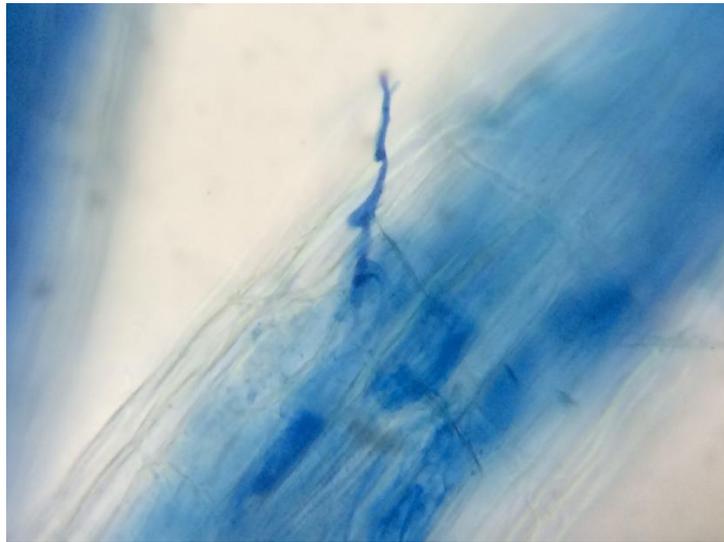


Landbauschule Dottefelderhof

Projektarbeit

Zum Thema

**Einfluss verschiedener arbuskulärer Mykorrhiza-Spezies
auf Kolonisationsrate und Wachstum bei Sommergerste**



Fachgebiet Bodenbiologie und Pflanzenernährung

Betreuer: Christoph Matthes

Vorgelegt von

Leonhard Bliestle (geb. den 06.07.1991, Überlingen)

Witzenhausen, April 2020

Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungsverzeichnis	III
II. Abbildungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Mykorrhiza.....	1
1.2 Verbreitung der AM.....	1
1.3 Geschichtliches.....	2
1.4 Physiologie und Funktionen.....	3
1.5 Genetik.....	7
1.6 Zielsetzung der Arbeit.....	8
1.7 Verwendung biodynamischer Präparate und deren Hintergrund.....	8
1.8 Sommergerste (<i>Hordeum vulgare</i>) als Kulturpflanze.....	9
2 Material und Methoden	10
2.1 Versuchsort und Boden.....	10
2.1.1 Versuchsort.....	10
2.1.2 Bodenentnahme und Lagerung.....	10
2.1.3 Bodenanalyse.....	10
2.2 Versuchsaufbau.....	11
2.2.1 Saatgut, Inokulum, Gefäße.....	11
2.2.2 Herstellung des Kultursubstrats.....	12
2.2.3 Bestimmung der WHKmax.....	14
2.3 Versuchsablauf.....	16
2.3.1 Vorzucht.....	16
2.3.2 Befüllung der Gefäße.....	18
2.3.3 Inokulation und Variantengestaltung.....	18
2.3.4 Anwendungen der Spritzpräparate im Verlauf des Versuches.....	20
2.3.5 Bewässerung.....	21
2.4 Weitere Messungen.....	21
2.4.1 Länge und BBCH- Stadien.....	21

2.5	Ernteablauf und Bestimmung der Trockenmasse	22
2.5.1	Oberirdische Pflanzenmasse	22
2.5.2	Wurzeln.....	23
2.6	Quantitative Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades	24
2.6.1	Probenentnahme, Färbung	24
2.6.2	Gridline- intersection- method.....	25
2.7	Statistische Auswertungen	27
3	Ergebnisse	28
3.1	Längendurchschnitte der untersuchten Varianten im Zeitverlauf.....	29
3.2	Gießwasser 50%ige Wasserhaltekapazität	31
3.3	BBCH- Stadien der untersuchten Varianten im Durchschnitt	33
3.4	Trockensubstanz der Wurzeln und der oberirdischen Pflanzenmasse in g .	34
3.5	Mykorrhizierungsgrad der eingefärbten Wurzelproben in %.....	35
4	Diskussion	37
4.1	Nährstoffverluste	37
4.2	Sauerstoffmangel	37
4.3	Längendurchschitte der untersuchten Varianten im Zeitverlauf.....	39
4.4	Gießwasser 50%ige Wasserhaltekapazität	39
4.5	Trockensubstanz der Wurzeln und der oberirdischen Pflanzenmasse in g .	39
4.6	Mykorrhizierung.....	40
5	Zusammenfassung	42
6	Literatur	43
7	Anhang	46
7.1	Ergebnisse der Bodenproben.....	46
7.2	Klimadiagramm Dottenfelderhof	47
7.3	Entnahmeort der Erde zur Herstellung des Kultursubstrats.....	47

I. Abkürzungsverzeichnis

AM= Arbuskuläre Mykorrhiza

ANOVA= Varianzanalyse (englisch: **analysis of variance**)

Cgesamt= Gesamtkohlenstoff (auch Ct, Ctotal)

cm= Centimeter

Corg= organischer Kohlenstoff

FG= Feuchtgewicht

g= Gramm

h= Stunde

HA= Hafer

Kg= Kilogramm

KOH= Kaliumhydroxid

LHL= Landesbetrieb Hessisches Landeslabor

LSD= least significant difference

Lu= schluffiger Lehm

m. ü. NN= Meter über Normalnull

M= Molar

min= Minuten

ml= Milliliter

mm= Millimeter

N= Stickstoff

Ngesamt= Gesamtstickstoff (auch Nt, Ntotal)

Nmin= N mineralisch

r- PCR= realtime polymerase chain reaction (deutsch: Polymerase- Kettenreaktion)

SG= Sommergerste

TG= Trockengewicht

TM= Trockenmasse

WG= Wassergehalt

WHK= Wasserhaltekapazität (auch einfach WK= Wasserkapazität)

WR= Winterroggen

WW= Winterweizen

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Erfolgreiche Besiedelung von Wurzelzellen einer Pflanze durch einen AM-Pilz: Ausbildung feiner, intrazellulärer Verzweigungen und Ausbildung von extraradikalen Hyphen und Sporen in der Rhizosphäre (Phillips 2017).....	3
Abbildung 2: Aggregatbildung im Boden durch Hyphen arbuskulärer Mykorrhiza- Pilze (Phillips 2017).....	6
Abbildung 3: links oben: zu zerreibende Erde über einem Kompostsieb (1 cm Maschenweite), rechts oben: Anteile Boden:Sand 2:1, unten: zu durchmischendes Kultursubstrat	13
Abbildung 4: Messzylinder mit Trichter, Filter und je 100g Kultursubstrat (nach dreistündigem Wasserbad).....	14
Abbildung 5: links oben: Herstellung des Kultursubstrats für die Vorzucht, rechts oben: 2,5 cm tief vorgestochene Aussaatlöcher, unten: Versuchsort	17
Abbildung 6: Setzen der vorgezogenen Sommergerstenpflanzen mit vorheriger Inokulation (20 ml/ Loch)	19
Abbildung 7: Versuchsgefäße 10 Tage nach der Aussaat der Samen	19
Abbildung 8: Sommergerstenpflanzen 57 Tage nach der Aussaat (6. Messung der Länge und der BBCH- Stadien)	21
Abbildung 9: etwa 1 cm über dem Erdboden abgetrennte Pflanzen.....	22
Abbildung 10: links oben: Einweichen des Wurzelballens in Leitungswasser, rechts oben: Säuberung der Wurzeln, unten: gesäuberter Wurzelballen (gedämpfte Variante)	23
Abbildung 11: Entnahme 1x1 cm Wurzelproben aus dem Mittelstück des Wurzelballens für anschließende Färbung der Wurzelpilze.....	24
Abbildung 12: gleichmäßige Verteilung der eingefärbten Wurzelproben auf der "gridline"- Petri mit anschließender Zählung aller Schnittstellen (mykorrhiziert sowie nicht mykorrhiziert) zur Berechnung des Kolonisationsgrades (Brundrett et al. 1996) Fehler! Textmarke nicht definiert.	
Abbildung 13: frisch eingefärbte Wurzelprobe auf der "gridline"- Petri (vor der Verteilung)	27
Abbildung 14: Durchschnittliches Pflanzenwachstum der insgesamt 8 Varianten im Zeitverlauf mit insgesamt 10 Messzeitpunkten (9 aufgeführt): <i>F. caledonium</i> , <i>R.</i>	

<i>irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> , Frank Eulenstein Mischung= (<i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat Boden:Sand 2:1, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, <i>R. irregulare</i> + biodyn= Inokulum <i>R. irregulare</i> + biodynamische Präparate*	29
Abbildung 15: von links nach rechts: gedämpft 2, Funneliformis caledonium 2, unbehandelt 2 am Tag der Ernte der gedämpften Varianten.....	30
Abbildung 16: 2. Wiederholung aller restlichen Varianten am Tag der Ernte (11.06.). von links nach rechts: <i>F. caledonium</i> (A), <i>Rhizoglyphus irregulare</i> (B), <i>F. mosseae</i> (C), Frank Eulenstein- Mischung (D), unbehandelt, <i>R. irregulare</i> + biodyn, biodyn.....	30
Abbildung 17: Gießwasserbedarf der jeweiligen Varianten zu unterschiedlichen Zeitpunkten (abhängig von der Wetterlage und Niederschlag). Varianten: <i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> , Frank Eulenstein Mischung (<i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, <i>R. irregulare</i> + biodyn= Inokulum <i>R. irregulare</i> + biodynamische Präparate*.....	31
Abbildung 18: Die gedämpfte Variante zeigt schnelles Abtrocknen der Bodenoberfläche bei allen Varianten, hier als Beispiel: gedämpft 1 und gedämpft 4 (am 15.04.)	32
Abbildung 19: Durchschnitte der BBCH- Entwicklungsstadien aller Varianten im Zeitverlauf mit unterschiedlichen Messzeitpunkten. Varianten: <i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> , Frank Eulenstein Mischung (<i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, <i>R. irregulare</i> + biodyn= Inokulum <i>R. irregulare</i> + biodynamische Präparate*	33
Abbildung 20: Balkendiagramme mit jeweiliger TM der oberirdischen Pflanzensubstanz (grün) und Wurzelsubstanz (blau) in g, Standardabweichung +1/-1 Varianten: <i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> , Frank Eulenstein Mischung (<i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt +	

biodynamische Präparate*, <i>R. irregulare</i> + biodyn= Inokulum <i>R. irregulare</i> + biodynamische Präparate*.....	34
Abbildung 21: Mykorrhizierungsgrad der eingefärbten Wurzelproben in Prozent, nach der gridline- intersection- method (GIOVANNETTI und MOSSE 1980). 2- fache Zählung. Varianten: <i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> , Frank Eulenstein Mischung (<i>F. caledonium</i> , <i>R. irregulare</i> , <i>F. mosseae</i> 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, <i>R. irregulare</i> + biodyn= Inokulum <i>R. irregulare</i> + biodynamische Präparate*	35
Abbildung 22: Variante Rhizoglopus irregulare: mit Appressorium, interzellulären Hyphen und Arbuskeln (Zeiss Primostar Durchlicht- Mikroskop).....	36
Abbildung 23: Links: graue Reduktionsbereiche durch Stauwasser und rechts: flechtenartiger Bewuchs	38
Abbildung 24: Ergebnisse der Bodenprobe aus dem Landesbetrieb Hessisches Landeslabor Kassel für das Kultursubstrat (Boden:Sand- Gemisch 2:1).....	46
Abbildung 25: Klimadiagramm Dottenfelderhof, Vegetationsperiode 2018-19. Die Zahl über dem Balken zeigt die Abweichung des aktuellen vom langjährigen mittleren Niederschlag in Prozent.....	47
Abbildung 26: Entnahmeort der Erde zur Herstellung des Kultursubstrats (bodenviewer.hessen.de)	47

1 Einleitung

1.1 Mykorrhiza

Der Begriff „Mykorrhiza“ wird aus den griechischen Wörtern ‘myko’ (für Pilz) und ‘rhiza’ (für Wurzel) zusammengesetzt (Phillips, 2017) und beschreibt die Vergesellschaftung zwischen Pilz und dem Wurzelsystem einer Pflanze, obwohl dabei oft auch nur der Pilzpartner der Symbiose gemeint ist (Steffan, 1989). Anhand morphologischer und anatomischer Ausbildungsformen wird die Art des Zusammenlebens zwischen den jeweiligen Pilz- und Pflanzenarten, in unterschiedliche Haupttypen unterteilt (Phillips, 2017).

Dazu gehören die Ektomykorrhiza, die ericoide Mykorrhiza, die Orchideenmykorrhiza und die arbuskuläre Mykorrhiza, welche mit Abstand den verbreitetsten Typ darstellt (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

1.2 Verbreitung der AM

Arbuskuläre Mykorrhiza- Pilze (kurz AM- Pilze) lassen sich weltweit in den verschiedensten Klimazonen (Souza, 2015), Bodentypen und Pflanzengesellschaften auffinden (Goss et al., 2017) und können nach einer Schätzung wohl bis zu 5-10% der im Boden vorhandenen mikrobiellen Masse ausmachen (Goss et al., 2017). Dabei bilden AM- Pilze mit etwa 80% aller Gefäßpflanzen eine Mykorrhiza aus (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

Darunter fallen fast alle krautigen Pflanzen, zahlreiche Büsche und Bäume der gemäßigten und tropischen Klimagebiete. Sie besitzen kaum bis keine Spezifität, um sich mit ihren Pflanzenpartnern zu vergesellschaften. Allerdings häufen sich auch immer mehr Beweise, dass es Pflanzenarten gibt, die spezifisch oder selektiv auf eine bestimmte AM- Pilzart reagieren (Smith und Read, 2009).

Der Großteil der Baum- und Straucharten der kalten und gemäßigten Zonen bildet hingegen eine Ektomykorrhiza aus. Bei manchen Arten konnte dennoch die Fähigkeit zur Ausbildung einer AM beobachtet werden, wie es z.B. bei Eichenkeimlingen der Fall ist (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

Manche Pflanzenarten und -Familien bilden jedoch keine typische oder gar keine arbuskuläre Mykorrhiza aus. Dazu zählen z.B. Brassicaceae (Kohlgewächse), Caryophyllaceae (Nelkengewächse), Polygonaceae (Knöterichgewächse) und Juncaceae (Binsengewächse). Doch selbst bei einigen dieser Pflanzenfamilien konnte teilweise eine AM- Ausbildung beobachtet werden, wobei die Effekte auch bis zum Parasitismus reichen konnten (Smith und Read, 2009).

Das breite Spektrum der AM- Partner ist hier vor allem in Bezug auf evolutionäre Fragen interessant und kann durch die Ursprünglichkeit der AM-Symbiose erklärt werden.

1.3 Geschichtliches

Die Annahme, dass Pilze unseren Planeten vermutlich schon seit über 1000 Millionen Jahren besiedeln, könnte sich mittlerweile bestätigt haben. Die in einem Mikrofossil im Nordwesten Kanadas entdeckten pilzlichen Strukturen, wurden dabei auf ein Alter von etwa 890- 1010 Millionen Jahre (Proterozoikum) geschätzt (Loron et al., 2019).

