,14	0,011	45	30	169	244
	P2	77	240	0,51	6965	43	0,34	0,14	0,011	82	106	241	428
	P3	69	120	0,57	2463	23	0,32	0,12	0,011	69	45	85	200
	Mw									66	60	165	291
34	P1	230	340	0,77	14850	34	0,34	0,13	0,011	246	139	513	897
	P2	158	562	0,60	19562	45	0,38	0,14	0,011	189	247	676	1111
	P3	174	568	0,72	22337	42	0,32	0,15	0,011	175	268	772	1214
	Mw									203	218	653	1074
41	P1	470	560	0,48	22016	45	0,37	0,14	0,011	546	246	760	1553
	P2	370	1203	0,63	27649	28	0,36	0,12	0,011	418	453	955	1827
	P3	860	780	0,61	42753	43	0,29	0,16	0,011	783	392	1477	2652
	Mw									582	364	1064	2010

Tab. A-8: Wurzelhaarlänge von *Bromus mollis* (Versuch2).

MW (P): Mittelwert der Messungen an den Pflanzen P1-P6,

Mw, Stabw: Mittelwert und Standardabweichung der Mittelwerte aller Pflanzen eines Versuchstages.

t [d]		Mw(P) [mm]	Wh1 [mm]	Wh2 [mm]	Wh3 [mm]	Wh4 [mm]
8	P1	0,59	0,671	0,655	0,48	0,55
	P2	0,54	0,621	0,456	0,466	0,628
	P3	0,58	0,59	0,44	0,6	0,683
	Mw	0,57				
	Stabw	0,09				
13	P1	0,40	0,56	0,327	0,231	0,483
	P2	0,69	0,782	0,522	0,704	0,74
	P3	0,70	0,682	0,68	0,54	0,88
	Mw	0,59				
	Stabw	0,19				
21	P1	0,77	0,85	0,8305	0,762	0,646
	P2	0,51	0,63	0,684	0,381	0,349
	P3	0,57	0,652	0,573	0,746	0,295
	Mw	0,62				
	Stabw	0,19				
34	P1	0,77	0,64	0,833	0,852	0,74
	P2	0,60	0,23	0,765	0,79	0,63
	P3	0,72	0,71	0,764	0,64	0,753
	Mw	0,70				
	Stabw	0,16				
41	P1	0,48	0,304	0,574	0,484	0,538
	P2	0,63	0,382	0,743	0,644	0,742
	P3	0,61	0,787	0,597	0,563	0,478
	Mw	0,57				
	Stabw	0,15				

Tab. A-9: Wurzel-, Samen- und Spross trockenmasse von *Bromus mollis* (Versuch2).

Drei Ansätze mit verschiedenen Aussaatdichten (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17) und zwei Pflanzproben (P1,P2) je Versuchstag.

t[d]		Trockenmasse [mg]			gesamt
		Wurzel	Samen	Spross	
8	B3-P1	0,08	3,23	0,08	3,39
	B3-P2	0,11	1,99	0,28	2,38
	B2-P1	0,02	1,78	0,02	1,82
	B2-P2	0,18	2,34	0,33	2,85
	B1-P1	0,27	2,87	0,98	4,12
	B1-P2	0,12	3,15	0,3	3,57
	Mw	0,13	2,56	0,33	3,02
13	B3-P1	0,12	2,21	0,18	2,51
	B3-P2	0,24	1,76	1,21	3,21
	B2-P1	0,23	3,23	0,98	4,44
	B2-P2	0,19	2,42	0,56	3,17
	B1-P1	0,28	2,46	1,47	4,21
	B1-P2	0,13	2,21	0,4	2,74
	Mw	0,20	2,38	0,80	3,38
21	B3-P1	0,45	1,65	0,57	2,67
	B3-P2	0,73	1,11	1,54	3,38
	B2-P1	0,71	1,87	1,77	4,35
	B2-P2	0,43	0,76	1,13	2,32
	B1-P1	0,65	1,43	2,65	4,73
	B1-P2	0,69	1,34	1,88	3,91
	Mw	0,61	1,36	1,59	3,56
34	B3-P1	1,82		10,60	12,42
	B3-P2	2,72		9,88	12,60
	B3-Mw	2,27		10,24	12,51
	B2-P1	2,98		13,9	16,88
	B2-P2	2,56		11,2	13,76
	B2-Mw	2,77		12,55	15,32
	B1-P1	3,87		12,8	16,67
	B1-P2	3,68		18,6	22,28
	B1-Mw	3,78		15,70	19,48
	Mw				
41	B3-P1	6,90		13,40	20,30
	B3-P2	9,10		18,90	28,00
	B3-P3	7,20		17,00	24,20
	B3-Mw	7,73		16,43	24,17
	B2-P1	8,70		29,10	37,80
	B2-P2	8,90		35,40	44,30
	B2-P3	12,30		48,00	60,30
	B2-Mw	9,97		37,50	47,47
	B1-P1	14,70		60,80	75,50
	B1-P2	20,30		76,50	96,80
	B1-P3	16,00		64,90	80,90
	B1-Mw	17,00		67,40	84,40

Tab. A-9 (Fortsetzung): Wurzel-, Samen- und Sprosstrockenmasse von *Bromus mollis* (Versuch2).
Messungen für t[d] = 54 und 63 indirekt (s. Methoden).

t[d]		Trockenmasse [mg]			gesamt
		Wurzel	Samen	Spross	
48	B3-P1	11,30		30,1	41,40
	B3-P2	10,40		27,9	38,30
	B3-P3	12,20		27,8	40,00
	B3-Mw	11,30		28,60	39,90
	B2-P1	20,50		55,4	75,90
	B2-P2	14,90		50,1	65,00
	B2-P3	23,80		58,6	82,40
	B2-Mw	19,73		54,70	74,43
	B1-P1	29,60		140,30	169,90
	B1-P2	37,20		149,50	186,70
	B1-P3	37,80		147,40	185,20
	B1-Mw	34,87		145,73	180,60
54	B3	17,23		33,97	51,20
	B2	33,9		85,07	118,97
	B1	66,97		219,01	285,98
63	B3-P1	25,74		42,77	68,51
	B3-P2	23,75		50,18	73,93
	B3-P3	19,18		40,41	59,59
	B3-Mw	22,89		44,45	67,34
	B2-P1	53,13		160,00	213,13
	B2-P2	66,47		111,76	178,24
	B2-P3	53,91		125,65	179,57
	B2-Mw	57,84		132,47	190,31
	B1-P1	107,27		279,09	386,36
	B1-P2	150,00		512,00	662,00
	B1-P3	146,67		370,00	516,67
	B1-Mw	134,65		387,03	521,68

Tab. A-10: Wurzelrockenmasse (W-TM) von *Bromus mollis* pro Bodentrockenmasse (B-TM), (Versuch1).

Ansätze mit unterschiedlichen Aussaatdichten (in Pfl./cm²): B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21;

für t[d] = 15,22,29,36,65 berechnet aus direkten Messungen;

für t[d] = 8,43,50,58 berechnet aus graphisch ermittelten Werten (mittleres spez. Bodengewicht 0,827 g/cm³).

t[d]	W-TM / B-TM [mg/g]		
	B3	B2	B1
0	0,0	0,0	0,0
8	1,2	0,4	0,2
15	2,6	0,8	0,5
22	3,5	1,0	0,7
29	4,4	1,3	0,8
36	23,4	6,9	4,4
43	42,5	29,2	32,0
50	65,5	65,5	71,0
58	115,3	117,7	127,7
65	166,6	168,2	185,5

Tab. A-11: Wurzeloberfläche (W-OF) von *Bromus mollis* pro Bodentrockenmasse (B-TM), (Versuch1).

Ansätze mit unterschiedlichen Aussaatdichten (in Pfl./cm²): B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21;

für t[d] = 15,22,29,36 berechnet aus direkten Messungen;

für t[d] = 8,43,50,58,65 berechnet aus der Trockenmasse (s. Methoden).

t[d]	W-OF / B-TM [cm ² /g]		
	B3	B2	B1
0	0	0	0
8	578	171	110
15	1196	354	227
22	1895	561	360
29	2737	810	520
36	5020	1485	955
43	9115	6266	6878
50	14064	14059	15233
58	24746	25275	27419
65	35765	36101	39815

Tab. A-12: Wurzeloberfläche (W-OF) von *Bromus mollis* pro Bodentrockenmasse (B-TM), (Versuch1; korrigiert).

