

**Der mikrobielle Abbau von Holz
und Laub im Breitenbach unter
besonderer Berücksichtigung
der Bedeutung extrazellulärer
Enzyme**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

Dem Fachbereich Biologie der
Justus-Liebig-Universität Gießen
vorgelegt von

BJÖRN HENDEL

Angefertigt an der Limnologischen Fluss-Station des
Max-Planck-Instituts für Limnologie in Schlitz

Schlitz, im August 1999

Erster Gutachter: Prof. Dr. Christian Kunze

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Peter Zwick

Dank

Bei Herrn Prof. Dr. Christian Kunze vom Institut für Pflanzenökologie der Justus-Liebig-Universität Gießen bedanke ich mich herzlich für die Betreuung meiner Arbeit, planerische Strategien und die vielen guten Tips und Ratschläge, die mir - stets in ungezwungener Atmosphäre ausgetauscht – genauso wie seine unmittelbare und schnelle Reaktion bei Wünschen und Fragen meinerseits sehr geholfen haben.

Ich bedanke mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. Peter Zwick für die Übernahme der Betreuung an der Limnologischen Flußstation Schlitz und die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes. Sein uneingeschränktes persönliches Engagement, seine Diskussionsbereitschaft und seine permanente Bereitwilligkeit zur Hilfestellung in allen Fragen dieser Arbeit haben wesentlich zu ihrem Gelingen beigetragen.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Dr. Jürgen Marxsen für die Vergabe des Themas und seine qualifizierte fachliche Betreuung. Eine sehr gute Zusammenarbeit, seine vielfältigen Anregungen, Ideen und Schachzüge haben diese Arbeit wesentlich gefördert und teilweise erst ermöglicht.

Der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften danke ich für die finanzielle Unterstützung über drei Jahre.

Bedanken möchte mich bei Dr. Beate Knöfel für die gute und konstruktive Zusammenarbeit im Labor und bei Andrea Holzapfel für ihre professionelle Hilfe bei der Beschaffung von Arbeitsmaterialien, insbesondere in Notsituationen.

Ich bedanke mich sehr bei meinem Freund Dr. Paul Neumann, der die Bestimmungen der Endocellulaseaktivität durch das Erstellen eines Computerprogramms erst ermöglichte. Außerdem möchte ich mich sehr herzlich für die fortwährende Unterstützung fachlicher wie privater Natur insbesondere in der Planungs- und Auswertungsphase bedanken.

Dank gebührt Julia Straube und Stefanie von Fumetti für ihre wichtige Hilfe bei der Probennahme und Versuchsdurchführung. Ganz besonders Stefanie von Fumetti danke ich für ihre wertvolle Unterstützung zum Start der Versuchsserien, die perfekte Zusammenarbeit und für ihren Einsatz, der weit über das erforderliche Maß hinausging.

Meinen herzlichen Dank richte ich an Herrn Dr. Douglas Fiebig für seine Hilfe an der HPLC-Anlage und seine fortwährenden guten Ratschläge bei der Versuchsplanung und -auswertung.

Danken möchte ich meinem Zimmerkollegen Heino Christl für seine permanent guten Ideen, meinen Arbeitskollegen Matthias Rösch und Kirsten Callies für ihre Hilfe bei zeitlich eng geplanten Versuchen, Dr. Ulrich Werneke für seine fortwährende sowie Anke Schmunk für ihre Unterstützung im Hintergrund.

Ich bedanke mich bei Dr. Mark O. Gessner für die umfassende Einweisung in die Ergosterolbestimmung mittels HPLC sowie die ständige Bereitschaft zur Hilfestellung bei Problemen dieser Art.

Einen ganz herzlichen Dank für die Hilfe bei der statistischen Datenauswertung möchte ich richten an Prof. Dr. Felix Bärlocher, Dr. Paul Neumann, Prof. Dr. Rüdiger Wagner und Dr. Ulrich Werneke.

Für kritisches Lesen des Manuskripts danke ich Kerstin Hendel, Matthias Rösch und Dr. Paul Neumann sehr herzlich.

Ich danke Dr. Hans-Heinrich Schmidt, Prof. Dr. Rüdiger Wagner, Evelyn Döring, Hannelore Quast-Fiebig, Gisela Stüber und Elke Turba für ihre Bereitschaft, mir nach arbeitsaufwendiger Datenverarbeitung durch sie erhobene physikochemische Meßdaten vom Breitenbach zur Verfügung zu stellen.

Den Institutsangehörigen der Limnologischen Flußstation sei herzlich für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung gedankt.

Meinen Eltern und meiner Frau Kerstin möchte ich sehr herzlich danken für die ständige und großzügige Unterstützung, die sie mir während meiner gesamten Doktorarbeit gewährt haben, um dieses teuerste Buch unserer Familie entstehen zu lassen.

1 Einleitung

Kleinere Fließgewässer sind heterotrophe Systeme. Die Respiration der gesamten Biozönose übersteigt die Primärproduktion der photoautotrophen Organismen (ALLAN, 1995). Ein wesentlicher Teil zusätzlich benötigter Energie wird durch allochthones organisches Material in das Fließgewässer eingetragen (THURMAN, 1986). Dieses organische Material stammt hauptsächlich von Pflanzen (PUSCH ET AL., 1998) und gelangt in gelöster oder partikulärer Form ins Wasser (FISHER & LIKENS, 1973). Das partikuläre Material besteht je nach Lage und Umgebung des Fließgewässers aus unterschiedlichen Mengen von krautigen Pflanzenbestandteilen, Laub und Holz.

Der Eintrag gelöster organischer Substanz in Fließgewässer ist in vielen Studien untersucht worden (z. B. FIEBIG, 1995, MARXSEN ET AL., 1997, MEYER ET AL., 1998). Auch über die Menge des eingetragenen partikulären Materials existieren Abschätzungen sowohl für Laub (FRANCE, 1995, POZO ET AL., 1997) als auch für Holz (ELOSEGI ET AL., 1999). Der Frage nach den Prozessen, die während des Verweilens der partikulären organischen Substanz im Fließgewässer, also während ihres Abbaues ablaufen, wurde hauptsächlich durch eine Vielzahl von Dekompositionsexperimenten mit Blättern (z.B. GESSNER & SCHWÖRBEL, 1991; BÄRLOCHER, 1992, MAAMRI ET AL., 1997) und neuerdings auch mit krautigen Pflanzen (HORVATH & CALLIES, 1999) nachgegangen. Im Vergleich zu Blättern wurde bisher den Prozessen, die beim Abbau von Holz in Fließgewässern ablaufen, wenig Aufmerksamkeit beigemessen. Ein Grund dafür ist sicherlich die vergleichsweise lange Zeit, die benötigt wird, um aussagekräftige Daten über den Holzabbau zu erhalten. Außerdem ist die Verarbeitung des Substrates Holz im Labor mit nicht unerheblichen Schwierigkeiten verbunden.

Es hat sich innerhalb der letzten beiden Jahrzehnte gezeigt, daß sich die Bestimmung extrazellulärer Enzymaktivitäten gut zur Beschreibung der Aktivität limnischer mikrobieller Lebensgemeinschaften in Wasserproben und in Sedimenten eignet (z. B. SOMVILLE & BILLEN, 1983, MARXSEN & WITZEL, 1990, CHRÓST, 1990, MARXSEN & FIEBIG, 1993, HENDEL & MARXSEN, 1997). Diese Methodik wurde bislang kaum für die Beschreibung von Abbauvorgängen organischer Substrate in Fließgewässern verwendet. Mit der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob sich durch die Bestimmung am Abbau organischer Substanz im Fließgewässer beteiligter extrazellulärer Enzyme Aussagen über Unterschiede verschiedener Substrate im Abbauverhalten machen lassen. Dabei sollten die nur in sehr begrenzter Zahl vorliegenden Daten über Abbau von Holz (GOLLADAY & SINSABAUGH, 1991, TANK & WINTERBOURN, 1995, 1996, TANK ET AL., 1993, 1998, TANK & WEBSTER, 1998) durch diese erste Arbeit aus Europa ergänzt und die selten in limnischen Abbaustudien bestimmten enzymatischen Aktivitäten der Mikroorganismen auf organischen Substraten durch Messungen einer breiten Palette von Enzymen zu Aussagen über den Abbauprozess herangezogen werden.

Die Hauptbestandteile von Laub und Holz sind Cellulose und Lignin. Daher wurde das Augenmerk auf Enzyme gerichtet, die unmittelbar am Abbau dieser beiden Stoffe beteiligt sind. Für die Cellulose folgte daraus die Aktivitätsbestimmung der Enzyme β -Glucosidase, β -Xylosidase, Cellobiohydrolase und Endocellulase, für Lignin wurden die Enzyme Phenoloxidase und Peroxidase in ihrer Aktivität gemessen. Die nur Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, einige Mikroalgen) eigene Fähigkeit der Spaltung dieser hochmolekularen Substanz läßt ihnen eine wichtige Rolle im Stoffhaushalt von Fließgewässern zukommen (AZAM & CHO, 1987, MIDDELBOE & SONDERGAARD, 1993) und unterstreicht die Bedeutung der Bestimmung der am Abbau dieser Moleküle beteiligten Enzyme.

Um zusätzlich zur Aktivität der Mikroorganismen auf den organischen Substraten Informationen über die Zusammensetzung ihrer Lebensgemeinschaft zu erhalten, wurden der Ergosterolgehalt als Parameter für Pilzbiomasse (GESSNER, 1997) und der Phospholipidgehalt als Möglichkeit zur Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse (NEUMANN, 1995) bestimmt.

Als Probenmaterial wurden Holz und Laub der beiden Baumarten Buche (*Fagus sylvatica*) und Erle (*Alnus glutinosa*) ausgewählt, beides Arten, die im Breitenbachtal häufig anzutreffen sind.

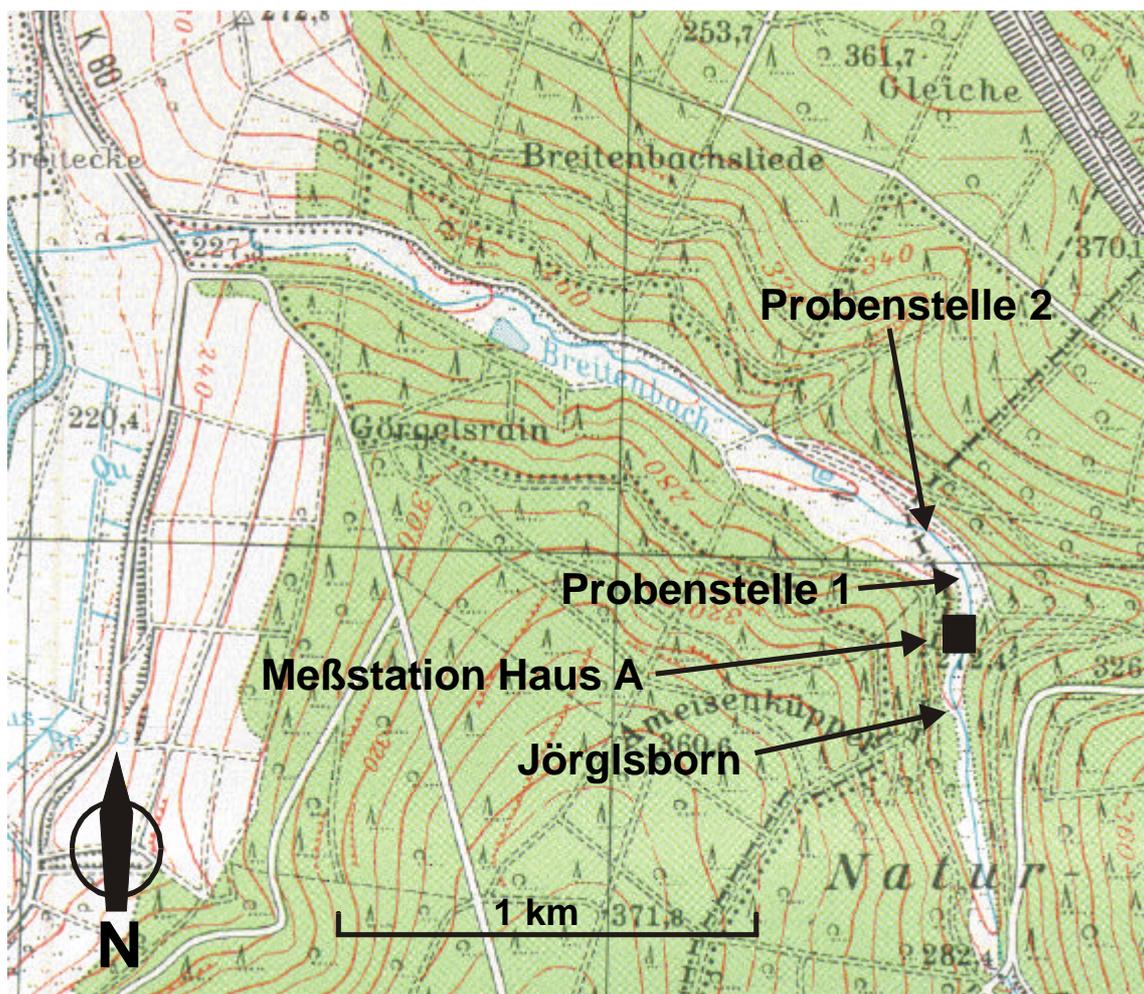
Das Ziel dieser Arbeit lag darin, durch die Bestimmung biochemischer Parameter und der extrazellulären mikrobiellen Enzyme die Rolle von Mikroorganismen, insbesondere von Bakterien und Pilzen, beim Abbau von Holz und Laub in einem kleinen Fließgewässer zu verfolgen. Die Beobachtung des Abbaues sollte einerseits Unterschiede zwischen den Baumarten und andererseits Unterschiede zwischen den Substraten aufzeigen. Durch eine im Vergleich zu bisherigen Studien lange Inkubationszeit von 16 Monaten bei Holz sollten auch später im Abbau auftretende Prozesse erfaßt werden.

Wichtige Voraussetzung für die Durchführung dieser Arbeit war zunächst ein Holzkörper, der schon während relativ kurzer Zeitintervalle von vier Wochen bei Inkubation im Fließgewässer einen Masseverlust zeigt und sich methodisch bei Bearbeitung im Labor handhaben läßt.

2 Material und Methoden

2.1 Das Untersuchungsgebiet

Alle Untersuchungen wurden am Breitenbach durchgeführt, einem Mittelgebirgsbach erster Ordnung, der 7 km östlich der Stadt Schlitz zwischen Vogelsberg und Rhön entspringt (Karte 1). Sein im Mittleren Buntsandstein liegendes Einzugsgebiet hat eine Fläche von 8,5 km² (KUPFAHL 1965). Im Mittelalter wurde die Bachau gerodet und landwirtschaftlich genutzt, aufgrund dessen ist der untere Bachabschnitt heute ein Wiesental. Zu Beginn der 90er Jahre wurde das Breitenbachtal zum Naturschutzgebiet, jährlich einmalig erfolgt die Mahd der Grünflächen, die umliegenden Wälder werden forstwirtschaftlich genutzt.



Karte 1: Das Breitenbachtal mit den Probenstellen. Auszug aus der Topographischen Karte 5323 Schlitz (LANDESVERMESSUNGSAMT, 1988)

Die von mehreren Rheo- und Helokrenen gebildeten Quellen liegen auf einer Meereshöhe von etwa 370 m über NN in der Gemarkung Michelsrombach. Der Bach hat eine Gesamtlänge von etwa 4 km, er führt jedoch im oberen Bereich nicht im gesamten Jahresverlauf Wasser, sondern fällt dort während der Herbstmonate trocken. Ungefähr 2 km vor der Mündung in die Fulda liegt eine ganzjährig schüttende Limnokrene, der Jörglsborn (in der Literatur als sogenannte Hermelinquelle bekannt). Diese führt auf einer Meereshöhe von etwa 270 m über NN dem Breitenbach Wasser zu. Im Oberlauf sind die Ufer bis auf einige kleine Lichtungen bewaldet. Ab einem Punkt etwa 500 m oberhalb des Jörglsborn bildet der Bach mit seinem Verlauf die Grenze zwischen Wald und den bachabwärts beginnenden Wiesen. Er fließt am nordöstlichen Waldrand entlang. Vom Jörglsborn talwärts weitet sich nochmals das Tal. Der Breitenbach verläuft ab hier mäandrierend in der Talmitte. 500 m von der Mündung entfernt ist der Bach an beiden Ufern mit Erlen bestanden, der „Erlenzeile“. Er unterquert die Kreisstraße 80 und mündet nach weiteren 200 Metern Fließstrecke, die hauptsächlich von Weiden begleitet werden, auf einer Meereshöhe von etwa 220 m über NN in die Fulda.

Ausführliche Beschreibungen dieses Gewässers finden sich bei MARXSEN (1980), BREHM & MEYERING (1982) und MARXSEN ET AL. (1997).

Die Hauptbaumarten des Waldes im Breitenbachtal sind die Rotbuche (*Fagus sylvatica*), Stieleiche (*Quercus robur*), Hainbuche (*Carpinus betulus*), Waldkiefer (*Pinus sylvestris*) und Fichte (*Picea abies*). Die submerse und emerse Vegetation des Breitenbaches wird hauptsächlich gebildet von Schaumkraut (*Cardamine amara*), Sumpf-Vergißmeinnicht (*Myosotis palustris*), Igelkolben (*Sparganium erectum*), Wasserstern (*Callitriche spec.*) und Sumpflabkraut (*Galium palustris*) (PACKROFF, 1994).

2.2 Probenstellen

Die Auswahl der Probenstellen erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten: Einerseits sollte eine ganzjährige Wasserführung einen permanenten mikrobiellen Abbau des Holz- und Blattmaterials gewährleisten. Ein Einsetzen der Proben im Bachabschnitt oberhalb des Jörglsborn war damit nicht möglich, da hier der Bach in den Sommermonaten häufig und in den Herbstmonaten fast immer trockenfällt (MARXSEN, 1980). Andererseits sollten die Proben ganzjährig möglichst stabilen abiotischen Bedingungen ausgesetzt sein. Deshalb wurden alle Proben im Abschnitt direkt unterhalb des Jörglsborn eingesetzt. Insbesondere die Schwankungen der Wassertemperatur sind in diesem Bereich sehr gering, der Bach friert auch in sehr kalten Wintern aufgrund der nahezu konstanten Wassertemperatur der Quelle von 7,9 – 8,1 °C nicht zu. Damit war eine kontinuierliche Probennahme gewährleistet.

2.2.1 Probenstelle 1

Die Holzproben wurden ab dem Jörglsborn bachabwärts über eine Fließstrecke von etwa 200 Metern an geeigneten Stellen (siehe Versuchsaufbau Holzproben, Abschnitt 2.3.1) verteilt. Günstig waren Abschnitte, die bei einer Mindestdiefe von 8 cm eine freie Fläche von mindestens 25 x 40 cm Bachgrund zeigten und auch bei Niedrigwasserstand nicht trockenfielen. Da die Breite des Bachbettes in diesem Bereich zwischen 10 und 30 cm schwankt, konnten die Proben nicht unmittelbar hintereinander in den Bach gelegt werden, sondern mußten über eine längere Fließstrecke verteilt werden.

2.2.2 Probenstelle 2

Sie schließt sich direkt an Probenstelle 1 bachabwärts an. Diese Probenstelle diente zur Inkubation des Blattmaterials im Bach. Die Inkubation der einzelnen Probenflaschen erfolgte entlang einer Fließstrecke von 200 m. Es wurden solche Bereiche ausgewählt, die eine Mindestwassertiefe von 10 cm auch bei Niedrigwasserstand im Sommer aufweisen konnten.

2.3 Versuchsaufbau

Buche (*Fagus sylvatica*) und Erle (*Alnus glutinosa*) stellen einen wesentlichen Anteil am Baumbestand im Breitenbachtal bzw. direkt am Bachlauf. Erlen stehen immer in unmittelbarer Nähe zum Wasser, Buchen hingegen im Breitenbachtal häufig am Waldrand. Bei Laubfall im Herbst fallen große Mengen Blätter direkt in das Gewässer oder werden vom Wind über die Zwischenstation Boden eingeweht. Holz wird in Form von kleinen Zweigen und Ästen ganzjährig auf gleichem Wege wie die Blätter eingetragen. Buche und Erle unterscheiden sich wesentlich in der Qualität ihrer Blätter und ihres Holzes (STRASBURGER, 1991). Erlenblätter werden grün abgeworfen und haben einen hohen sofort verwertbaren Nährstoffanteil (MITCHELL & WILKINSON, 1987), während bei der Buche der Gehalt an schwer abbaubarer organischer Substanz deutlich höher liegt (GESSNER, 1991a). Auch in der Zusammensetzung des Holzes unterscheiden sich die beiden Baumarten: Das Holz der Erle ist faserig und weich, Buchenholz ist im Vergleich zur Erle deutlich härter (MITCHELL & WILKINSON, 1987). Diese Unterschiede zwischen Buche und Erle sowie ihr relativ häufiges Vorkommen im Breitenbachtal führten schließlich zur Auswahl als Untersuchungsmaterial für die vorliegende Arbeit.

2.3.1 Holzproben

Aus frischem Erlen- und Buchenholz wurden Klötze der Kantenlänge 1 cm ausgesägt und in Faserlängsrichtung in der Mitte der Fläche mit einem Loch von 3 mm Durchmesser versehen. Das frische Holz wie auch die ausgesägten Holzwürfel wurden ständig in Wasser gelagert, um eine Abgabe von Feuchtigkeit an die Luft und damit eine Masseabnahme zu verhindern. In Polyethylenplatten (20 x 30 cm) mit 20 mm Stärke wurden 96 Löcher in 12 Reihen gebohrt. Mit Elektrokabelbindern aus Kunststoff wurden jeweils 24 Erlen- und Buchenwürfel in je 3 Reihen zu acht Klötzen auf den Polyethylenplatten befestigt. Die fertig bestückten Kunststoffplatten wurden ihrerseits mit Kabelbindern auf einer Sandsteinplatte angebracht. Diese Sandsteinplatte diente als Beschwerung und sorgte dafür, daß die Proben im Bach stets unter der Wasseroberfläche lagen und nicht verdriftet werden konnten. Insgesamt wurden 44 Platten mit je 24 Holzwürfeln beider Arten ausgebracht.