Arbuskuläre Mykorrhiza- Pilze (kurz AM- Pilze) werden dabei auf ein Alter von 460 Millionen Jahre geschätzt, was sich mit bisherigen Fossilfunden von Gefäßpflanzen deckt. Dennoch liefert eine Neueinschätzung sogar ein mögliches Alter von 1200 bis 1400 Millionen Jahren. Die Besiedlung von Land durch Pflanzen wird dabei (ohne die Bestätigung bisheriger Fossilfunde) auf 900 Millionen Jahre geschätzt (Smith und Read, 2009).

Mit ihrer Rolle bei der Nährstoffaufnahme, liegt es sehr nahe, dass AM- Pilze an der Besiedelung von Landpflanzen, bedeutend beteiligt gewesen sein könnten, oder diese ohne das Eingehen einer Symbiose mit Pilzpartnern, wahrscheinlich gar nicht erst möglich gewesen wäre (Smith und Read, 2009).

Neueste Untersuchungen befürworten außerdem die schon länger vermutete Annahme, dass die ersten Landpflanzen, welche noch keine richtigen Wurzeln besaßen, von Pilzhyphen besiedelt waren (Smith und Read, 2009).

Heutzutage erscheint die Kolonisierung der Pflanzenwurzeln durch AM-Pilze symptomlos und es sind keinerlei Abwehrreaktionen der Pflanze zu beobachten. Auch aus diesem Grund könnte darauf geschlossen werden, dass in der frühen Evolution der Gefäßpflanzen ausschließlich arbuskulär- mykorrhizierte Wurzeln vorkamen (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

1.4 Physiologie und Funktionen

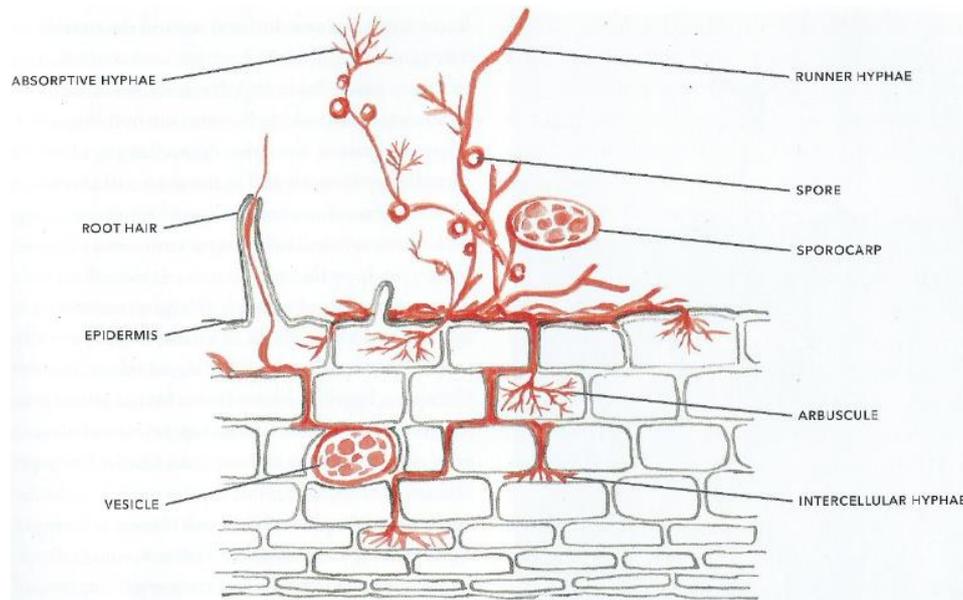


Abbildung 1: Erfolgreiche Besiedelung von Wurzelzellen einer Pflanze durch einen AM-Pilz: Ausbildung feiner, intrazellulärer Verzweigungen und Ausbildung von extraradikalen Hyphen und Sporen in der Rhizosphäre (Phillips, 2017).

Kolonisationsvorgang

Von der Seite des AM-Pilzes, beginnt alles von der Spore aus. Nach der Keimung bilden sich Hyphen, welche sich zu einem präsymbiotischen Mycel bilden. Dieses unterliegt anschließender morphogenetischer Wandlung und führt zur Bildung sogenannter Appressorien. Dadurch ist der Pilz in der Lage, die Epi- und Exodermis der Wurzel zu penetrieren (siehe Abbildung 1) und kann anschließend mit der Besiedelung der Wurzelkortex beginnen. Außerhalb findet das Wachstum extraradikaler Hyphen statt. Der Pilz vollendet seinen Lebenszyklus mit der Bildung von Sporen (Smith und Read, 2009).

Hyphen

Die Hyphen von AM-Pilzen können in die Wurzelzellen der Pflanze eindringen und außerhalb der Wurzel, große Erdbereiche erschließen. Dadurch können Nährstoffe erreicht werden (vor allem Phosphor) und weitere Pflanzen besiedelt werden. Außerdem finden Interaktionen zwischen Pilz und anderen Mikroorganismen im Boden statt (Goss et al., 2017).

Differenzierung zu Sporen

Bei *Rhizoglyphus irregularis* sind die Hyphen intrazellulär z.B. nicht nur dazu befähigt, sich in Arbuskeln oder Vesikel umzuformen, sondern auch in Sporen.

Bei Hyphen der AM- Pilzart *Funneliformis caledonium* hingegen erfolgt die Sporenbildung aus den extraradikalen Hyphen außerhalb der Wurzel in den Boden hinein (wie in Abbildung 1) (Souza, 2015).

Arbuskeln

Arbuskeln entstehen intrazellulär und ähneln optisch der Struktur eines kleinen Baumes (Souza, 2015), (siehe Abbildung 1). Mit ihrer großen Kontaktfläche stellen sie wahrscheinlich die Hauptorte des bidirektionalen Nährstoffaustausches zwischen AM- Pilz und Pflanze dar (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009). Ihre Lebensdauer ist zu anderen Organen der AM- Pilze, wie Vesikel oder Hyphen verhältnismäßig kurz. Nach einigen Tagen "zersetzen" sie sich, wohingegen sich die anderen Organe über Monate oder sogar Jahre in Wurzeln aufhalten können (Souza, 2015).

Warum die Lebenszeit von Arbuskeln so kurz ist, ist nicht bekannt. Holzige Pflanzen scheinen neben der eigenen Lebenszeit auch eine längere Lebenszeit der Arbuskeln zu besitzen (Smith und Read, 2009).

Vesikel

Vesikel werden grundsätzlich als Speicherorgane vor allem für Lipide betrachtet. Sie besitzen mehrere Zellkerne und haben dicke Zellwände. In ihrer Erscheinungsform sind sie meist als ovale, eiförmige Struktur zu erkennen (siehe Abbildung 1), wobei ihre morphologische Struktur sehr unterschiedlich ausfallen kann. Neben Sporen und Hyphen, spielen sie als Verbreitungsorgan in Wurzelresten eine bedeutende Rolle. Wie bei AMF- Pilzen allgemein üblich, hängt deren Entwicklung und Entstehung zum großen Teil von den äußerlichen Umweltfaktoren ab. Hohe P- Werte können, wie bei der Ausbildung von Arbuskeln, eine hemmende Wirkung auf die Ausbildung von Vesikeln besitzen (Smith und Read, 2009).

Nährstofftransport und „mycorrhizal helper bacteria“

Die Phosphorvorkommen im Boden haben den wahrscheinlich größten Einfluss auf die Ausbildung einer arbuskulären Mykorrhiza, wobei beide Partner der Symbiose einen hohen P-Bedarf besitzen (Smith und Read, 2009).

P-Verbindungen sind oft sehr immobil, da sie je nach pH- Wert schnell durch Eisen, Aluminium oder Calcium fixiert werden. Aufgründessen sind P- Verbindungen nur in sehr geringer Menge in der Bodenlösung vorhanden (Scheffer et al., 2010).

Bakterien haben grundsätzlich andere Umwandlungsprozesse und Zersetzungsstrategien als Pilze (Phillips, 2017).

Für den Ferntransport von Nährstoffen spielen Interaktionen zwischen Mycel und Bakterien somit eine bedeutende Rolle. Diese können beispielsweise einen Beitrag bei der Abspaltung von organischen Phosphorverbindungen oder dem Lösen von anorganischem Phosphat leisten. Dafür bekannte Bakterien werden auch als „mycorrhiza helper bacteria“ (zu Deutsch: Mykorrhiza Helfer- Bakterien) bezeichnet. Den AM–Pilzen kann die Aufnahme von Phosphat somit begünstigt werden damit sie diese der Pflanze zur Verfügung stellen zu können. Auch die Manganversorgung von Pflanzen scheint durch manganoxidierende Bakterien in der Mykorrhizosphäre begünstigt zu werden (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

Zusätzlich werden der Pflanze u.a. auch Stickstoff, Zink, Kupfer und Nickel durch die AM–Pilze bereitgestellt. Im Gegenzug gibt die Pflanze teilweise über 20% ihrer Photosyntheseprodukte an den Pilz abgibt (Gosling et al., 2006). Diese in der Wurzel bereitliegenden Zucker benötigen die Pilze für ihr eigenes Wachstum und um die helfenden Bakterien mit Nahrung zu versorgen. Versuche mit markiertem Kohlenstoff haben gezeigt, dass 10% des durch Photosynthese fixierten CO₂ schon nach 10–12 Stunden im Mycel im Boden nachweisbar ist (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

Ohne die Ausbildung einer Symbiose mit einer Partnerpflanze wäre der AM- Pilz also nicht in der Lage, seinen Lebenszyklus zu beenden (Smith und Read, 2009).

Aufgrund seiner feinen Hyphen verfügt das AM- Pilzgeflecht über eine verbesserte Nährstoffaufnahme gegenüber den Aufnahmemöglichkeiten der Wurzel (Abbildung 2). Die dünnen Fäden des Pilzgeflechts weisen eine deutlich größere Oberfläche auf als die groben Wurzeln. Zusätzlich ist es ihnen möglich, selbst kleinste Bodenporen zu durchdringen, wodurch auch eine verbesserte Wasseraufnahme zustande kommen kann (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009). Was die Aufnahme von Phosphat betrifft, kann die nicht-mykorrhizierte Wurzel stark benachteiligt sein, da sich Phosphat nur wenig über Diffusion im Boden bewegt. Somit bilden sich schnell Verarmungszonen um die Wurzeln.

Der Pilz dagegen kann die Substanzen aus einem größeren Radius erschließen und über Ferntransport (20-30cm) der Pflanze zukommen lassen (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

Weitere Vorteile für Pflanzen und Boden

Durch eine Vielzahl von Gewächshausversuchen konnte die positive Wirkung der AM-Pilze auf das Wachstum, die Qualität, und die Gesundheit ihrer Partnerpflanzen demonstriert werden. Dabei konnte auch beobachtet werden, dass die verbesserte Nährstoffaufnahme zu einer höheren Schwermetall- und Trockenheitstoleranz und zu verstärkter Resistenz gegen Schaderregern führen kann (Geue, 2002).

Auch auf die Struktur des Bodens kann das Mycel der arbuskulären Mykorrhiza- Pilze positive Auswirkungen haben. Außerhalb der Wurzel verleiht die Ausscheidung des Glykoproteins Glomalin (benannt nach der Ordnung Glomerales) den Hyphen Halt um sich entlang der Bodenpartikel "fortzubewegen". Damit sind sie in der Lage, in weitere Gebiete vordringen zu können. In der Zelle (intrazellulär), dient es zur Versiegelung der Räume.

Dieser kohlenstoffreiche "Kleber", kann mehrere Jahre im Boden verweilen und dort weiterhin für das Zusammenhalten der Bodenaggregate sorgen (Phillips, 2017).

Zum Teil wird Kohlenstoff auch im Boden fixiert, wodurch AM-Pilze als bedeutender Kohlenstoffspeicher agieren können (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

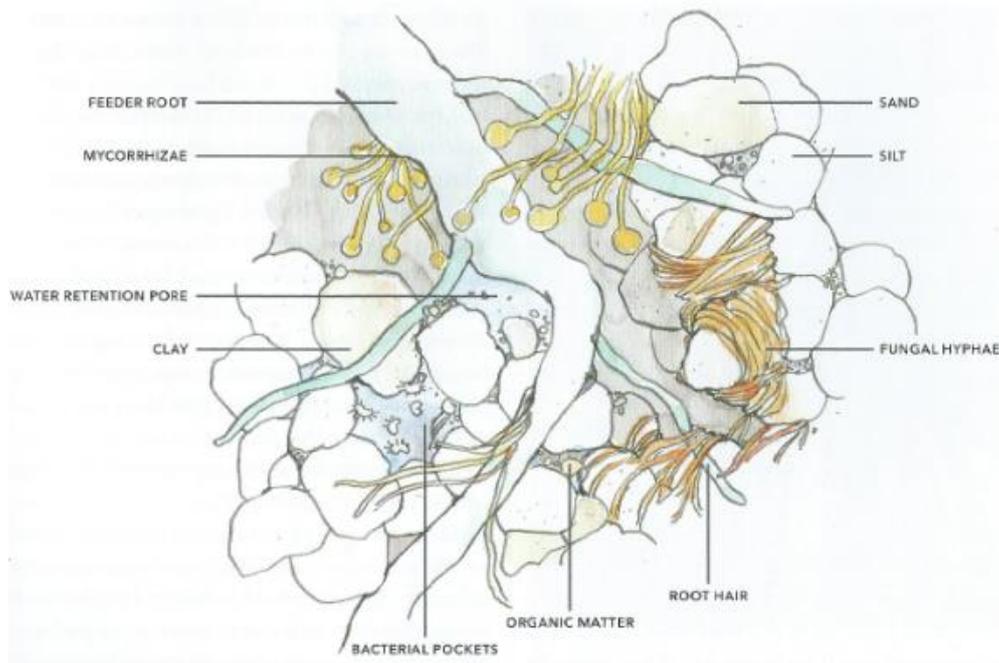


Abbildung 2: Aggregatbildung im Boden durch Hyphen arbuskulärer Mykorrhiza- Pilze (Phillips 2017).

Der Unterschied in der Größe zwischen Feinwurzeln der Pflanze und der Hyphen der Pilze lässt erkennen wie selbst kleinste Bereiche des Bodens von den Hyphen des AM- Pilzes erreicht werden können, um auch für die Wurzel unerreichbaren Orte, Nährstoffe zu erreichen (siehe Abbildung 2) (Phillips, 2017).

1.5 Genetik

Aufgrund ihrer weltweiten Verbreitung und häufig anzutreffenden Anwesenheit in den meisten Pflanzen erfolgte ihre Entdeckung und erste Beschreibung schon Ende des 19. Jahrhunderts. Bis Mitte des 20. Jahrhunderts war es jedoch nicht möglich, viel über ihre Funktionsweise herauszufinden (Smith und Read, 2009).

Seither wurde viel Forschungsarbeit betrieben. Innerhalb der letzten Jahrzehnte konnte auch die Evolutionsgeschichte der AM- Pilze neu aufgebaut und interpretiert werden.