Ansätze mit unterschiedlichen Aussaatdichten (in Pfl./cm²): B3 = 1,11; B2 = 0,33; B1 = 0,21;

für t[d] = 15,22,29,36 berechnet aus direkten Messungen;

für t[d] = 8,43,50,58,65 (s. Tab.) Werte korrigiert um die altersbedingte Änderung des Wurzeloberflächen-Trockenmasse-Verhältnisses und der altersbedingten Abnahme der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung.

t[d]	W-OF / B-TM [cm ² /g]		
	B3	B2	B1
0	0	0	0
8	578	171	110
15	1196	354	227
22	1895	561	360
29	2737	810	520
36	5020	1485	955
43	7800	5362	5886
50	11014	11010	11929
58	14840	15157	16443
65	19188	19368	21361

Tab. A-13: Wurzelrockenmasse (W-TM) von *Bromus mollis* pro Bodentrockenmasse (B-TM), (Versuch2).

Ansätze mit unterschiedlichen Aussaatdichten (in Pfl./cm²): B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17;
für t[d] = 8,13,21,34,41 berechnet aus direkten Messungen;
für t[d] = 54,63 berechnet aus indirekten Messungen (mittleres spez. Bodengewicht 0,827 g/cm³).

t[d]	W-TM / B-TM [mg/g]		
	B3	B2	B1
0	0,0	0,0	0,0
8	1,3	0,5	0,2
13	1,8	0,6	0,3
21	5,4	2,0	0,8
34	20,2	9,1	4,8
41	68,6	32,6	21,8
48	100,3	64,5	44,8
54	153,0	110,9	86,0
63	203,2	189,2	172,9

Tab. A-14: Wurzeloberfläche (W-OF) von *Bromus mollis* pro Bodentrockenmasse (B-TM), (Versuch2).

Ansätze mit unterschiedlichen Aussaatdichten (in Pfl./cm²): B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17;
für t[d] = 8,13,21,34,41 berechnet aus direkten Messungen;
für t[d] = 48,54,63 berechnet aus der Trockenmasse (s. Methoden).

t[d]	W-OF / B-TM [cm ² /g]		
	B3	B2	B1
0	0	0	0
8	425	157	62
13	1622	598	235
21	2580	950	373
34	9535	3513	1379
41	17845	6575	2582
48	26110	13019	5295
54	39819	22365	10169
63	52889	38156	20447

Tab. A-15: Wurzeloberfläche (W-OF) von *Bromus mollis* pro Bodentrockenmasse (B-TM), (Versuch2; korrigiert).

Ansätze mit unterschiedlichen Aussaatdichten (in Pfl./cm²): B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17;
für t[d] = 8,13,21,34,41 berechnet aus direkten Messungen;
für t[d] = 48,54,63 (s. Tab.:) Werte korrigiert um die altersbedingte Änderung des Wurzeloberflächen-Trockenmasse-Verhältnisses und der alterbedingten Abnahme der Wurzelhaardichte an den Wurzeln 1. Ordnung.

t[d]	W-OF / B-TM [cm ² /g]		
	B3	B2	B1
0	0	0	0
8	425	157	62
13	1622	598	235
21	2580	950	373
34	9535	3513	1379
41	12612	5989	4011
48	16865	10852	7528
54	19695	14275	11071
63	23404	21789	19916

Tab. A-16: Pflanzdaten zum Versuchsende t[d] = 65 (Versuch1).Pfl: Pflanze; F: Probenfläche = 42,5 cm²; W-TM: Wurzelrockenmasse; Sp-TM Sprosstrockenmasse.

Ansatz	Pfl/F [Anzahl]	W-TM/F [g]	Sp-TM/F [g]	Pfl/cm ² [Anzahl]	W-TM/ Pfl [mg]	Sp-TM/Pfl [mg]	Sp-TM/W-TM
B3-F1	39	0,41	1,78	0,92	10,51	46	4,34
B3-F2	62	1,86	2,22	1,46	30,00	36	1,19
B3-F3	41	0,81	2,10	0,96	19,76	51	2,59
B3-Mw	47,33			1,11	20,09	44,22	2,71
B2-F1	17	0,78	1,49	0,40	45,88	88	1,91
B2-F2	11	0,87	1,15	0,26	79,09	105	1,32
B2-F3	14	1,13	1,09	0,33	80,71	78	0,96
B2-Mw	14,00			0,33	68,56	90,02	1,40
B1-F1	14	1,17	3,04	0,33	83,57	217	2,60
B1-F2	7	0,87	1,57	0,16	124,29	224	1,80
B1-F3	6	0,87	2,01	0,14	145,00	335	2,31
B1-Mw	9,00			0,21	117,62	258,81	2,24

Tab. A-17: Pflanzdaten zum Versuchsende t [d] = 63 (Versuch2).Pfl: Pflanze; F: Probenfläche = 42,5 cm²; W-TM: Wurzelrockenmasse; Sp-TM Sprosstrockenmasse.

Ansatz	Pfl/F [Anzahl]	W-TM/F [g]	Sp-TM/F [g]	Pfl/cm ² [Anzahl]	W-TM/ Pfl [mg]	Sp-TM/Pfl [mg]	Sp-TM/W-TM
B3-F1	47	1,21	2,01	1,11	25,74	43	1,66
B3-F2	56	1,33	2,81	1,32	23,75	50	2,11
B3-F3	49	0,94	1,98	1,15	19,18	40	2,11
B3-Mw	50,67			1,19	22,89	44,45	1,96
B2-F1	16	0,85	2,56	0,38	53,13	160	3,01
B2-F2	17	1,13	1,90	0,40	66,47	112	1,68
B2-F3	23	1,24	2,89	0,54	53,91	126	2,33
B2-Mw	18,67			0,44	57,84	132,47	2,34
B1-F1	11	1,18	3,07	0,26	107,27	279	2,60
B1-F2	5	0,75	2,56	0,12	150,00	512	3,41
B1-F3	6	0,88	2,22	0,14	146,67	370	2,52
B1-Mw	7,33			0,17	134,65	387,03	2,85

Tab. A-18: Mikroorganismen-Abundanz pro Seefeld (A = 0,02 mm²) im Fluoreszenzmikroskop (Versuch 1).

Je Ansatz (B3, B2, B1, K) eine Bodenprobe, je Bodenprobe zwei Ausstriche (a und b),

Mw: Mittelwert der Einzelwerte eines Ausstriches, Stabw (E): Standardabweichung aller Einzelwerte,

Mw (a+b): Mittelwert aller Einzelwerte, Stabw (Mw): Standardabweichung der Mittelwerte (Mw).

t[d]		B3 (a)	B3 (b)	B2 (a)	B2 (b)	B1 (b)	B1 (a)	K (a)	K (b)	
1		8	7	5	7	12	5	5	7	
		12	11	8	9	24	7	11	12	
		6	16	6	6	3	8	25	6	
		20	14	8	8	5	7	16	9	
		7	14	7	11	12	15	6	5	
		12	12	12	12	15	21	17	6	
		13	13	8	8	16	7	12	3	
		8	16	6	7	16	6	8	8	
		10	16	9	9	8	9	11	4	
		11	9	7	9	14	10	6	2	
		Mw	10,7	12,8	7,6	8,6	12,5	9,5	11,7	6,2
		Stabw (E)		3,7		1,9		5,6		5,5
	Mw (a+b)		11,8		8,1		11,0		9,0	
	Stabw (Mw)		1,5		0,7		2,1		3,9	
15		22	32	19	19	7	10	8	7	
		26	16	18	17	4	23	10	10	
		29	15	19	11	13	10	14	11	
		40	22	26	8	11	12	15	10	
		32	26	25	17	7	7	12	13	
		22	27	22	18	8	8	7	18	
		25	29	21	23	8	10	9	9	
		17	25	20	21	12	12	8	10	
		34	25	20	14	11	11	8	16	
		35	12	19	16	10	10	8	6	
		Mw	28,2	22,9	20,9	16,4	9,1	11,3	9,9	11,0
		Stabw (E)		7,2		4,3		3,8		3,3
	Mw (a+b)		25,6		18,7		10,2		10,5	
	Stabw (Mw)		3,7		3,2		1,6		0,8	
29		36	23	23	52	17	16	6	9	
		35	45	28	34	19	21	4	6	
		23	51	26	31	12	23	21	12	
		27	47	31	32	9	24	22	21	
		37	32	32	17	17	23	7	23	
		37	35	17	14	23	21	8	12	
		36	63	31	26	21	12	13	16	
		45	38	48	28	17	18	12	12	
		35	39	32	25	11	18	17	17	
		35	30	24	25	22	12	4	14	
		Mw	34,6	40,3	29,2	28,4	16,8	18,8	11,4	14,2
		Stabw (E)		9,4		9,1		4,6		6,0
	Mw (a+b)		37,5		28,8		17,8		12,8	
	Stabw (Mw)		4,0		0,6		1,4		2,0	