2.3.2 Blattproben

Es wurde Blattmaterial von Erle und Buche verwendet. Jeweils 5 g frisch vom Baum genommenen Laubes wurden in Probenfläschchen eingewogen, diese wurden in den Bach eingesetzt. Bei den Probenflaschen handelte es sich um Polyethylengefäße mit quadratischem Grundriss und großer Schraubverschlußöffnung. Alle vier Seitenwände waren vorher ausgeschnitten und durch Polypropylengewebe der Maschenweite 500 µm (durch Hitze aufgeschweißt) ersetzt worden. In Deckel und Boden wurde ein Loch von 3 mm Durchmesser gebohrt. Polyethylenschnur wurde durch diese Löcher gezogen. Sie diente einerseits zur Fixierung einer Kachel (Beschwerung am Boden der Probenflaschen) und andererseits zum Aufhängern der Probenflaschen an den nachfolgend beschriebenen Holzgestellen. Über dem Bach wurden an der oben beschriebenen Probenstelle vier Holzgestelle gebaut. An ihnen wurden die Probenflaschen durch eine längs über dem Bach gespannte Polyethylenschnur befestigt. Einerseits sorgten die Kacheln an den Probenflaschen dafür, daß die Blätter stets unter Wasser waren, andererseits erlaubte die Befestigung durch die Schnur, daß sich die Proben bei hohem Wasserstand bewegen konnten, zusätzlich verhinderten sie das Verdriften bei Hochwasser. Es wurden insgesamt 150 Probenflaschen in den Bach eingesetzt. Jeweils 75 Flaschen enthielten Buchen- oder Erlenlaub.

2.4 Zeitpunkte der Probennahmen

Die Holzproben wurden am 1. April 1997 in den Breitenbach eingebracht. Am selben Tag erfolgte die erste Probennahme. Danach wurden Probennahmen nach 7, 14 und 28 Tagen und darauf im 4-6-Wochen-Rhythmus durchgeführt. Die letzte Probennahme fand im Juli 1998 statt.

Am 13. November 1997 erfolgte der Versuchsstart der Blattinkubation. Nach 14 und 28 Tagen und darauf im vierwöchigen Turnus wurden Probennahmen durchgeführt. Die letzte Probenserie wurde im Juli 1998 genommen.

2.5 Probenaufbereitung

An einem Versuchstag wurden entweder Blätter oder Holz bearbeitet. Jeweils fünf Buchen- und fünf Erlenproben wurden genommen. Eine Holzprobe war jeweils durch sechs willkürlich ausgewählte Holzwürfel einer Holzart repräsentiert, wohingegen eine Blattprobe jeweils aus dem Inhalt einer Polyethylenprobenflasche bestand. Der Transport ins Labor erfolgte in Bachwasser in einer isolierten Kiste, die Aufarbeitung fand innerhalb von 30 Minuten statt. Die Probenaufbereitung zeigt Abbildung 1.

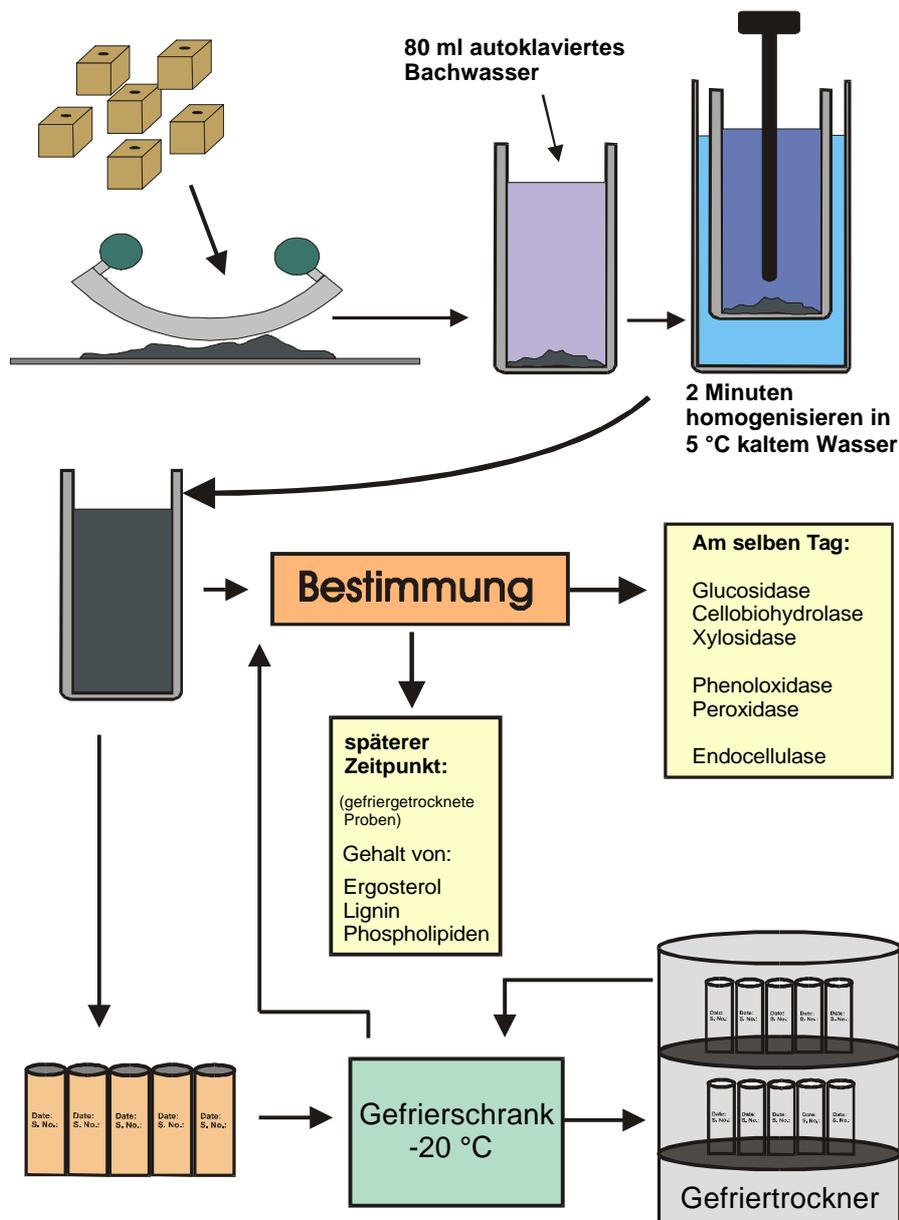


Abbildung 1: Probenaufbereitung im Labor

Holz- und Blattproben wurden zunächst mit einem Wiegemesser auf einem Kunststoffbrett zerkleinert. Die Fragmente wurden quantitativ in ein Homogenisierglas überführt, hierbei handelte es sich um ein stabiles Becherglas (GS 25) aus Borosilicat mit Schikanen (Kinematica, Luzern, Schweiz). 80 ml autoklaviertes Bachwasser wurden zugegeben. Für 2 Minuten wurde die Probe mit einem Homogenisator (Polytron PT 3000, Kinematica, Luzern, Schweiz) homogenisiert. Das Homogenisierwerkzeug war mit Sägezähnen und Spezialmessern ausgestattet und damit für besonders harte Materialien geeignet. Die genaue Homogenisierzeit wurde an einer separaten Zeitschaltuhr eingestellt.

Während des Homogenisiervorganges wurde die Probe in einem Wasserbad (Temperatur 5 °C) gekühlt, um Überhitzung zu vermeiden. Im Anschluß daran erfolgte unverzüglich die Überführung des Homogenisiergefäßes in ein Wasserbad, welches für die weiteren Analysen bei 10 °C gehalten wurde. Aus diesen Proben wurden alle mikrobiologischen Parameter bestimmt. Die extrazellulären Enzyme wurden am selben Tag gemessen. Für die Parameter Ergosterol- Lignin- und Phospholipidgehalt wurde jeweils Blatt- oder Holzhomogenat in Probenfläschchen pipettiert, eingefroren und gefriergetrocknet. Das gefriergetrocknete Material wurde wiederum bei -20 °C bis zur weiteren Analyse gelagert.

2.6 Bestimmung der einzelnen Probenparameter

2.6.1 Abiotische Begleitparameter

Am Breitenbach werden an vier automatischen Meßstationen abiotische Parameter stündlich gemessen und gemittelt aufgezeichnet. Dies sind unter anderem:

- Wasser- und Lufttemperatur
- Wasserschüttung
- pH-Wert
- Leitfähigkeit
- Sauerstoffgehalt

Für die vorliegende Arbeit wurden die Daten der Parameter Wassertemperatur und Wasserschüttung der Meßstation „Haus A“ verwendet. Diese Station befindet sich innerhalb der Probenstelle 1 (Karte 1). Die Meßwerte wurden von H.-H. Schmidt erhoben und für die vorliegende Arbeit dankenswerterweise zur Verfügung gestellt. Da innerhalb des Probenzeitraumes die Meßsonde für die Bestimmung der Wasserführung über einen dreimonatigen Zeitraum ausfiel, wurden während dieser Zeit manuell durch E. Döring, H. Quast-Fiebig, E. Turba und G. Stüber gemessene Werte verwendet und in die automatisch aufgezeichneten Daten eingefügt.

2.6.2 Biochemische Probenparameter

In den folgenden Abschnitten werden die Methoden für die einzelnen Probenparameter dargestellt. Gründe für die Auswahl der Verfahren und

Abweichungen von Methoden aus der Literatur sind in der sich anschließenden Methodendiskussion zusammengetragen.

Für alle Analysen wurden folgende Geräte verwendet:

Wägungen: Analysenwaagen von Mettler-Toledo, Gießen. Das Modell AT 201 mit einem Wägebereich bis 200 g (Ablesegenauigkeit 0,0001 g) sowie für Wägungen bis 2100 g das Modell PR 2002 mit einer Ablesegenauigkeit von 0,01 g.

Herstellen wässriger Lösungen: Deionisiertes Wasser wurde einem Ionentauschersystem USF 800 der Firma Seral (Ransbach-Baumbach) entnommen. Zum Herstellen von Reinstwasser wurde deionisiertes Wasser zusätzlich durch eine Reinstwasseranlage (MilliQ plus 185) der Firma Millipore, Eschborn, geleitet.

Photometrische Bestimmungen wurden mit einem Spektralphotometer Uvikon 810 von Kontron Instruments, Neufahrn, durchgeführt. Entweder wurde gegen Luft oder destilliertes Wasser im Doppelstrahlengang gemessen, Blindwerte wurden nachträglich in Abzug gebracht. Es wurden Halbmikro-Einmalküvetten aus Polystyrol (Plastibrand, Bezug über den Laborfachhandel) für alle Analysen verwendet.

Für fluorimetrische Messungen wurde ein Fluorimeter (SFM 25) von Kontron Instruments, Neufahrn verwendet. Blindwerte wurden vor den eigentlichen Analysen gemessen und durch das Gerät vom Meßwert abgezogen. Es kamen hier 1 cm-Quarzglasküvetten der Firma Hellma (Bezug über den Laborfachhandel) mit einer spektralen Ausmessungskennziffer 281 bzw. 282 (81 bzw. 82 % Transmission unter Standardbedingungen) zum Einsatz.

Mischungen von Lösungen in Reagenzgläsern wurden mit einem Vortexer der Firma Ika-Werk, Laufen im Breisgau, hergestellt.

Für Zentrifugationsschritte wurde eine Tischzentrifuge der Firma Hettich, Modell Rotanta/AP mit Standardrotor 5084 verwendet. Die Umdrehungszahl pro Minute lag stets bei 4000, dies entspricht 2755 g.

Ligninanalysen wurden mit jeweils 3 Parallelansätzen, Analysen aller anderen Parameter wurden mit jeweils 4 Parallelen durchgeführt. Aus den Einzelmeßwerten wurde der arithmetische Mittelwert gebildet.

2.6.2.1 Masseverlust

1. Frischmasse

Für das Holz wurde eine einzelne Polyethylenplatte mit Würfeln von je 24 Erlen- und Buchenklötzen vorbereitet, die am Tage des Probenstarts gewogen wurden. Zu jeder folgenden Probennahme wurde diese Platte in einer Wanne, die Bachwasser enthielt, ins Labor gebracht. Die Holzwürfel wurden von der Platte geschraubt, vorsichtig abgetupft und gewogen. Sie wurden an derselben Position der Platte wieder fixiert und nach dem Wägen unverzüglich wieder an derselben Stelle in den Bach eingesetzt.

Bei den Blattproben befand sich zum Probenstart in jeder Flasche 5 g frisches Blattmaterial. An jedem Probentag wurde der Inhalt aller für diesen Versuchstag genommenen Flaschen zunächst von Sedimentresten befreit und sofort gewogen, bevor die weiteren Probenparameter gemessen wurden.

2. Trockenmasse

Zu jeder Probennahme wurden von jeder Holzart zufällig 10 Holzwürfel ausgesucht, bei 105 °C getrocknet und schließlich gewogen.

Für die Blattproben wurden an jedem Probentermin 4 Flaschen zufällig ausgewählt. Der Inhalt wurde bei 105 °C getrocknet und gewogen.

Auf den Mittelwert der Trockenmasse wurden die anderen mikrobiologischen Parameter bezogen.

2.6.2.2 Ligningehalt

Zur Bestimmung des Ligningehaltes wurde die Methode von GOERING UND VAN SOEST (1970) in abgewandelter Form ausgewählt. Die Methode beruht auf der Löslichkeit unterschiedlicher Inhaltsstoffe organischer Substanz in saurer Detergenzlösung und Schwefelsäure. Aus einer Probe wurden drei Parallelen bestimmt.

An jedem Probentag wurden jeweils 8 ml frisches Blatt- bzw. Holzhomogenat in Probenfläschchen pipettiert, eingefroren und gefriergetrocknet. Bis zur Analyse wurden sie bei -20 °C aufbewahrt. Die Probenfläschchen wurden etwa 60 Minuten vor der Weiterbearbeitung aufgetaut und im Anschluß daran gewogen. Die Probenmasse betrug zwischen 20 und 200 mg. Es erfolgte die Überführung in 100 ml-Erlenmeyerkolben mit Schliff. Es wurden 20 ml Hexadecyl-Trimethyl-Ammoniumbromid (20 g/L, Fluka-Chemie, Neu-Ulm) in 2 mol/L H₂SO₄ gelöst zugegeben. 400 µl Decahydronaphtalin (Fluka-Chemie, Neu-Ulm), Mischung aus cis- und trans- Form, wurden zupipettiert. Auf einer Heizplatte siedete das Gemisch unter Rückfluß für 60 Minuten. Nach kurzem Abkühlen erfolgte die Überführung in vorgewogene Glasfiltertiegel mit einem Volumen von 30 ml (Porosität 4, mittlere Porenweite 10-16 µm, Robu Glasfiltergeräte, Hattert). Der Rest der im Erlenmeyerkolben verbliebenen Probesubstanz wurde zweimal durch Zusetzen von jeweils 10 ml heißem Wasser (80-90 °C) auf den Glasfiltertiegel gespült. Unter Vakuum wurde zweimal mit je 10 ml Aceton gewaschen. Die Probe wurde über Nacht bei 105 °C getrocknet. Die Glasfiltertiegel wurden in eine große Petrischale gestellt, die 72 %ige Schwefelsäure (g:g) enthielt. Für jeweils eine Stunde wurden die Proben in der Schwefelsäure gebadet. Dazwischen wurde zweimal mit je 10 ml heißem Wasser gewaschen. Die Probe wurde wiederum bei 105 °C getrocknet und am folgenden Tag gewogen. Die Glasfiltertiegel wurden für fünf Stunden bei 510 °C im Muffelofen geglüht und danach in einen Exsikkator überführt. Nach Abkühlen

wurden die Proben erneut gewogen. Die Differenz der beiden Wägungen vor und nach dem Glühen ergab den Ligningehalt.

2.6.2.3 Phospholipidgehalt

Die Bestimmung des Gehaltes an Phospholipiden erfolgte nach dem Verfahren von NEUMANN (1995). Die Bestimmung gliedert sich in drei Arbeitsschritte: Im ersten werden die Phospholipide extrahiert, im zweiten Schritt wird Phosphat durch Glühen im Muffelofen freigesetzt. Im dritten Schritt erfolgt die photometrische Quantifizierung des Phosphates.

Es wurden je 4 Parallelbestimmungen durchgeführt.

Schritte 1 und 2: Extraktion und Freisetzung von Phosphat

Jeweils 2 ml gefriergetrocknetes und bei -20 °C gelagertes Blatt- bzw. Holzhomogenat wurde gewogen und in ein Schraubverschluß-Zentrifugenglas überführt. 5,6 ml Extraktionslösung wurde zugegeben. (Extraktionslösung: Chloroform / Methanol / Citratpuffer im Verhältnis 1:2:0,8; v:v:v. (Chloroform - Fluka-Chemie, Neu-Ulm; Methanol - Reinheit > 95 %, Merck, Darmstadt; Citratpuffer: Natriumcitrat-Dihydrat 0,4 mol/L in Reinstwasser, mit HCl auf pH 4 eingestellt, Serva, Heidelberg). Nach kräftigem Schütteln im Vortexer standen die Proben zwei Stunden bei Raumtemperatur. Nach erneutem kräftigem Durchmischen wurde 10 Minuten bei 2755 g zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Schraubverschluß-Reagenzglas abdekantiert. Zum Pellet wurden nochmals 2 ml Extraktionspuffer gegeben. Das Gemisch wurde im Vortexer kräftig geschüttelt und schließlich bei 2755 g 10 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wurde mit dem aus der ersten Extraktion vereinigt, das Pellet wurde verworfen. Zu den Überständen wurden je 2 ml Chloroform und 2 ml Reinstwasser gegeben. Die Proben wurden kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung über Nacht in Ruhe stehengelassen. Die obere Phase wurde abgesaugt und verworfen. 2 ml der unteren Phase wurden in ein neues Reagenzglas überführt und eingedampft (Savant-Vakuum-Konzentrationszentrifuge speedvac, (Vertretung in Deutschland: Merck-Eurolab, Frankfurt) Heizstufe II). Die abgekühlten Proben wurden für fünf Stunden im Muffelofen bei 510 °C geglüht.

Schritt 3: Phosphatnachweis

Die geglühte Probe wurde mit 0,5 ml 0,36 N Schwefelsäure versetzt und kräftig im Vortexer geschüttelt. 0,1 ml Ammoniummolybdatlösung wurden zugegeben. [Ammoniummolybdatlösung: 27,5 g/L Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat in 6,29 N Schwefelsäure, Merck, Darmstadt]. Nach 10 Minuten in Ruhe wurden 0,5 ml Malchitgrün-Lösung zupipettiert. [Malachitgrün-Lösung: 0,111 g Polyvinylalkohol mit mittlerem Molekulargewicht 13.000 - 23.000, Aldrich-Chemie, Steinheim, in 100 ml Reinstwasser bei mindestens 80 °C lösen und abkühlen lassen, 0,011 g Malachitgrünpulver (Sigma-Chemie, Deisenhofen) zusetzen und

mischen]. Nach kräftigem Mischen wurde die Absorption genau eine Stunde nach Zugabe der Malachitgrün-Lösung gemessen.

Nullproben wurden mit dem Unterschied, daß kein Homogenat eingewogen wurde, wie alle Proben behandelt.

Über eine Eichreihe mit Calcium-Glycerophosphat (Sigma-Chemie, Deisenhofen) mit einem Konzentrationsgradienten zwischen 3 und 30 nmol Phosphat wurde folgende Regressionsgerade bestimmt:

$$\text{nmol P} = 15,308 \times \text{ABS}_{610} - 0,919 \quad (r^2 = 0,997)$$

2.6.2.4 Ergosterolgehalt

Für die vorliegende Arbeit wurde dafür das Verfahren von GESSNER & SCHMIDT (1996) in leicht abgewandelter Form verwendet. Ergosterol wird in organischem Lösemittel extrahiert, gereinigt und konzentriert und im Anschluß daran chromatographisch quantifiziert.

Zu den Proben tagen wurden je 4 ml frisches Blatt- oder Holz homogenat in Probenfläschchen gefüllt, eingefroren und gefriergetrocknet. Am jeweiligen Analysentag wurden die Probengefäße eine Stunde vor der Verarbeitung aufgetaut. Die Probe (der Inhalt eines Probenfläschchens beinhaltet zwischen 60 und 150 mg gefriergetrocknetes Blatt- bzw. Holz homogenat) wurde mit 5 ml Methanol und 20 ml Methanol/KOH-Gemisch (Methanol-KOH-Gemisch: 10 g KOH L⁻¹ Methanol) versetzt und für 30 Minuten in 100 ml-Rundkolben unter Rückfluß bei ca. 70 °C im Wasserbad inkubiert). Nach 15 Minuten Abkühlung erfolgte die Reinigung und Anreicherung in µc-18-spe-Säulen (Waters, Eschborn, 5 ml Inhalt, 300 mg Füllung). Diese Säulen wurden zunächst dreimal mit je 2,5 ml Methanol und dreimal mit jeweils 2,5 ml Konditionierlösung (Methanol/Methanol-KOH/0,7 mol L⁻¹ HCl im Verhältnis 4:2:1) zum Zwecke der Einstellung auf das erforderliche chemische Milieu gespült. Dabei ist zu beachten, daß die spe-Säulen niemals trockenfallen dürfen. Plastikspritzen mit mindestens 35 ml Inhalt wurden auf die spe-Säulen durch einen Adapter aufgesteckt. Die Ergosterollösung wurde in diese Plastikspritzen überführt. Es erfolgte ein Auffüllen auf 30 ml Volumen mit Methanol und eine Ansäuerung auf einen pH < 2,7 durch die Zugabe von 5 ml 0,7 mol L⁻¹ HCl. Durch das vorsichtige Anlegen eines Vakuums tropfte die Ergosterollösung durch die spe-Säulen. Pro Minute sollte etwa 1 ml durch die Säulen fließen. Sofort nach Durchlauf der gesamten Ergosterollösung durch eine spe-Säule wurde mit 2,5 ml Waschlösung gespült (2,8 g KOH in 100 ml Methanol und 150 ml deionisiertem Wasser). Nach dem Waschen der spe-Kartusche wurde für 60 Minuten unter Anlegen maximal möglichen Vakuums (etwa 300 mbar) die

Säule im Luftstrom getrocknet. HPLC-Probengefäße (Vials) mit 1,6 ml Volumen wurden vorgewogen. Die Elution des Ergosterols in diese Vials erfolgte durch die Zugabe von 1,4 ml Isopropanol. Der eluierten Lösung wurden 300 µl Konservierungslösung (2,8 g KOH in 50 ml Methanol) zugegeben. Die HPLC-Vials wurden nochmals gewogen. Da die Dichte der Lösung bekannt ist ($0,783 \text{ g ml}^{-1}$), konnte aus der Masse das Volumen errechnet werden. In einer HPLC-Anlage (Kontron Instruments, Neufahrn) wurde die Ergosterolmenge bestimmt. Das System bestand aus einer Pumpe 422, einem Autosampler 465 sowie einem UV-Detektor 430, die über einen Rechner gesteuert wurden. Verwendet wurde eine RP18-Lichrospher Trennsäule von 250 mm Länge und einem Durchmesser von 4,6 mm (Alltech, München) und eine C₁₈-Vorsäule, die Temperatur in den Säulen betrug 65 °C. Der Autosampler war mit einer 250 µl-Probenschleife bestückt. Durch das System wurden 1,4 ml Methanol pro Minute gepumpt. Eingespritzt wurden je 10 µl Probenvolumen. Die Retentionszeit betrug 6 Minuten. Die Ergosterolkonzentration wurde aus der Peakhöhe berechnet.