Anhand molekulargenetischer Methoden wurde den arbuskulären Mykorrhiza- Pilzen ein eigener Stamm (Glomeromycota) innerhalb der Echten Pilze zugeschrieben (Smith und Read, 2009). Zuvor war es nur möglich, anhand der Morphologie und des Erscheinungsbildes der Sporen Klassifizierungen durchzuführen

Dieser teilt sich in vier Klassen, elf Familien, 25 Gattungen und 234 Arten auf. Damit besteht ein breites Spektrum an Wuchsformen und Funktionen (Souza, 2015).

Das Wissen über diese Pilzgruppe bleibt jedoch weiterhin recht begrenzt. Bisher sind z.B. keine sexuellen Stadien von AM- Pilzen bekannt. Man geht somit von einem seit mehreren hundert Millionen Jahren asexuell lebenden Eukaryoten aus (Bayrische Akademie der Wissenschaft, 2009).

Verwendete arbuskuläre Mykorrhiza- Arten

Aufgrund molekulargenetischer Methoden wurden in den letzten Jahrzehnten auch mehrere Reklassifizierungen innerhalb der Familie Glomeraceae durchgeführt. Vor allem die Gattung *Glomus*, hat sich mehrfach aufgeteilt. So wurden auch die in diesem Versuch verwendeten Arten reklassifiziert (Phillips, 2017).

früher:

Glomus mosseae --> *Funneliformis mosseae*

Glomus caledonium --> *Funneliformis caledonium*

Glomus intraradices --> *Rhizoglomus irregulare* (Sieverding et al., 2015)

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Mit dem Einsatz der drei oben genannten AM- Pilzarten sollten die Auswirkungen dieser auf das Wachstumsverhalten und die Kolonisationsrate der Wurzeln bei Sommergerste beobachtet werden.

Der Unterschied lag jedoch (im Gegensatz zu häufig durchgeführten Gewächshausversuchen, die kontrollierte Wassergaben und Temperaturverhältnissen aufweisen können, (Goss et al., 2017)), in der Ausführung des Gefäßversuchs im Freiland. Somit unterlag der Versuchsverlauf von Beginn an unkontrollierbaren Umwelteinflüssen.

Der Dottenfelderhof als Versuchsstandort bot zudem die Möglichkeit, Einblicke in die Zubereitung und Ausbringung biologisch-dynamischer Präparate zu erhalten. Aufgrund dessen wurden auch Varianten in den Versuchsaufbau mit einbezogen, die mit Präparaten behandelt wurden.

1.7 Verwendung biodynamischer Präparate und deren Hintergrund

Rudolf Steiner (1861-1925) hielt 1924 in Koberwitz bei Breslau eine Vortragsreihe über „Geisteswissenschaftliche Grundlagen zum Gedeihen der Landwirtschaft“. In diesem Landwirtschaftskurs ging Steiner neben naturwissenschaftlichen Beobachtungen auch auf von ihm beschriebenen immaterielle, vom Kosmos ausgehende Kräfte ein, die auf alle Lebensvorgänge eine Wirkung haben. In seinem Kurs stellt er die von ihm entwickelten Präparate vor, deren Herstellung von den Landwirten selbst vorgenommen werden kann, um die besagten Kräfte zu verstärken (Schaumann, 1996).

Rudolf Steiner begründete somit 1924 die Biologisch-dynamische Wirtschaftsweise. Diese stellte die erste gezielt-ökologische Form der Landwirtschaft dar, die von vielen Landwirten systematisch betrieben wurde. Abgeleitet von der Beobachtung, dass in der Natur alles Leben in Lebensgemeinschaften existiert, betrachtet Steiner den landwirtschaftlichen Betrieb als biologisches System, worin der Mensch durch seine Wirtschaftsweise die Zusammenhänge in eine förderliche Ordnung bringt (Schaumann, 1996).

Die biologisch-dynamischen Präparate unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung, dem Herstellungsprozess und der Ausbringungsform und sollen unterschiedliche Wirkungen auf Bodenprozesse und die Pflanzengesundheit haben (www.demeter.de).

1.8 Sommergerste (*Hordeum vulgare*) als Kulturpflanze

Gerste (*Hordeum vulgare*) wurde vor rund 10 000 Jahren im fruchtbaren Halbmond des mittleren Ostens domestiziert und gehört damit zu einer besonders alten Kulturart. Bis heute zählt sie zu den wichtigsten Getreidearten der Welt (Dornbusch, 2018).

Innerhalb des Brauwesens nimmt sie als Sommergerste eine besondere Stellung ein, wobei sich dort hohe Erträge und die Einhaltung von Qualitätsmerkmalen zum Ziel gesetzt werden (Trautz et al.).

Durch vermehrte Dürreperioden gewinnt die Trockenstress-Toleranz neben der Krankheitsresistenz (als Zuchtziel) zunehmend an Bedeutung (Dornbusch, 2018).

Verglichen mit Winterweizen und Winterroggen steht die Gerste mit einem Wasserbedarf von etwa 240mm pro Vegetationszeit in dieser Hinsicht bereits im Vorteil. Bei relativ hohem Nährstoffbedarf aber eher geringem Nährstoffaneignungsvermögen (WR>=HA>WW>SG), stellt die optimale Pflanzenernährung hingegen eine Herausforderung dar (Steffan, 1989).

Vor allem für den ökologischen Landbau kann das Erreichen einer hohen Braugerstenqualität (u.a. definiert durch Vollgerstenanteil ≥ 95 %, Proteingehalt von 9,5 bis 11,5 %) schwierig werden, da die Nährstoffversorgung schlechter regulierbar ist als im konventionellen Landbau (Trautz et al.). Dafür könnten sich ökologisch produzierte Rohstoffe durch eine geringere Schadstoffbelastung auszeichnen, denn unter dem Gesichtspunkt der Qualitätsanforderungen ist das deutsche Reinheitsgebot umstritten. Dieses schreibt zwar vor welche Rohstoffe als Zutat Verwendung finden dürfen. Im Endprodukt werden nachgewiesene Schadstoffe, die durch die verwendeten Rohstoffe in das Produkt gelangen können jedoch außer Acht gelassen (Kjer, 1993).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsort und Boden

2.1.1 Versuchsort

Der Gefäßversuch wurde zwischen dem 28. März und dem 12. Juni 2019 auf dem in der südlichen Wetterau, nordöstlich von Frankfurt (50°11'38.3"N 8°45'06.0"E) gelegenen Dottenfelderhof durchgeführt. Die Hofflächen liegen auf 106-142 m ü. NN und sind einer durchschnittlichen Jahrestemperatur von ca. 9,8°C und einer Niederschlagsmenge von etwa 625 mm ausgesetzt (Betriebsspiegel LWG Dottenfelderhof, 2019). Der Standort für den Versuch war dabei südwestlich ausgerichtet.

2.1.2 Bodenentnahme und Lagerung

Zwei Varianten wurden mit biologisch-dynamischen Präparaten behandelt. Um deren mögliche Auswirkungen besser beobachten zu können, erfolgte die Bodenentnahme für das Kultursubstrat am 01. März 2019 nicht auf dem Dottenfelderhof (biodynamisch bewirtschaftet), sondern auf dem 24 km entfernten Bioland-Gemüsebetrieb „Ackerlei“ bei Brücköbel. Am Kauntsberg wurden auf einem frisch gepflügten Acker (Vorfrucht Sellerie) in den obersten 15-20 cm, ca. 300 Liter Boden entnommen (etwa drei Meter vom Ackerrand entfernt, 50°11'02.0"N, 8°57'44.6"E). Bis zur weiteren Verwendung wurde der Boden ungesiebt und mit Folienbedeckung im unterdachten Außenbereich des Dottenfelderhofs in Kisten gelagert, um ein Entweichen der Feuchtigkeit zu verhindern.

2.1.3 Bodenanalyse

Für eine Grunduntersuchung des Bodens auf Parameter wie Nährstoffe, pH- Wert, Korngrößenfraktionen etc., wurde eine Mischprobe vom entnommenen Boden zusammengestellt. Die Probe (1kg) wurde durch ein Kompostsieb gerieben (1cm Maschenweite) und in zwei Portionen aufgeteilt, um einen Teil davon mit Quarzsand im Verhältnis 2:1 zu vermengen (wie beim späteren Kultursubstrat). Anschließend wurden je 500 Gramm (Boden und Boden-Sand- Gemisch) luftdicht in Plastiktüten abgepackt und an den Landesbetrieb Hessisches Landeslabor (LHL) in Kassel geschickt. Die zu untersuchenden Parameter waren jeweilig pH- Wert, Phosphor (P₂O₅), Kalium (K₂O), Magnesium (Mg), Humus, Corg, N (gesamt), Ton (<0,002), Schluff (0,002-0,063) und Sand (0,063-2).

Die Bodenartengruppe vom entnommenen Boden wurde mithilfe des Körnergrößendreiecks (Scheffer et al., 2010) und den aus den Laborergebnissen stammenden Daten als „Schluffiger Lehm“ eingestuft.

Die Bodenprobe enthielt einen Tonanteil von 20,7%, einen Schluffanteil von 63% und einen Sandanteil von 16,3%. Der pH- Wert betrug 6,8, Corg 0,97% und Ngesamt 0,13%.

Der Bodentyp am Entnahmeort wird dabei als Pseudogley-Parabraunerde mit Parabraunerde klassifiziert (bodenviewer.hessen.de) und stammt aus äolischen Lössablagerungen.

2.2 Versuchsaufbau

Um das Einsinken der Tische in den Boden zu verhindern und den Versuchsort durchgehend optimal begehbar zu halten, wurde eine etwa 15 cm hohe Schicht aus Holzhäckseln auf dem Rasen ausgebracht. Um die Gefäße z.B. vor Vögeln zu schützen, wurde über die Tische ein Netz angebracht. Die Aufstellung der Gefäße erfolgte randomisiert.

2.2.1 Saatgut, Inokulum, Gefäße

Saatgut

Das ungebeizte Saatgut der Sommergerste (*Hordeum vulgare*) wurde von einem Bioland-Betrieb im Hunsrück bezogen. Die dabei verwendete Sorte „Avalon“ ist auf dem dortigen Betrieb Bestandteil der Fruchtfolge und wird dort jährlich für die Bierherstellung angebaut.

Inokulum

Die drei verwendeten AM-Pilzarten wurden vom Fachbereich „Bodenbiologie und Pflanzenernährung“ der Universität Kassel/Witzenhausen in Form von Sporen (Trägermaterial: Blähtongranulat) zur Verfügung gestellt. Dabei handelte es sich um die Arten *Funneliformis caledonium*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizogloium irregulare* (Sieverding et al., 2015) und um ein Gemenge (nach Frank Eulenstein) der drei genannten Arten im Verhältnis 1:1:1.

Gefäße

Bei den verwendeten Kunststoffgefäßen nach Kick und Grosse-Brauckmann (1961) handelt es sich um doppelwandige (Außengefäß + nach unten offener Innenmantel), weiße Gefäße mit gewölbtem Unterboden. Der gewölbte Unterboden unterstützt einen besseren Abfluss von

Wasser in den Randbereich, von welchem es anschließend durch einen Ablaufstutzen in ein Auffanggefäß fließen und somit für den nächsten Gießvorgang wiederverwendet werden kann. Die Gefäße eignen sich hervorragend für Freilandversuche, weisen eine verbesserte Wärmeisolierung auf, ermöglichen einen einfachen Gießvorgang und können auf jede beliebige Wasserhaltekapazität aufgegosen werden (bis hin zur vollen Feldkapazität) (Kick und Grosse-Brauckmann, 1961).

Biodynamische Präparate

10 von 45 Gefäßen (2 Varianten) wurden mit biodynamischen Präparaten behandelt. Zur Anwendung kam dabei das Fladenpräparat nach Knut Brandau (Dottenfelderhof), abgewandelt nach dem Vorbild von Maria Thun (Wedig von Bonin, 2020). Des Weiteren kamen das Präparat 500 (Hornmist) und das Präparat 501 (Hornkiesel) zur Anwendung (demeter.de, 2019). Alle Präparate wurden auf dem Dottenfelderhof hergestellt und standen gebrauchsfertig zur Verfügung. Die beiden Spritzpräparate (500 und 501) wurden vor Gebrauch eigenständig auf der Hoffläche angerührt (dynamisiert). Dabei wurde ein 20 L großes Tongefäß als Behältnis und ein Weidenbesen als Rührstock verwendet. Es wurde handwarmes Leitungswasser verwendet.

2.2.2 Herstellung des Kultursubstrats

Am Tag der Gefäßbefüllung wurde die gelagerte Erde mit einem Kompostsieb (1 cm Maschenweite) zerkleinert. Um das gewünschte Verhältnis Boden:Sand (2:1) zu erhalten, wurden im Wechsel jeweils 20 Liter gesiebte Erde und 10 Liter Quarzsand (voluminös) übereinandergeschichtet (siehe Abbildung 3) und anschließend gründlich mit einer Schaufel durchmischt. Eine Probe Erde/Sand-Gemisch wurde für weitere, eventuell anstehende Untersuchungen (wie. z.B. Nmin und mikrobielle Biomasse) tiefgefroren.



Abbildung 3: links oben: zu zerreibende Erde über einem Kompostsieb (1 cm Maschenweite), rechts oben: Anteile Boden:Sand 2:1, unten: zu durchmischendes Kultursubstrat

2.2.3 Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität (WHK_{max})

Die Bestimmung der WHK erfolgte am Tag der Mischung von Boden und Sand (kurz vor der Befüllung der Gefäße) um mögliche Abweichungen des Wassergehalts durch Verdunstung so klein wie möglich zu halten.

Material je 2x (für Messwiederholung):

- 500 ml Messzylinder
- Trichter und Papierfilter
- 100 Gramm frisch gemischtes Kultursubstrat (2:1 Erde:Sand)
- 100 ml Wasser

Um den Wassergehalt des Bodens gravimetrisch bestimmen zu können, wurden je 100 g feuchtes Kultursubstrat bis zur Gewichtskonstanz bei 105°C im Trockenschrank getrocknet. Auch Filter wurden zuvor im Trockenschrank getrocknet, um mögliche Restfeuchte zu entfernen. Das Trichtergewicht wurde ohne Trocknung notiert. Daraufhin wurden die Filter im Trichter mit Wasser besprüht, jeweils erneut gewogen und auf die Zylinder gesetzt. Anschließend wurden je 100 g Kultursubstrat (Boden:Sand 2:1) in die sich im Trichter befindlichen Filter gefüllt. Der Trichter wurde verschlossen und mit 100 ml Wasser aufgegossen. Nach einem dreistündigen „Wasserbad“, wurde der Trichter wieder geöffnet und das Wasser konnte in die Messzylinder fließen (siehe Abbildung 4). Nach einer Stunde Abtropfzeit wurde das Kultursubstrat im Filter samt Trichter nass gewogen. Zur Bestimmung des Trockengewichts wurde der Filter samt Inhalt bei 105°C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.



Abbildung 4: Messzylinder mit Trichter, Filter und je 100g Kultursubstrat (nach dreistündigem Wasserbad).