Tab. A-18 (Fortsetzung): Mikroorganismen-Abundanz pro Sehfeld (A = 0,02 mm²) im Fluoreszenzmikroskop (Versuch 1).

t[d]		B3 (a)	B3 (b)	B2 (a)	B2 (b)	B1 (b)	B1 (a)	K (a)	K (b)
43		53	48	81	49	24	28	14	14
		45	46	70	37	26	25	13	12
		77	66	65	36	31	22	21	15
		74	62	68	28	30	17	17	21
		73	49	93	32	21	32	19	15
		63	47	40	25	13	26	12	15
		42	24	51	40	20	24	13	31
		37	73	86	42	22	36	11	12
		45	46	56	35	25	25	10	13
		60	50	77	53	19	33	10	17
	Mw	56,9	51,1	68,7	37,7	23,1	26,8	14,0	16,5
	Stabw (E)				14,0		5,7		4,9
	Mw (a+b)				54,0		25,0		15,3
Stabw (Mw)				4,1		2,6		1,8	
50		59	81	60	54	54	23	34	32
		43	46	45	43	34	45	32	43
		61	38	54	67	39	71	36	25
		62	45	80	65	36	45	54	45
		60	43	87	34	52	53	49	34
		56	48	67	65	23	41	43	22
		58	63	56	44	34	23	48	27
		43	54	78	40	65	32	25	34
		48	90	82	60	45	45	24	23
		76	32	71	56	49	49	34	40
	Mw	56,6	54,0	68,0	52,8	43,1	42,7	37,9	32,5
	Stabw (E)				14,6		13,0		9,5
	Mw (a+b)				55,3		42,9		35,2
Stabw (Mw)				1,8		0,3		3,8	
65		63	17	45	49	44	48	33	47
		73	33	57	65	28	38	92	25
		59	37	52	72	47	31	56	62
		54	44	38	56	50	36	29	45
		41	31	65	61	42	55	39	50
		50	36	62	40	70	57	24	55
		38	48	84	32	40	76	37	35
		42	57	51	60	47	48	44	68
		30	21	58	33	33	54	32	42
		86	51	60	41	42	72	58	49
	Mw	53,6	37,5	57,2	50,9	44,3	51,5	44,4	47,8
	Stabw (E)				16,9		13,2		16,3
	Mw (a+b)				45,6		47,9		46,1
Stabw (Mw)				11,4		5,1		2,4	

Tab. A-19: Mikroorganismen-Abundanz pro Gramm Boden TM [10^9 /g] (Versuch 1).

In Abhängigkeit der drei Einsaatdichten von Bromus mollis (B1, B2, B3),

bzw. des unbepflanzten Bodens (K),

Berechnet aus den Mittelwerten (Mw(a+b)) der Tab A-18.

t[d]	B3 [10^9 /g]	B2 [10^9 /g]	B1 [10^9 /g]	K [10^9 /g]
1	3,79	2,60	3,57	2,95
15	8,49	6,09	3,32	3,25
29	11,79	9,04	5,64	4,00
43	16,82	16,63	7,60	4,81
50	17,33	18,65	13,17	10,86
65	14,08	16,35	14,71	14,05

Tab. A-20: Mikroorganismen-Abundanz in [%] der Kontrolle (K) (Versuch 1).

t[d]	B3	B2	B1
1	129	88	121
15	262	188	102
29	295	226	141
43	349	346	158
50	160	172	121
65	100	116	105

Tab. A-21: Mikroorganismen-Abundanz pro Sehfeld (A = 0,02 mm²) im Fluoreszenzmikroskop (Versuch 2).

Je Ansatz (B3, B2, B1, K) eine Bodenprobe, je Bodenprobe zwei Ausstriche (a und b),

Mw: Mittelwert der Einzelwerte eines Ausstriches, Stabw (E): Standardabweichung aller Einzelwerte,

Mw (a+b): Mittelwert aller Einzelwerte, Stabw (Mw): Standardabweichung der Mittelwerte (Mw).

t[d]		B3 (a)	B3 (b)	B2 (a)	B2 (b)	B1 (b)	B1 (a)	K (a)	K (b)	
1		6	4	6	8	15	4	6	8	
		3	5	8	7	4	9	7	8	
		4	8	5	11	12	7	7	7	
		3	7	13	6	6	8	9	6	
		3	11	15	9	7	6	10	9	
		2	5	4	5	4	7	10	8	
		7	5	7	7	5	10	6	5	
		12	3	6	7	8	10	9	7	
		7	8	7	4	8	7	2	19	
		4	5	2	5	9	6	5	8	
		Mw	5,1	6,1	7,3	6,9	7,8	7,4	7,1	8,5
		Stabw (E)		2,7		3,1		2,8		3,3
	Mw (a+b)		5,6		7,1		7,6		7,8	
	Stabw (Mw)		0,7		0,3		0,3		1,0	
13		14	18	14	11	8	7	7	9	
		12	17	12	12	12	10	7	8	
		10	21	7	16	11	12	6	16	
		13	23	6	21	11	8	6	5	
		13	8	9	5	8	12	12	14	
		18	9	10	7	9	10	12	7	
		13	15	12	10	9	4	8	10	
		14	14	7	12	5	8	7	9	
		25	17	12	14	12	8	5	13	
		18	13	11	13	18	17	6	7	
		Mw	15,0	15,5	10,0	12,1	10,3	9,6	7,6	9,8
		Stabw (E)		4,4		3,7		3,4		3,1
	Mw (a+b)		15,3		11,1		10,0		8,7	
	Stabw (Mw)		0,4		1,5		0,5		1,6	
34		47	44	24	31	11	15	13	6	
		34	33	27	18	32	14	17	10	
		32	32	26	17	15	9	8	11	
		43	49	35	24	9	10	9	7	
		20	27	32	26	16	20	10	9	
		25	27	33	27	17	23	10	10	
		28	23	21	28	13	25	4	10	
		34	40	27	24	14	19	23	7	
		32	43	26	21	13	13	16	8	
		30	32	17	31	12	17	15	4	
		Mw	32,5	35,0	26,8	24,7	15,2	16,5	12,5	8,2
		Stabw (E)		8,1		5,2		5,7		4,6
	Mw (a+b)		33,8		25,8		15,9		10,4	
	Stabw (Mw)		1,8		1,5		0,9		3,0	

Tab. A-21 (Fortsetzung): Mikroorganismen-Abundanz pro Sehfeld (A = 0,02 mm²) im Fluoreszenzmikroskop (Versuch 2).