An jedem Analysentag erfolgte eine Kalibrierung durch einen Ergosterol-Standard (Sigma-Chemie, Deisenhofen) und eine Kontrollprobe. Für den Standard wurden 11 mg Ergosterolpulver in 50 ml Methanol im Ultraschallbad gelöst. 250 µl dieser Lösung wurden in ein HPLC-Vial pipettiert und im Luftstrom einer Aquarienpumpe getrocknet. Der Rückstand wurde in 1 ml Isopropanol aufgenommen und in der HPLC-Anlage quantifiziert. Für die Kontrolle wurden zu 60 mg ergosterolfreiem, getrockneten Blattmaterial (von gerade frisch ausgetriebenen Blättern) 250 µl Ergosterollösung gegeben und weiter wie eine Probe behandelt. Die Differenz zwischen Standard und Kontrolle entsprach der durch die Probenaufbereitung verlorenen Menge an Ergosterol. Die Ausbeute lag jeweils zwischen 71 und 91 Prozent. Um die Menge, die in der Kontrolle während der Aufbereitung verlorengelht, müssen die erhaltenen Ergebnisse der Proben rechnerisch korrigiert werden. Dabei wurde davon ausgegangen, daß der Verlust in einem Beprobungsgang in allen Einzelproben gleich ist.

Die Berechnung des Ergosterolgehaltes erfolgte anhand einer Eichgerade. Aus der ErgosterolstammLösung wurden 250, 200, 150, 100, 50, 25, 12,5, 5, 3 und 0 µl als Standards in Probengefäße pipettiert und gemessen. Es ergab sich eine Eichgerade mit folgender Geradengleichung:

$$Y = 0,0217 x \quad (r = 0,99)$$

Aus dieser Gleichung wurde der Ergosterolgehalt der in das HPLC-System eingespritzten Menge von 10 µl berechnet. Danach wurde die Umrechnung auf die Gesamtmenge eines Probengefäßes sowie die Korrektur für den Ergosterolverlust im Bestimmungsgang durchgeführt.

2.6.2.5 Enzymaktivitäten

2.6.2.5.1 β -D-Glucosidase, β -D-Cellobiohydrolase, β -Xylosidase

Die Aktivität dieser Enzyme wurde nach dem Verfahren von HENDEL & MARXSEN (1997) in abgewandelter Form gemessen. Die Aktivitätsbestimmung erfolgte mit Hilfe von fluoreszierenden Modellsubstraten, in diesem Falle Methylumbelliferyl-(MUF)-verbindungen.

Die Proben wurden wie folgt behandelt:

Die Versuchstemperatur betrug stets 10 °C. Die erforderlichen Substrat- und Eichlösungen wurden jeweils am Versuchstag frisch hergestellt. Die für diese Bestimmung notwendigen Chemikalien wurden, soweit nicht anders angegeben, sämtlich bei Sigma-Chemie, Deisenhofen, bezogen. Die Konzentration der Eichstammlösung (freies MUF) betrug 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Die Stammlösungen der Modellsubstrate wurden in den Konzentrationen 5 mmol L^{-1} für MUF- β -glucosid (MUF-glc) und 2,5 mmol L^{-1} für MUF- β -D-xylosid (MUF-xy) und MUF- β -D-cellobiosid (MUF-cell) jeweils in deionisiertem Wasser hergestellt. Zur besseren Löslichkeit der Substrate wurde jeweils 1 % (v/v) Ethylenglycolmonomethylether (MCS; Methylcellosolve, Merck, Darmstadt) zugesetzt. Für maximal 10 Minuten wurden die Lösungen ins Ultraschallbad gestellt. Die Inkubation erfolgte in einem Schüttelbad in 25-ml-Weithals-Erlenmeyerkolben. Zu autoklaviertem Bachwasser wurden 200 μl des Blatt- bzw. Holzhomogenates in die Erlenmeyerkolben pipettiert. Für die Glucosidasemessungen wurden jeweils 1 ml, für die Xylosidase- und Cellobiohydrolasemessungen 2 ml der Modellsubstratlösung zupipettiert. Das Gesamtvolumen jedes Erlenmeyerkolbens betrug 20 ml, und die Konzentration der Modellsubstrate 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Zusätzlich wurden jeweils zwei Blindproben (Blatt- bzw. Holzhomogenat + deionisiertes Wasser) sowie drei Eichproben (Blatt- bzw. Holzhomogenat + freies MUF) inkubiert. Durch Zugabe der Substratlösung wurde die enzymatische Spaltungsreaktion gestartet. Die Schüttelvorrichtung wurde unverzüglich eingeschaltet.

Nach fünf Minuten und nach weiteren 60 Minuten (Start- und Endzeitpunkt) wurden aus jedem Reaktionsgefäß 4 ml Lösung in ein Zentrifugenröhrchen pipettiert, und 400 μl Ammonium-Glycin-Puffer pH 10,5 wurden zugegeben. Der Puffer setzte sich wie folgt zusammen: 3,75 g Glycin (Sigma-Chemie, Deisenhofen) wurden in 14,8 ml Ammoniak 25 %ig (Merck, Darmstadt) gelöst, mit deionisiertem Wasser auf 1L aufgefüllt und mit NaOH-Lösung auf pH 10,5 eingestellt. Die Proben wurden eine Minute bei 2755 g zentrifugiert, um eventuelle Schwebestoffe abzutrennen. 2,5 ml wurden in Quarzglasküvetten überführt und im Fluorimeter gemessen. Die Anregungswellenlänge betrug 365 nm, die Emissionswellenlänge 450 nm.

Die Berechnung der Menge an gespaltenem Modellsubstrat erfolgte nach folgender Gleichung:

$$\text{RFE}(t_1) - \text{RFE}(t_0) = \text{RFE-Zunahme } h^{-1}$$

RFE: Relative Fluoreszenzeinheiten, ausgegebener Wert des Fluorimeters

t_0 : Startpunkt der Messung

t_1 : Endpunkt der Messung genau 60 Minuten nach t_0

100 RFE entsprechen der Konzentration der Eichlösung MUF [$\mu\text{mol/L}$]

Die gemessene RFE-Zunahme pro Stunde entspricht der Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] an umgesetztem Modells substrat.

Von jedem Meßwert wurde der Blindwert abgezogen.

2.6.2.5.2 Endocellulase

Die Bestimmung der Endocellulaseaktivität erfolgte in Anlehnung an das Verfahren von HULME (1988). Durch die Unterschiede der Viskosität einer Carboxymethylcelluloselösung über der Zeit kann die Endocellulaseaktivität bestimmt werden. Die Experimente wurden wie folgt durchgeführt:

Als Substrat wurde Carboxymethylcellulose mit einem Substitutionsgrad von 0,7 (Aldrich-Chemie, Steinheim) verwendet. Eine Carboxymethylcelluloselösung (50 g L^{-1}) wurde in 50 mmol L^{-1} Acetatpuffer hergestellt [Acetatpuffer: Essigsäure 100 %, mit NaOH auf pH 5 eingestellt]. Da der Lösungsvorgang langsam vonstatten geht, wurde über Nacht bei Raumtemperatur mit einem Magnetrührer gerührt. Anschließend wurde die Carboxymethylcellulose-Lösung durch einen Glasfaltertiegel der Porosität 4 (durchschnittliche Porengröße : $10\text{-}16 \mu\text{m}$, Robu-Glasfiltergeräte, Hattert) filtriert. Um Abbaureaktionen vorzubeugen, wurde die Lösung sofort bei $-22 \text{ }^\circ\text{C}$ tiefgefroren und erst unmittelbar vor dem Experiment aufgetaut. Für alle Proben tage wurden Teile derselben Stammlösung verwendet. Zur Bestimmung der Viskosität diente ein automatisches Viskositätsmeßgerät AVS 350 (Schott-Geräte, Hofheim am Taunus). Dieses Gerät ist serienmäßig mit einer RS-232-Schnittstelle ausgerüstet. Es kann über einen Rechner gesteuert werden und die Meßdaten an den Computer ausgeben. Es wurde ein Mikro-Ubbelohde-Viskosimeter mit einem Maximalvolumen von 5 ml ausgewählt (Schott-Geräte, Hofheim am Taunus, Bestellnummer 537-13). Die Versuchstemperatur betrug konstant $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$.

5 ml frisches Blatt- bzw. Holz homogenat wurden bei 2755 g 8 Minuten lang zentrifugiert und anschließend durch einen Glasfaltertiegel mit Filtriervorstoß der Porosität 4 filtriert. 1,5 ml dieser Lösung wurde mit 5 ml der Carboxymethylcellulose-Lösung versetzt und gut durchmischt. 4 ml dieser Mischung wurden umgehend in das Mikro-Ubbelohde-Viskosimeter gegeben und in das Viskositätsmeßgerät gestellt. Das Meßprogramm wurde gestartet. Nach einer kurzen Anpassungszeit von 2 Minuten (Temperaturangleich auf $25 \text{ }^\circ\text{C}$) wurde die Fallzeit der Flüssigkeitssäule durch die Kapillare zwischen den beiden

Markierungen durch automatische Lichtschrankenmessung bestimmt. Die Messung wurde über die Dauer von 20 Minuten jeweils genau 5 Minuten nach dem Start der vorausgehenden Messung dreimal wiederholt.

Die Enzymaktivität (A) wurde wie folgt nach HULME (1988) berechnet:

$$A = 1,27x \frac{dx}{dt} \left(\frac{1}{h_{sp}} \right)_{t=0} \quad (1)$$

dx/dt : Ableitung, Berechnung s.u.

η_{sp} = die spezifische Viskosität der Lösung, sie errechnet sich nach folgender Gleichung:

$$h_{sp} = (t_s / t_0) - 1 \quad (2)$$

t_s : Effluxzeit der Enzym-Substratlösung

t_0 : Effluxzeit des Acetatpuffers

Die Ableitung dx/dt in Gleichung 1 berechnet sich aus einer Auftragung von $\frac{1}{h_{sp}}$ gegen verstrichene Zeit, die Steigung der Geraden ergibt den gewünschten Wert.

Es ist wichtig, hervorzuheben, daß das Ergebnis „International Enzyme Standard Units“ liefert. Eine Einheit ist die Menge an Enzym, das die Hydrolyse eines Mikroäquivalents 1,4- β -glykosidischer Bindungen pro Minute einer durch bekannten Substitutionsgrad und durchschnittliches Molekulargewicht definierten Carboxymethylcellulose katalysiert.

2.6.2.5.3 Phenoloxidase und Peroxidase

In der vorliegenden Arbeit wurde die Aktivität der extrazellulären Enzyme Peroxidase und Phenoloxidase bestimmt. Dafür wurde die Methode von SINSABAUGH & LINKINS (1990) ausgewählt. Mit dieser Methode kann sowohl die Aktivität der Phenoloxidase als auch der Peroxidase in einem einzigen Versuchsansatz bestimmt werden. Die Bestimmung beruht auf der Bildung eines photometrisch quantifizierbaren Farbstoffes während der Abbaureaktion von L-DOPA (s.u.) durch die Enzyme.

Die Proben wurden folgendermassen behandelt:

Als Lösungsmittel diente 50 mmol L^{-1} Acetatpuffer (Essigsäure, mit NaOH auf pH 5 eingestellt). Eine 5 mmol L^{-1} Lösung von L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) (Fluka-Chemie, Neu-Ulm) wurde in Acetatpuffer hergestellt. Diese Lösung ist

instabil, es tritt nach einigen Stunden eine Schwarzfärbung auf. Sie wird hervorgerufen durch die Oxidation des DOPA. Daher ist es wichtig, DOPA-Lösung stets frisch herzustellen und die Proben unverzüglich nach Erstellung der Lösung zu bearbeiten.

Phenoloxidase: Jeweils 2 ml des frischen Probenhomogenates (Blätter oder Holz) wurden mit 2 ml der DOPA-Lösung in einem Reagenzglas versetzt. Von jeder Probe wurden stets 4 Parallellansätze inkubiert. Für die Nullprobe wurden in jeweils zwei Parallelen 2 ml des Homogenates und 2 ml Acetatpuffer verwendet.

Die Aktivitätsbestimmung der Peroxidase erfolgte wie die der Phenoloxidase, zusätzlich wurden jedem Reaktionsgefäß 0,2 ml 0,3 % (v/v) Wasserstoffperoxid (Fluka-Chemie, Neu-Ulm,) zugesetzt. In den Blindproben wurden jeweils 2 ml Homogenat, 2 ml Acetatpuffer sowie 0,2 ml H₂O₂-Lösung eingesetzt. Die Proben wurden mit einem Vortexer gut durchgemischt und für genau 60 Minuten bei 20 °C in einem Schüttelschrank bei 20 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden die Proben bei 2755 g Minuten lang zentrifugiert. Jeweils 1,5 ml wurden in Einmalküvetten überführt. Bei 460 nm Wellenlänge wurde die Absorption im Photometer gemessen.

Die Aktivität der Enzyme berechnet sich wie folgt:

$$A = \text{Abs}_{460} / k$$

A = Aktivität

Abs₄₆₀ = gemessene Absorption bei 460 nm Wellenlänge

k = molarer Extinktionskoeffizient für DOPA unter den gewählten Bedingungen. Der Wert liegt bei 1,66 und wurde empirisch bestimmt, indem käufliche Peroxidase (Sigma-Chemie, Deisenhofen) mit DOPA versetzt wurde (SINSABAUGH, 1996, persönliche Mitteilung). Diese Angabe wurde in eigenen Experimenten nachgeprüft.

2.7 Statistische Berechnungen

1. Um zu überprüfen, ob die Wassertemperatur des Breitenbachs einen Einfluß auf die Abbaugeschwindigkeit hat, wurde die mittlere monatliche Wassertemperatur an der Meßstation Haus A mit der mittleren täglichen Abbaurate (PETERSEN & CUMMINS, 1974) des jeweils selben Zeitraumes für beide Holzarten nach Pearson (SACHS, 1984) korreliert.
2. Die Abhängigkeit verschiedener Parameter voneinander wurde durch eine Korrelation nach Pearson jeweils zweier Größen, jeweils für Holz und Blätter, Buche und Erle getrennt, geprüft. Die Ergebnisse sind dem Anhang zu entnehmen.
3. Die Unterschiede im Abbau zwischen Buche und Erle, sowohl von Holz als auch von Blättern, wurden durch zwei verschiedene Verfahren getestet.

A: An die Verlaufskurven von Frisch- und Trockenmasse der Holzproben wurde eine exponentielle Regressionslinie angepaßt. Die jeweiligen Regressionskoeffizienten wurden nach Linearisierung der Rohdaten (Berechnung des natürlichen Logarithmus L_n) durch eine von SACHS (1984) beschriebene Gleichung (Vergleich zweier Regressionskoeffizienten, Abschnitt 558) miteinander verglichen.

B: Die Verlaufskurven der übrigen bestimmten Parameter wurden einer vollständigen ANOVA unterzogen. Zunächst wurde auf Normalverteilung der Meßwerte und Homogenität der Varianzen geprüft. Dazu eignet sich der Test nach Levene (SACHS, 1984). Schließlich wurde eine zweifaktorielle ANOVA mit den festen Faktoren Holz- bzw. Blattart und Zeit gegen den jeweiligen Bestimmungsparameter durchgeführt. Bei den Blattproben wurden diese Analysen nur für den Probenzeitraum der ersten 9 Wochen durchgeführt, innerhalb dessen sowohl Erlen- als auch Buchenlaub dem Abbau unterworfen waren.

Für alle statistischen Berechnungen wurde das Computerprogramm Statistica für Windows, Version 5.1 der Firma Statsoft, Tulsa, Oklahoma, USA, verwendet.

3 Methodendiskussion

3.1 Zeitpunkte der Probeninkubation

3.1.1 Holz

Über die Holzmengen, welche in Fließgewässer eingetragen werden, finden sich nur wenige Literaturangaben (HARMON ET AL., 1986, BISSON ET AL., 1987, ELOSEGI ET AL., 1999). Diverse Arbeiten beschäftigen sich hingegen mit dem Eintrag und der Quantifizierung von Holz in terrestrische Ökosysteme (GOSZ ET AL.; 1972, KIRBY ET AL., 1991, CHOJNACKY, 1994, TYRRELL & CROW, 1994, KRANKINA & HARMON, 1995, REID ET AL., 1996, POLIT & BROWN, 1996, STURTEVANT ET AL., 1997, GREEN & PETERKEN, 1997; DELANEY ET AL., 1998, KIRBY ET AL., 1998). Zusammenfassend ist festzustellen, daß Holz ganzjährig in etwa gleichbleibenden Mengen auf den Boden oder direkt in das Fließgewässer fällt. Signifikante Schwankungen treten nur durch Naturereignisse wie Stürme oder massenhaften Schädlingsbefall auf (HARMON ET AL., 1986, ELOSEGI ET AL., 1999). Die Anzahl der Arbeiten über Abbauprozesse von Holz in Fließgewässern ist weitaus geringer. Zwei Studien (TANK & WINTERBOURN 1995, 1996), auf der Südhalbkugel durchgeführt, begannen die Freilandinkubation im März. Die übrigen Arbeiten berichten von Abbauprozessen in Fließgewässern der Nordhalbkugel. Die Probeninkubation startete zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Jahr: SINSABAUGH & LINKINS (1993) im November, TANK ET AL. (1993) im Oktober, GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) im Mai und TANK ET AL. (1998) im September. Der Inkubationsbeginn wurde uneinheitlich gewählt, und es lagen keine saisonbedingten Eintragsmaxima vor. Die Daten aus der Literatur befürworteten einen möglichen Versuchsbeginn jederzeit im Jahresverlauf und widersprechen somit nicht dem Startzeitpunkt im April in der vorliegenden Arbeit.

3.1.2 Blätter

Durch den Laubabwurf bedingt erfolgt der Haupteintrag von Blättern in Fließgewässer im Herbst. Zu anderen Jahreszeiten werden hauptsächlich auf dem Waldboden befindliche oder durch Sturm abgerissene Blätter in Fließgewässer geweht, jedoch ist diese Menge deutlich niedriger als die des herbstlichen Eintrages (BOULTON & BOON, 1991). Am Breitenbach sind je nach Witterungslage die herbstlichen Monate Oktober bis Dezember die Haupteintragsmonate des

Blattmaterials (MARXSEN, 1980, KOCH, 1989; GERHARD, 1992). Der überwiegende Teil der in der Literatur dokumentierten Untersuchungen zu aquatischen Blattabbauexperimenten wurde auf der Nordhalbkugel durchgeführt (z. B. BÄRLOCHER & KENDRICK, 1974, KIMMEL ET AL., 1985, LINKINS ET AL., 1990a, SUBERKROPP ET AL., 1993, FERIANC & TOTH, 1995, ROWE ET AL. 1996, FRANCE ET AL., 1997, CHAUVET ET AL., 1997, TANK ET AL., 1998, POZO ET AL., 1998) und beschreibt einen Versuchsstart in den Herbstmonaten September bis Dezember. Bedingt durch die Verschiebung der Jahreszeiten und anderer klimatischer Gegebenheiten auf der Südhalbkugel sind Abbauuntersuchungen in Gewässern dort für andere Monate, meist im südlichen Frühjahr, belegt (PIDGEON & CAIRNS, 1981, STEWART & DAVIS, 1989, RYDER & HORWITZ, 1995, PARKYN & WINTERBOURN, 1997). Auch auf der nördlichen Hemisphäre wurden einige Experimente in Monaten außerhalb des Haupteintrages von Laub in Fließgewässern durchgeführt (GOLLADAY & SINSABAUGH, 1991, HILL & PERROTTE, 1995). Der in der vorliegenden Arbeit für den Versuchsbeginn im Freiland gewählte Monat November deckt sich mit der Mehrzahl der Studien auf der Nordhemisphäre.

3.2 Probenmaterial

Als Probenmaterial der vorliegenden Arbeit dienen sowohl für die Holz- als auch für die Blattproben die Baumarten Buche (*Fagus sylvatica*) und Erle (*Alnus glutinosa*). Die Erle bildet im unteren Abschnitt des Breitenbaches eine ca. 200 m lange Zeile. Im das Breitenbachtal umgebenden Wald ist die Buche häufig anzutreffen. Aus diesem Grunde wurden diese Bäume als Probenmaterial gewählt. Die umfangreich vorhandene Literatur über Abbauexperimente mit Blättern in Fließgewässern (z.B. SUBERKROPP & KLUG, 1976, BURTON ET AL., 1985, LINKINS ET AL., 1990, GOLLADAY & SINSABAUGH, 1991, GOULDER & BAKER, 1991, KOK & VAN DER VELDE, 1991, GESSNER & CHAUVET, 1994, RONG ET AL., 1995, SCHWARZ & SCHWOERBEL, 1997, FABRE & CHAUVET, 1998, MURPHY ET AL., 1998) zeigt, daß in fast allen Untersuchungen Pflanzen für die Inkubation gewählt werden, die für die jeweilige geographische Region typisch sind. In Arbeiten aus Europa wurde oft die Erle (*Alnus glutinosa*) als Probenmaterial verwendet (z. B. CHAMIER, 1987, GESSNER, 1991a, GESSNER & CHAUVET, 1994, BALDY ET AL., 1995, CHAUVET ET AL., 1997, SCHWARZ & SCHWOERBEL, 1997, FABRE & CHAUVET, 1998, POZO ET AL., 1998, ROBINSON ET AL., 1998). Der Abbau geht im Vergleich zu anderen Blattarten sehr zügig vonstatten, was auf den hohen Nährstoffgehalt ihrer Blätter und die damit verbundene schnelle Besiedlung sowohl durch Mikroorganismen als auch durch Makroinvertebraten zurückzuführen ist. Zusätzlich ist die Erle an Fließgewässern unserer Breiten ein häufig anzutreffender Baum. In einigen Veröffentlichungen wird die Inkubation standorttypischen Pflanzenmaterials beschrieben (PIDGEON & CAIRNS, 1981, CAMPBELL & FUCHSHUBER, 1995, CANHOTO & GRACA, 1996, CHAUVET ET AL. 1997, POZO ET AL., 1998, ABELHO ET AL., 1998). Allerdings handelt es sich bei einigen Arbeiten um Abbauexperimente mit Eucalyptusarten (insbesondere

Eucalyptus globulus) auf der Iberischen Halbinsel (CANHOTO & GRACA, 1996, CHAUVET ET AL. 1997, POZO ET AL., 1998), die zwar für diese Region untypisch sind, jedoch schon vor Jahrzehnten dort eingeführt wurden. Die Exposition exotischer Pflanzenteile in Fließgewässern einer anderen geographischen Region wurde z.B. für Vergleiche der Abbaugeschwindigkeit (k-Werte) (ABELHO ET AL., 1998) durchgeführt. Für die vorliegende Arbeit kamen diese Experimente jedoch nicht in Frage.