Formeln:

1. $WG [\%] = (FG \text{ Trichter gesamt} - TG \text{ Trichter gesamt}) * 100 / TG \text{ Trichter gesamt}$
2. $TG \text{ Boden [g]} = TG \text{ Trichter gesamt} - TG \text{ Trichter}$
3. $WK [g] = FG \text{ Trichter gesamt} - FG \text{ Trichter} - TG \text{ Boden}$
4. $WHK [\%] = 100 * WK[g] / TG \text{ Boden}$

1. $WG [\%] = (FG \text{ Trichter gesamt} - TG \text{ Trichter gesamt}) * 100 / TG \text{ Trichter gesamt}$

1. $WG [\%] = 10,1$ $WG [g] = 10,1$
2. $WG [\%] = 9,8$ $WG [g] = 9,8$

WG[%] Durchschnitt von 1. und 2.

$WG [\%] = (1.WG [\%] + 2.WG [\%])/2 = (10,1 + 9,8)/2 = 19,9/2 = \mathbf{9,95}$

2. $TG \text{ Boden [g]} = TG \text{ Trichter gesamt} - TG \text{ Trichter}$

1. $TG \text{ Boden [g]} = 89,9$
2. $TG \text{ Boden [g]} = 90,2$

TG Boden [g] Durchschnitt von 1. und 2.

$TG \text{ Boden [g]} = (89,9 + 90,2)/2 = 90,05$

3. $WK [g] = FG \text{ Trichter gesamt} - FG \text{ Trichter} - TG \text{ Boden}$

1. $WK [g] = 32,8$
2. $WK [g] = 30,6$

4. $WK \text{ max} [\%] = 100 * WK[g] / TG \text{ Boden}$

1. $WK [\%] \text{ max} = (100 * 32,8g / 89,9g) = 36,77$
2. $WK [\%] \text{ max} = (100 * 30,6g / 90,2g) = 33,92$

WK[%] max Durchschnitt von 1. und 2.

$WK [\%] \text{ max} = (1.WK [\%] \text{ max} + 2.WK [\%] \text{ max})/2 = (36,77 + 33,92)/2 = 70,69/2 = \mathbf{35,35}$

Gewünschte WK[50%]

$WK [50\%] = WK [\%] \text{ max} / 2 = 35,35/2 = \mathbf{17,675}$

Berechnung des Zielgewichts der jeweiligen Versuchsgefäße für eine 50%ige WHK

Um das jeweilige Zielgewicht der Töpfe berechnen zu können, wurde das errechnete Trockengewicht der Probe mit dem eingewogenen Kultursubstrat (10,165kg) multipliziert. Der daraus entstandene Wert wurde mit der errechneten WHK[50%] multipliziert. Zusätzlich wurde jeweils das topfspezifische Gewicht aufaddiert.

Zielgewicht=

Trockengewicht Kultursubstrat in % x Einwaage Erde 10,165 Kg + spezifisches Topfgewicht

Trockengewicht Kultursubstrat in % = 100%- WG [%] =

100%- 9,95% = **90,05%**

Trockengewicht Einwaage Erde 10,165 kg/Topf x 0,9005 = 9,1535 kg

→ **Zielgewicht der Gefäße = 9,1535 kg x WK [50%] = 9,1535kg x 1,17675 = 10,7714**
KG

→ **+ spezifisches Topfgewicht mit Schlauch**

2.3 Versuchsablauf

2.3.1 Vorzucht

Am 28.03.2019 wurde das Saatgut der Sommergerste in insgesamt sechs Aussaatschalen (11x7 =77 Plätze mit je ca. 50 cm³) ausgesät. Wie bereits beschrieben, wurde auch hier für das Kultursubstrat Erde frisch gesiebt und im Verhältnis 2:1 mit Quarzsand gemischt. Die einzelnen Samen wurden in etwa 2,5 cm tiefe vorgestochene Löcher ausgesät, anschließend bedeckt und gleichmäßig angegossen.



Abbildung 5: links oben: Herstellung des Kultursubstrats für die Vorzucht, rechts oben: 2,5 cm tief vorgestochene Aussaatlöcher, unten: Versuchsort

Vorzucht mit biodynamischen Präparaten

Zwei Tage nach der Aussaat wurden 98 Plätze mit biodynamischen Präparaten behandelt. Zur leichteren und genaueren Dosierung des Fladenpräparats, wurde dieses zuvor in der Sonne getrocknet und pulverisiert. Anschließend wurden davon insgesamt 3g über die frisch gesäten Samen gleichmäßig verteilt und angegossen.

Am gleichen Tag wurde das Präparat 500 angerührt und nachmittags ausgebracht. Dabei wurden 30 g feuchter Hornmist in einem Tongefäß mit 10 Liter handwarmem Wasser für 1 h gerührt. Anschließend wurde das Präparat (zur besseren Dosierung) mit einer 10 ml Spritze (1 Tropfen = 0,05ml/Samen) ausgebracht.

2.3.2 Befüllung der Gefäße

Neun Tage nach der Aussaat wurden die Versuchsgefäße mit Kultursubstrat gefüllt. Um Gleichheit für alle Gefäße zu schaffen, wurde mit einer Waage gearbeitet. Von jedem Topf wurde das Gewicht samt Schlauch notiert, anschließend tariert und mit jeweils 10,165 kg Kultursubstrat befüllt.

Biodynamische Variante

Zur Befüllung Gefäße der zwei biodynamischen Varianten, wurde das Kultursubstrat von 10,165 kg in drei gleiche Portionen aufgeteilt. Zu jeder Schicht Kultursubstrat kamen je 1/3 g getrocknetes Fladenpräparat (= 1 g/Gefäß).

2.3.3 Inokulation und Variantengestaltung

Alle Varianten (bis auf die Vergleichsvariante: unbehandelter Boden, n=10), wurden jeweils fünffach wiederholt.

Insgesamt gab es 45 Töpfe:

5x Inokulum A (*Funneliformis caledonium*)

5x Inokulum B (*Rhizoglonus irregulare*)

5x Inokulum C (*Funneliformis mosseae*)

5x Inokulum D Frank Eulenstein (*F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae* 1:1:1)

5x gedämpft (1 ½ h bei 90°C), um eine Vergleichsvariante ohne natürlich vorkommende Mykorrhiza zu erhalten

5x biodyn (Anwendungen von Fladenpräparat, Hornmist, Hornkiesel)

5x Inokulum B + biodyn (*R. irregulare* + Anwendungen von Fladenpräparat, Hornmist, Hornkiesel)

10x unbehandelt (Boden gesiebt + Quarzsand 2:1)

Setzlinge und Inokulum

In jeden Topf wurden 10 Tage nach der Aussaat fünf vorgezogene Sommergerstenpflanzen gesetzt (siehe Abbildung 7). Mit einem Vorstecher und einer Markierung für die Einstechtiefe wurden fünf Löcher pro Topf aufgedreht. In diese wurden etwa gleichgroße Gerstenpflanzen eingesetzt, bedeckt und leicht angedrückt. Die Setzlöcher für die zu beimpfenden Varianten wurden dabei zuvor mit 20 ml Inokulum befüllt (siehe Abbildung 6). Alle Töpfe wurden anschließend mit 300 ml entmineralisiertem Wasser angegossen.



Abbildung 6: Setzen der vorgezogenen Sommergerstenpflanzen mit vorheriger Inokulation (20 ml/ Loch)



Abbildung 7: Versuchsgefäße 10 Tage nach der Aussaat der Samen

2.3.4 Anwendungen der Spritzpräparate im Verlauf des Versuches

Hornmist

Hornmist wurde einmalig an einem Abend (23 Tage nach der Aussaat) in einem 20 Liter Tongefäß für die Sauerkrautherstellung angerührt (dynamisiert). Dabei wurden 33g feuchter Hornmist in 10 Liter handwarmem Leitungswasser gelöst und für eine Stunde mit einem Weidenbesen gerührt (dynamisiert).

Wie auch schon bei der Anzucht der Gerstenpflanzen wurde das Präparat mit einer 10 ml Spritze ausgebracht. Dabei wurden 25 Tropfen (a 0,05 ml) gleichmäßig über das Kultursubstrat der zu behandelnden Varianten getropft.

Hornkiesel-Behandlung 24 Tage nach der Aussaat

Vormittags wurden 1 g Hornkiesel (gemahlener Quarzkristall) in 10 Liter handwarmen Leitungswasser angerührt und eine Stunde lang dynamisiert. Auch hier wurde das 20 Liter große Tongefäß verwendet.

Für eine genauere Dosierung bei der Ausbringung wurde das Präparat mit einem Sprühgerät (3 Sprühstöße mit je 1ml =3ml pro Topf) gleichmäßig auf die Pflanzen verteilt. Um die anderen Varianten nicht mit dem Sprühnebel zu treffen, wurden die biodynamischen Varianten jeweils auf einem Schiebewagen abseits des Versuchsortes behandelt und anschließend wieder an ihren Standort zurückgestellt.

Hornkiesel- Behandlung an drei aufeinander folgenden Tagen

Kurz vor dem BBCH-Makrostadium 3 (Schossen) wurden zusätzlich Behandlungen mit Hornkiesel (3 Sprühstöße a 1ml =3ml pro Topf, gleichmäßig auf die Pflanzen verteilt) durchgeführt. Diese fanden 48 Tage nach der Aussaat an drei aufeinander folgenden Tagen statt.

2.3.5 Bewässerung

5 Tage nach der Bepflanzung der Gefäße, wurde auf 100% WHK aufgegossen. Dabei wurde den Töpfen nach und nach Wasser hinzugegeben, bis dieses in die Auffangbehältern auslief (zu dem Zeitpunkt um die 850ml/Topf).

Gießvorgang auf 50%ige WHK

14 Tage nach der Bepflanzung der Gefäße erfolgte die erste Wässerung auf 50% WHK. Das wiederholende Aufgießen erfolgte nach eigener Abschätzung abhängig von der Wetterlage (Niederschlagsmenge und Temperatur/Sonneneinstrahlung). Dazu wurde jeder Topf vor Ort gewogen und auf das topfspezifische Gesamtzielgewicht (siehe Zielgewicht) aufgegossen.

Die Bewässerung erfolgte stets mit entmineralisiertem Wasser aus der Hofkäserei.

2.4 Weitere Messungen

2.4.1 Länge und BBCH- Stadien



Abbildung 8: Sommergerstenpflanzen 57 Tage nach der Aussaat (6. Messung der Länge und der BBCH- Stadien)

Die ersten Messungen von Blattstadium und Länge der einzelnen Pflanzen (5 Pflanzen/Gefäß) erfolgten 13 Tage nach der Auspflanzung bzw. 23 Tage nach der Aussaat.

Weitere Messungen erfolgte in unregelmäßigen Abständen, ebenfalls abhängig von der Wetterlage.

2.5 Ernteablauf und Bestimmung der Trockenmasse

2.5.1 Oberirdische Pflanzenmasse

Aufgrund des vorgesehenen Erntezeitpunktes der Pflanzen (BBCH Makrostadium 5, Austritt der Ähre) musste die Variante mit gedämpftem Kultursubstrat, als erste geerntet werden. Die restlichen Varianten mussten vier Tage später geerntet werden, um vergleichbare BBCH-Stadien aufweisen zu können (BBCH 52-56, 20%-60%iger Austritt der Ähre).



Abbildung 9: etwa 1 cm über dem Erdboden abgetrennte Pflanzen

Die Trennung der oberirdischen Pflanzenteile erfolgte mit einem Schnitt etwa 1cm über der Bodenoberfläche (siehe links Abbildung 9). Diese wurden daraufhin jeweils bei 65°C in Papiertüten im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Um die Wurzelmasse vom Kultursubstrat zu befreien, wurde der Inhalt vorsichtig aus dem Innengefäß gedrückt und für etwa 10 min in eine Wanne mit Leitungswasser eingelegt. Dadurch ließ sich schon ein großer Teil des Kultursubstrat lösen, bevor restliche Bestandteile vorsichtig über einem Gitter (zum Auffangen von Wurzelresten) mit einem Wasserschlauch und Sprühaufsatz abgespült wurden. Dadurch konnte die Wurzelmasse vorsichtig von jeglichen Erdbestandteilen freigewaschen werden (siehe Abbildung 10). Die

Wurzelmasse wurde dann in einem wasserdichten Beutel mit Wasser zur Hälfte bedeckt, um nicht an Feuchtigkeit zu verlieren und bis zum Wiegen und einfärben bei 4°C gelagert.



Abbildung 10: links oben: Einweichen des Wurzelballens in Leitungswasser, rechts oben: Säuberung der Wurzeln, unten: gesäubertem Wurzelballen (gedämpfte Variante)

2.5.2 Wurzeln

Bestimmung der Wurzelmasse

Um weiterführende Arbeiten zur quantitativen Bestimmung der Mykorrhizierungsrate anhand einer realtime- PCR (Polymerase Kettenreaktion) zu ermöglichen, wurde der größte Teil der Wurzelmasse gefriergetrocknet. Die zuvor bestimmte Wurzeltrockenmasse konnte deswegen nur ungefähr durchgeführt werden. Die Bestimmung des Wurzelmasstrockengewichts der jeweiligen Gefäße erfolgte durch die Einwaage der noch feuchten, abgetropften und abgetupften Wurzelmasse. Davon wurden jeweils um die 3 Gramm frisch entnommen, gewogen und anschließender Trocknung mit Rückwaage unterzogen. Die dadurch errechneten Werte wurden jeweils mit dem Durchschnitt der Varianten multipliziert. Dadurch konnte der ungefähre Trockenmassegehalt der Wurzeln/Topf ermittelt werden.

2.6 Quantitative Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades

2.6.1 Probenentnahme, Färbung



Abbildung 11: Entnahme 1x1 cm Wurzelproben aus dem Mittelstück des Wurzelballens für anschließende Färbung der Wurzelpilze

Entnahme der AM- Wurzelproben

Vom bestehenden Wurzelballen/Gefäß wurden mittig in einem Abstand von je 5 cm, 2 Proben entnommen (3x3 cm), in etwa 1 cm² Stücke geschnitten und anschließend in Einbettkassetten gelegt (siehe Abbildung 11). Alle Kästchen wurden durchnummeriert und in drei Fraktionen aufgeteilt. Da die Färbung an Intensität verlieren kann, wurde erst nach Zählung der ersten Fraktion die nächste aufbereitet.

Aufbereitung und Färbung (modifiziert nach Phillips und Hayman, 1970).