t[d]		B3 (a)	B3 (b)	B2 (a)	B2 (b)	B1 (b)	B1 (a)	K (a)	K (b)
48		53	55	65	42	34	24	16	11
		46	56	34	54	30	27	24	32
		57	57	36	43	39	43	25	20
		67	58	45	39	21	25	21	21
		60	60	49	37	37	38	16	19
		56	39	43	34	37	45	13	13
		48	46	46	65	46	19	18	17
		49	48	40	56	28	17	14	14
		50	46	44	54	42	40	17	18
		48	57	35	59	39	32	19	13
	Mw	53,4	52,2	43,7	48,3	35,3	31,0	18,3	17,8
	Stabw (E)		6,6		9,8		8,8		5,0
	Mw (a+b)		52,8		46,0		33,2		18,1
Stabw (Mw)		0,8		3,3		3,0		0,4	
54		62	41	50	43	43	45	23	19
		58	48	32	52	34	48	25	12
		46	53	54	56	42	47	17	32
		48	64	49	55	57	42	16	45
		60	76	43	59	43	37	33	32
		51	51	53	44	45	59	32	42
		39	59	32	32	49	52	38	23
		64	56	54	63	41	43	32	21
		56	49	57	54	51	54	13	20
		56	42	55	65	47	46	12	19
	Mw	54,0	53,9	47,9	52,3	45,2	47,3	24,1	26,5
	Stabw (E)		9,0		9,7		6,2		9,9
	Mw (a+b)		54,0		50,1		46,3		25,3
Stabw (Mw)		0,1		3,1		1,5		1,7	
63		43	43	34	47	35	35	43	34
		39	54	45	38	47	40	35	19
		47	65	51	53	53	54	42	39
		53	49	38	47	43	46	35	32
		58	38	38	46	43	52	32	35
		56	42	47	41	41	56	28	40
		54	49	46	45	40	43	36	31
		50	47	40	38	43	28	30	33
		57	43	62	45	49	43	39	52
		42	54	41	45	65	65	42	43
	Mw	49,9	48,4	44,2	44,5	45,9	46,2	36,2	35,8
	Stabw (E)		7,2		6,4		9,4		7,0
	Mw (a+b)		49,2		44,4		46,1		36,0
Stabw (Mw)		1,1		0,2		0,2		0,3	

Tab. A-22: Mikroorganismen-Abundanz pro Gramm Boden TM [$10^9/g$] (Versuch 2).

In Abhängigkeit der drei Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B1, B2, B3) bzw. des unbepflanzten Bodens (K), Berechnet aus den Mittelwerten ($M_w(a+b)$) der Tab. A-21.

t[d]	B3 [$10^9/g$]	B2 [$10^9/g$]	B1 [$10^9/g$]	K [$10^9/g$]
1	1,80	2,28	2,47	2,57
13	5,07	3,61	3,24	2,70
34	10,62	8,08	5,03	3,23
48	16,44	14,38	10,10	5,70
54	16,91	15,47	14,20	7,81
63	15,20	13,42	14,14	10,97

Tab. A-23: Mikroorganismen-Abundanz in [%] der Kontrolle (K) (Versuch 2).

t[d]	B3	B2	B1
1	70	89	96
13	188	134	120
34	329	250	155
48	289	252	177
54	217	198	182
63	139	122	129

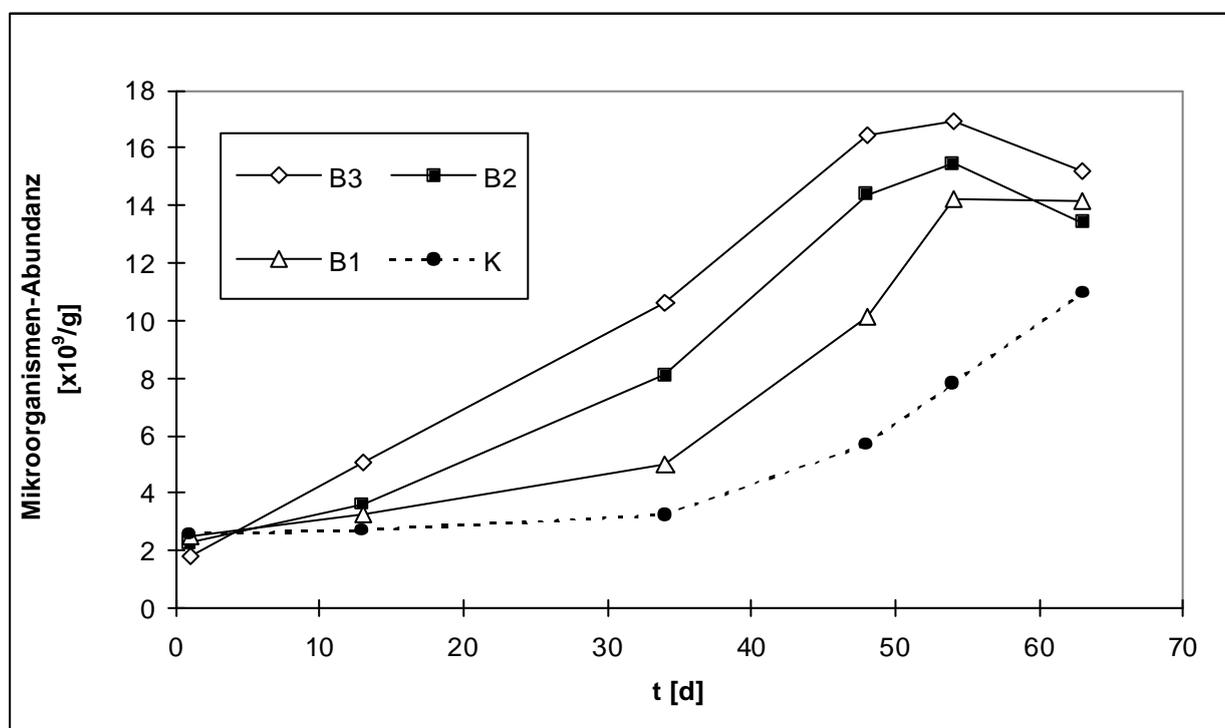


Abb. A-1: Entwicklung der absoluten Mikroorganismen-Abundanz in Abhängigkeit von der Zeit bei verschiedenen Einsaatdichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17 Pfl./cm², Mittelwerte aus 20 Sehfeldauszählungen einer Bodenprobe je Ansatz im Fluoreszenzmikroskop, Versuchserie 2).

Tab. A-24: DMSO-Reduktionsrate - Reduktaseaktivität.

Je Ansatz (B3, B2, B1, K) drei Bodenproben, je Bodenprobe drei Messungen (t = 1: zwei Messungen) ,

Mw1, Mw2, Mw3: Mittelwerte der Messungen einer Bodenprobe,

Mw: Mittelwert aller Messungen eines Ansatzes,

Stabw (Mw): Standardabweichung der Mittelwerte (Mw1, Mw2, Mw3).

	Peakfläche					Boden-Trockenmasse [g]				Reduktaseaktivität DMS [ng] / g x h			
	B3	B2	B1	K	St	B3	B2	B1	K	B3	B2	B1	K
t[d]=1	4490	4595	4293	4018	2323	0,39	0,39	0,38	0,38	886	899	853	814
	4611	4692	4160	3806	2343	0,39	0,39	0,38	0,38	910	921	834	771
	4682	4563	4202	4135	2511	0,39	0,39	0,39	0,38	924	886	829	831
	4166	4692	4186	3699	2681	0,38	0,39	0,38	0,38	826	926	843	743
	4354	4627	4177			0,38	0,39	0,39		866	915	824	
	4368	4446	4058	4177		0,39	0,39	0,39	0,38	853	877	798	839
MW1	4551	4644	4227	3912						898	910	844	792
MW2	4424	4628	4194	3917						875	906	836	787
MW3	4361	4537	4118	4177						859	896	811	839
Mw	4445	4603	4179	3967	2323	0,39	0,39	0,38	0,38	877	904	830	799
Stabw (MW)										19	7	17	29
Ink.-zeit	24h												
t[d]=8	3166	2183	1797	2622	1638	0,36	0,37	0,37	0,40	739	505	410	555
	3646		2974	2622	2169	0,38	0,38	0,38	0,41	821		654	544
	3401	3086	2590	2591	2152	0,37	0,38	0,38	0,40	770	690	574	544
	2875	3404	3006	2202	2416	0,37	0,38	0,40	0,40	656	767	633	469
	2207	3234	2618	2074		0,38	0,38	0,39	0,40	492	721	573	439
	3451	2502	1966	2963		0,38	0,38	0,38	0,40	765	559	438	629
	2618	2708	1887	2747		0,37	0,38	0,37	0,41	598	610	430	567
	3051	2451	2702	2798		0,37	0,38	0,38	0,41	691	552	601	571
		1805	2804	2829		0,37	0,38	0,38	0,41		399	625	589
MW1	3404	2635	2454	2612						777	597	546	548
MW2	2844	3047	2530	2413						638	682	548	512
MW3	2835	2321	2464	2791						644	520	552	576
Mw	3028	2668	2483	2605	2094	0,37	0,38	0,38	0,40	686	600	549	545
Stabw (MW)										78	81	3	32
Ink.-zeit	24h												
t[d]=15	6616	5441	8814	5049	4194	0,37	0,39	0,36	0,40	748	588	1032	528
	5959	5605	9171	5089	4265	0,37	0,39	0,38	0,42	668	604	1009	511
	6503	5871	7070	6049	4194	0,37	0,39	0,39	0,40	741	634	762	631
	5526	5093	5241	5136	4270	0,37	0,37	0,39	0,40	628	569	563	537
	5195	5040	5249	4743		0,38	0,38	0,38	0,40	575	562	577	497
	5217	4724	5678	5757		0,38	0,38	0,39	0,40	577	521	610	608
	4873	4451	4138	5197		0,38	0,38	0,38	0,40	540	494	454	549
	4473	4512	4027	5130		0,38	0,38	0,39	0,40	493	496	437	543
	4438	3207	4238	4870		0,38	0,38	0,39	0,40	492	354	459	510
MW1	6359	5639	8352	5396						719	609	934	557
MW2	5313	4952	5389	5212						593	551	584	547
MW3	4595	4057	4134	5066						509	448	450	534
Mw	5422	4883	5958	5224	4231	0,37	0,38	0,38	0,40	607	536	656	546
Stabw (MW)										106	81	250	11
Ink.-zeit	24h												