In den wenigen Untersuchungen über Abbauprozesse von Holz in Fließgewässern wurde stets Material verwendet, das natürlicherweise am jeweiligen Probensort vorkam: SINSABAUGH & LINKINS (1993) sowie GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) beprobten industriell gefertigte Eiskremstiele aus Birkenholz (*Betula papyrifera*). TANK ET AL. 1993 verwendeten Holz einer anderen Birkenart, *Betula lenta*, sowie Holz von *Rhododendron maximum*. Holz der Silberbuche *Nothofagus menziesii* wurde von TANK & WINTERBOURN (1995) in einem neuseeländischem Fließgewässer exponiert, und TANK ET AL. (1998) inkubierten Holz des Tulpenbaumes (*Liriodendron tulipifera*). Bei Holz war keine Präferenz für eine bestimmte Art feststellbar.

3.3 Probenaufbereitung

Die Probenaufbereitung im Labor erfolgte spätestens eine halbe Stunde nach der Entnahme im Breitenbach. Es war eine Zerkleinerung der Proben per Hand mit einem Wiegemesser erforderlich. Das Zerhacken mit dem Wiegemesser dauerte unterschiedlich lange (2 - 6 Minuten), die Holzfragmente wurden unterschiedlich groß und konnten danach nicht immer komplett vom Homogenisator zerkleinert werden. Die Proben enthielten demnach immer eine schwankende Menge an kleinen Holzstückchen.

Homogenisiert wurden die Proben für 2 Minuten mit maximaler Drehzahl (22.000 / min). Dabei kann die Temperatur im Homogenisiergefäß bis auf 60 °C ansteigen, wie Vorversuche zeigten. Hohe Temperaturen können jedoch die Zusammensetzung der Probe verändern, insbesondere können Enzyme denaturiert werden (BISSWANGER, 1979). Aus diesem Grund wurde das Homogenisiergefäß für den maschinellen Zerkleinerungsvorgang in ein Wasserbad gestellt, durch das ständig 5 °C kaltes Wasser geleitet wurde. Die Proben erwärmten sich jetzt nur noch auf maximal 18 °C. Bei dieser Temperatur ist nicht mit einem Denaturieren der Enzyme zu rechnen (BISSWANGER, 1979).

3.4 Masseverlust

3.4.1 Holz

Masseverlust ist ein wichtiger Parameter für die Charakterisierung des Abbaus organischer Substanz (BOULTON & BOON, 1991). In zwei Vorversuchen wurde zunächst geprüft, ob während einer geplanten Versuchszeit von 16 Monaten tatsächlich eine signifikante Verringerung der Masse des in den Bach eingebrachten Holzes nachweisbar ist. Die Oberfläche des Holzkörpers muß im Verhältnis zur Masse groß sein, um für die Mikroorganismen eine große Angriffsfläche zu bieten. In zwei Vorversuchen wurden daher einerseits kleine, aus frischem Erlen- und Buchenholz ausgesägte Holzwürfel der Kantenlänge 1 cm, andererseits berindete, frische Aststücke mit einem Durchmesser von ca. 4 cm und einer Länge von 12 cm der Hölzer Buche, Erle und Eiche über einen Zeitraum von 15 Monaten im Breitenbach exponiert. Monatlich wurde das Feuchtgewicht der Holzstücke gewogen.

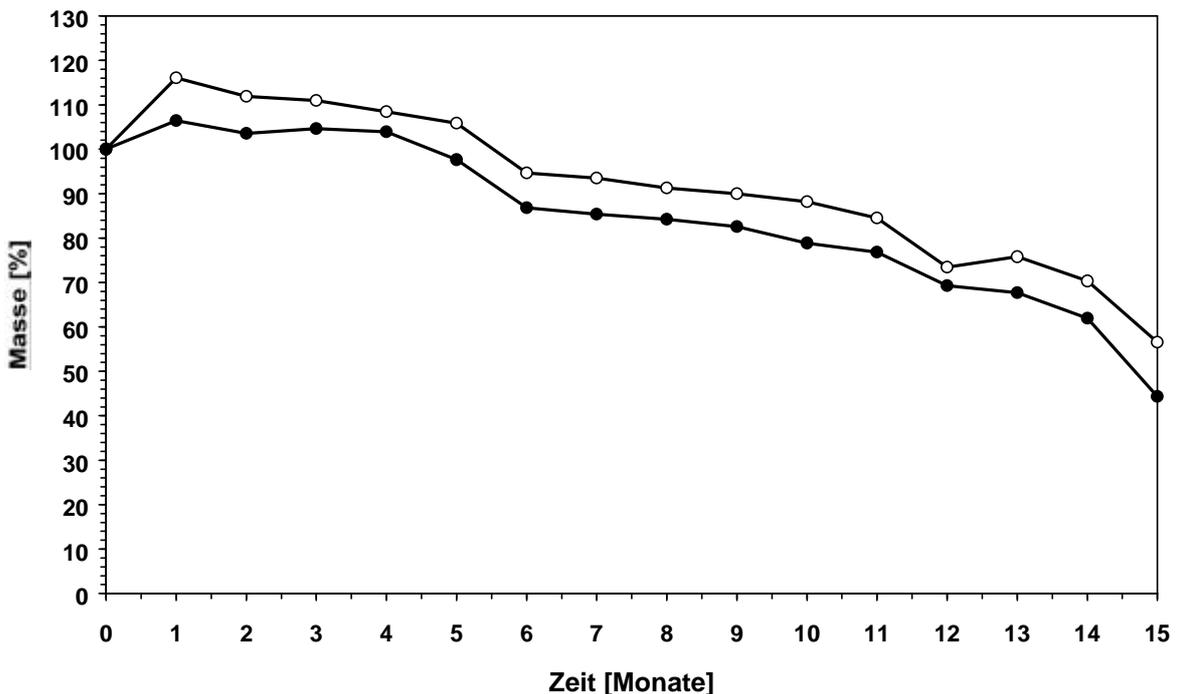


Abbildung 2: Feuchtgewicht der Holzwürfel aus Buchen- und Erlenholz (Buche: ○, Erle: ●) während einer Inkubationszeit von 15 Monaten im Breitenbach. Gezeigt sind Mittelwerte (n=24).

Zunächst erfolgte bei allen Proben eine ungefähr ein bis zwei Monate andauernde Massezunahme. Das Holz quoll auf und saugte sich mit Wasser voll, parallel dazu wurde die Holzoberfläche zügig durch Mikroorganismen besiedelt. Diese Biofilmbildung sorgte ebenfalls für eine Zunahme an Masse. Der Anstieg durch

Quellung und Biofilmbildung betrug je nach Holzart bis zu 15 %. Große Unterschiede zeigte die sich anschließende Abnahme der Masse. Bei den Holzwürfeln verlief sie fast kontinuierlich, nach 15 Monaten Inkubationszeit waren noch 44 bis 56 % der Ausgangsmasse vorhanden (Abbildung 2).

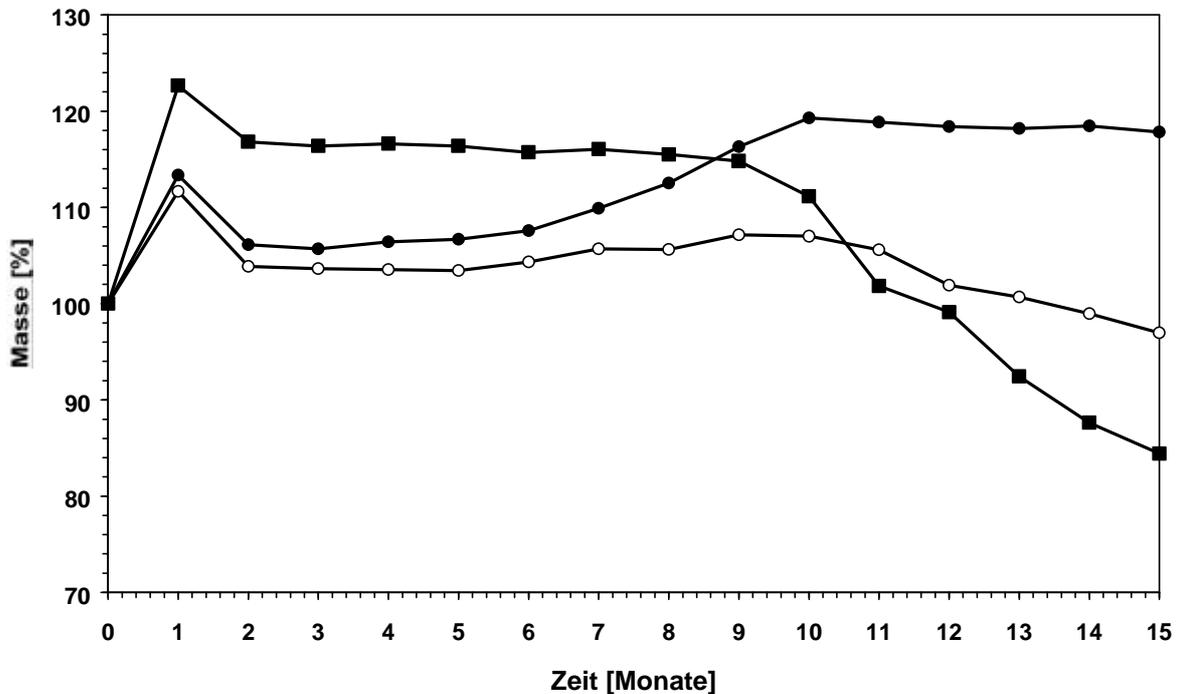


Abbildung 3: Feuchtgewicht der Aststücke aus Buchen-, Erlen- und Eichenholz (Buche: ○, Erle: ●, Eiche: ■) während einer Inkubationszeit von 15 Monaten im Breitenbach. Gezeigt sind Mittelwerte (jeweils n=12)

Im Vergleich zu den Holzwürfeln verhielten sich die Aststücke unterschiedlich (Abbildung 3). Nach 15 Monaten Inkubation im Bach wurden bei Buche 96 % Feuchtgewicht und bei Eiche noch 82 % Feuchtgewicht der jeweiligen Ausgangsmasse gewogen. Erlenholz legte durch Quellung und einen makroskopisch sichtbaren drastischen Biofilmbewuchs stark an Masse zu. Zu Ende der Inkubationszeit wurden 118 % Feuchtgewicht der Ausgangsmasse gemessen.

Ein Schlüsselfaktor im Abbauverlauf scheint nach den Beobachtungen des Vorversuchs die Rinde zu sein. Ab dem Zeitpunkt, zu dem sie aufgeweicht und abgelöst war, wurde eine beinahe kontinuierliche Masseabnahme festgestellt. Dieser Zeitpunkt war bei jeder Holzart unterschiedlich, und auch der sich anschließende Rückgang des Feuchtgewichts infolge der Abbauprozesse war unterschiedlich stark ausgeprägt. Bei der Erle war er nur sehr gering. Die Holzwürfel besaßen keine Rinde, ein Masseverlust war bereits nach wenigen Wochen feststellbar. Daher waren sie für die vorliegende Arbeit den Aststücken vorzuziehen. Zusätzlich sprach für die Verwendung der Holzwürfel die bessere

Handhabbarkeit im Labor. Für die weitere biochemische Aufarbeitung mußte das Material fein zerkleinert und anschließend homogenisiert werden. Dies war mit den Aststückchen nicht möglich. Außerdem fallen in den Breitenbach im beprobten Untersuchungsabschnitt (Karte 1) nur kleine bis mittelgroße Astfragmente, da der Wald mindestens 20 m entfernt ist. Der Wind kommt als alleinige Eintragsquelle in Betracht, große Aststücke oder Stämme können in diesem Bachabschnitt nicht in das Gewässer gelangen.

Holzwürfel kommen in der beschriebenen physikalischen Substratform nicht in der Natur vor. Dennoch werden meist standardisierte Formen in Abbaustudien verwendet. SINSABAUGH & LINKINS (1993) sowie GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) verwendeten industriell gefertigte Eiskremstiele aus Birkenholz, die sie in einem Fließgewässer exponierten. TANK & WINTERBOURN (1995) beprobten autoklavierte Holzstäbchen der Neuseeländischen Silberbuche (*Nothofagus menziesii*) mit den Maßen 14 cm x 1,6 cm x 1 mm. TANK ET AL. (1998) untersuchten die mikrobielle Besiedlung von Ahornholz. Zu diesem Zwecke verwendeten sie Holzstücke mit den Maßen 2,5 cm x 15 cm x 1 mm. Die genormte Form bietet jedoch neben der guten Handhabbarkeit im Labor eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse sowohl innerhalb des Experimentes als auch mit anderen Studien.

3.4.2 Blätter

Blätter werden in Fließgewässern durch die fließende Welle verdriftet und an Hindernissen in mehr oder weniger großen Paketen angelagert (BREHM & MEIJERING, 1990). Drei verschiedene Methoden für die Exposition des Blattmaterials sind beschrieben. Zum einen werden in terrestrischen als auch aquatischen Abbauuntersuchungen sogenannte „leaf packs“ verwendet (z. B. BENFIELD ET AL., 1979, MUTCH ET AL., 1983). Dies sind Pakete von Blättern, die zusammengebunden und dann im Gewässer fest verankert werden. Sie sollen die Anlagerung von Blättern an Hindernissen simulieren (WEBSTER & BENFIELD, 1986). In einer weiteren Methode werden die Blätter in Gewebetaschen („leaf bags“) mit unterschiedlicher Maschenweite gefüllt, diese Taschen werden im Fließgewässer fixiert (z. B. CHAMIER, 1987, MULHOLLAND ET AL., 1987, KSHATTRIYA ET AL., 1992, GESSNER ET AL., 1991a, ROBINSON ET AL., 1998). Die dritte Methode beschreibt die Gabe der Blätter frei ins Wasser (CUMMINS ET AL. 1980), nach einer bestimmten Fließstrecke fängt ein Netz die verdrifteten Blätter auf, und der Verlust kann bestimmt werden. WEBSTER & BENFIELD (1986) und BOULTON & BOON (1991) befürworten die Verwendung von leaf packs, da bei deren Verwendung bestimmte Organismengruppen bei der Substratbesiedlung weder benachteiligt noch bevorzugt werden. Leaf bags sollten ihrer Meinung nach dann gewählt werden, wenn es das Ziel ist, bestimmten Organismen den Zugang zum Substrat zu gestatten bzw. zu verwehren. Diese Methode wurde in der vorliegenden Arbeit verwendet, denn die Besiedlung und deren folgender Abbau der Blätter nur durch

Mikroorganismen sollte untersucht werden. Allerdings zieht die Inkubation von Blattmaterial in leaf bags einige Probleme nach sich, die im folgenden kurz dargestellt werden.

Der Einfluß der leaf bags auf die unmittelbare Umgebung sollte so gering wie möglich gehalten werden (BOULTON & BOON, 1991). Die Verwendung großer Steine oder anderer schwerer Gegenstände, um die leaf bags am Verdriften zu hindern, ist nach ihrer Ansicht zu vermeiden. Aus diesem Grunde wurde die im Abschnitt 2.3.2 (Material und Methoden, Seite 6) beschriebene Methode gewählt.

Die Verwendung von leaf bags kann allerdings dazu führen, daß die Blätter darin stark zusammengedrückt werden, wenn die Menge zu groß ist. Dies kann nach BOULTON & BOON (1991) die Abbaurrate nachhaltig beeinflussen, jedoch machen die beiden Autoren wie auch andere Wissenschaftler keinen Vorschlag, welche Masse an Blättern für eine Inkubation im Gewässer gewählt werden sollte. So werden sehr unterschiedliche Mengen in Gewässern exponiert. MCKINLEY & VESTAL (1982) inkubierten 300 bis 400 mg je Probe, 5 g Blätter je leaf pack wurden z.B. von MULHOLLAND ET AL. (1987), PARKYN & WINTERBOURN (1997) und SUBERKROPP (1997) beprobt, 10 g Blätter je leaf pack wählten SINSABAUGH ET AL. (1981), KUNZE & BONNERT (1982), MELILLO ET AL. (1982) und RYDER & HORWITZ (1995), und in diversen Untersuchungen wurden mehr als 10 g Blätter in jede Blattasche gepackt (WHILES & WALLACE, 1997; FABRE & CHAUVET, 1998; ROBINSON ET AL., 1998). In zwei Studien wurde der Einfluß der Menge in den leaf bags auf die Abbaugeschwindigkeit untersucht. BENFIELD ET AL. (1979) fanden eine Beziehung zwischen der Menge an Blättern in einer Blattasche und deren Abbaugeschwindigkeit: Je größer die Menge in den leaf bags war, desto langsamer ging der Abbau vonstatten. Die Ursache dafür ist ihrer Meinung darin zu sehen, daß die Blätter im Innern der leaf bags mechanischen Abrasionen und Zerkleinerungen durch Makroinvertebraten weniger ausgesetzt sind als die äußeren, was insgesamt zu langsamerem Abbau führt. REICE (1974) exponierte leaf bags mit Mengen zwischen 1 und 40 g Blattmaterial. Er fand signifikante Unterschiede in seinen im Sommer exponierten Proben. Der Abbau in leaf bags mit kleinen Mengen war schneller als in solchen mit größeren. In den im Herbst exponierten Proben konnte er jedoch keine Abhängigkeit zwischen Probenmasse und Abbaugeschwindigkeit mehr feststellen. Daher sollte man seiner Meinung nach leaf bags mit unterschiedlichen Mengen im Gewässer inkubieren. In der vorliegenden Arbeit betrug die Masse an frischen Blättern in jeder Flasche 5 g. Diese Menge ließ sich gut, ohne das Material zu komprimieren, in den Gefäßen unterbringen.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Frage, ob getrocknetes oder frisches Blattmaterial verwendet werden soll. Die Verwendung trockener Blätter erleichtert wesentlich die praktische Durchführung von Dekompositionsexperimenten (GESSNER, 1991a), da die höhere Variabilität des Ausgangsgewichts bei frischen Blättern umgangen wird. Dennoch sollte nach Blattart unterschieden werden. Sinnvoll ist eine Orientierung an den natürlichen Verhältnissen. Zum Beispiel verliert die Erle über das ganze Jahr einen geringen Teil ihrer Blätter, im Herbst

werden die noch vorhandenen grün abgeworfen. Es empfiehlt sich daher, Erlenblätter frisch gefallen oder noch vom Baum gepflückt im Gewässer zu inkubieren. Im Gegensatz dazu vertrocknen bei der Buche die Blätter im Herbst am Baum und werden durch den Wind im Laufe der Herbst- und Wintermonate abgerissen. Buchenblätter, die in ein Fließgewässer eingetragen werden, sind daher meist trocken oder waren zumindest schon einmal getrocknet. Dieser Situation wurde in der vorliegenden Arbeit Rechnung getragen. Es wurden bereits gefallene Erlen- und Buchenblätter gesammelt, gewogen und in den beschriebenen Gefäßen inkubiert. Mehrere Fließwasserökologen haben die Fragestellung untersucht, inwieweit eine Vorbehandlung durch Trocknung einen Einfluß auf den anschließenden Abbau im Gewässer hat. GESSNER ET AL. (1991a) stellten in frischem Erlenlaub eine deutlich erhöhte Abbaurate im Vergleich zu trockenem Falllaub fest. In einem anderen Experiment konnte GESSNER (1991a) jedoch keine höhere Abbaurate in frischen Blättern im Vergleich zu getrockneten messen. HARRISON & MANN (1975), GODSHALK & WETZEL (1978) und LARSEN (1982) beobachteten bei getrocknetem Material eine höhere Abbaurate als bei frischen Blättern. BÄRLOCHER (1992b) und TAYLOR & BÄRLOCHER (1996) wiesen nach, daß die Vorbehandlung von Blättern durch Einfrieren oder Trocknen zwar in den meisten von ihnen untersuchten Fällen Auswirkungen auf die Abbaugeschwindigkeit hatte, jedoch sind Voraussagen, ob sich die Abbaurate durch Vorbehandlungen verlangsamt oder beschleunigt, nicht möglich. So werden in der Literatur auch uneinheitlich entweder getrocknete (z. B. NÖMMIK, 1938; KAUSHIK & HYNES, 1968, CUMMINS ET AL., 1972, BURTON ET AL., 1985, MULHOLLAND ET AL., 1987, SUBERKROPP, 1995) oder frische Blätter inkubiert (z.B. GESSNER & CHAUVET, 1994, BALDY ET AL., 1995, ROBINSON ET AL., 1998).

Im letzten Punkt wird kurz auf die Maschenweite der Inkubationsflaschen eingegangen. In einigen Studien hatte eine unterschiedliche Maschenweite keinen Einfluß auf die Abbaugeschwindigkeit des Blattmaterials (KAUSHIK & HYNES, 1971; CAMERON & LAPOINT, 1978; BENFIELD ET AL., 1979); andere Untersuchungen stellten eine höhere Zersetzungsrate der Blätter bei Verwendung größerer Maschenweiten fest (HANLON, 1982; STEWART & DAVIS, 1989; SCHWARZ & SCHWOERBEL, 1997; YAMASHITA & TAKEDA, 1998), für die hauptsächlich Makroinvertebraten verantwortlich waren. Dies wurde in einem Vorversuch bestätigt. Probenflaschen mit jeweils 500 µm, 1 mm, 2 mm, 3,36 mm und 5 mm Maschenweite wurden im Breitenbach inkubiert. Bereits nach wenigen Tagen war das Blattmaterial in den Flaschen größerer Maschenweite unabhängig von der Blattart von Makroinvertebraten besiedelt. Da in der vorliegenden Arbeit das Hauptaugenmerk auf den mikrobiellen Abbau von Blättern gerichtet werden sollte, mußte die Maschenweite möglichst klein gewählt werden. PETERSEN & CUMMINS (1974) warnen davor, allzu kleine Maschenweiten zu verwenden, da sie den Austausch von Gasen und Nährstoffen behindern könnten. Aufgrund der Vorversuche erwies sich eine Maschenweite von 500 µm für die Experimente geeignet: Lediglich eine kleine Zahl von Chironomidenlarven schaffte es, in die Flaschen vorzudringen. Durch ein wöchentliches Aufschütteln der Flaschen im Bach wurde ein Zusetzen

der Poren mit Detritus- und Sedimentpartikeln verhindert, ein ständiger Wasserdurchfluß durch die Flaschen war gewährleistet.