Die jeweiligen Einbettkassetten wurden in 10%iger KOH- Lösung im Wärmebad bei 90°C für 60 min gebleicht. Nach dem Abkühlen wurden die Einbettkassetten vorsichtig mit Leitungswasser gespült und für 20 min in 2 M Salzsäure eingelegt. Das Wasserbad wurde erneut auf 90° erhitzt und die Proben wurden in 0,1%iger Trypanblau- Milchsäurelösung (1g Trypanblau auf 1000ml 90% Milchsäure) für 20 min eingefärbt (Phillips und Hayman, 1970). Danach wurden die Proben mit Milchsäure vom Trypanblau „freigewaschen“ und im

Kühlschrank in einer Lösung von Glycerin, Milchsäure und Wasser im Verhältnis 1:1:1 bei 10°C bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Das Einfärben der Wurzeln und die anschließende Untersuchung unter dem Mikroskop bzw. dem Binocular stellt immer noch die am meisten genutzte Methode dar, um die Kolonisationsrate der Wurzeln bzw. die kolonisierte Wurzellänge in Prozent einschätzen und darstellen zu können. Um die Organe der AM- Pilze unter dem Lichtmikroskop sichtbar machen zu können, bleibt Trypanblau wahrscheinlich das gängigste Färbungsmittel. Da es als Karzinogen eingestuft ist beim Arbeiten mit dieser Substanz allerdings höchste Vorsicht geboten. Eine einfache und weitaus ungefährlichere Möglichkeit würde die Färbung mit Tinte und Essigsäure bieten. Die Verwendung dieser Methoden kann jedoch zu Ungenauigkeiten bei der anschließenden Zählung führen, da z.B. je nach Dicke der Pilzwände eine Färbung ausbleiben kann. Auf der anderen Seite können auch Wurzelteile eingefärbt werden, die dann missverständlich als Pilzbestandteil gewertet werden. Auf Grund dessen wurde hier die Variante mit Trypanblau gewählt. Um die Prozentzahl der kolonisierten Wurzellänge bestimmen zu können, kommt die weit verbreitete "grid-intersect method" zur Anwendung. Wird zusätzlich das Gewicht der zu untersuchenden Wurzelproben notiert, kann das Verhältnis von Gewicht zu Wurzellänge erstellt werden. Dieses kann Auskunft über die komplette Wurzellänge der Pflanzen geben. Bei der Zählung werden jegliche Organe des AMF gewertet, d.h. interzelluläre Hyphen, Vesikel und Arbuskeln. (Smith und Read, 2009).

2.6.2 Gridline- intersection- method

Quantitative Bestimmung

Unter einem Binokular (Leica S6E Zoom Stereomikroskop mit 6.3-40x Vergrößerung) wurde unter 40x-facher Vergrößerung nach der „gridline- intersection- method“ (GIOVANNETTI und MOSSE, 1980) der Mykorrhizierungsgrad der jeweiligen Proben bestimmt. Für jede Variante wurden zwei Proben abgezählt.

Hierfür wurde die vorgeschchnittene Probe (siehe Abbildung 12,13) auf eine „gridline“- Schale gelegt und gleichmäßig verteilt. Die Schnittstellenanzahl sollte dabei mindestens 100 betragen.

Es werden alle Schnittstellen gezählt und notiert. Anschließend wird die Anzahl der infizierten Schnittstellen durch die Anzahl der nicht infizierten Schnittstellen geteilt.

Der Mykorrhizierungsgrad in % wurde anhand der folgenden Formel berechnet:

$$\text{Infektionsrate [\%]} = (\text{Schnittstelle infizierte Wurzel} / \text{Schnittstelle gesamte Wurzel}) * 100$$

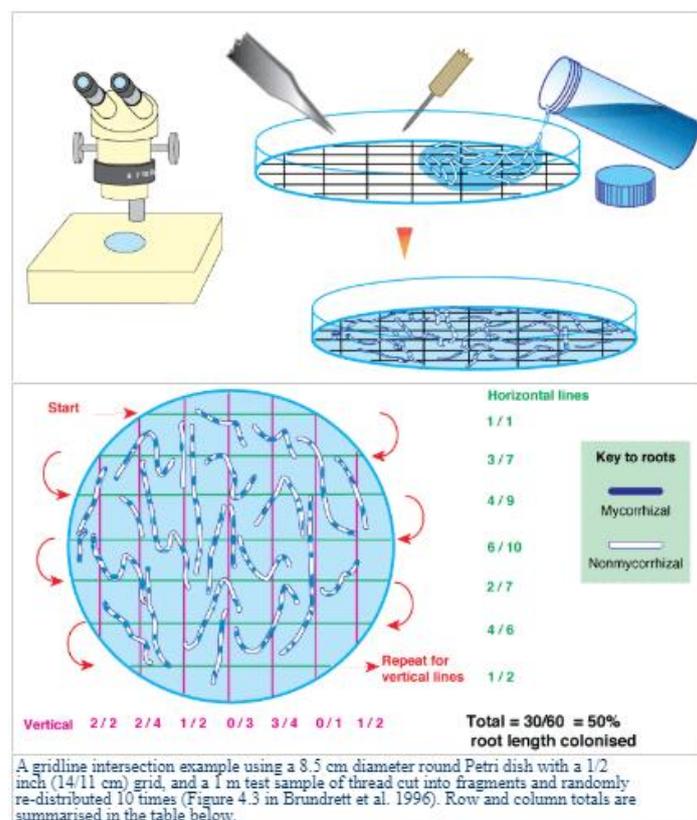


Abbildung 12: gleichmäßige Verteilung der eingefärbten Wurzelproben auf der "gridline"-Petri mit anschließender Zählung aller Schnittstellen (mykorrhiziert sowie nicht mykorrhiziert) zur Berechnung des Kolonisationsgrades (Brundrett et al. 1996).

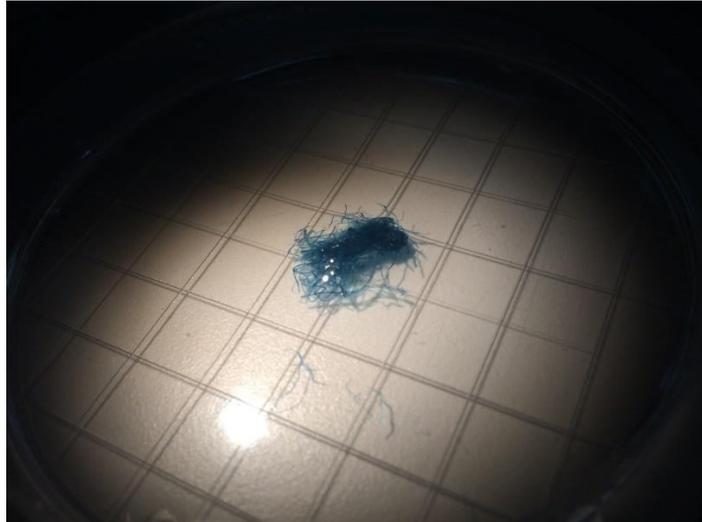


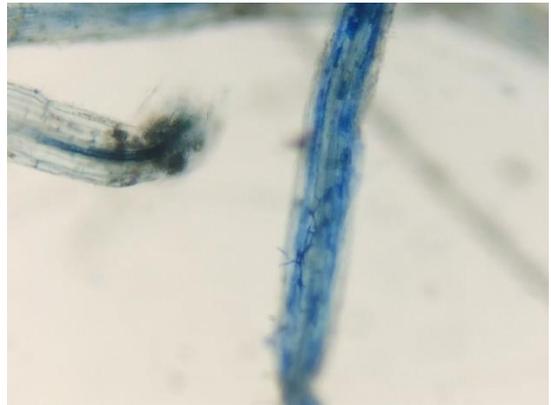
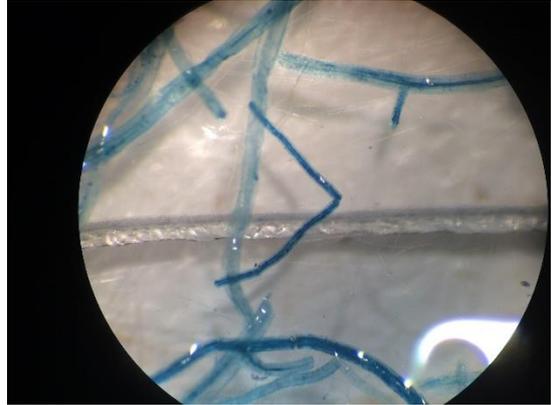
Abbildung 13: frisch eingefärbte Wurzelprobe auf der "gridline"- Petri (vor der Verteilung)

Für vergrößerte Aufnahmen diente das Primostar Durchlichtmikroskop (Okular 10x) mit 40x und 100x Objektiv. Die Aufnahmen bei 400 und 1000facher Vergrößerung wurden jeweils mit einem Apple Iphone SE gemacht.

2.7 Statistische Auswertungen

Alle statistischen Auswertungen und Grafikdarstellungen erfolgten mit dem Statistikprogramm SPSS von IBM. Signifikante Unterschiede wurden durch die Festlegung des Alphaniveaus von 5% ($p < 0,05$) und dem anschließendem LSD („least significant difference“) Post-Hoc-Test berechnet. Die Daten wurden zuvor jeweils auf Normalität und Varianzgleichheit (Levene-Test) getestet, um die Voraussetzungen der ANOVA zu erfüllen.

3 Ergebnisse



3.1 Längendurchschnitte der untersuchten Varianten im Zeitverlauf

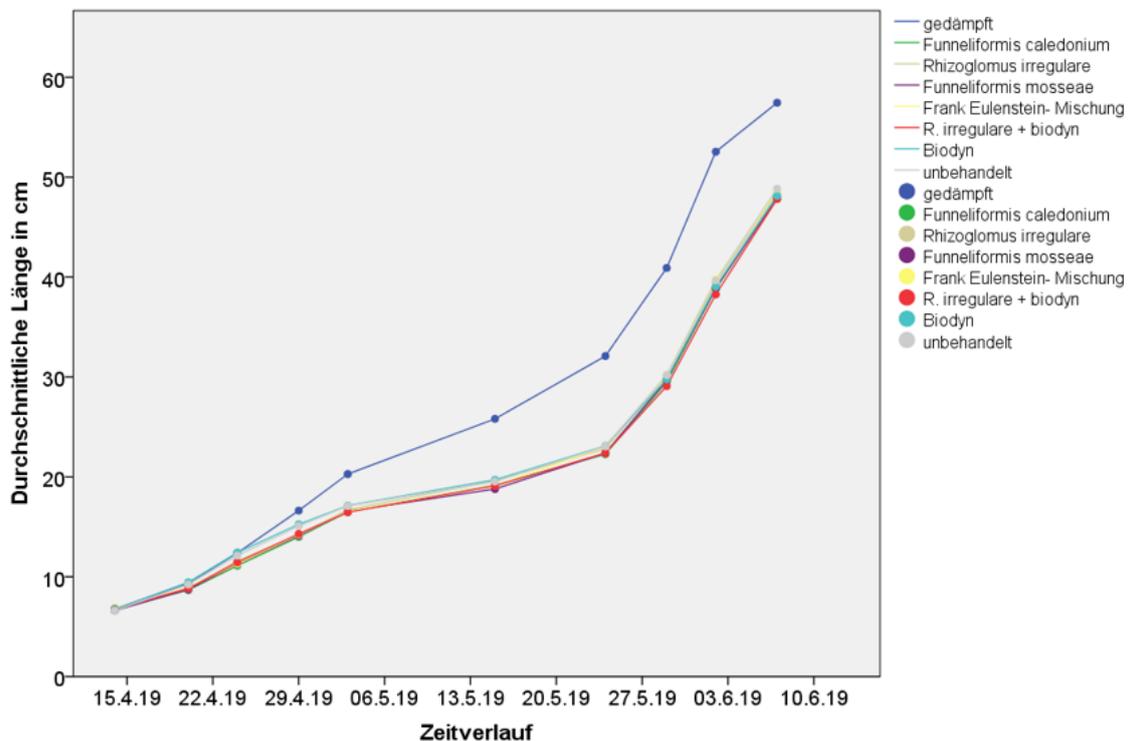


Abbildung 14: Durchschnittliches Pflanzenwachstum der insgesamt 8 Varianten im Zeitverlauf mit insgesamt 10 Messzeitpunkten (9 aufgeführt): *F. caledonium*, *R. irregularis*, *F. mosseae*, Frank Eulenstein Mischung= (*F. caledonium*, *R. irregularis*, *F. mosseae* 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat Boden:Sand 2:1, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, *R. irregularis* + biodyn= Inokulum *R. irregularis* + biodynamische Präparate*

*biodynamische Präparate: Fladenpräparat getrocknet, Hormist, Hornkiesel

Abbildung 14 lässt deutlich erkennen, dass die gedämpfte Variante (blaue Linie) fast durch den gesamten Versuchszeitraum die höchsten Pflanzen besessen hat. Eine besonders starke Differenz der gedämpften Variante gegenüber den anderen, entstand dabei zwischen dem 03.05. und 24.05. statt. Die anderen Varianten durchlaufen in diesem Zeitraum eher mehr eine Art „Seitwärtsphase“. Die gedämpfte Variante durchlief dabei die Längendurchschnitte von 20,3 cm (03.05.), 25,8 cm (15.05.) und 32,1 cm (24.05.) und unterschied sie sich schon ab dem 29.04 (32 Tage nach der Aussaat) gegenüber allen Varianten höchstsignifikant, (LSD, $p < 0.001$). Ab dem 24.05. verliefen die gedämpfte und die restlichen Varianten wieder verhältnismäßig parallel zueinander.

Nicht dargestellt sind die Längenwerte der restlichen sieben Varianten, welche nochmals am Tag ihrer Ernte (11.06.) gemessen wurden. Die gemessenen Endwerte der jeweiligen Varianten lagen zwischen 49,5cm (Frank Eulenstein- Mischung) und 50,4 cm (unbehandelt)

wohingegen die gedämpfte Variante eine durchschnittliche Länge von 57,5 cm schon vier Tage zuvor aufweisen konnte.