Tab. A-24 (Fortsetzung): DMSO-Reduktionsrate - Reduktaseaktivität.

	Peakfläche					Boden-Trockenmasse [g]				Reduktaseaktivität DMS [ng] / g x h			
	B3	B2	B1	K	St	B3	B2	B1	K	B3	B2	B1	K
t[d]=43	5027	5082	4014	3281	3060	0,40	0,41	0,42	0,39	625	616	468	414
	5484	5187	4009	3425	3773	0,40	0,40	0,42	0,39	670	642	465	436
	5077	4698	3908	3875	3905	0,39	0,40	0,41	0,39	633	575	472	485
	4905	4268	3963	3099	3669	0,39	0,40	0,40	0,40	614	529	487	380
	4436	4722	3715	2430		0,39	0,40	0,40	0,40	557	587	455	302
	5364	4455	4323	3275		0,40	0,40	0,40	0,39	667	542	525	408
	5737	4788	3986	3273		0,41	0,40	0,40	0,40	690	594	484	399
	4442	4924	4017	3151		0,41	0,39	0,40	0,39	528	620	488	398
	4982	4719	3869	2803		0,40	0,40	0,41	0,40	607	587	465	347
	MW1	5196	4989	3977	3527						643	611	468
MW2	4902	4482	4000	2935						613	553	489	363
MW3	5054	4810	3957	3076						609	600	479	381
Mw	5050	4760	3978	3179	3602	0,40	0,40	0,41	0,39	621	588	479	396
Stabw (MW)										19	31	10	43
Ink.-zeit	24h												
t[d]=50	7775	7122	7818	4819	5049	0,39	0,41	0,41	0,40	727	637	692	442
	7571	7197	6945	4985	5094	0,39	0,41	0,40	0,39	701	640	627	461
	8141	7384	7121	4689	5046	0,39	0,41	0,41	0,40	763	650	633	430
	7315	7107	6339	5599	5155	0,41	0,40	0,40	0,40	646	642	571	504
	7175	7304	6486	5642		0,41	0,41	0,40	0,41	632	648	584	502
	7364	6774	6403	5769		0,41	0,41	0,41	0,41	660	604	571	513
	7977	6894	6209	4941		0,40	0,40	0,40	0,41	733	632	559	441
	7585	6304	6286	4823		0,39	0,39	0,41	0,41	702	581	562	428
	7467	6713	6216	4733		0,39	0,39	0,40	0,41	697	623	560	422
	MW1	7829	7234	7295	4831						730	642	651
MW2	7285	7062	6409	5670						646	631	575	506
MW3	7676	6637	6237	4832						711	612	560	430
Mw	7597	6978	6647	5111	5086	0,40	0,40	0,41	0,40	696	628	595	460
Stabw (MW)										44	15	49	41
Ink.-zeit	23h												
t[d]=58	8176	5926	6981	4743	3870	0,40	0,39	0,43	0,40	952	700	748	540
	8349	6785	7279	4490	4011	0,39	0,40	0,43	0,40	989	788	773	514
	9405	7062	7394	4759	4062	0,39	0,40	0,44	0,41	1103	814	780	532
	7755	6323	7958	4315	4112	0,39	0,40	0,42	0,41	912	727	873	489
	7205	6458	7349	4179		0,40	0,40	0,42	0,41	837	741	803	473
	8127	6511	7338	4207		0,40	0,40	0,42	0,40	937	741	811	481
	7934	4677	7662			0,40	0,41	0,43	0,40	903	525	829	
	8311	7208	7486	4480		0,41	0,41	0,42	0,40	923	804	814	514
	8519	6956	7449	4241		0,40	0,41	0,42	0,40	970	786	814	488
	MW1	8643	6591	7218	4664						1015	767	767
MW2	7696	6431	7548	4234						895	736	829	481
MW3	8255	6280	7532	4361						932	705	819	501
Mw	8198	6434	7433	4419	4014	0,40	0,40	0,42	0,40	947	736	805	503
Stabw (MW)										61	31	33	24
Ink.-zeit	23h												

Tab. A-25: Substratinduzierte Respiration (Versuch 1).
 HCl-Titration (BW: Blindwert) und Boden-Trockenmasse,
 je Ansatz (B3, B2, B1, K) drei Bodenproben mit je einer Messung.

t[d]	HCL-Verbrauch [ml] (Ink.-zeit: 20h)					Trockenmasse [g]			
	B3	B2	B1	K	BW	B3	B2	B1	K
1	14,25	14,23	14,50	14,25	18,00	8,12	8,30	8,16	8,30
	14,10	14,35	14,65	14,30	18,40	8,12	8,28	8,20	8,32
	14,20	14,20	14,70	14,50	18,30	8,00	8,20	8,25	8,34
	Mw	14,18	14,26	14,62	14,35	18,23	8,08	8,26	8,20
8	14,23	13,80	13,65	13,95	18,40	8,21	8,25	8,31	8,25
	14,20	13,75	13,45	13,73	18,35	8,22	8,27	8,29	8,23
	14,18	13,73	13,45	13,83	18,30	8,20	8,27	8,29	8,22
	Mw	14,20	13,76	13,52	13,84	18,35	8,21	8,26	8,30
15	13,80	13,78	14,10	13,70	18,45	8,24	8,10	8,15	8,19
	13,76	13,65	14,00	13,67	18,43	8,28	7,90	8,12	8,17
	13,85	13,67	14,10	13,80	18,25	8,25	8,12	8,11	9,13
	Mw	13,81	13,70	14,07	13,72	18,38	8,26	8,04	8,13
22	11,50	11,85	13,70	13,50	18,62	8,42	8,28	8,40	8,24
	11,42	11,90	13,20	13,57	18,65	8,41	8,35	8,40	8,26
	11,40	11,75	13,25	13,53	18,60	8,38	8,33	8,32	8,27
	Mw	11,44	11,83	13,38	13,53	18,62	8,40	8,32	8,37
29	11,20	11,40	12,50	13,95	18,20	8,10	8,17	8,21	7,99
	11,21	11,25	12,65	13,87	18,60	8,14	8,12	8,23	8,12
	11,25	11,23	12,80	14,00	18,65	8,22	8,16	8,25	8,12
	Mw	11,22	11,29	12,65	13,94	18,48	8,15	8,15	8,23
36	9,25	10,70	10,20	12,95	18,24	8,04	8,22	8,18	8,16
	9,23	10,67	10,15	13,43	18,28	8,08	8,22	8,18	8,17
	9,45	10,20	10,30	13,26	18,40	8,08	8,20	8,20	8,18
	Mw	9,31	10,52	10,22	13,21	18,31	8,07	8,21	8,19
43	10,23	11,25	11,64	13,10	18,65	7,95	7,85	7,94	7,90
	10,28	11,85	11,85	13,05	18,75	7,94	7,85	7,99	8,02
	10,40	11,35	11,85	13,02	18,72	7,95	7,88	7,83	7,98
	Mw	10,30	11,48	11,78	13,06	18,71	7,95	7,86	7,92
50	9,85	11,20	11,85	12,80	18,10	8,04	8,04	8,02	7,83
	9,46	10,98	12,20	12,75	17,95	8,06	8,04	7,93	7,88
	9,55	11,15	12,12	12,80	17,95	8,03	8,03	8,04	7,89
	Mw	9,62	11,11	12,06	12,78	18,00	8,04	8,04	8,00
58	10,85	12,22	12,34	13,25	18,70	8,03	7,98	8,02	8,05
	11,25	12,30	12,30	13,12	18,65	7,98	7,84	8,04	8,11
	11,20	12,30	12,12	13,00	18,70	7,98	7,94	8,04	8,13
	Mw	11,10	12,27	12,25	13,12	18,68	8,00	7,92	8,03
65	12,80	12,35	12,50	13,10	17,95	8,30	8,25	8,23	8,23
	12,65	12,33	12,50	13,15	17,90	8,24	8,28	8,17	8,23
	12,90	12,33	12,82	13,20	17,90	8,21	8,29	8,18	8,12
	Mw	12,78	12,34	12,61	13,15	17,92	8,25	8,27	8,19