3.5 Ligningehalt

JANSHEKAR & FIECHTER (1983) zeigten in einer Literaturlauswertung, daß für die Bestimmung von Lignin keine adäquate Methodik zur Verfügung steht, was unter anderem auf die Größe und Komplexität des Moleküls zurückzuführen ist. Die Verwendung eines einfachen chemischen Verfahrens ist nicht möglich.

Einige Verfahren untersuchen die chemische Zusammensetzung des Gesamtmoleküls oder einiger Molekülgruppen durch UV, IR oder NMR-Spektroskopie. Spektroskopische Methoden haben sich als gute Hilfsmittel zur quantitativen und qualitativen Bestimmung von Lignin herausgestellt (JANSHEKAR ET AL., 1981). Da die erforderlichen Geräte nicht zur Verfügung standen, mußte auf diese Verfahren verzichtet werden. Gut geeignet sind auch radioisotopische Methoden (^{14}C , ^3H), nach ERIKSSON ET AL., 1990, eine der exaktesten Möglichkeiten, den Ligningehalt zu bestimmen. Bei dieser Methode wird allerdings nur das erste Abbauprodukt des Lignins bestimmt, was zu einer Unterschätzung des Ligningehaltes führen kann (JANSHEKAR & FIECHTER, 1983). Für Freilanduntersuchungen ist dieses Bestimmungsverfahren nicht anwendbar. Gravimetrische Methoden beruhen meist auf der unterschiedlichen Löslichkeit verschiedener Bestandteile der Gesamtprobe von Lignin. Sie sind nicht sehr genau, nicht unbedingt spezifisch und sollten nur bei einer Abbaurate verwendet werden, die größer als die methodisch bedingten Schwankungen ist (JANSHEKAR & FIECHTER, 1983). Diese Methoden lassen sich jedoch ohne großen materiellen Aufwand gut durchführen, und dies gab den Ausschlag für die Verwendung des Verfahrens von GOERING & VAN SOEST (1970). In einem ersten Reaktionsschritt werden zunächst die in saurer Detergenzlösung löslichen Bestandteile der Probe abgetrennt. Im folgenden wird die Probe mit 72 %iger Schwefelsäure behandelt, um die Cellulose zu hydrolysieren und abzutrennen. Säure wird in den meisten Verfahren dieser Art für die Hydrolyse der Cellulose verwendet (FAN ET AL., 1982). Die Menge des verbleibenden Lignins wird durch Glühen der Probe bei 510 °C bestimmt. Die Genauigkeit der Methode wird unter anderem dadurch eingeschränkt, daß Cellulose in fester Assoziation mit Lignin vorliegt und so der Säurehydrolyse widerstehen kann (KIRK, 1975; FAN ET AL., 1987). Dennoch kann der nach dieser Methode bestimmte Ligningehalt als Maß für die schwer abbaubaren organischen Substanzen der jeweiligen Blatt- und Holzproben betrachtet werden.

3.6 Phospholipidgehalt

Phospholipide sind Membranbestandteile jeder lebenden Zelle (ECKERT, 1986). Ihre quantitative Bestimmung kann dazu verwendet werden, den Gehalt an mikrobieller Biomasse im Boden (TUNLID & WHITE, 1992, FROSTEGÅRD ET AL., 1993) oder in limnischen Sedimenten (NEUMANN, 1995) zu beschreiben. Die Bestimmung des Phospholipidgehaltes erfolgt in mehreren Schritten: Zunächst werden die Phospholipide extrahiert. Im Anschluß daran erfolgt deren Oxidation, das zurückbleibende Phosphat wird schließlich quantitativ nachgewiesen. Für die vorliegende Arbeit wurde die Methode von NEUMANN (1995) verwendet, der die Methode zur Phospholipidextraktion von FROSTEGÅRD ET AL. (1991) mit dem Phosphatnachweis von FINDLAY ET AL. (1989) kombinierte. NEUMANN (1995) konnte zeigen, daß beim Schritt der Phosphatfreisetzung aus Detritus eine deutlich höhere Phospholipidausbeute durch trockene Veraschung als durch die Oxidation mit Kaliumpersulfat (FINDLAY ET AL., 1989) erzielt werden kann. Das Verfahren zeichnet sich durch präzise und einfache Handhabbarkeit aus und liefert gut reproduzierbare Ergebnisse. Mit der vorliegenden Arbeit wurde getestet, inwiefern es sich auch auf die Besiedlung organischer Substrate in einem Fließgewässer anwenden läßt. Ein Problempunkt dabei ist sicherlich, daß frische Proben und kein getrocknetes Material im Bach exponiert wurde. Es könnte also noch in den frischen Proben eine gewisse Restmenge an Phospholipiden in noch lebenden Zellen vorhanden gewesen sein, welche im Verlauf der Inkubation abgebaut wurde. Dafür sprechen die relativ hohen Phospholipidwerte zu Beginn der Inkubation (Ergebnisse, Kapitel 4.5). Auf diesen Punkt soll aber erst in der Ergebnisdiskussion weiter eingegangen werden. Ein weiterer Punkt für die Verwendung dieser Methode liegt darin, daß bei herkömmlichen Verfahren, zum Beispiel das Auszählen nach Anfärbung mit Acridinorange, nur ein kleiner Prozentsatz der Bakteriengemeinschaft erfaßt werden kann (BENNER ET AL., 1988, LAURENT & SERVAIS, 1995). BENNER ET AL. (1988) sprechen von nur ungefähr 20-50 % der erfaßten Bakterien.

3.7 Ergosterolgehalt

In aquatischen Lebensräumen erfolgt die Erstbesiedlung partikulären organischen Materials in der Regel durch Pilze, insbesondere aquatische Hyphomyceten (BÄRLOCHER & KENDRICK, 1974, BÄRLOCHER, 1992a, SUBERKROPP, 1995). Zu späterem Zeitpunkt treten andere Organismengruppen (Bakterien, Algen) in Konkurrenz zu den Pilzen (FINDLAY & ARSUFFI, 1989, BALDY ET AL., 1995). Für die Bestimmung der Pilzbiomasse können mehrere Methoden eingesetzt werden. Die Quantifizierung über den Gehalt an Phospholipiden in einer Probe ist auf dem derzeitigen Stand der Forschung nicht ausgereift und sollte nur unter Vorbehalt verwendet werden (FROSTEGÅRD & BÅÅTH, 1996). Die Bestimmung des

Chitingehaltes (EKBLAD ET AL., 1998) und des ATP-Gehaltes (SUBERKROPP ET AL., 1993) liefern vergleichbar gute Ergebnisse wie die sich innerhalb des letzten Jahrzehnts in aquatischen Ökosystemen etablierte Bestimmung der Pilzbiomasse über den Gehalt an Ergosterol (GESSNER ET AL., 1991b, GESSNER, 1997). Ergosterol ist ein Sterol, welches nur in lebender Pilzbiomasse frei oder gebunden vorkommt, nach dem Zelltod wird es schnell abgebaut (WEETE, 1989). Nur wenige Gruppen der in aquatischen Lebensräumen vorkommenden Pilze, wie beispielsweise die Oomycota oder die Chytridiomycota, besitzen in ihren Zellen kein Ergosterol (WEETE, 1989). Ergosterol kann mit modernen Methoden schnell und präzise bestimmt werden (NEWELL, 1992). Ein Nachteil dieser chemischen Bestimmungsmethode besteht darin, daß Umrechnungsfaktoren der Ergosterolmenge in Pilzbiomasse nur für einzelne Stämme aquatischer Hyphomyceten vorliegen und nur bedingt für ein gesamtes natürliches System angewandt werden können (GESSNER & CHAUVET, 1993). Außerdem muß während des Extraktionsvorganges zeitweise in saurem Milieu gearbeitet werden, was Ergosterol abbaut (GESSNER & SCHMITT, 1996).

Die Bestimmungsmöglichkeiten für Ergosterol werden von PADGETT & POSEY (1993) und in einer Literaturlauswertung von GESSNER & NEWELL (1997) ausführlich diskutiert. Für die vorliegende Arbeit wurde die Methode von GESSNER & SCHMITT (1996) verwendet. Ergosterol wird zunächst in methanolischer KOH-Lösung verseift und extrahiert. Dieser Schritt ist genauso effektiv wie andere Extraktionsmethoden, z.B. zweistündiges Kochen in Methanol oder das von SCHWADORF & MÜLLER (1989) verwendete n-Hexan (GESSNER & NEWELL, 1997). Anschließend erfolgt die Reinigung und Konzentration durch „Solid-Phase Extraction“ (SPE). Dieser Schritt ersetzt die zeitraubende Überführung der Ergosterollösung in eine nichtpolare Phase (GESSNER & SCHMITT, 1996). Allerdings muß durch möglichst schnelles Arbeiten dem Abbau von Ergosterol in sauren Lösungen entgegengewirkt werden, indem man sofort nach der SPE-Extraktion wieder einen stark alkalischen pH einstellt und die Proben auch letztlich in basischem Milieu aufbewahrt (GESSNER, persönliche Mitteilung, GESSNER & NEWELL, 1997). Die von GESSNER & SCHMITT (1996) gefundenen Wiederfindungsraten zwischen 85 und 98 Prozent wurden durch eigene Vorversuche (71 - 94 %) bestätigt.

3.8 Enzymaktivitäten

3.8.1 Cellulolytische Enzyme

Cellulose ist der häufigste von lebenden Organismen produzierte Naturstoff (ERIKSSON & WOOD, 1985), aber nur wenige Organismengruppen (hauptsächlich Pilze und einige Bakterien) sind in der Lage, Cellulose abzubauen (MARSDEN & GRAY, 1986). Nach LJUNGDAHL & ERIKSSON (1985) sind es drei größere Enzymgruppen, die am Abbau der Cellulose beteiligt sind:

1. Endo- β -1,4-Glucanasen. Sie spalten zufällig Bindungen im Innern des Cellulosemoleküls. Dadurch wird das große Molekül der Cellulose in kleinere Fragmente zerlegt. In der vorliegenden Arbeit wurde die Aktivität einer Endoglucanase bestimmt, diese wurde aber nicht weiter charakterisiert und wird im folgenden Endocellulase genannt.
2. Exo- β -1,4-Glucanasen. Diese Enzyme spalten an den äußeren Enden des Cellulosemoleküls kleine Moleküle, z. B. Mono- und Disaccharide, ab. β -Xylosidase (EC. 3.2.1.37) und β -D-Cellobiohydrolase (EC.3.2.1.91) wurden in ihrer Aktivität in der vorliegenden Arbeit gemessen.
3. Diese Gruppe bilden die β -1,4-Glucosidasen, die die bereits abgespaltenen Komponenten der 2. Gruppe weiter zu Monosacchariden zerlegen. Das Enzym β -D-Glucosidase (EC 3.2.1.21) wurde in seiner Aktivität bestimmt.

Zwei unterschiedliche Methoden wurden für die Aktivitätsmessung verwendet: Die Bestimmung der Endocellulase erfolgte in Anlehnung an das Verfahren von HULME (1971). Die drei anderen Enzyme wurden nach der Methode von HENDEL & MARXSEN (1997) in abgewandelter Form bestimmt.

3.8.1.1 Endocellulase

Die von der Endocellulase (EC 3.2.1.4) katalysierte Spaltung 1,4- β -glykosidischer Bindungen im Innern des Cellulosemoleküls kann methodisch nur schwer erfaßt werden, da Cellulose nicht in Wasser löslich ist. Man bedient sich daher der Carboxymethylcellulose als Ersatzstoff. Innerhalb des Cellulosemoleküls kann prinzipiell jede OH-Gruppe durch eine Carboxymethylgruppe ersetzt werden (VOLLHARDT, 1990). Durch diese Substitution wird das Molekül wasserlöslich. Die Endocellulase kann bei diesem künstlichen Substrat an denselben Bindungsstellen wie im natürlichen ansetzen, da die 1,4- β -glykosidischen Bindungen erhalten bleiben (HULME, 1988). Zu berücksichtigen ist, daß man zur Bestimmung der Aktivität einen möglichst genauen Substitutionsgrad des Substrates benötigt (ERIKSSON & HOLLMARK, 1969). Bei Verwendung einer Carboxymethylcellulose mit einem Substitutionsgrad zwischen 0,5 und 0,7 kann das in der vorliegenden Arbeit verwendete Verfahren benutzt werden (HULME, 1988).

Jeder einzelne enzymatische Spaltungsprozeß einer 1,4- β -glykosidischen Bindung im Cellulosemolekül setzt ein zusätzliches Molekül frei. Dabei wird das ursprüngliche Molekül immer kleiner, was einhergeht mit der Verminderung der Viskosität. Bei der hier verwendeten Methode wird über einen bestimmten Zeitraum regelmäßig die Viskosität gemessen, indem man ein Gemisch aus Enzym- und Substratlösung in bestimmten Zeitintervallen durch eine Kapillare schickt und dabei die Zeit mißt, die die Flüssigkeit für den Durchlauf zwischen zwei Markierungen benötigt. Aus der Zeitdifferenz zwischen den einzelnen Durchläufen und der Durchlaufzeit des Lösungsmittels läßt sich die Abnahme der Viskosität errechnen. Diese kann wiederum in standardisierte Enzymeinheiten (Standard International Enzyme Units) umgerechnet werden. Durch das automatische Viskositätsmeßgerät AVS 350 (Schott-Geräte, Material & Methoden, Abschnitt 2.6.2.5.2, Seite 16) konnte der Meßfehler sehr gering gehalten werden, da das Gerät durch Lichtschrankenmessung sehr präzise wiederholbare Ergebnisse im Bereich von Hundertstelsekunden mißt.

Die der vorliegenden Arbeit zugrundeliegende Methode geht auf ALMIN & ERIKSSON (1967) zurück und wird meistens in Untersuchungen aquatischer mikrobieller Endocellulasemessungen verwendet (z.B. GOLLADAY & SINSABAUGH, 1991, SINSABAUGH ET AL., 1992a, TANK & WINTERBOURN, 1996, KUPERMAN & CARRIERO, 1997). JENKINS & SUBERKROPP (1995) sowie SALA & GUEDE (1996) verwendeten ein schon bei BERNFIELD (1955) beschriebenes Verfahren, in welchem die Endocellulase reduzierende Zucker durch die Übernachtinkubation freisetzt. Die Methode erfordert jedoch sehr lange Inkubationszeiten und wurde daher nicht für die vorliegende Arbeit gewählt.

3.8.1.2 *b*-Glucosidase, Cellobiohydrolase, *b*-Xylosidase

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, die Aktivität dieser mikrobiellen Enzyme zu bestimmen. HENDEL ET AL. (1995) führen aus, daß bei erwarteten niedrigen Enzymkonzentrationen eine Methode gewählt werden sollte, die einerseits empfindlich genug ist, die enzymatischen Aktivitäten zu detektieren, andererseits sollen kurze Inkubationszeiten einer möglichen relativ schnellen Veränderung der Enzymmengen (CHRÓST, 1990) entgegenwirken. Daher wurde die Methode von HENDEL & MARXSEN (1997) ausgewählt und in abgewandelter Form verwendet.

Es kamen fluorogene Modellsubstrate zum Einsatz. Dies sind künstliche Stoffe aus zwei Komponenten, von denen eine fluoresziert, wenn sie freigesetzt wird. Die Bindung zwischen den beiden Komponenten ist identisch mit der im natürlich vorkommenden Substrat, in diesem Falle Cellulose. Das Modellsubstrat wird in hoher Konzentration zugesetzt. Es tritt in Konkurrenz zum natürlichen Substrat und bietet dem Enzym eine Bindung zur Spaltung an. Bei der Auftrennung der Verbindung wird die fluoreszierende Komponente frei, sie kann im Fluorimeter gemessen werden, ihre pro Zeiteinheit freigesetzte Menge dient als Maß für die enzymatische Aktivität in der Probe.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Modellsubstrate waren Methylumbelliferyl-Verbindungen. Freies Methylumbelliferon (MUF) zeigt bei einem pH-Wert von 10,5 eine maximale Fluoreszenzerscheinung, bei einer Anregungswellenlänge von 365 nm und einer Emissionswellenlänge von 450 nm gemessen. In jeder Probe können gelöste Stoffe, zum Beispiel Huminsäuren, die Wellenlängen maximaler Fluoreszenzerscheinungen verschieben (MÜNSTER, 1985, THURMAN, 1986). Daher ist es notwendig, vor einer Versuchsserie die spezifischen Anregungs- und Emissionswellenlänge zu bestimmen, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten (HENDEL & MARXSEN, 1997).

Die folgende Abbildung (Abbildung 4) zeigt beispielhaft die Spaltung von Methylumbelliferyl- β -D-glucopyranosid (MUF-glc) durch β -D-Glucosidase und die Zerlegung in die Einzelbestandteile MUF und Glucose.

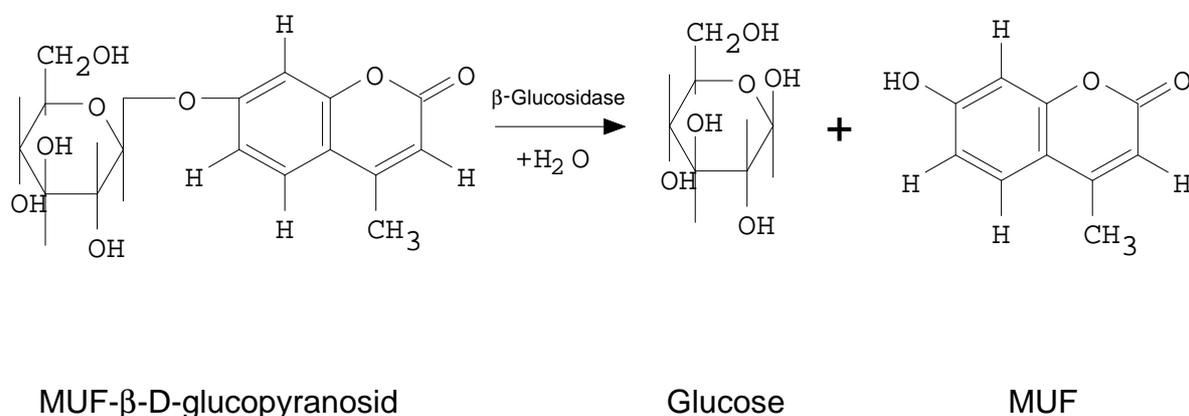


Abbildung 4: Spaltung von MUF- β -D-glucopyranosid durch β -D-Glucosidase zu Glucose und MUF

In Vorversuchen konnte nachgewiesen werden, daß eine Inkubationszeit von 60 min zur exakten Bestimmung der enzymatischen Aktivitäten ausreicht. HENDEL & MARXSEN (1997) gehen von einer Inkubationszeit von fünf Stunden aus. Auch in einigen Arbeiten werden die Proben länger als in der vorliegenden inkubiert: z.B. HOPPE, 1983 (9 h), HOLZAPFEL-PSCHORN ET AL., 1987 (1-7 h), CHRÓST ET AL., 1989 (2-10 h), MIDDELBOE ET AL., 1995 (3-7 h), VRBA ET AL., 1997 (3-5 h), BOSCHKER & CAPPENBERG, 1998 (2 h). Eine kurze Inkubationszeit kann gewählt werden, wenn man durch Vorversuche die Substratkonzentration der Enzymmenge anpaßt. Zusätzlich konnte auf den Vorgang des Abkochens verzichtet werden, um die enzymatische Spaltungsreaktion zu stoppen, indem unverzüglich nach der Entnahme der Proben aus dem Inkubationsgefäß ein Puffer zugesetzt wurde. Außerdem bewirkt die Anhebung des pH in den stark alkalischen Bereich eine Denaturierung der Enzyme (SCHOLZ & MARXSEN, 1996). Dieser Schritt ruft auch den Wechsel des freigewordenen MUF in seine Anionenform hervor; damit geht eine Steigerung der Fluoreszenzerscheinung (DANIELS & GLEW, 1984) einher.

Extrazelluläre Enzyme arbeiten in natürlicher Umgebung weit unterhalb ihres Temperaturoptimums und oft abseits ihres pH-Optimums (DUDDRIDGE & WAINWRIGHT, 1982). Laborversuche sollten trotzdem möglichst unter naturähnlichen Gegebenheiten durchgeführt werden, insbesondere die Versuchstemperatur spielt hier eine wichtige Rolle (CHRÓST & KRAMBECK, 1986, CHRÓST, 1990). Aus diesem Grund wurde die Versuchstemperatur nur knapp über dem im Breitenbach auftretenden Wert zwischen 7 und 9,5 °C (Ergebnisse, Abschnitt 4.1, Seite 37) angehoben und für alle Experimente bei 10 °C gehalten. Das verwendete fluorimetrische Verfahren ist sensitiv und kann sehr geringe Substratumsatzraten von etwa 1 nmol (L x h)⁻¹ detektieren (HENDEL & MARXSEN, 1997). In den allermeisten Untersuchungen ist eine Anhebung der Versuchstemperatur daher grundsätzlich nicht erforderlich. JONES & LOCK, 1993, HANTKE ET AL., 1996 und SIMEK ET AL., 1998 inkubierten ihre Proben bei in situ-Temperaturen. Andere Publikationen, zum Beispiel ADMIRAAL & TUBBING, 1991, MIETTINEN ET AL., 1996, BELANGER ET AL., 1997, BOSCHKER & CAPPENBERG, 1998 und MÜNSTER ET AL., 1998a berichten über die Inkubation ihrer Proben oberhalb der in situ - Temperaturen zwischen 15 und 20 °C.

3.8.2 Ligninolytische Enzyme

Peroxidase (EC 1.11.1.7), Phenoloxidase (EC 1.10.3.2. und 1.1.4.18.1)

Lignin ist neben der Cellulose ein Hauptbestandteil von Holz und höheren Pflanzen und daher mengenmäßig der zweithäufigste Naturstoff (ZEIKUS, 1982). Chemisch besteht Lignin aus polymerisierten Phenylpropaneinheiten (Sinapyl-, Coniferyl- und Cumarylalkohol) (JANSHEKAR & FIECHTER, 1983) mit unterschiedlichen Anteilen der Alkohole am Gesamtmolekül. Man trennt Lignine daher in Gramineen-, Laubholz- und Nadelholzlignin (STRASBURGER, 1991, SHEVCHENKO & BAILEY, 1996). Über Seitenketten können Verknüpfungen zu anderen Molekülen, z. B. zu Cellulose oder Hemicellulose hergestellt sein (YOSHIDA, 1997). Abbildung 5 zeigt einen Ausschnitt aus der Struktur des Nadelholzlignins.