Abbildung 15: von links nach rechts: gedämpft , *Funneliformis caledonium* und unbehandelt am Tag der Ernte der gedämpften Varianten



Abbildung 16: 2. Wiederholung aller restlichen Varianten am Tag der Ernte (11.06.). von links nach rechts: *F. caledonium* (A), *Rhizoglopus irregulare* (B), *F. mosseae* (C), Frank Eulenstein- Mischung (D), unbehandelt, *R.irregulare* + biodyn, biodyn

3.2 Gießwasser 50%ige Wasserhaltekapazität

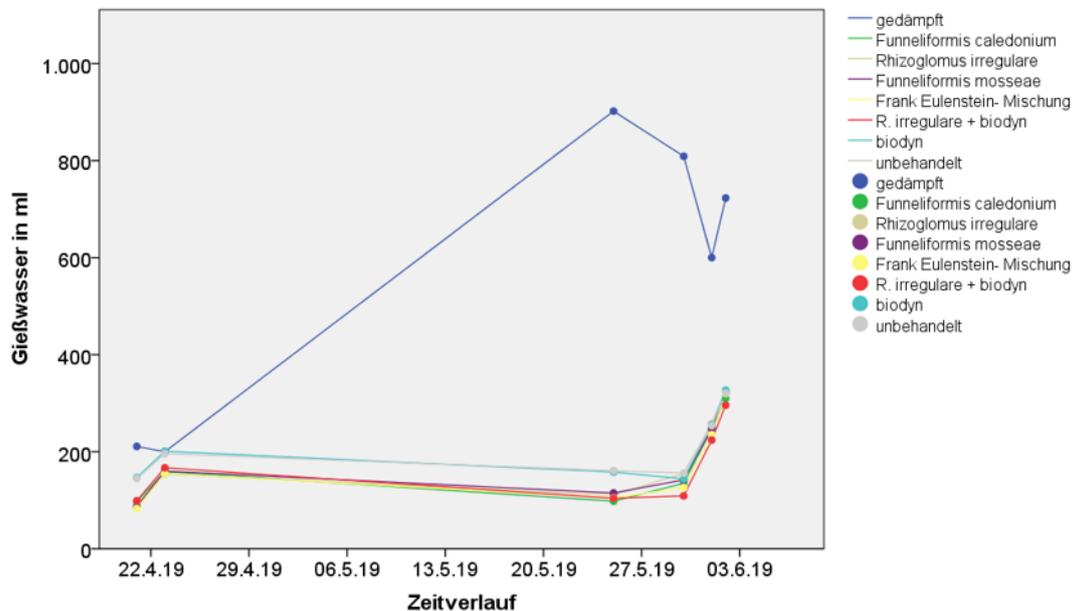


Abbildung 17: Gießwasserbedarf der jeweiligen Varianten zu unterschiedlichen Zeitpunkten (abhängig von der Wetterlage und Niederschlag). Varianten: *F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae*, Frank Eulenstein Mischung (*F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae* 1:1:1), gedämpft = 90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, *R. irregulare* + biodyn= Inokulum *R. irregulare* + biodynamische Präparate*

*biodynamische Präparate: Fladenpräparat getrocknet, Hormist, Hornkiesel

Aus dem Gießdiagramm (Abbildung 17) wird ersichtlich, dass über einen Monat keine Messung und kein Gießvorgang durchgeführt wurden. Die Abbildung lässt deutlich erkennen, dass die gedämpfte Variante (blaue Linie) (den zweiten Gießtermin ausgenommen), durchgehend höhere Mengen an Gießwasser benötigte, als alle anderen sieben Varianten. Der Bedarf an Gießwasser erreichte mit einem durchschnittlichen Wert von 902 ml seinen Höchststand. Die erforderlichen Gießmengen, um die Gefäße wieder auf 50%ige WHK aufzugießen, nahmen bei den nächsten zwei Gießterminen wieder ab (809 ml und 600 ml). Alle restlichen Varianten erforderten zu diesem Gießterminen hingegen mehr Gießwasser und konnten einen deutlich erhöhten Bedarf verzeichnen. Ein von Beginn an bestehender Unterschied bestand zwischen der unbehandelten (grau) und biodynamischen Variante (türkis) gegenüber den restlichen Varianten (paralleler Verlauf bis zum 30.05.), welcher sich ab diesem Tag jedoch wieder auflöste.

Die gedämpfte Variante (mit 3445 ml) benötigte schlussendlich mehr als dreimal so viel Wasser, um jeweils auf eine 50%ige WHK aufgegossen zu werden, als der Durchschnitt der restlichen Varianten.

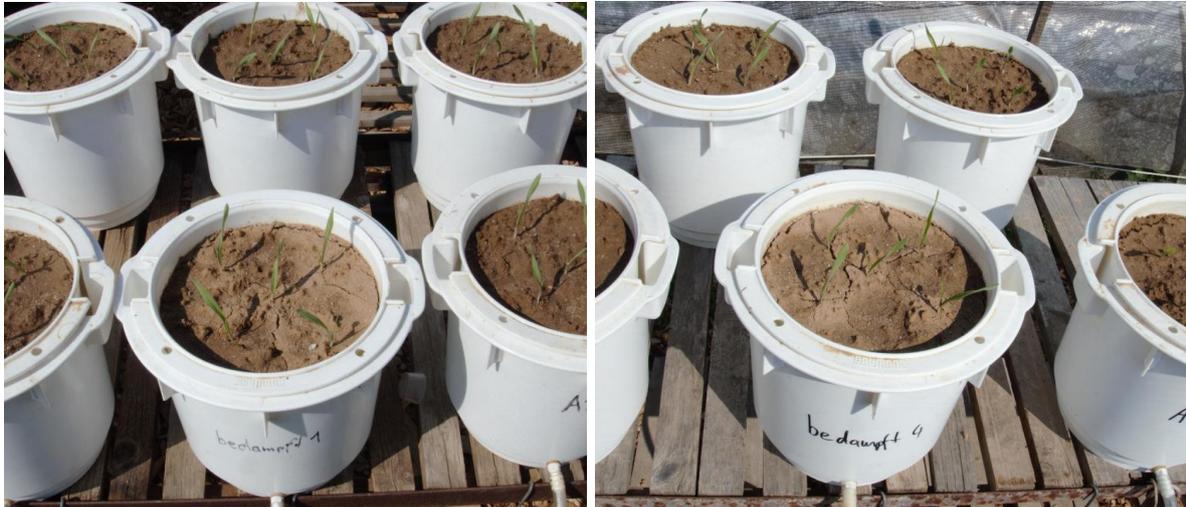


Abbildung 18: Die gedämpfte Variante zeigt schnelles Abtrocknen der Bodenoberfläche bei allen Varianten, hier als Beispiel: gedämpft 1 und gedämpft 4 (am 15.04.)

3.3 BBCH- Stadien der untersuchten Varianten im Durchschnitt

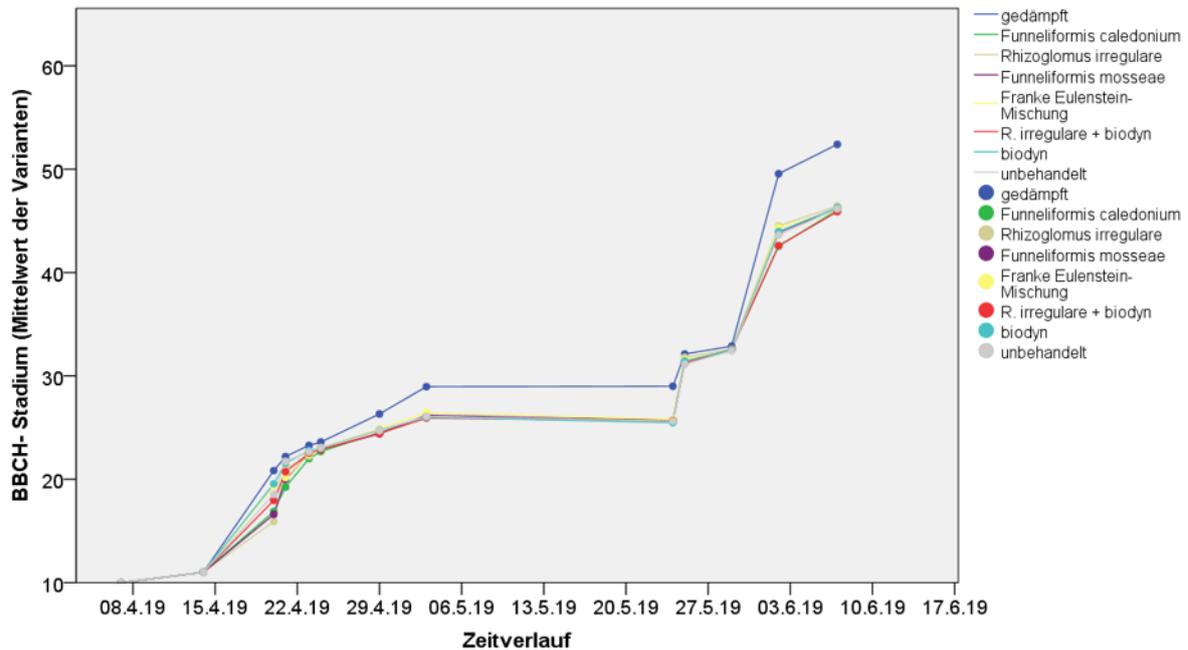


Abbildung 19: Durchschnitte der BBCH- Entwicklungsstadien aller Varianten im Zeitverlauf mit unterschiedlichen Messzeitpunkten. Varianten: *F. caledonium*, *R. irregularis*, *F. mosseae*, Frank Eulenstein Mischung (*F. caledonium*, *R. irregularis*, *F. mosseae* 1:1:1), gedämpft = 90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt = Kultursubstrat unbehandelt, biodyn = Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, *R. irregularis* + biodyn = Inokulum *R. irregularis* + biodynamische Präparate*

*biodynamische Präparate: Fladenpräparat getrocknet, Hormist, Hornkiesel

Auch bezüglich des BBCH- Entwicklungsstadiums in Abbildung 19 ist die gedämpfte Variante (blaue Linie) über allen anderen Varianten aufzufinden. Im Makrostadium 5 (Ährenschieben) wurden die Pflanzen geerntet. Die gedämpfte Variante wurde am 07.06. mit einem durchschnittlichen BBCH- Stadium 52 geerntet, wobei die restlichen Varianten aufgrund noch nicht erreichten BBCH- Stadiums (zu diesem Zeitpunkt) erst 4 Tage später geerntet (11.06.) wurden. Die Werte dieser restlichen Varianten sind nicht graphisch dargestellt.

3.4 Trockensubstanz der Wurzeln und der oberirdischen Pflanzenmasse in g

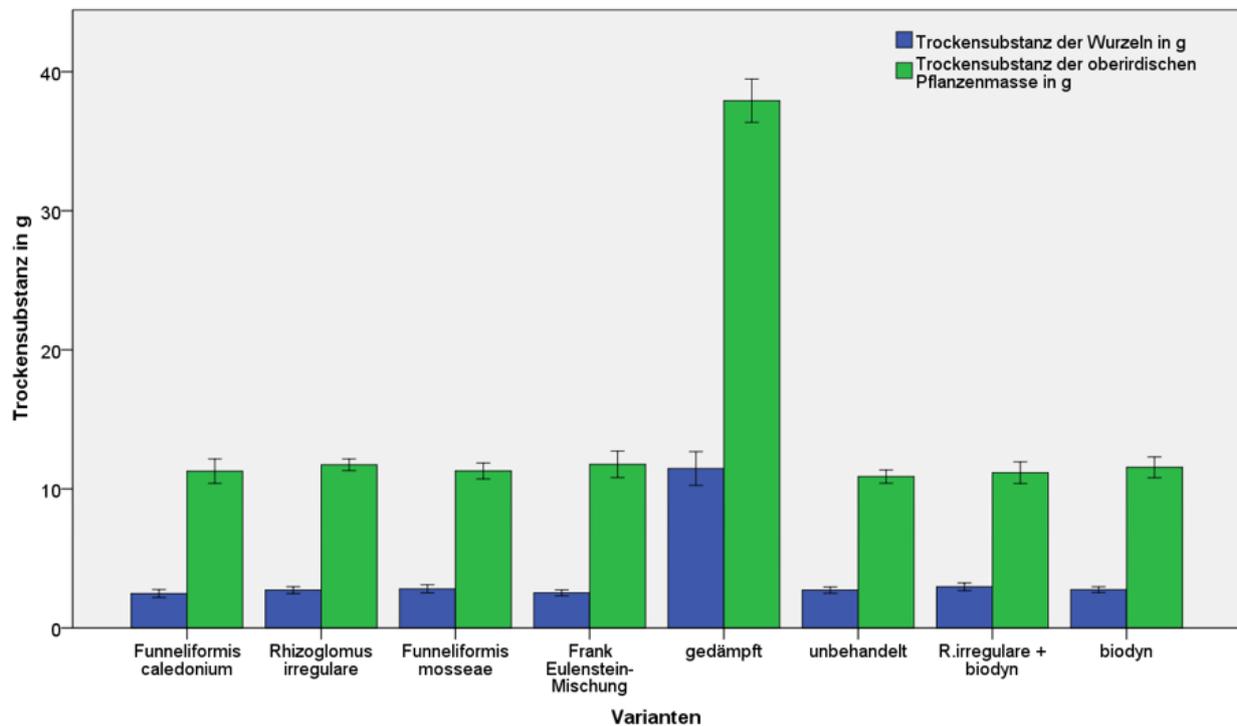


Abbildung 20: Balkendiagramme mit jeweiliger TM der oberirdischen Pflanzensubstanz (grün) und Wurzelsubstanz (blau) in g, Standardabweichung ± 1 Varianten: *F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae*, Frank Eulenstein Mischung (*F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae* 1:1:1), gedämpft = 90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, *R. irregulare* + biodyn= Inokulum *R. irregulare* + biodynamische Präparate*

*biodynamische Präparate: Fladenpräparat getrocknet, Hormist, Hornkiesel

Abbildung 20 lässt erkennen, dass die gedämpfte Variante gegenüber allen restlichen Varianten einen deutlichen Unterschied, sowohl in der oberirdischen Trockensubstanz als auch in der Wurzeltrockenmasse aufweist. Die gedämpfte Variante unterscheidet sich mit einer durchschnittlichen Wurzeltrockenmasse von 11,47g und einer oberirdischen TM der Pflanzensubstanz mit 37,92g jeweils höchstsignifikant zu allen anderen Varianten (LSD, $p < 0.001$). Der Unterschied der Wurzeltrockenmasse der gedämpften Variante beträgt mehr als das 4-fache der Werte der jeweiligen anderen Varianten. Für die oberirdische Trockenmasse besitzt die gedämpfte Variante meist mehr als das dreifache an Gewicht, als die jeweiligen Werte der restlichen sieben Varianten. Diese Varianten unterscheiden sich untereinander mit einer Wurzeltrockenmasse zwischen 2,48g- 2,96g kaum und nicht signifikant. Dasselbe gilt für die oberirdische Pflanzentrockenmasse mit Werten zwischen 10,88g – 11,76g.