Tab. A-26: Substratinduzierte Respiration (Versuch 1).
 Kohlendioxidproduktion pro Gramm Boden und Stunde,
 je Ansatz (B3, B2, B1, K) drei Bodenproben mit je einer Messung.

t[d]	CO ₂ [mg] / TM Boden [g] x t [h]			
	B3	B2	B1	K
1	0,025	0,025	0,024	0,025
	0,029	0,027	0,025	0,027
	0,028	0,028	0,024	0,025
	Mw 0,029	0,027	0,025	0,026
	Stabw 0,0019	0,0013	0,0008	0,0012
8	0,028	0,031	0,031	0,030
	0,028	0,031	0,033	0,031
	0,028	0,030	0,032	0,030
	Mw 0,028	0,030	0,032	0,030
	Stabw 0,000	0,000	0,001	0,001
15	0,031	0,032	0,029	0,032
	0,031	0,033	0,030	0,032
	0,029	0,031	0,028	0,027
	Mw 0,030	0,032	0,029	0,029
	Stabw 0,0010	0,0012	0,0009	0,0030
22	0,047	0,045	0,032	0,034
	0,047	0,044	0,036	0,034
	0,047	0,045	0,035	0,034
	Mw 0,047	0,045	0,036	0,034
	Stabw 0,0004	0,0004	0,0019	0,0002
29	0,048	0,046	0,038	0,029
	0,050	0,050	0,040	0,032
	0,050	0,050	0,039	0,031
	Mw 0,050	0,050	0,039	0,032
	Stabw 0,0013	0,0024	0,0008	0,0015
36	0,061	0,050	0,054	0,036
	0,062	0,051	0,055	0,033
	0,061	0,055	0,054	0,035
	Mw 0,061	0,053	0,054	0,034
	Stabw 0,0004	0,0025	0,0003	0,0015
43	0,058	0,052	0,049	0,039
	0,059	0,048	0,047	0,039
	0,058	0,051	0,048	0,039
	Mw 0,058	0,050	0,048	0,039
	Stabw 0,0006	0,0019	0,0005	0,0003
50	0,056	0,047	0,043	0,037
	0,058	0,048	0,040	0,036
	0,058	0,047	0,040	0,036
	Mw 0,058	0,047	0,040	0,036
	Stabw 0,0008	0,0006	0,0017	0,0007
58	0,054	0,045	0,044	0,037
	0,051	0,045	0,043	0,038
	0,052	0,044	0,045	0,039
	Mw 0,051	0,044	0,044	0,038
	Stabw 0,0014	0,0002	0,0009	0,0007
65	0,034	0,037	0,036	0,032
	0,035	0,037	0,036	0,032
	0,033	0,037	0,034	0,032
	Mw 0,034	0,037	0,035	0,032
	Stabw 0,0008	0,0002	0,0013	0,0004

Tab. A-27: Substratinduzierte Respiration (Versuch 2).

HCl-Titration (BW: Blindwert) und Boden-Trockenmasse,

je Ansatz (B3, B2, B1, K) zwei (t = 1 - 41d) bzw. drei (t = 48 - 63d) Bodenproben mit je einer Messung.

t[d]	HCL-Verbrauch [ml] (Ink.-zeit: 20h)					Trockenmasse [g]			
	B3	B2	B1	K	BW	B3	B2	B1	K
1	13,35	13,20	12,80	12,50	18,00	8,14	8,02	8,14	8,14
	13,30	13,25	12,80	12,90	18,00	8,13	8,00	7,92	8,22
	Mw	13,33	13,23	12,80	12,70	18,00	8,14	8,01	8,03
13	12,10	12,95	13,70	12,90	18,80	8,14	8,29	8,10	8,02
	12,30	13,10	13,75	12,65	18,65	8,17	8,30	8,09	8,13
	Mw	12,20	13,03	13,73	12,78	18,73	8,16	8,30	8,10
21	11,90	12,90	13,70	13,50	18,60	8,27	8,23	8,28	8,13
	12,15	13,25	13,70	13,20	18,75	8,28	8,16	8,15	8,17
	Mw	12,03	13,08	13,70	13,35	18,68	8,28	8,20	8,22
34	10,15	11,65	10,55	14,00	18,50	8,37	8,16	8,23	8,25
	9,25	11,20	11,45	14,55	18,65	8,55	8,27	8,31	8,21
	Mw	9,70	11,43	11,00	14,28	18,58	8,46	8,22	8,27
41	9,85	12,30	12,90	14,14	18,00	8,09	8,10	8,12	7,94
	9,50	12,25	12,40	13,75	18,70	8,14	8,13	8,21	8,00
	Mw	9,68	12,28	12,65	13,95	18,35	8,12	8,12	8,17
48 (Ink.-zeit: 22h)	8,85	9,50	10,90	12,50	18,50	7,77	7,75	7,81	7,80
	9,20	9,60	9,90	12,85	18,25	7,77	7,77	7,97	7,80
	9,15	9,70	10,40	12,75	18,45	7,81	7,75	7,97	7,72
	Mw	9,07	9,60	10,40	12,70	18,40	7,78	7,76	7,92
54 (Ink.-zeit: 21,5h)	9,35	9,40	12,70	13,25	18,30	8,22	7,97	7,86	7,65
	9,00	11,25	12,50	13,20	18,40	8,16	7,80	7,93	7,66
	10,00	11,20	12,10	11,75	18,30	8,23	7,87	7,89	7,66
	Mw	9,45	10,62	12,43	12,73	18,33	8,20	7,88	7,89
63 (Ink.-zeit: 21,5h)	11,05	12,45	12,25	12,10	18,35	8,08	8,00	8,14	7,65
	11,60	12,70	12,75	12,45	18,30	8,06	7,94	8,05	7,67
	10,00	12,00	12,60	11,90	18,20	8,18	8,00	8,05	7,68
	Mw	10,88	12,38	12,53	12,15	18,28	8,11	7,98	8,08

Tab. A-28: Substratinduzierte Respiration (Versuch 2).