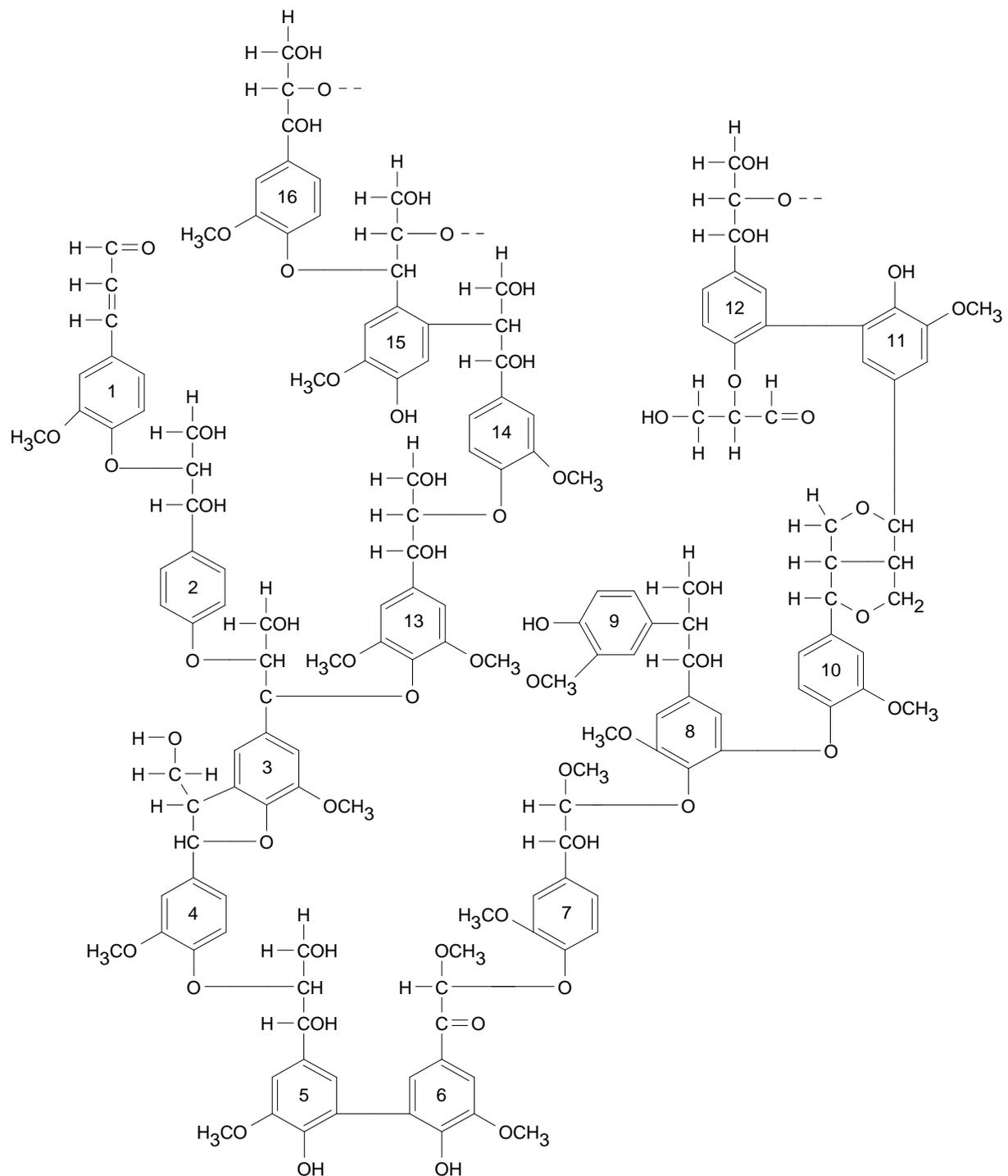


Abbildung 5: Ausschnitt aus der Struktur des Nadelholzlignins, nach ADLER (1977)

Aufgrund seiner Komplexität erfolgt der biologische Abbau des Lignins sehr langsam. Mit 600-1000 kd ist das Molekül zu groß, um direkt in Zellen aufgenommen zu werden (KIRK & FARRELL, 1987). Hauptsächlich „Fäule“-Pilze

(STRASBURGER, 1991), aber auch diverse Bakterien, leisten die ersten Abbauschritte (JANSHEKAR & FIECHTER, 1983, CHEN & CHANG, 1985). Mehrere Enzyme bzw. Enzymgruppen, die extrazellulär wirken, sind in diesem Zusammenhang bekannt: Die erste Gruppe bilden die Phenoloxidasen, die spezifisch die Abspaltung von phenolischen Hydroxylgruppen und Aminogruppen bewirken (KIRK, 1975, KIRK & SHIMADA, 1985). In dieser Gruppe gibt es Phenoloxidasen, Manganperoxidasen und Peroxidasen. Peroxidasen benötigen Wasserstoffperoxid (H_2O_2) als Zusatzsubstrat. Die zweite Gruppe wird Ligninasen oder Lignin-Peroxidasen genannt (KIRK, 1975, KIRK & SHIMADA, 1985). Sie wirken unspezifisch sowohl an phenolischen als auch an nichtphenolischen Gruppen, benötigen zwingend H_2O_2 und depolymerisieren das Ligninmolekül (KIRK & FARRELL, 1987). Schließlich gibt es noch weitere Gruppen von Enzymen, die am Ligninabbau beteiligt sind, z.B. Quinon-reduzierende und H_2O_2 -produzierende (ERIKSSON ET AL. 1990, CULLEN & KERSTEN, 1996, KUHAD ET AL., 1997). Eine ganze Reihe von Produkten kann aufgrund dieses oxidativen Abbaus entstehen. KIRK & FARRELL (1987) sprechen von einem „Potpourri unterschiedlichster Reaktionen“, die in ihren Einzelheiten zunehmend auf biochemischer und molekularer Ebene untersucht werden (z.B. ERIKSSON ET AL., 1990, CULLEN & KERSTEN, 1996, EGGERT ET AL. 1996).

Bestimmungen der ligninabbauenden Enzyme erfolgen in allen Fällen durch die Zugabe eines Substrates, das als Elektronendonator dient und bei Spaltung einen Farbstoff freisetzt, dessen Menge photometrisch bestimmt werden kann (ERIKSSON ET AL., 1990). In den meisten Untersuchungen, die molekularbiologischer Art sind, wird 3,4-Dimethoxybenzylalkohol (Veratrylalkohol) als Substrat zur Untersuchung des Ligninabbaus verwendet (TIEN ET AL., 1986, VARES ET AL., 1995, MAGALHAES ET AL., 1996, COLLINS ET AL., 1997, SCHLOSSER ET AL., 1997, DARAH & IBRAHIM 1998, MÜNSTER ET AL., 1998b), neueren Untersuchungen zufolge soll dieser Stoff als Cofaktor für Peroxidase dienen (SCHOEMAKER & PIONTEK, 1996). Es wurde jedoch in der vorliegenden Arbeit auf die in GOLLADAY UND SINSABAUGH (1991) beschriebene Methode nach MASON (1948) zurückgegriffen. Diese Methode ist kostengünstig und unkompliziert durchzuführen (SINSABAUGH, persönliche Mitteilung). L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) dient als elektronenlieferndes Substrat, beim enzymatischen Abbau bildet sich ein „rotes Pigment“ (MASON, 1948), das photometrisch bei einer Wellenlänge von 610 nm bestimmt werden kann. Diese Methode wurde in vielen ökologischen Studien sowohl terrestrischer als auch aquatischer Natur verwendet (SINSABAUGH & LINKINS, 1990, GOLLADAY & SINSABAUGH, 1991, SINSABAUGH ET AL., 1991a, SINSABAUGH ET AL., 1992b, JACKSON ET AL., 1995, TANK ET AL. 1998). Die Ergebnisse aus diesen Arbeiten können zu Vergleichszwecken herangezogen werden.

Einen einzigen Nachteil nennt MASON (1948) in seiner Publikation: Das „rote Pigment“, das während der Reaktionszeit entsteht, ist relativ instabil und reagiert in mehreren Reaktionsschritten weiter zu Melanin. Daher ist die genaue Einhaltung der 60 minütigen Inkubationszeit unabdingbar. Unmittelbar im Anschluß daran muß die Messung der Absorption im Photometer durchgeführt werden.

4 Ergebnisse

4.1 Abiotische Parameter

Die Abbildung 6 zeigt die abiotischen Parameter Wasserschüttung und Wassertemperatur (angegeben sind jeweils die Tagesmittelwerte) im Bereich der exponierten Holz- und Blattproben im Breitenbach. Zu Beginn der Experimente im April 1997 schwankte die Wassertemperatur um 7 °C. Nach ungefähr einem Monat der Inkubation der Proben stieg sie in mehreren Schritten auf einen Wert von ungefähr 8,5 °C an und behielt dieses Niveau bis Mitte Oktober 97. Hier erfolgte ein schneller Rückgang um ungefähr 1 °C. Die nachfolgenden Wintermonate bis Februar 98 sind geprägt von teilweise starken Schwankungen um mehr als 1,5 °C innerhalb weniger Tage. In den ersten Februartagen des Jahres 1998 wurde der niedrigste Temperaturwert mit 6,6 °C gemessen. Ab diesem Zeitpunkt stieg die Wassertemperatur bis zum Ende des Probenzeitraumes im Juli 1998 relativ gleichmäßig auf 8,8 °C an. Im Mai 98 fiel die Meßstation aus, daher konnten hier während eines Zeitraumes von 14 Tagen keine Daten erhoben werden.

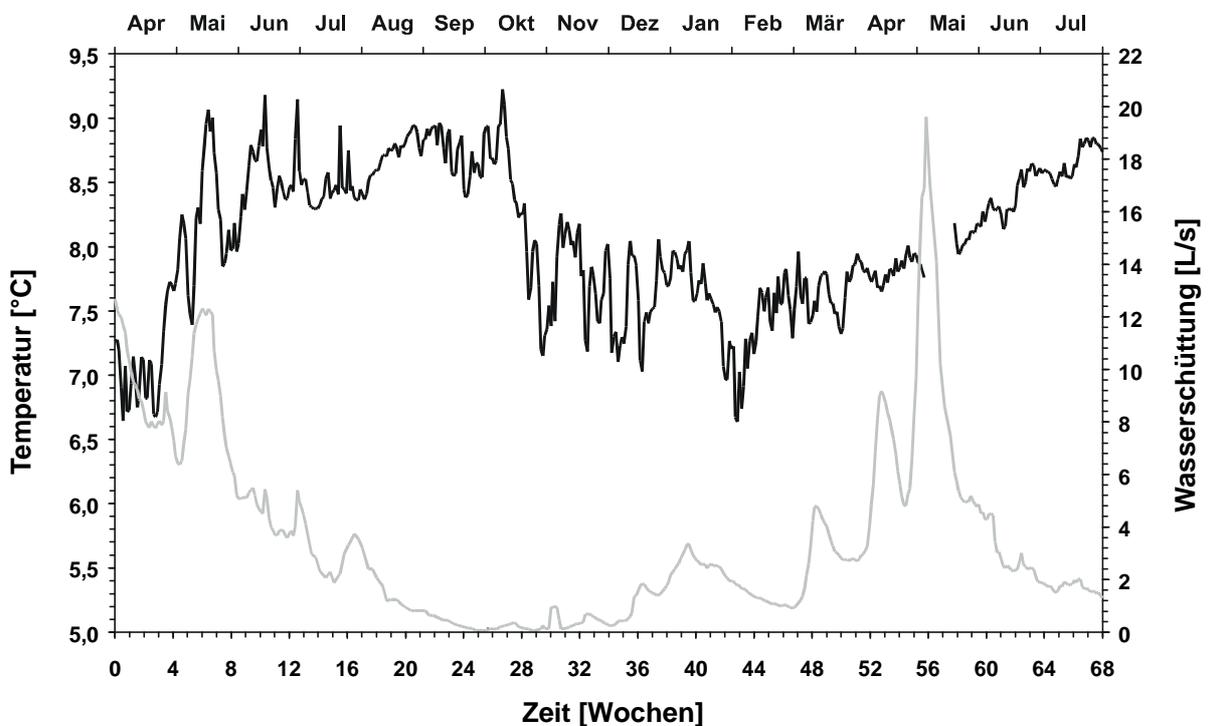


Abbildung 6: Tagesmittelwerte der abiotischen Parameter während des Probenzeitraumes (April 97 – August 98). Schwarze Linie: Wassertemperatur an der Meßstelle Haus A. Graue Linie: Wasserschüttung ca. 30 m oberhalb der Meßstelle Haus A.

Im April 1997 wurde eine Wasserschüttung von $12,5 \text{ L s}^{-1}$ gemessen, dieser Wert ging bis Anfang Mai auf $6,4 \text{ L s}^{-1}$ zurück. Es erfolgte Mitte Mai ein Anstieg innerhalb weniger Tage bis auf $12,3 \text{ L s}^{-1}$. Danach sank die Wasserschüttung schnell wieder ab. In den Monaten August bis Oktober wurden extrem niedrige Wasserstände mit Werten unter $0,5 \text{ L s}^{-1}$ gemessen. Dieses Niveau blieb bis Mitte November 1998 bestehen und stieg dann in mehreren Schritten bis Anfang Januar auf $3,4 \text{ L s}^{-1}$ an. Es folgte bis zum Beginn des März ein erneuter Rückgang auf $0,95 \text{ L s}^{-1}$. Mit drei Zwischenmaxima stieg ab diesem Tag die Wasserführung bis auf den Maximalwert des Untersuchungszeitraumes von $19,6 \text{ L s}^{-1}$ Anfang Mai 98 an. Im Anschluß daran folgte ein rascher Rückgang der Wasserführung, der sich zunehmend verlangsamte. Bis zum Ende des Probenzeitraumes Ende Juli war die Schüttung kontinuierlich auf $1,3 \text{ L s}^{-1}$ abgefallen.

4.2 Allgemeine Hinweise zu den Abbildungen im Teil Ergebnisse

In den Abbildungen dieses Kapitels ist Buche immer durch offene (○), Erle durch ausgefüllte (●) Kreise dargestellt. Die Streuung der Meßwerte ist in der Regel durch die Standardabweichung repräsentiert, in einigen wenigen Fällen wird aus Übersichtlichkeitsgründen der Standardfehler gezeigt. Dies wird im jeweiligen Abschnitt ausdrücklich angegeben. Die einzelnen Parameter werden einerseits auf Trockengewicht bezogen, andererseits werden absolute Werte angegeben. Bei den absoluten Angaben wird bei den Holzproben der Parameter auf einen einzelnen Holzklotz, bei den Blattproben auf den Restinhalt einer Blattprobenflasche bezogen. Im Anhang findet sich eine Tabelle der Mittelwerte aller im Untersuchungszeitraum bestimmten biotischen Parameter.

4.3 Masseabnahme

4.3.1 Holz

Die Abbildungen 7-9 zeigen den Verlauf des Masseverlustes. Zu Beginn des Beprobungszeitraumes wogen die frischen Buchenwürfel durchschnittlich $1,48 \text{ g}$, die frischen Erlenwürfel waren mit durchschnittlich $1,47 \text{ g}$ nur unwesentlich leichter. Getrocknet waren am Anfang des Experiments die Buchenwürfel $0,79 \text{ g}$ und die Erlenwürfel $0,54 \text{ g}$ schwer. Diese Werte der Trocken- und Feuchsubstanz wurden als 100 % angenommen. Während der ersten zwei Versuchswochen bei der Buche und vier Wochen bei Erle nahm die Feuchtmasse des Materials zu (Abbildung 7). Die Zunahme betrug bei Buche 7 %, bei Erle 6 %. Nach diesen Maxima nahm die

Masse bei beiden Holzarten kontinuierlich ab. Ab Woche 8 war diese Abnahme für die beiden Holzarten unterschiedlich schnell, die Erle wurde schneller abgebaut. Am Ende des Expositionszeitraumes nach 66 Wochen waren beim Buchenholz noch 35 % und bei Erle lediglich 19 % der Ausgangsmasse vorhanden. Ein Buchenwürfel wog dann durchschnittlich 0,52 g, ein Erlenwürfel 0,27 g. Einige Erlenwürfel zerfielen, eine Fortsetzung des Experimentes war nicht mehr möglich.

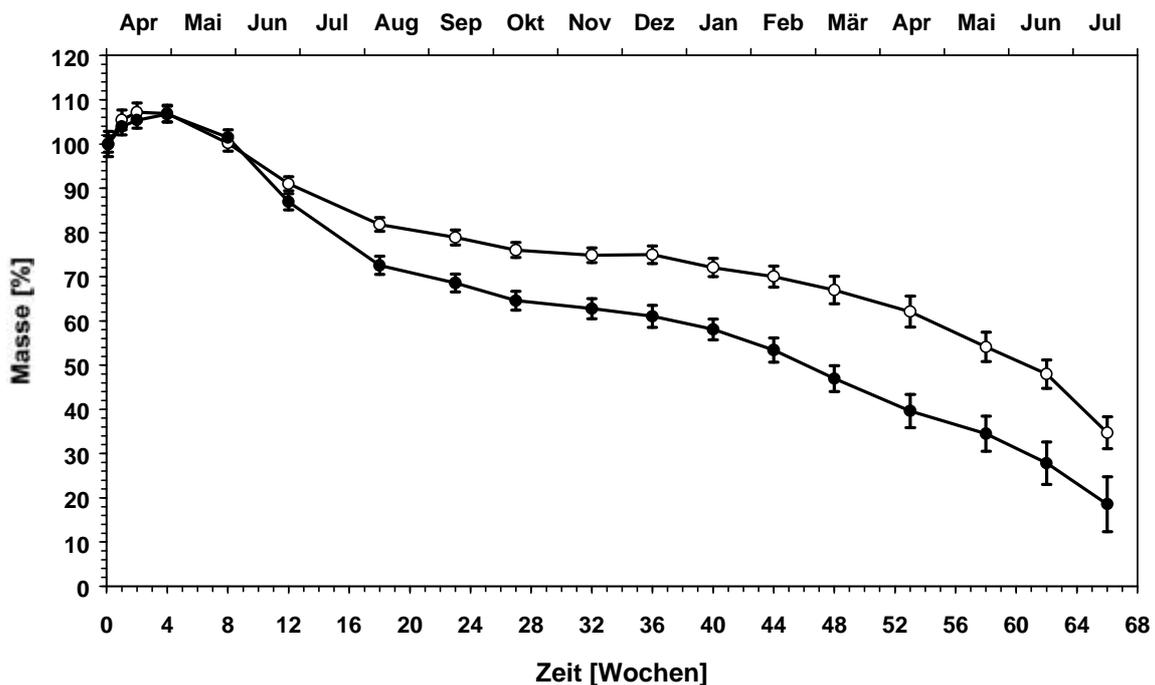


Abbildung 7: Feuchtmasse der Holzwürfel (Buche: O, Erle: ●) relativ zum Ausgangsfeuchtgewicht während des Probenzeitraumes (April 97 – Juli 98). Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardfehler (jeweils $n=24$).

Vom Start des Experimentes an wurde die Trockenmasse der beiden Holzarten weniger, bereits nach einer Woche im Bach betrug die Abnahme bei Buchenholz 11 mg (Abbildung 8). Die Erlenholzwürfel waren zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich 4 mg leichter (Abbildung 9). Ab der 4. Probenwoche war die Masseabnahme bei der Erle bis zum Ende des Experiments deutlich größer als bei der Buche. Nach 66 Wochen Inkubationszeit war die Trockenmasse der Buchenwürfel auf 28 % der Ausgangsmasse zurückgegangen. Die Erlenholzwürfel wogen nur noch 11 % ihrer ursprünglichen Masse. Die Berechnung der durchschnittlichen täglichen Abbaurates k ergab für Buchenholz einen Wert von $0,00262 \text{ d}^{-1}$ und für Erlenholz $0,00414 \text{ d}^{-1}$. Die errechneten Regressionslinien erreichten ein Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,98$ für Buchenholz und $r^2 = 0,95$ für Erlenholz.

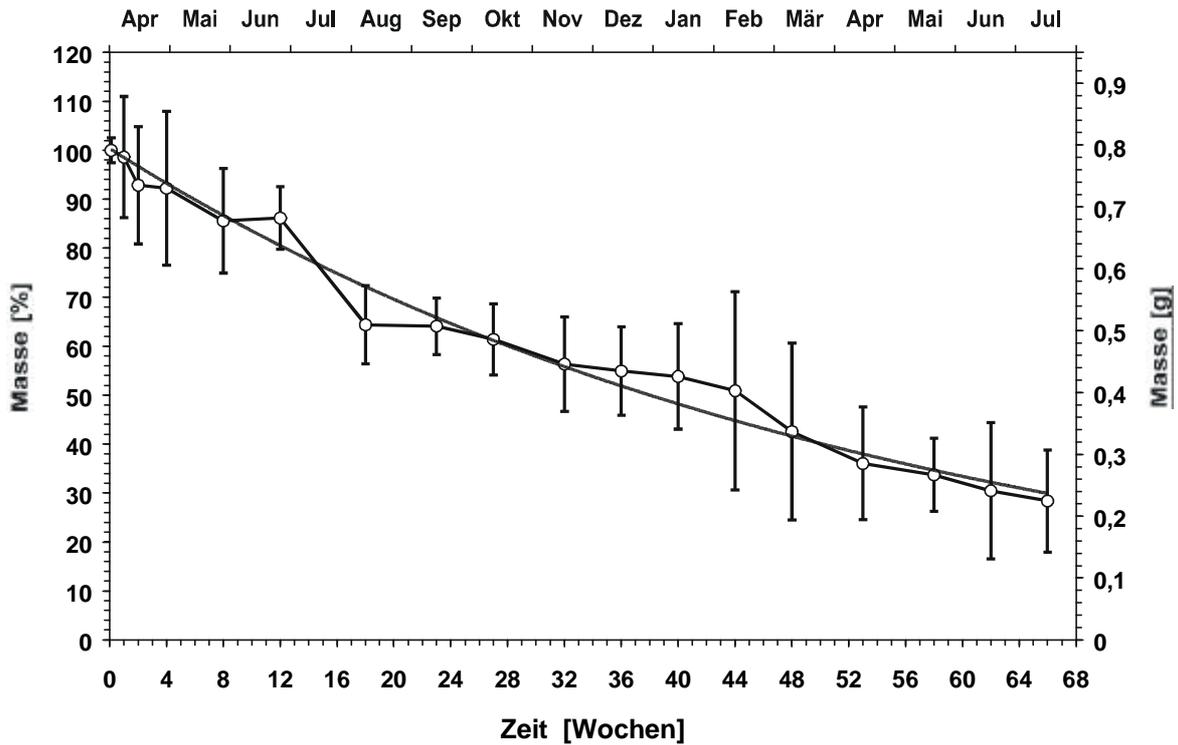


Abbildung 8: Trockenmasse der Buchenwürfel während des Probenzeitraumes (April 97 – August 98) (jeweils n=10). Darstellung mit Regressionskurve.