3.5 Mykorrhizierungsgrad der eingefärbten Wurzelproben in %

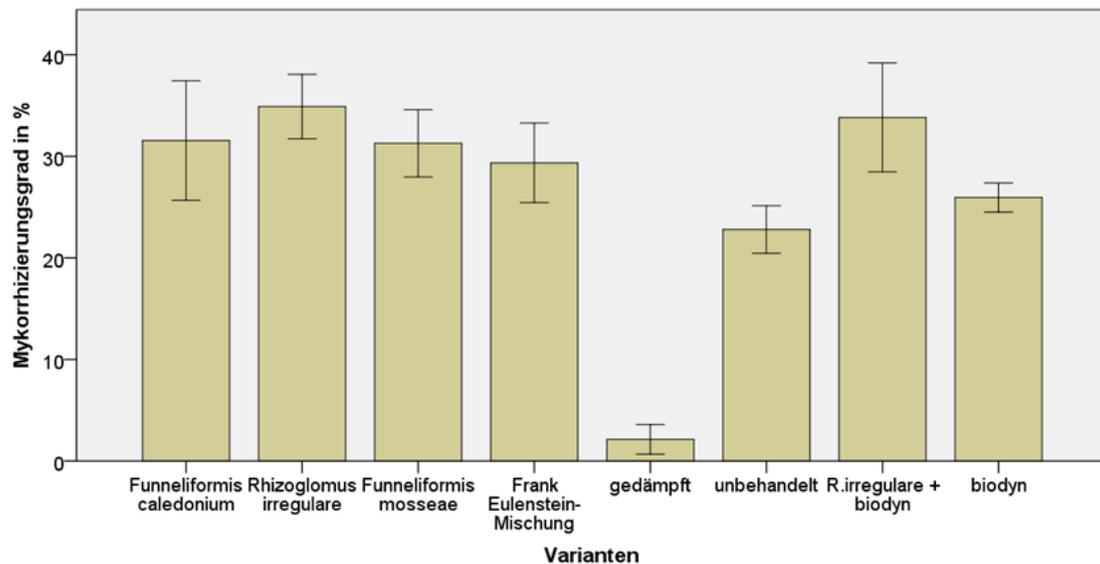


Abbildung 21: Mykorrhizierungsgrad der eingefärbten Wurzelproben in Prozent, nach der gridline- intersection- method (GIOVANNETTI und MOSSE, 1980). 2- fache Zählung. Varianten: *F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae*, Frank Eulenstein Mischung (*F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae* 1:1:1), gedämpft =90°C für 1 1/2h im Dampfschrank, unbehandelt= Kultursubstrat unbehandelt, biodyn= Kultursubstrat unbehandelt + biodynamische Präparate*, *R. irregulare* + biodyn= Inokulum *R. irregulare* + biodynamische Präparate*

*biodynamische Präparate: Fladenpräparat getrocknet, Hormist, Hornkiesel

Mit 2,13% wiesen die Wurzeln der gedämpften Variante keine kaum mykorrhizierte Stellen auf (Abbildung 21). Alle mit Inokulum beimpften Varianten unterschieden sich in ihrer Mykorrhizierungsrate zu den unbeimpften Varianten signifikant. Die mit *Rhizogloimus irregulare* beimpften Varianten (und somit auch die Variante mit zusätzlicher Behandlung biodynamischer Präparate) wiesen jeweils die höchsten Mykorrhizierungsraten auf (*R. irregulare* mit 34,91% und *R. irregulare* + biodyn mit 33,83%). Darauf folgten absteigend die Varianten mit *Funnelformis caledonium* und 31,56%, *F. mosseae* mit 31,29%, die Mischung der drei verwendeten Mykorrhiza- Arten (Frank Eulenstein- Mischung) mit 29,36%, die biodynamische Variante mit 25,95%. Die Referenz (unbehandelt) besaß 22,8%. Die nur mit biodynamischen Präparaten behandelte Variante unterschied sich zwar nicht signifikant von der Referenz (unbehandelt), sie wies mit jedoch durchschnittlich 25,95% einen um 3,15% erhöhten Mykorrhizierungsgrad gegenüber der unbehandelten Variante auf.

In den Mykorrhizierungswerten zeigte der LSD post-hoc Test einen signifikanten Unterschied zwischen der unbehandelten Variante (Referenz) und allen inokulierten Varianten (*F. caledonium*, *R. irregulare*, *F. mosseae* und *R. irregulare* + biodyn) auf. Dabei wiesen alle Ergebnisse bis auf die Frank Eulenstein- Mischung) eine Signifikanz von $p < 0.001$ auf.

Alle inokulierten Varianten (die Frank Eulenstein- Variante ausgenommen, also „*F. caledonium*“, „*R. irregulare*“, „*F. mosseae*“ und „*R. irregulare* + biodyn“) wiesen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zur Variante „biodyn“ auf. Die „Frank Eulenstein- Mischung“ unterschied sich somit *nicht* signifikant von der biodynamisch behandelten Variante.

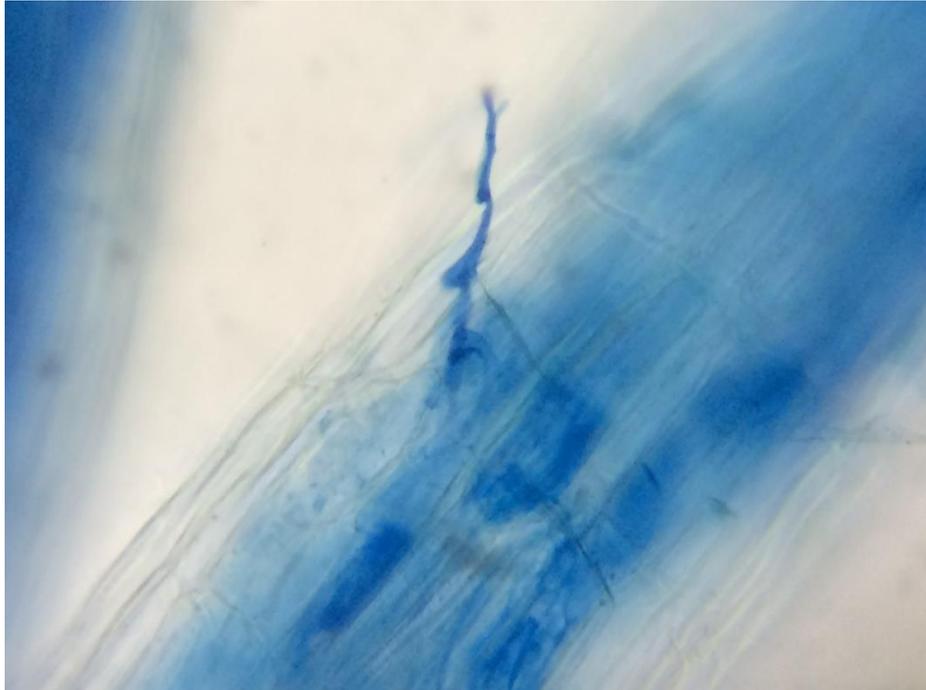


Abbildung 22: Variante *Rhizoglyphus irregulare*: mit Appressorium, interzellulären Hyphen und Arbuskeln (Zeiss Primostar Durchlicht- Mikroskop)

4 Diskussion

Bevor auf die jeweiligen Ergebnissteile eingegangen wird, ist es wichtig anzumerken, dass bei diesem Versuch fast durchgängig Nährstoffmangelsymptome der Sommergerstenpflanzen (ausgenommen der gedämpften Variante) zu beobachten waren und diese dadurch womöglich große Einflussfaktoren in den untersuchten Bereichen darstellten.

4.1 Nährstoffverluste

Der größte Teil des im Boden vorkommenden Stickstoffs besteht aus organisch gebundenem Stickstoff. Inwieweit eine Mineralisation stattfindet, steht stark mit der im Boden vorhandenen mikrobiellen Aktivität in Verbindung. Bei den Umwandlungsprozessen sind v.a. Nitrifikanten, Denitrifikanten und die biologische Umwandlung von Luftstickstoff (N_2) zu Ammonium (NH_4^+) von Bedeutung. Dabei sind die anorganischen Verbindungen Nitrat (NO_3^-) und Ammonium (NH_4^+) und einige lösliche organische Stickstoff- Verbindungen für Pflanzen und Mikroorganismen direkt verfügbar (Smith und Read, 2009).

Aufgrund des Rücklauf-Systems der verwendeten Gefäße (Kick und Grosse-Brauckmann, 1961) konnte sich das durchfließende Regenwasser in den Auffanggefäßen sammeln und wiederverwendet werden, ohne große Nährstoff- Auswaschungen befürchten zu müssen. Auch kommt aufgrund der aus dem Landeslabor erstellten Daten über das Kultursubstrat (enges C/N- Verhältnis, siehe Anhang Abbildung 23), keine N- Sperre durch Mikroorganismen für die Erklärung der Mangelsymptome und Verkümmerserscheinungen der Sommergerstenpflanzen in Frage. Eine Untersuchung auf Nmin- Werte und mikrobielle Biomasse konnte noch nicht durchgeführt werden, womit evtl. noch aussagekräftige Parameter ausstehen.

4.2 Sauerstoffmangel

Beim entnommenen Boden am Kauntsberg (Anhang Abbildung 26) handelt es sich um eine schon in der Vergleyung befindliche Parabraunerde, einem Gemisch davon oder um Pseudogley. Dieser wird durch redoximorphe Merkmale gekennzeichnet, die durch die Stauung von Niederschlagswasser zustande kommen. Der Pseudogley zählt somit zu den Stauwasserböden, wechselnde Staunässe und Austrocknung sind typisch für ihn (Scheffer et al., 2010).

Stauwasser führt zu einer schlechten Durchlüftung des Bodens. Die O_2 -Diffusion ist in den wassergefüllten Poren stark eingeschränkt. Innerhalb kurzer Zeit wird der Boden suboxisch, dann anoxisch, weil O_2 nicht in der Menge aus der Atmosphäre übergeht, wie er von aeroben Organismen verbraucht wird. Der Boden wird unter diesen Bedingungen überwiegend von fakultativ und obligat anaeroben Mikroorganismen besiedelt. In diesem Milieu kommt es zur Denitrifikation indem eine Reduktion von NO_3^- zu N_2 , N_2O , NO und metabilem NO_2^- durch Bakterien abläuft. Somit kommt es zu gasförmigen Stickstoffverlusten (Scheffer et al., 2010).

Da es über die Zeit des Versuches regelmäßig starke Niederschläge gab (siehe Anhang Abbildung 25), kann zu einem Teil davon ausgegangen werden, dass der Boden zu manchen Zeiten überwiegend schlecht durchlüftet war (siehe Abbildung). Möglicherweise konnten denitrifizierende Prozesse durch den O_2 -Mangel gefördert worden sein, woraus eine schlechte Nährstoffversorgung der Pflanzen resultiert haben könnte.



Abbildung 23: Links: graue Reduktionsbereiche (am Topfgrund könnte es unter Luftabschluss zu Reduktionsprozessen gekommen sein durch) und rechts: flechtenartiger Bewuchs

4.3 Längendurchschnitte der untersuchten Varianten im Zeitverlauf

An den Längendurchschnitten (in Abbildung 14, Ergebnisse) lässt sich gut ablesen, dass sich inokulierte, biodynamische und unbehandelte Varianten nicht bemerkenswert voneinander unterscheiden. Für einen kurzen Zeitraum (zwischen dem 24.04. und dem 03.05.) heben sich Diagrammlinien der biodynamischen (türkis) und der unbehandelten Variante (grau) über die Linien der inokulierten Pflanzen. Dies kann dadurch erklärt werden kann, dass die Gerstenpflanzen der zu beimpfenden Varianten in ein Loch mit Blähtongranulat gesetzt wurden und somit keinen direkten Nährstoffkontakt erhielten.

In Abbildung 25 (Klimadiagramm) lässt sich für den Monat Mai eine Niederschlagsmenge von fast 60 mm Niederschlag verzeichnen. Genau in diesem regnerischen Messzeitraum verläuft im Durchschnittslängendiagramm die Differenzbildung der gedämpften Variante zu allen restlichen Varianten.

4.4 Gießwasser 50%ige Wasserhaltekapazität

Aus dem Gießdiagramm lässt sich ablesen, dass über einen Monat keine Messung und kein Gießvorgang durchgeführt wurden.

Die Effektivität der Mikroorganismen im Boden könnte in diesem Zeitraum aufgrund der schlechten Durchlüftungsverhältnisse im Boden beeinflusst worden sein, da Mikroorganismen und damit auch die AM-Pilze Sauerstoff für ihre Atmung benötigen (Steffan, 1989).

4.5 Trockensubstanz der Wurzeln und der oberirdischen Pflanzenmasse

In dem hier vorliegenden Versuch war aufgrund von Mangelsymptomen bei allen Gerstenpflanzen (ausgenommen der gedämpften Variante) ein kümmerlicher Wuchs zu versehen. Dadurch wurde auch die Photosynthese- Leistung der Gerstenpflanzen verringert. Ist die Photosynthese- Leistung und die damit verbundene Wuchsleistung durch mangelnde Nährstoffvorkommnisse im Boden betroffen, kann es für die Pflanze sinnvoller sein, mit dem aus der Photosynthese gebundenen Kohlenstoff, den Pilz zu versorgen und nicht die eigene Wurzelbildung. Das liegt daran, dass der Wuchs von Wurzeln mit einem Durchmesser von

über 300 Mikrometer fast doppelt so viel Kohlenstoff benötigt wie der Aufbau von Hyphen mit einem Durchmesser von nur 2-10 Mikrometer (Smith und Read, 2009).

Bei hohen P- Vorkommen (wie in diesem Versuch) kann es sein, dass durch die Versorgung der AM- Pilze mehr Ressourcen von der Pflanze aufgewendet werden müssen als es bei einer nicht kolonisierten Pflanze der Fall ist. Wenn Phosphor in ausreichender Menge direkt für die Pflanzenwurzeln erreichbar ist, ist es für nicht-kolonisierte Wurzeln effizienter Phosphor aufnehmen als es für kolonisierte Wurzeln der Fall ist. Das liegt daran, dass die eigentlich positiv zu erwartenden Effekte durch den Pilz (wie erhöhte Photosynthese-Leistung und Wachstum durch verbesserte Nährstoffversorgung) ausbleiben, und der Pilz dennoch mit Kohlenstoff aus der Photosynthese der Pflanze versorgt werden muss (Smith und Read, 2009).

Pflanzen sind dazu in der Lage, bis zu 40% ihrer Photosyntheseleistung über die Wurzeln an den Boden abgeben (Rhizosphäre), um damit die dort anwesenden Mikroorganismen für sich anzuregen (Phillips, 2017). Da AM- Pilze allerdings nicht die einzigen Mikroorganismen im Boden sind, die einen hohen Kohlenstoffbedarf besitzen, und Mikroorganismen auch mit Pflanzen um begehrte Phosphatvorkommen kämpfen, können sich diese Umstände negativ auf AM-Effekte und damit auf das Pflanzenwachstum auswirken (Farzaneh, 2009).

Durch die Erhitzung des Bodens können z.B. Nährstoffe (oder auch toxische Stoffe) freigesetzt werden, die keine Einheit mit dem Boden der anderen Versuchseinheiten bieten. Bei Erhitzung des Bodens werden aber nicht nur die AMF abgetötet, sondern auch weitere Mikroorganismen im Boden, die entweder positive und negative Einflüsse auf den Wuchs der Pflanze haben können (Smith und Read, 2009). In diesem Fall hatte die Hitze möglicherweise auch einen Effekt auf die Zerstörung von Aggregaten, wodurch der Boden seine Fähigkeit, Wasser gut zu halten, zu einem Teil verloren hat.

4.6 Mykorrhizierung

Der aus den Bodenanalysen stammende pH-Wert 6,6 (Gehaltsklasse E) der gemischten Probe Boden:Sand 2:1 für die Entwicklungsabläufe der verwendeten Gattungen im Optimum (6,0-7,0). Der ungemischte Boden wies einen pH- Wert von 6,8 auf (Gehaltsklasse C). Diese Bereiche sind förderlich für die Keimung der Sporen, Wachstum des Myzels und stellen ein optimales Milieu für den Austausch molekularer Signalstoffe dar (Souza, 2015).

Ein unter Umständen beeinflussender Faktor, der für die höhere Mykorrhizierungsrate bei *Rhizoglyphus irregulare* gesprochen haben könnte, ist die Sporengröße dieser AM- Pilzart. Sie fällt verhältnismäßig klein für Endomykorrhizapilze aus. In einem Gramm kann damit das sechsfache an Sporen vorhanden sein (Phillips, 2017).