Kohlendioxidproduktion pro Gramm Boden und Stunde,

je Ansatz (B3, B2, B1, K) zwei (t = 1 - 41d) bzw. drei (t = 48 - 63d) Bodenproben mit je einer Messung.

t[d]	CO ₂ [mg] / TM Boden [g] x t [h]			
	B3	B2	B1	K
1	0,031	0,033	0,035	0,037
	0,032	0,033	0,036	0,034
	Mw 0,032	0,033	0,036	0,036
	Stabw 0,0003	0,0002	0,0007	0,0021
13	0,045	0,039	0,035	0,040
	0,043	0,037	0,033	0,041
	Mw 0,044	0,038	0,034	0,041
	Stabw 0,0018	0,0014	0,0009	0,0001
21	0,045	0,038	0,033	0,035
	0,044	0,037	0,034	0,037
	Mw 0,044	0,038	0,033	0,036
	Stabw 0,0005	0,0007	0,0011	0,0020
34	0,055	0,046	0,053	0,030
	0,060	0,050	0,048	0,027
	Mw 0,058	0,048	0,050	0,029
	Stabw 0,0040	0,0024	0,0039	0,0018
41	0,055	0,039	0,035	0,027
	0,062	0,044	0,042	0,034
	Mw 0,059	0,041	0,038	0,030
	Stabw 0,0048	0,0035	0,0054	0,0052
48	0,062	0,058	0,049	0,038
	0,058	0,056	0,052	0,035
	Mw 0,060	0,056	0,051	0,037
	Stabw 0,060	0,057	0,051	0,037
54	0,056	0,057	0,036	0,034
	0,059	0,047	0,038	0,035
	Mw 0,052	0,046	0,040	0,044
	Stabw 0,055	0,050	0,038	0,037
63	0,037	0,061	0,019	0,055
	0,046	0,038	0,038	0,042
	0,043	0,036	0,035	0,039
	Mw 0,051	0,040	0,036	0,042
Stabw	0,047	0,038	0,036	0,041
	0,0044	0,0018	0,0017	0,0017

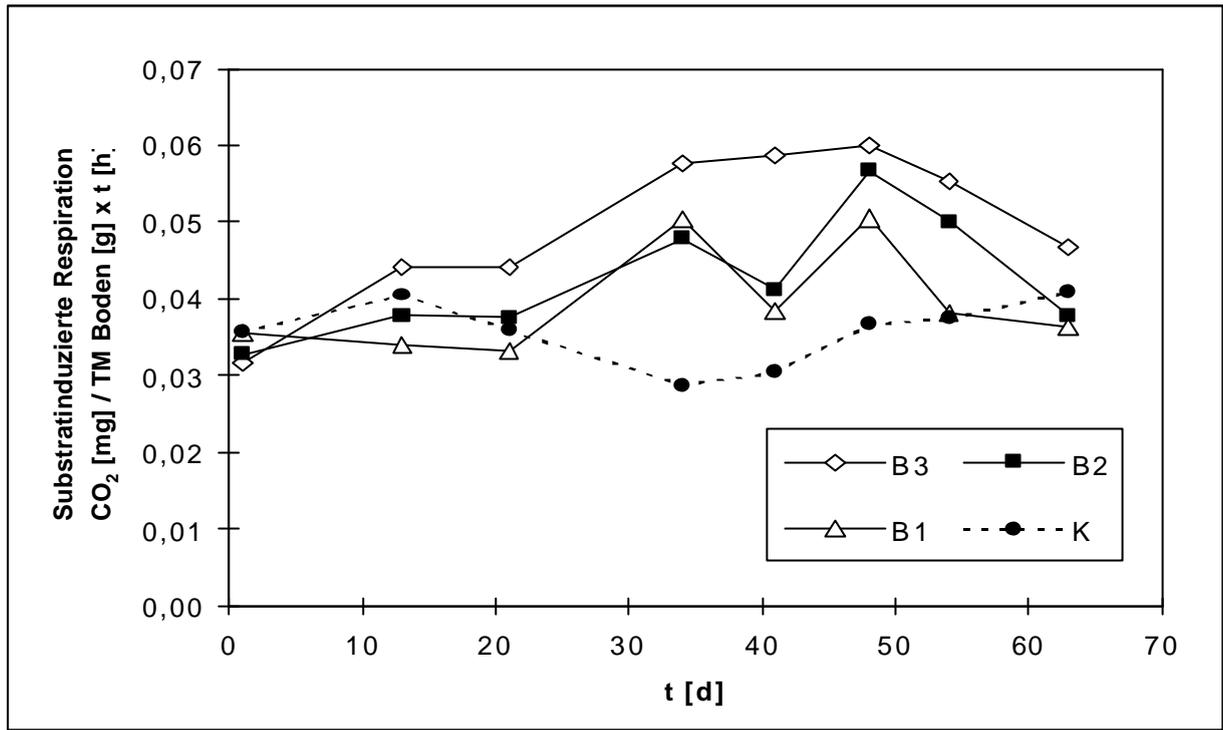


Abb. A-2: Entwicklung der Substratinduzierten Respiration in Abhängigkeit von der Versuchszeit bei verschiedenen Ensaaftichten von *Bromus mollis* (B3 = 1,19; B2 = 0,44; B1 = 0,17 Pfl./cm²) und des unbepflanzten Kontrollbodens (Mittelwerte aus 3 Bodenproben mit je einer Messung; Versuchserie 2).

Tab. A-29: Abbaueversuch mit p-Nitrophenol und Pyren.

Bestimmung der Applikationsmenge pro Versuchsansatz,
je Ansatz wurden 3 Proben (P1,P2,P3) à 3 g Boden mit 10 ml extrahiert.

	p-Nitrophenol dpm/ml	Pyren (Versuch A) dpm/ml	Pyren (Versuch B) dpm/ml
P1	3501	3921	3760
P2	3547	3926	3749
P3	3542	3920	3769
MW	3530	3922	3759

Tab. A-30: Abbaueversuch mit p-Nitrophenol.

In den Absorptionfallen (150ml) aufgefangenes und im Scintillationszähler gemessenes radioaktives CO₂,
bepfl. - mit *Bromus mollis* bepflanzte Systemhälfte (Aussaatdichte: B2, s. 2.2.1).

t[d]	bepfl. dpm/ml	bepfl. dpm/ml	bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml
1	10501	10320	10490	10627	10879	10754
2	9096	9112	9210	9519	9687	9439
4	7514	7495	7487	7140	7177	7167
5	971	1035	1087	837	862	841
7	777	850	812	653	673	649
9	885	867	923	834	814	824
11	783	784	792	790	797	814
13	541	532	567	547	567	542
15	622	612	625	433	421	496
18	741	732	756	517	532	567
20	439	470	455	265	268	243
22	382	397	387	247	255	287
25	211	231	229	299	245	269
28	217	243	234	229	235	227

Tab. A-31: Abbaueversuch mit p-Nitrophenol.

MW - Mittelwert der gesamten CO₂-Entwicklung pro Probennahmetag und kumulative Werte der CO₂-Entwicklung,
% - Angaben in Prozent der applizierten Radioaktivität (5412666 dpm pro Systemhälfte),
bepfl. - mit *Bromus mollis* bepflanzte Systemhälfte (Aussaatdichte: B2, s. 2.2.1).

t[d]	MW bepfl. dpm	MW nicht bepfl. dpm	kumulat. bepfl. dpm	kumulat. nicht bepfl. dpm	kumulat. bepfl. %	kumulat. nicht bepfl. %	Stabw bepfl. %	Stabw nicht bepfl. %
1	1565550	1613000	1565550	1613000	28,92	29,80	0,28	0,35
2	1370900	1432250	2936450	3045250	54,25	56,26	0,17	0,35
4	1124800	1074200	4061250	4119450	75,03	76,11	0,04	0,05
5	154650	127000	4215900	4246450	77,89	78,45	0,16	0,04
7	121950	98750	4337850	4345200	80,14	80,28	0,10	0,04
9	133725	123600	4471575	4468800	82,61	82,56	0,08	0,03
11	117925	120050	4589500	4588850	84,79	84,78	0,01	0,03
13	81975	82775	4671475	4671625	86,31	86,31	0,05	0,04
15	92925	67500	4764400	4739125	88,02	87,56	0,02	0,11
18	111450	80800	4875850	4819925	90,08	89,05	0,03	0,07
20	68200	38775	4944050	4858700	91,34	89,77	0,04	0,04
22	58300	39450	5002350	4898150	92,42	90,49	0,02	0,06
25	33550	40650	5035900	4938800	93,04	91,25	0,03	0,07
28	34700	34550	5070600	4973350	93,68	91,88	0,04	0,01

Tab. A-32: Abbauversuch mit Pyren (Versuch A).