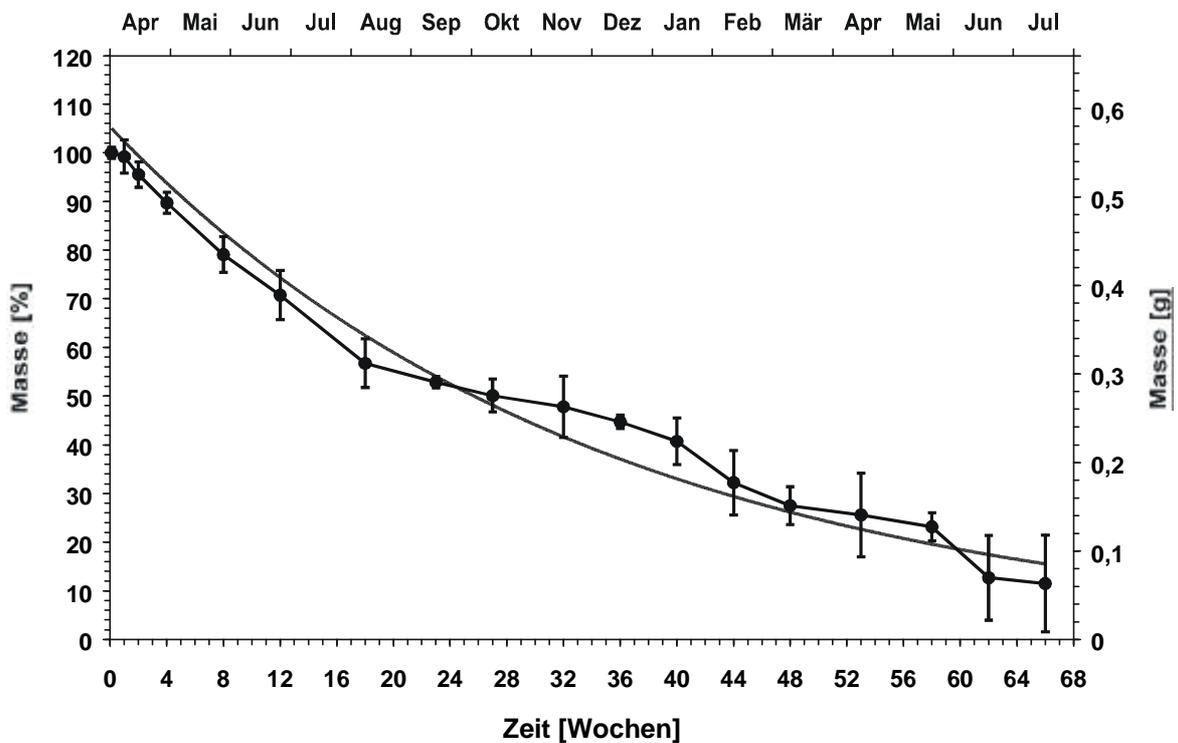


Abbildung 9: Trockenmasse der Erlenwürfel während des Probenzeitraumes (April 97 – August 98) (jeweils n=10). Darstellung mit Regressionskurve.

4.3.2 Blätter

Die Feuchtmasse des Blattmaterials betrug zu Versuchsbeginn im November 1997 in jeder Probenflasche 5 g, die als 100 % angenommen wurden (Abbildung 10). Wie auch beim Holz erfolgte zunächst eine starke Massezunahme. Diese Massezunahme koinzierte mit einem einen schleimigen Film auf der Blattoberfläche. Die Masseabnahme war bei Erlenlaub deutlich schneller als bei Buchenlaub. Nach 11 Inkubationswochen waren lediglich noch 16 % der Ausgangsmasse vorhanden, bestehend aus dem Blattskelett und kleinen Fragmenten des Blattgewebes. Eine weitere Beprobung war daher nicht mehr möglich. Deutlich langsamer verlief der Abbau der Buchenblätter. Nach 31 Wochen Exposition im Bach war die Feuchtmasse zeitlich relativ gleichmäßig auf 33 Prozent der Ausgangsmasse zurückgegangen. Die Streuung der Meßwerte wurde zum Versuchsende immer größer, und wie bei Erlenlaub bestand das Inkubationsmaterial hauptsächlich noch aus dem Blattgerüst und kleinsten Blattfragmenten. Da einige Probenflaschen keine Blätter mehr enthielten, wurde das Experiment nach 31 Wochen beendet.

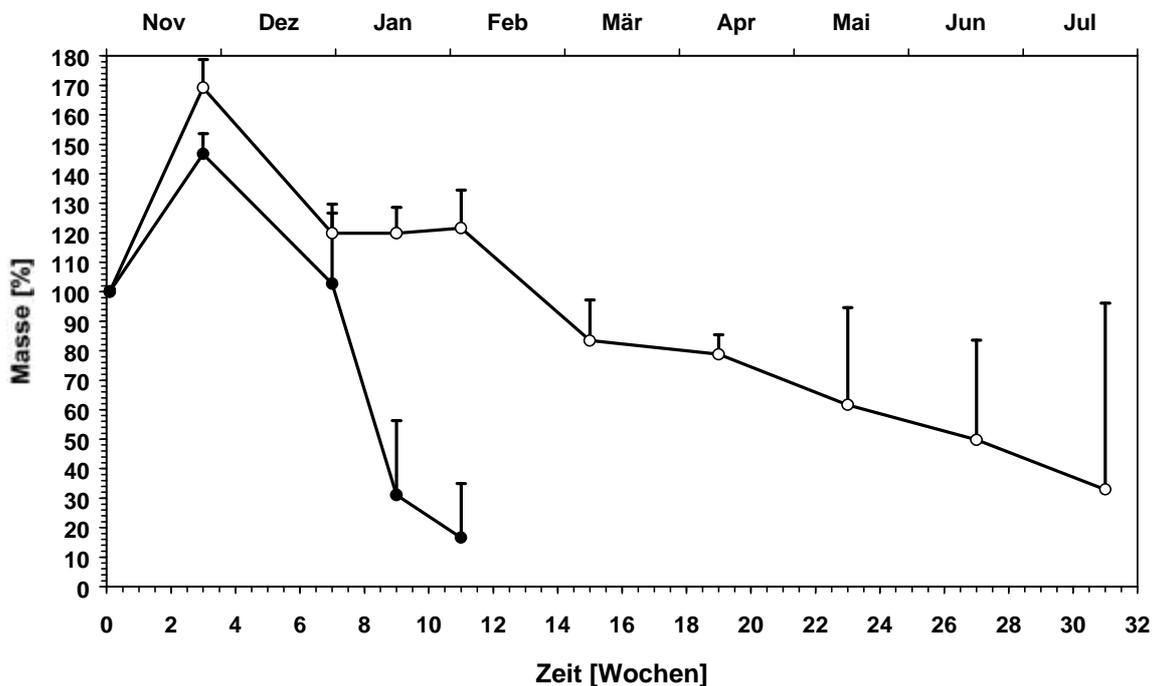


Abbildung 10: Feuchtmasse der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●) während des Probenzeitraumes (November 97 – Juli 98) (jeweils n=5).

Wie aus den beiden Abbildungen 11 und 12 ersichtlich ist, war vom Versuchsstart an ein Abbau der Trockenmasse bei beiden Baumarten festzustellen. Der Inhalt einer Probenflasche wog für Buche zu Beginn 2,5 g und für Erle 1,0 g. Die Buchenblätter verzeichneten zunächst einen zügigen Verlust an Trockenmasse bis

zu Versuchswoche 9, ab dort verlangsamte sich der Abbau. Am Ende des Experiments befanden sich in einer Probenflasche durchschnittlich 0,25 g Blattmaterial. Erlenlaub verlor erheblich schneller an Masse, bereits nach 9 Wochen waren in einer Probenflasche durchschnittlich nur noch 0,22 g Blätter vorhanden. Der Abbau wurde während der Expositionsdauer deutlich schneller. Der deutlich schnellere Masseverlust spiegelt sich auch in der durchschnittlichen täglichen Abbaurates k wieder: Es ergab sich für Buchenblätter einen Wert von 0,00824. Die Abbaugeschwindigkeit des Erlenlaubs über den gesamten Untersuchungszeitraum entspricht einem deutlich höheren k -Wert von 0,02224.

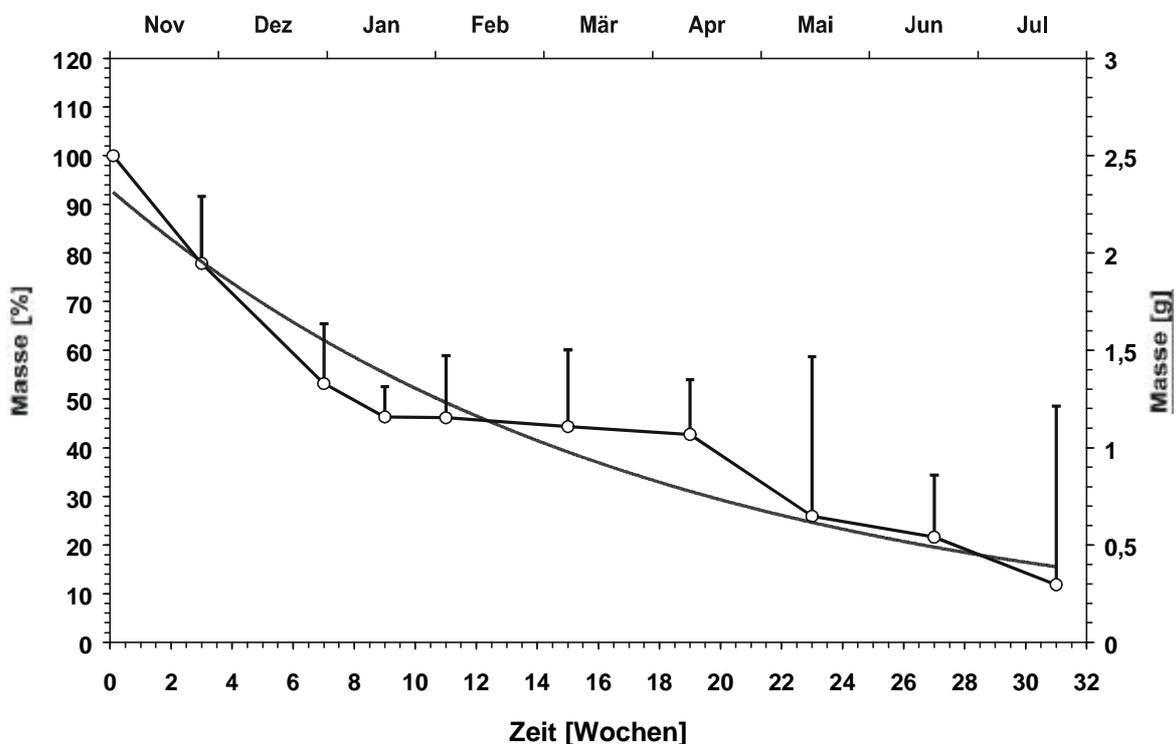


Abbildung 11: Trockenmasse der Buchenblätter während des Probenzeitraumes (November 97 – Juli 98) (jeweils $n=5$). Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardfehler, Darstellung mit Regressionskurve.

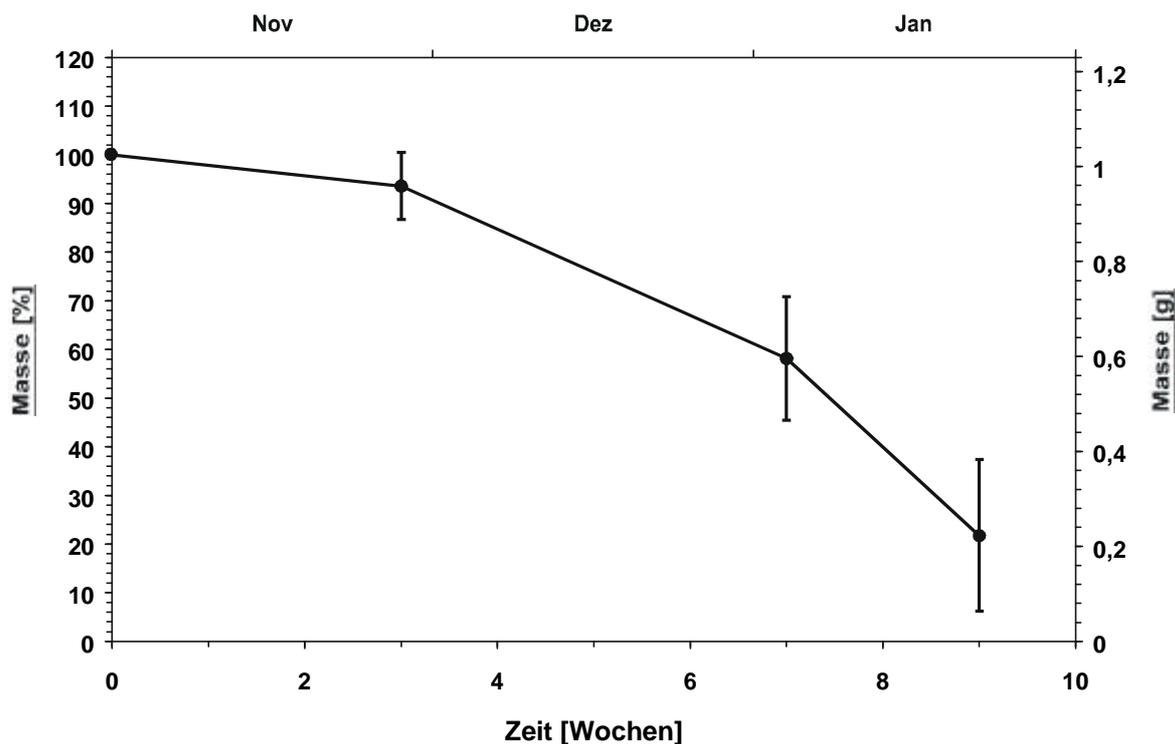


Abbildung 12: Trockenmasse der Erlenblätter während des Probenzeitraumes (November 97 – Januar 98). Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardfehler (jeweils $n=5$).

4.4 Ligningehalt

4.4.1 Holz

Zu Beginn der Untersuchung im April 1997 lag der Ligningehalt für Buchenholz bei 13,6 % und für Erlenholz bei 12,2 % der jeweiligen Trockenmasse (Abbildung 13). Bis zu Woche 12 war nach anfänglichem kurzem Anstieg innerhalb der ersten 4 Inkubationswochen auf knapp 17 % bei beiden Holzarten ein Rückgang des Ligningehaltes auf 8,5 % bei Buche und 8,8 % bei Erle zu verzeichnen. Im Anschluß daran war bis zum Expositionsende nach 66 Wochen für beide Holzarten ein Trend der allmählichen relativen Zunahme des Ligningehaltes festzustellen. Für Buchenholz fielen besonders ein Maximalwert in Woche 27 mit 21,4 % Lignin sowie ein niedriger Wert in Woche 40 mit 11,6 % Lignin auf. Der Verlauf des Ligningehaltes bei Erlenholz war ab Woche 12 gekennzeichnet durch zahlreiche Schwankungen, die aber generell doch zu einem Ansteigen des Ligningehaltes bis zum Ende des Beprobungszeitraumes im Juli 1998 führten. Der höchste Gehalt an Lignin wurde für Erlenholz in Woche 44 gemessen, er lag bei 28,5 %. Die absoluten Ligningehalte für beide Holzarten in Abbildung 14 dokumentieren die tatsächlich pro Holzklötz vorhandene Menge an Lignin. Sie lag zu Beginn des

Untersuchungszeitraumes für Buchenholz bei 109 mg, für Erlenholz bei 67 mg. Insgesamt über den gesamten Zeitraum gesehen nahm die Menge an Lignin ab. Bei der Erle ging diese Abnahme schneller als bei der Buche. Nach 66 Wochen Exposition konnten für Buchenholz noch durchschnittlich 43 mg und für Erlenholz 12 mg Lignin pro Klotz bestimmt werden. Auffallend in den Verlaufskurven ist die Zunahme der Ligninmenge, insbesondere zu den Probenterminen nach 1 und 27 Wochen bei Buche und 1 und 23 Wochen bei Erle. Insgesamt betrachtet, reduzierte sich die Ligninmenge während des Probenzeitraumes pro Holzwürfel um 66 mg (61 %) für Buche und um 55 mg (82 %) für Erle.

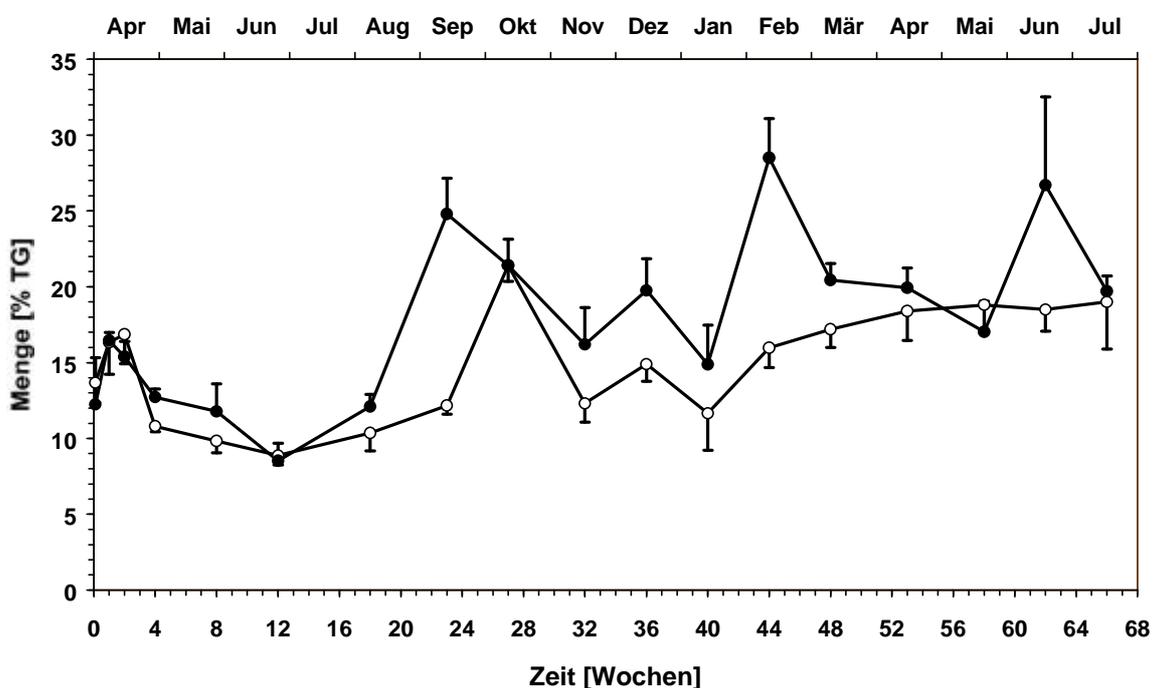


Abbildung 13: Ligningehalt der Holzproben (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf Trockenmasse, im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98. Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardfehler (jeweils n=15).

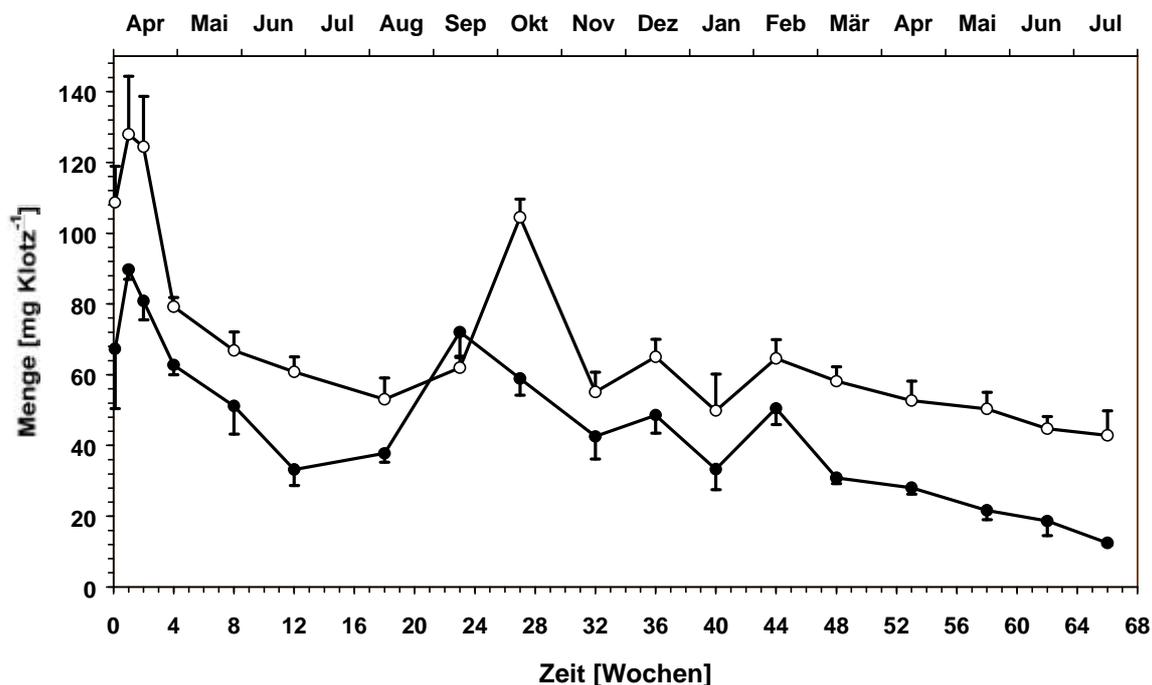


Abbildung 14: Ligningehalt der Holzproben (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf 1 Klotz, im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98. Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardfehler (jeweils $n=15$).

4.4.2 Blätter

Der Ligningehalt beider Blattarten lag am Anfang im November 1997 bei 15,0 % für Buche und 16,0 % für Erle. Bei Erle nahm der Ligningehalt bis zur Woche 7 auf 20,6 % zu und schnellte darauf bis zur letzten Probennahme in Woche 9 auf 55 % nach oben. Bei Buchenlaub nahm der Ligningehalt während der ersten 11 Wochen der Inkubation zu und erreichte in Woche 11 ein Maximum von 55 %. Ab diesem Termin bis zum Ende der Untersuchung schwankte der Ligningehalt bei ungefähr 47 % (Abbildung 15).