Die biodynamische Variante konnte dabei leicht erhöhte Mykorrhizierungswerte ihrer Wurzeln gegenüber der Referenz (unbehandelt) aufbringen. Darauf könnten das Fladenpräparat und das Hornmist- Präparat Einfluss gehabt haben. Das Hornmist- Präparat enthält dabei "Makro- und Mikro- Nährstoffe, Aminosäuren, wachstumsunterstützende Stoffe wie Indoleessigsäure, Gibbereline und hilfreiche Mikroorganismen wie Laktobazillen und Hefen" (Sibylle Faust et al., 2017). Dadurch kann eine Art "Trigger-Effekt"- Düngung entstehen. Bei Zugabe von kleinstmengen löslicher Substanzen in die Bodenlösung hinein, konnte nämlich auch unter laboratorischen Bedingungen z.B. eine Verstärkung der mikrobiellen Aktivität beobachtet werden (Sibylle Faust et al., 2017).

Unabhängig von dem in dieser Arbeit beschriebenen Versuch, konnten hingegen alleinige Hornkieselbehandlungen in Gefäßversuchen (ohne Düngung) auch bei den Versuchen von Fritz (2013) zu keinen signifikanten Unterschieden bei der Verwendung von biologischen und konventionell bewirtschafteten Böden führen. Wurde die Hornkieselbehandlung jedoch in einer Kombination mit Digitalis durchgeführt, so konnte eine Signifikanz erreicht werden (Fritz, 2013).

5 Zusammenfassung

Die Erforschung arbuskulärer Mykorrhizapilze erfordert die Betrachtung komplexer Zusammenhänge zwischen Pilz, Pflanzen- und Bodengesundheit. Die zu untersuchenden Strukturen und Häufigkeiten arbuskulärer Mykorrhizapilze bleiben dabei weiterhin erst einmal nur Identifikationsmerkmal.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss verschiedener arbuskulärer Mykorrhiza-Pilzarten in ihren Eigenschaften und Auswirkungen auf den Symbiosepartner kennenzulernen und die dabei gemachten Beobachtungen festzuhalten. Für die ausgewählten Parameter sollten außerdem auch mögliche Auswirkungen biodynamischer Präparate beobachtet werden. Aber schon die alleinige Ausführung eines derartigen Experiments erfordert viel Geduld und Aufmerksamkeit. Es ist nicht verwunderlich, dass Untersuchungen an und mit AM- Pilzen, gerne unter einem Glashaus durchgeführt werden, da unter den dortigen Umständen Wasserzufuhr, Licht und ggf. Temperatur geregelt werden können.

In diesem Versuch konnten die ausgewählten und beobachteten Parameter aufgrund von Einflussfaktoren wie z.B. Nährstoffmangel und aufgrund fehlender Laborwerte wie z.B. der mikrobiellen Biomasse leider nicht ausreichend genug beurteilt werden. Eventuell konnten aus diesem Grund auch die erhofften, möglichen Wirkungen biodynamischer Präparate (bis auf eine leichte aber nicht signifikant erhöhte Mykorrhizierungsrate der Kontrolle) nicht beobachtet werden.

Danksagung: Hiermit bedanke ich mich herzlich bei meinem Betreuer Christoph Matthes, ohne dessen Unterstützung, Anregungen und Tipps dieses Projekt nicht zustande gekommen wäre. Des weiteren bedanke ich mich bei der Landbauschule Dottenfelderhof für die Bereitstellung der Versuchsgefäße und der Möglichkeit, Einblicke in die Produktion und Anwendung biodynamischer Präparate erhalten zu haben.

6 Literatur

- Bayrische Akademie der Wissenschaft (Hrsg.) (2009): Ökologische Rolle von Pilzen. Rundgespräche der Kommission für Ökologie. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München.
- Dornbusch, H. (2018): Die Züchtung von Braugerste - gestern, heute und morgen, Nr.7/2018, S. 175–178.
- Farzaneh, M. (2009): Effects of Arbuscular Mycorrhiza and Nitrogen Nutrition on Growth and Nutrient Uptake of Chickpea and Barley. Dissertation, Wien.
- Fritz, J. (2013): Biologisch-dynamische Pflanzenbaugrundlagen. Methodik und Forschungen zur Leitidee des Organismus. Verlag Lebendige Erde im Demeter e.V., Brandschneise 1, 64295 Darmstadt.
- Geue, H. (2002): Molekularbiologische Untersuchungen zum Nachweis arbuskulärer Mykorrhizapilze bei Wildpflanzenpopulationen landwirtschaftlicher Nutzflächen. Zugl.: München, Techn. Univ., Diss., 2002, München.
- GIOVANNETTI, M., B. MOSSE (1980): AN EVALUATION OF TECHNIQUES FOR MEASURING VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL INFECTION IN ROOTS. *The New phytologist* 84, 3/1980, S. 489–500.
- Gosling, P., A. Hodge, G. Goodlass, G.D. Bending (2006): Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113/2006, S. 17–35.
- Goss, M. J., M. Carvalho, I. Brito (2017): Functional Diversity of Mycorrhiza and Sustainable Agriculture. Management to Overcome Biotic and Abiotic Stresses. Elsevier Inc./Acad. Press.
- Kick, H., E. Grosse-Brauckmann (1961): Über die Konstruktion eines Vegetationsgefäßes aus Kunststoff. *Journal of plant nutrition and soil science*, 1/1961, S. 52–55.
- Kjer, I. (1993): Die Qualität von Hopfen und Gerste aus ökologischem Anbau und deren Einfluß auf die Zwischen- und Endprodukte der Bierherstellung. Dissertation, Witzenhausen.

- Loron, C. C., C. Francois, Robert H. Rainbird, Elizabeth C. Turner, Stephan Borensztajn, Emmanuelle J. Javaux (2019): Early fungi from the Proterozoic era in Arctic Canada. *Nature*, VOL 570/2019.
- Phillips, J. M., D. S. Hayman (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55, 1/1970, 158-181.
- Phillips, M. (2017): *Mycorrhizal Planet. How symbiotic fungi work with roots to support plant health and build soil fertility.* Chelsea Green Publishing, White River Junction, Vermont.
- Schaumann, W. (1996): *Rudolf Steiners Kurs für Landwirte. Eine Einführung zu "Geisteswissenschaftliche Grundlagen zum Gedeihen der Landwirtschaft" ; landwirtschaftlicher Kursus ; acht Vorträge, eine Ansprache und vier Fragenbeantwortungen, gehalten in Koberwitz bei Breslau vom 7. bis 16. Juni 1924.* Deukalion, Holm.
- Scheffer, F., P. Schachtschabel, H.-P. Blume, G. W. Brümmer, R. Horn, E. Kandeler, I. Kögel-Knabner, R. Kretschmar, K. Stahr, S. Thiele-Bruhn, G. Welp, B.-M. Wilke (2010): *Lehrbuch der Bodenkunde.* Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Sibylle Faust, Stefanie Heinze, Christopher Ngosong, André Sradnick, Meike Oltmanns, Joachim Raupp, Daniel Geisseler, Rainer Georg Joergensen (2017): Effect of biodynamic soil amendments on microbial communities in comparison with inorganic fertilization. *Applied Soil Ecology*, 114/2017, S. 82–89.
- Sieverding, E., G. A. da Silva, R. Berndt, F. Oehl (2015): *Rhizoglossus*, a new genus of the *Glomeraceae*. *Mycotaxon* 129, 2/2015, S. 373–386.
- Smith, S. E., D. J. Read (2009): *Mycorrhizal Symbiosis.* Elsevier/Acad. Press, Amsterdam.
- Souza, T. (2015): *Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi.* Springer, Cham.
- Steffan, H. (1989): *Göttinger Bodenkundliche Berichte 95. Einflüsse edaphischer, klimatischer und landbaulicher Faktoren auf die Entwicklung der vesikulär-arbuskulären Mykorrhiza in landwirtschaftlichen Kulturen.* Im Selbstverlag der Anstalten für Bodenkunde der Universität Göttingen, Göttingen.

Trautz, D., T. Brinkmeyer, J. Schreiber, T. Reuter, I. Kühling: Öko-Gerste in Mischkultur zur Stabilisierung der Brauqualität?

Internetquellen:

<https://www.anthroposophie.ch/de/landwirtschaft-ernaehrung/news/artikel/das-fladenpraeparat-nach-maria-thun.html> Wedig von Bonin, 2020

<https://www.demeter.de/biodynamisches/landwirtschaft/paerparate> (demeter.de), 2019)

www.Dottenfelderhof.de – Stand September 2019. Betriebsspiegel | Landwirtschaftsgemeinschaft (LWG) Dottenfelderhof, überarbeitet von Matthias König

[https://www.google.de/maps/place/50°11'02.0"N+8°57'44.6"E/@50.183901,8.9602123,431m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d50.183901!4d8.962401](https://www.google.de/maps/place/50°11'02.0)

7 Anhang

7.1 Ergebnisse der Bodenproben

Schlag **Ackerlei 2**

Analysenergebnisse (mit Einteilung in Gehaltsklassen bzw. Versorgungsstufen / Ergebnisse in mg/100g)

Nutzart	Acker	SEN	M	pH-Wert	6,6	<>	Gehaltsklasse	E
BA-Gruppe	1	CaCO ₃	Sp	P ₂ O ₅	19	<>	Versorgungsstufe	C
				K ₂ O	16	<>	Versorgungsstufe	C
				Mg	6	<>	Gehaltsklasse	D

Parameter	Ergebnisse	Einheiten	Prüfmethoden
pH-Wert	6,6		VDLUFA Methodenbuch Ban
Phosphor (P ₂ O ₅)	19	mg/100g	VDLUFA MB Band 1 A 6.2.1.
Kalium (K ₂ O)	16	mg/100g	VDLUFA MB Band 1 A 6.2.1.
Magnesium (Mg)	6	mg/100g	VDLUFA MB Band 1 A 6.2.4.
Humus	0,9	%	VDLUFA MB1 A4.1.3.2:2016
Corg	0,50	%	VDLUFA MB1 A4.1.3.2:2016
N (Gesamt)	0,07	%	DIN EN 16168:2012-11
Ton (<0,002)	9,8	% min.Subst	VDLUFAI,C.2.2.1 2002 (EH)
Schluff (0,002-0,063)	29,6	% min.Subst	VDLUFAI,C.2.2.1 2002 (EH)
Sand (0,063-2)	60,60	% min.Subst	VDLUFAI,C.2.2.1 2002 (EH)

Abbildung 24: Ergebnisse der Bodenprobe aus dem Landesbetrieb Hessisches Landeslabor Kassel für das Kultursubstrat (Boden:Sand- Gemisch 2:1)

7.2 Klimadiagramm Dottenfelderhof

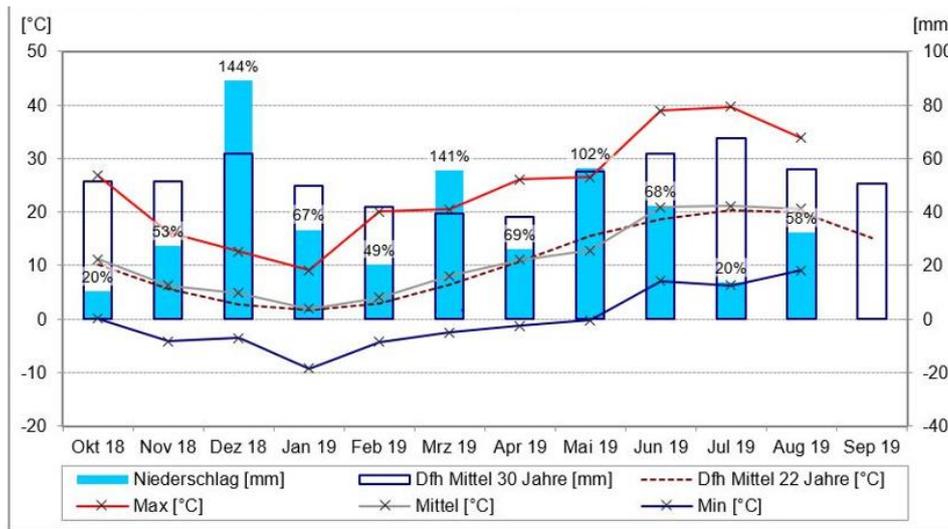


Abbildung 25: Klimadiagramm Dottenfelderhof, Vegetationsperiode 2018-19. Die Zahl über dem Balken zeigt die Abweichung des aktuellen vom langjährigen mittleren Niederschlag in Prozent

7.3 Entnahmestort der Erde zur Herstellung des Kultursubstrats

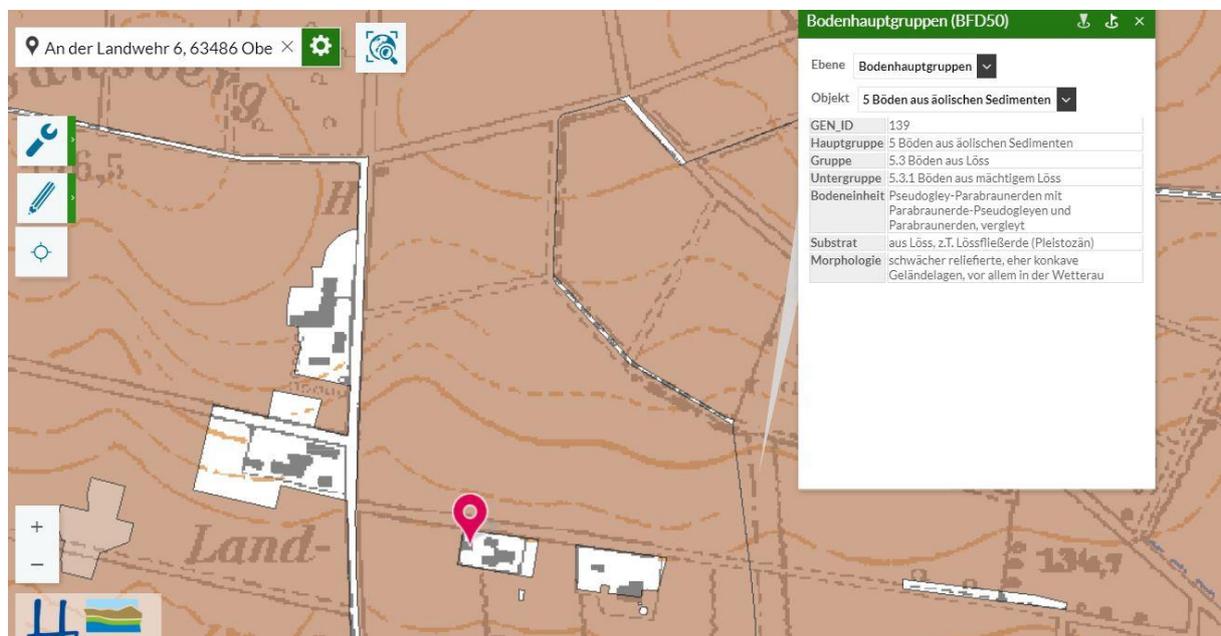


Abbildung 26: Entnahmestort der Erde zur Herstellung des Kultursubstrats (bodenviewer.hessen.de)