In den Absorptionfallen (150ml) aufgefangenes und im Scintillationszähler gemessenes radioaktives CO₂,
bepfl. - mit *Bromus mollis* bepflanzte Systemhälfte (Aussaatdichte: B2, s. 2.2.1).

t[d]	bepfl. dpm/ml	bepfl. dpm/ml	bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml
2	478	464	456	474	470	458
4	732	712	738	716	714	700
6	1006	1012	1002	988	936	958
8	1034	1046	1008	982	930	992
11	1074	1084	1046	1002	1030	1050
13	778	776	782	752	760	732
15	676	630	638	676	682	672
18	740	720	750	650	662	674
20	852	830	834	522	514	520
22	886	846	868	622	620	636
25	1174	1188	1178	514	506	486
29	1264	1266	1272	808	778	788
33	714	734	710	362	372	394
36	598	606	600	404	408	422
40	864	770	854	432	404	422
43	636	660	636	340	344	340
47	624	600	614	394	380	398
52	614	600	624	434	454	414

Tab. A-33: Abbauversuch mit Pyren (Versuch A).

MW - Mittelwert der gesamten CO₂-Entwicklung pro Probennahmetag und kumulative Werte der CO₂-Entwicklung,
% - Angaben in Prozent der applizierten Radioaktivität (6014244 dpm pro Systemhälfte),
bepfl. - mit *Bromus mollis* bepflanzte Systemhälfte (Aussaatdichte: B2, s. 2.2.1).

t[d]	MW bepfl. dpm	MW nicht bepfl. dpm	kumulat. bepfl. dpm	kumulat. nicht bepfl. dpm	kumulat. bepfl. %	kumulat. nicht bepfl. %	Stabw bepfl. %	Stabw nicht bepfl. %
2	69900	70100	69900	70100	1,16	1,17	0,03	0,02
4	109100	106500	179000	176600	2,98	2,94	0,04	0,02
6	151000	144100	330000	320700	5,49	5,33	0,01	0,07
8	154400	145200	484400	465900	8,05	7,75	0,06	0,10
11	160200	154100	644600	620000	10,72	10,31	0,06	0,07
13	116800	112200	761400	732200	12,66	12,17	0,01	0,04
15	97200	101500	858600	833700	14,28	13,86	0,07	0,01
18	110500	99300	969100	933000	16,11	15,51	0,04	0,03
20	125800	77800	1094900	1010800	18,21	16,81	0,03	0,01
22	130000	93900	1224900	1104700	20,37	18,37	0,06	0,02
25	177000	75300	1401900	1180000	23,31	19,62	0,02	0,04
29	190100	118700	1592000	1298700	26,47	21,59	0,01	0,04
33	107900	56400	1699900	1355100	28,26	22,53	0,04	0,05
36	90200	61700	1790100	1416800	29,76	23,56	0,01	0,03
40	124400	62900	1914500	1479700	31,83	24,60	0,15	0,04
43	96600	51200	2011100	1530900	33,44	25,45	0,04	0,01
47	91900	58600	2103000	1589500	34,97	26,43	0,03	0,03
52	91900	65100	2194900	1654600	36,50	27,51	0,03	0,06

Tab. A-34: Abbaueversuch mit Pyren (Versuch B).

In den Absorptionfallen (150ml) aufgefangenes und im Scintillationszähler gemessenes radioaktives CO₂,
bepfl. - mit *Bromus mollis* bepflanzte Systemhälfte (Aussaatdichte: B2, s. 2.2.1).

t[d]	bepfl. dpm/ml	bepfl. dpm/ml	bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml	nicht bepfl. dpm/ml
2	675	683	654	656	645	641
4	643	623	679	654	710	682
6	781	772	765	843	852	822
8	865	877	890	821	934	943
11	1124	1128	1162	1134	1112	1109
13	871	840	871	894	917	942
15	760	726	738	841	850	859
18	946	951	947	753	763	790
20	1140	1121	1127	809	768	794
22	1168	1153	1161	776	793	795
25	1364	1369	1310	723	719	683
29	1321	1325	1287	780	782	810
33	1150	1127	1141	543	563	569
36	829	816	805	427	475	467
40	842	887	856	390	383	417
43	754	760	768	427	387	396
47	687	683	660	380	369	391
52	659	655	698	415	417	437

Tab. A-35: Abbaueversuch mit Pyren (Versuch B).

MW - Mittelwert der gesamten CO₂-Entwicklung pro Probennahmetag und kumulative Werte der CO₂-Entwicklung,
% - Angaben in Prozent der applizierten Radioaktivität (6014244 dpm pro Systemhälfte),
bepfl. - mit *Bromus mollis* bepflanzte Systemhälfte (Aussaatdichte: B2, s. 2.2.1).

t[d]	MW bepfl. dpm	MW nicht bepfl. dpm	kumulat. bepfl. dpm	kumulat. nicht bepfl. dpm	kumulat. bepfl. %	kumulat. nicht bepfl. %	Stabw bepfl. %	Stabw nicht bepfl. %
2	100600	97100	100600	97100	1,75	1,68	0,04	0,02
4	97250	102300	197850	199400	3,43	3,46	0,08	0,08
6	115900	125850	313750	325250	5,44	5,64	0,02	0,04
8	131600	134900	445350	460150	7,73	7,98	0,04	0,19
11	170700	167750	616050	627900	10,69	10,89	0,06	0,04
13	129100	137650	745150	765550	12,93	13,28	0,05	0,07
15	111200	127500	856350	893050	14,86	15,49	0,05	0,03
18	142200	115300	998550	1008350	17,32	17,49	0,01	0,05
20	169400	118550	1167950	1126900	20,26	19,55	0,03	0,06
22	174100	118200	1342050	1245100	23,28	21,60	0,02	0,03
25	202150	106250	1544200	1351350	26,79	23,44	0,09	0,06
29	196650	118600	1740850	1469950	30,20	25,50	0,06	0,05
33	170900	83750	1911750	1553700	33,17	26,95	0,03	0,04
36	122500	68450	2034250	1622150	35,29	28,14	0,03	0,07
40	129250	59500	2163500	1681650	37,53	29,17	0,07	0,05
43	114100	60500	2277600	1742150	39,51	30,22	0,02	0,06
47	101500	57000	2379100	1799150	41,27	31,21	0,04	0,03
52	100600	63450	2479700	1862600	43,02	32,31	0,07	0,03

Die vorliegende Dissertation wurde am Lehrstuhl für Biologie V (Institut für Ökologie, Ökotoxikologie und Ökochemie) der RWTH Aachen durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. I. Schuphan für die Themenvergabe und für die im Verlauf dieser Arbeit gewährte Unterstützung. Weiterhin danke ich ihm für die kritische Durchsicht des Manuskripts sowie für seine stetige Diskussionsbereitschaft.

Bei Herrn Prof. Dr. A. Schäffer (Biologie V – Lehr- und Forschungsgebiet Umweltanalytik) möchte ich mich für die Übernahme des Korreferates und seine stete Hilfsbereitschaft bedanken.

Allen jetzigen und früheren Mitarbeitern des Lehrstuhls für Biologie V danke ich für die gute Zusammenarbeit

Schließlich danke ich meinen Eltern, die mich stets unterstützt und mir immer Verständnis für meine sonstigen Interessen entgegen gebracht haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: MANFRED ALETSEE
geboren: 14.11.1967
Geburtsort: Aachen
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulausbildung:

1974-1978 Grundschule Aachen-Walheim
1978-1984 Realschule Aachen-Brand
1984-1987 Inda-Gymnasium Aachen-Kornelimünster

Grundwehrdienst:

1987-1988

Hochschulausbildung:

1988-1994 Studium der Biologie (Diplom, RWTH Aachen)

wissenschaftliche Tätigkeiten:

1994-2002 Promotion am Lehrstuhl für Ökologie, Ökotoxikologie und
Ökochemie, RWTH Aachen
1997-1999 Wissenschaftlicher Angestellter am Lehrstuhl für Ökologie,
Ökotoxikologie und Ökochemie

aktuelle Tätigkeit:

seit 01.11.2000 Wissenschaftlicher Angestellter an der Biologische Station
im Kreis Aachen e.V.