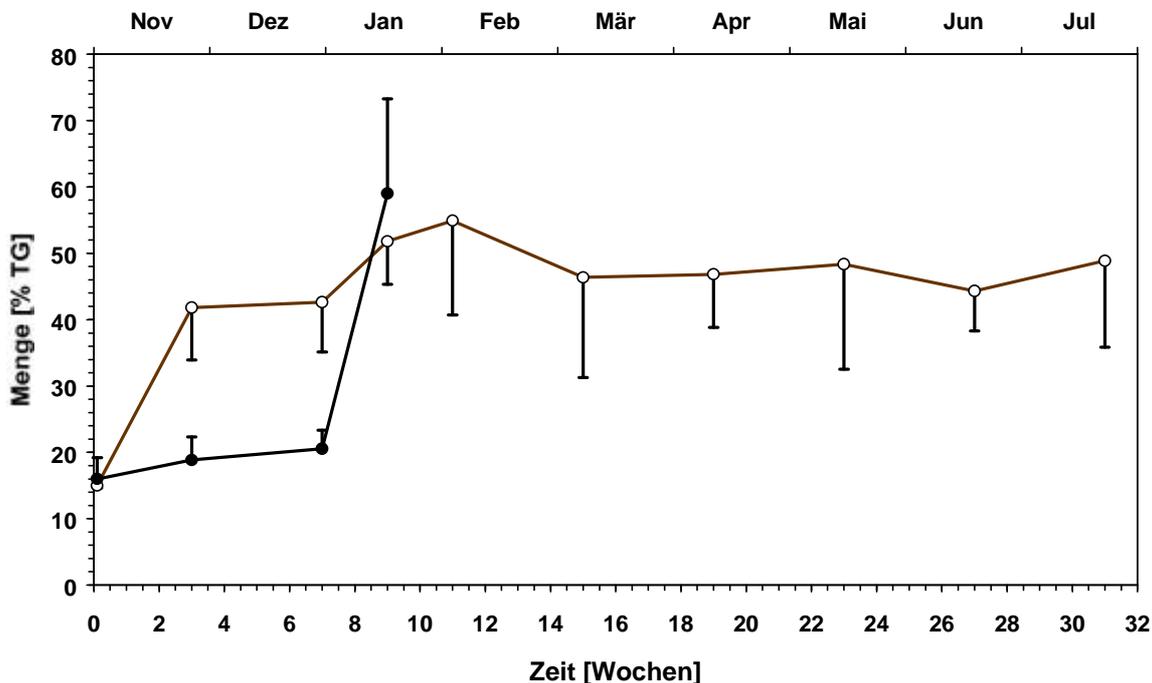


Abbildung 15: Ligningehalt der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●), bezogen auf Trockenmasse, im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (jeweils n=15).

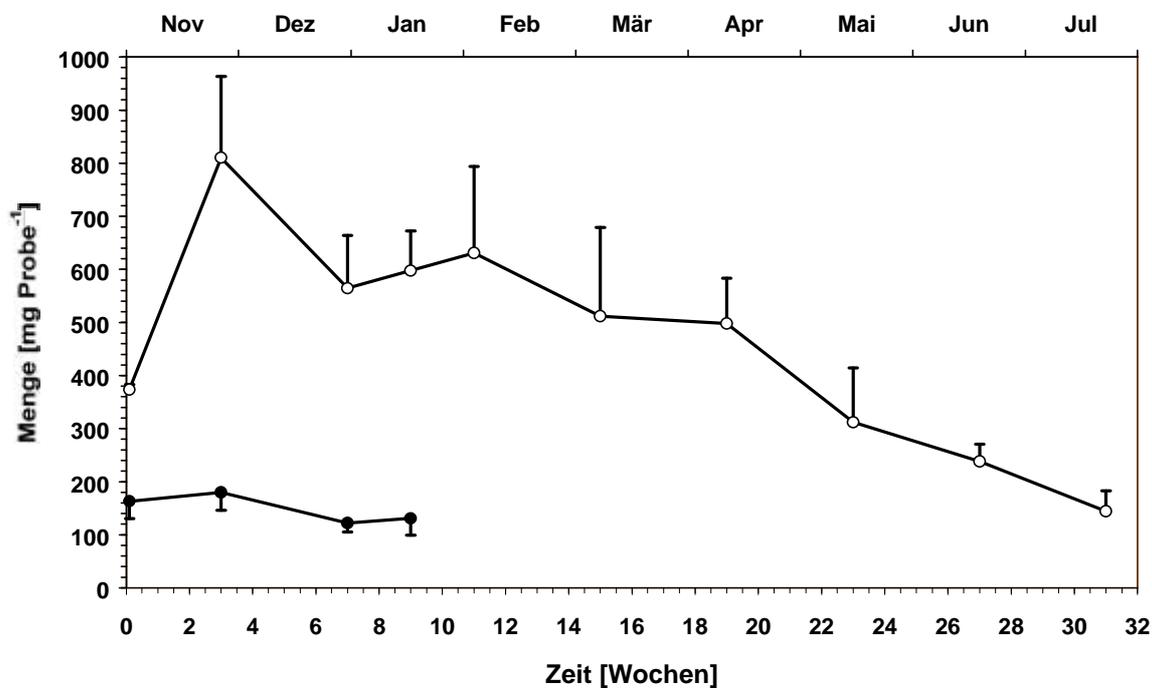


Abbildung 16: Ligningehalt der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●), bezogen auf 1 Probe, im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (jeweils n=15).

In der Abbildung 16 sind die absoluten Ligningehalte der Blattproben dargestellt. Zu Beginn lagen sie bei $373 \text{ mg Probe}^{-1}$ für Buche und $163 \text{ mg Probe}^{-1}$ für Erle. Erlenlaub wies in Woche 3 einen erhöhten Ligningehalt mit $180 \text{ mg Probe}^{-1}$ auf, darauf sank er wieder auf $130 \text{ mg Probe}^{-1}$ ab. Beim Buchenlaub wurden schon in Woche 3 $810 \text{ mg Probe}^{-1}$ an Lignin gemessen. Mit einigen Schwankungen nahm der Ligningehalt bis zum Ende der Untersuchung wieder ab, hier lag er bei $144 \text{ mg Probe}^{-1}$.

4.5 Phospholipide

4.5.1 Holz

In Abbildung 17 sind die Phospholipidgehalte der Holzproben, bezogen auf Trockengewicht, dargestellt. Zum ersten Probenentwurf im April 1997 zeigte Buchenholz einen Wert von $0,63 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$, der bis Woche 8 auf $0,97 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ anstieg und etwa dieses Niveau bis Woche 18 beibehielt. Erlenholz zeigte zu Beginn der Untersuchung einen deutlich höheren Phospholipidgehalt mit $2,0 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$, der bis Woche 4 auf $1,05 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ abgefallen war und bis Woche 18 mit Schwankungen wieder auf $1,43 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ anstieg. Beide Holzarten verzeichneten in Woche 23 einen deutlichen Rückgang der Werte, Buche hatte hier einen Phospholipidgehalt von $0,29 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$, die Werte von Erlenholz lagen mit $0,33 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ nur unwesentlich höher. Die verbleibende Inkubationszeit ist für beide Holzarten geprägt von einem sich anschließenden Anstieg, der für Buche bis Woche 58 und für Erle bis Woche 44 andauerte. Bei Erle nahm der Phospholipidgehalt zwischen den Wochen 44 und 62 wieder ab, zum letzten Probenentwurf wurde der Maximalwert des gesamten Untersuchungszeitraumes mit $2,3 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ bestimmt. Bei Buche wurden zum vorletzten Probenentwurf in Woche 62 ein nochmals deutlich niedrigerer Wert mit $1,2 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ und in der Woche 66 der höchste Wert mit $1,9 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ gemessen. Insgesamt läßt sich die gesamte Inkubation in drei Abschnitte teilen: Im ersten schwankten die Meßwerte innerhalb eines relativ engen Bereiches, dann erfolgte ein drastischer Rückgang auf einen minimalen Wert, und im darauffolgenden Zeitraum stiegen die Werte bis auf einen Maximalwert an.

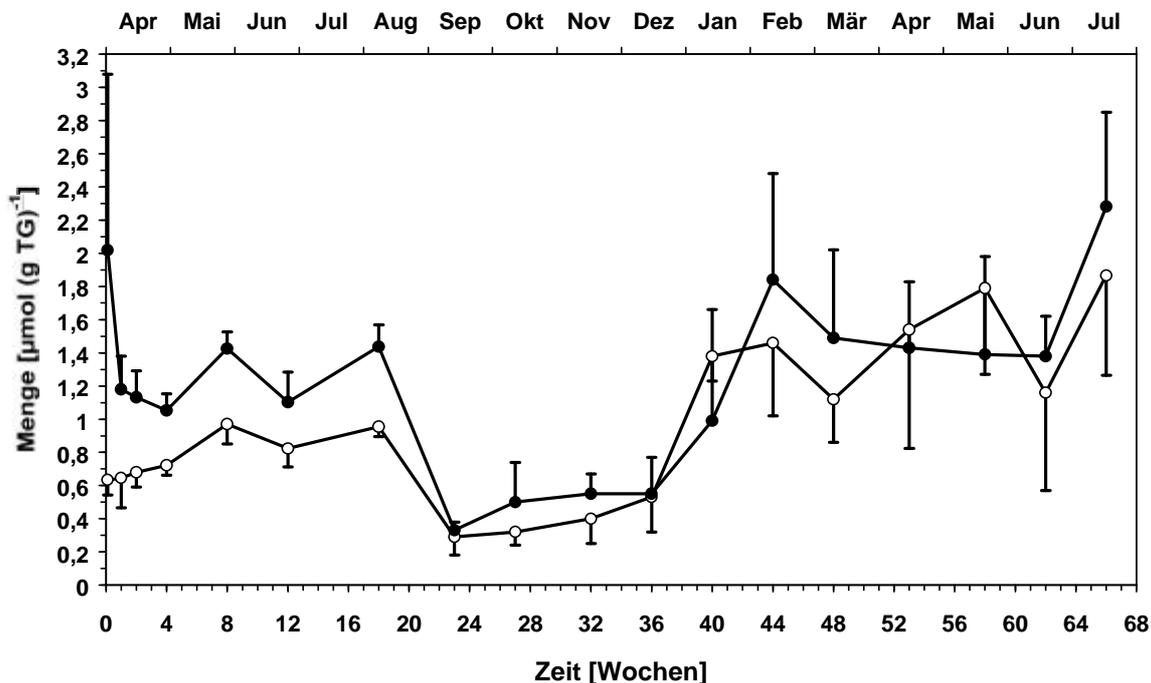


Abbildung 17: Phospholipidgehalt der Holzproben (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf Trockengewicht, im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

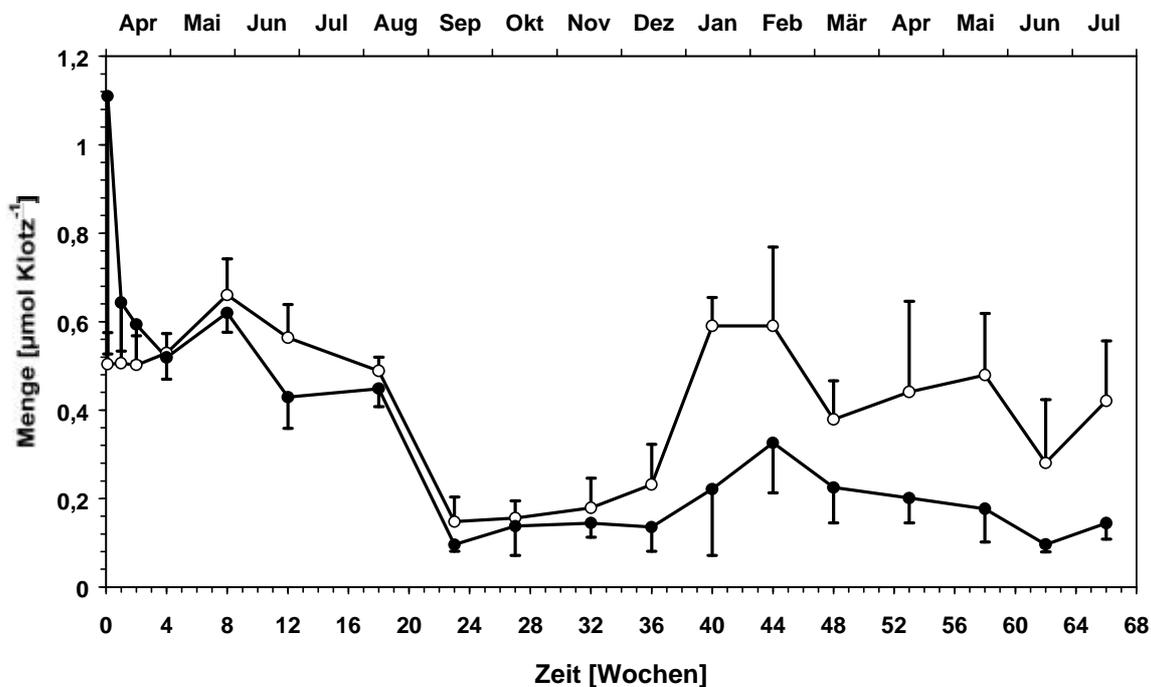


Abbildung 18: Phospholipidgehalt der Holzproben (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf 1 Klotz im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

Die Verlaufskurve des absoluten Phospholipidgehaltes (Abbildung 18) zeigt ähnliche Trends wie die Abbildung 17 mit auf Trockenmasse bezogenen Werten. Von Beginn der Exposition der Holzproben an erfolgte ein Rückgang des Phospholipidgehaltes bis zur Woche 23, zu welcher die Menge mit $0,15 \mu\text{mol Klotz}^{-1}$ für Buche und $0,09 \mu\text{mol Klotz}^{-1}$ für Erle am niedrigsten war. Der Zeitraum bis zur Woche 66 ist zunächst gekennzeichnet durch eine Zunahme der Phospholipidmenge, welche bei beiden Holzarten bis zur Woche 44 andauerte. Im Anschluß daran gingen bei Erlenholz die Werte bis zu Versuchsende zurück. Auch bei Buche war ein Rückgang zu verzeichnen, dieser war aber nicht so deutlich wie bei Erle. Auf den Buchenklötzen war insgesamt die Menge an Phospholipiden stets größer als auf den Erlenklötzen.

4.5.2 Blätter

Der Phospholipidgehalt der Blattproben, bezogen auf das Trockengewicht, lag deutlich über den Werten der Holzproben (Abbildung 19). Bei Erlenlaub wurde zum ersten Probenstermin im November 1997 ein Wert von $2,8 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ bestimmt. Dieser stieg bis zum letzten Probenstermin in Woche 9 auf $7,4 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ an. Die Spannweite der Einzelmeßwerte war zur letzten Probennahme aufgrund des unterschiedlichen Zersetzungsgrades der Erlenblätter sehr groß. Bei den Buchenblättern lag der Gehalt an Phospholipiden zum ersten Probenstermin bei $5,3 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$, er fiel bis Woche 3 auf $2,3 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ ab. Die restliche Expositionszeit ist geprägt von einem sich anschließenden Anstieg der Werte bis zur Woche 19 und einem darauffolgenden Rückgang bis zum Ende des Experiments. In Woche 19 wurden $4,2 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ gemessen, und in Woche 31 waren die Phospholipidwerte auf $2,3 \mu\text{mol (g TG)}^{-1}$ zurückgegangen.

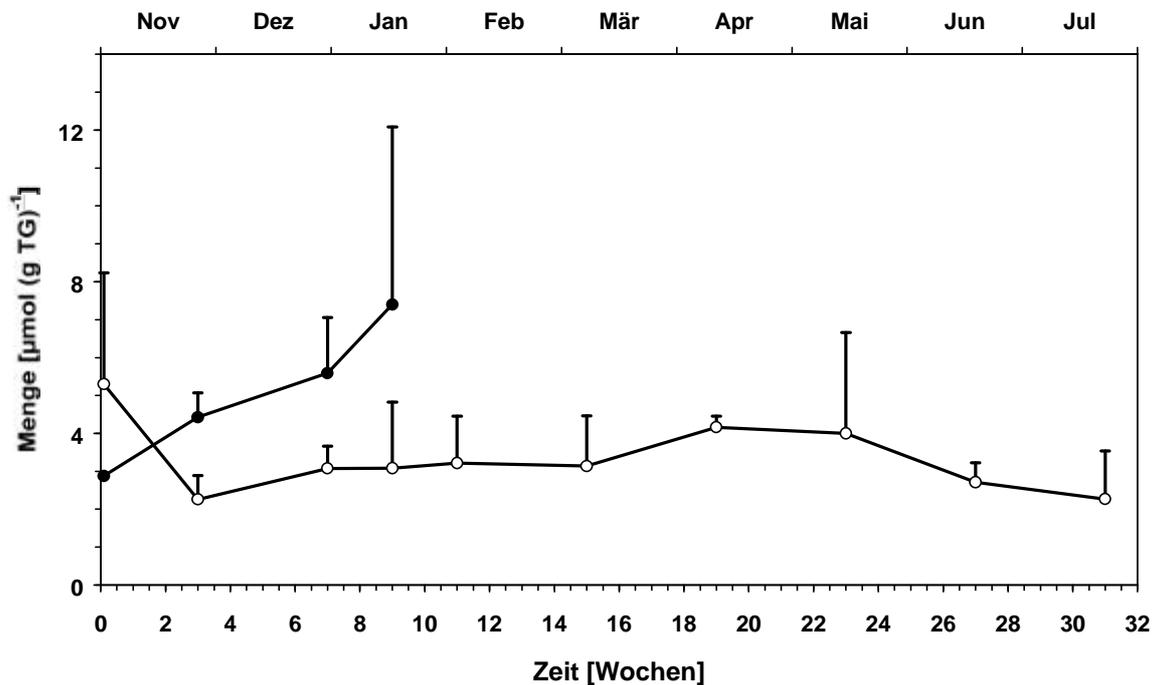


Abbildung 19: Phospholipidgehalt der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●), bezogen auf Trockengewicht, im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

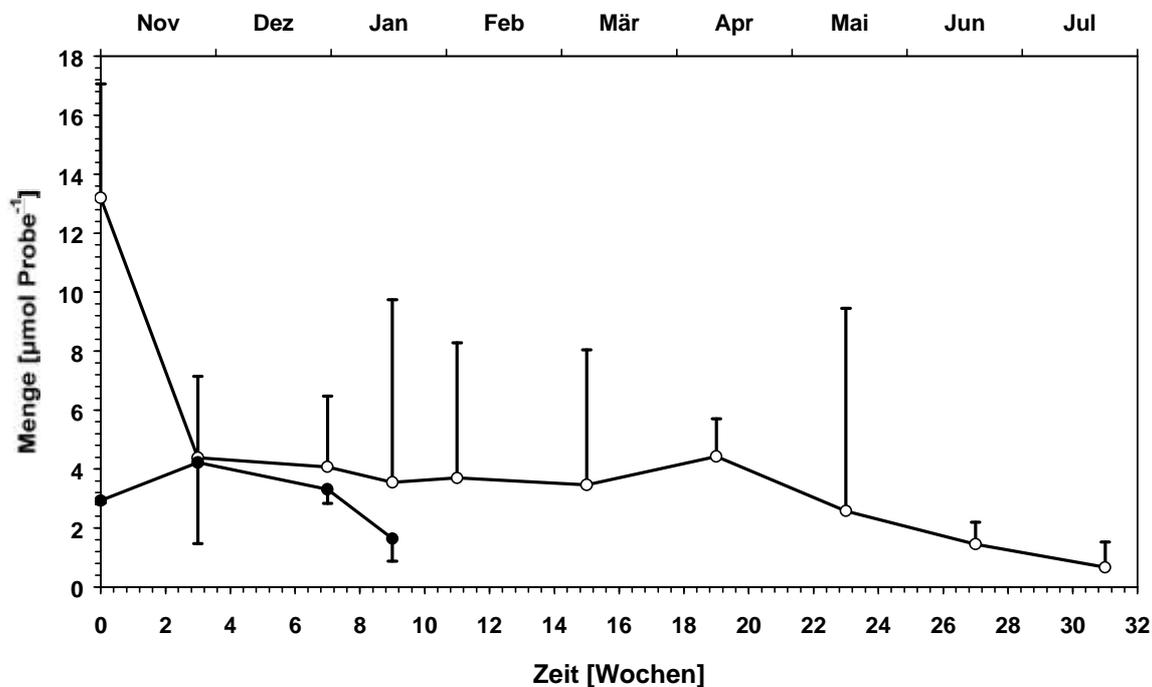


Abbildung 20: Phospholipidgehalt der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●), bezogen auf 1 Probe im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

Die absoluten Phospholipidgehalte sind in Abbildung 20 dargestellt. Bei Erlenlaub nahm der Gehalt an Phospholipiden pro Probe bis zur Woche 3 leicht von 2,9 auf 4,2 $\mu\text{mol Probe}^{-1}$ zu und anschließend wieder ab. Zur letzten Probennahme (Woche 9) betrug die Phospholipidmenge 1,6 $\mu\text{mol Probe}^{-1}$. Bei Buchenlaub war die Zeit bis Woche 3 von einem starken Abfall der Phospholipidmenge gekennzeichnet. Zwischen den Wochen 3 und 19 blieb der Phospholipidgehalt auf einem Niveau um 4 $\mu\text{mol Probe}^{-1}$, danach sank er bis Woche 31 kontinuierlich auf 0,7 $\mu\text{mol Probe}^{-1}$ ab.

4.6 Ergosterolgehalt

4.6.1 Holz

Ergosterol wurde zum ersten Mal nach 4 Wochen Inkubationszeit nachgewiesen, und zwar mit einer Menge von 3,0 $\mu\text{g (g TG)}^{-1}$ bei Buche und 2,3 $\mu\text{g (g TG)}^{-1}$ bei Erle (Abbildung 21). Über den gesamten Inkubationszeitraum war ein Trend der Zunahme an Ergosterol festzustellen, abgesehen von einem einmaligen Einbruch der Werte in Woche 53. Dies war vermutlich meßtechnisch bedingt, daher bleiben diese beiden Werte für die weitere Betrachtung außer acht (siehe Ergebnisdiskussion, Ergosterolgehalt). Der Trend der Ergosterolzunahme mit der Zeit war sowohl bei Erle als auch bei Buche feststellbar, wobei für die Erle höhere Mengen pro Gramm Trockengewicht gemessen wurden. Als Maximalwert wurden für Erle in Woche 58 70,3 $\mu\text{g Ergosterol (g TG)}^{-1}$ gemessen, für Buche lag das Maximum mit 60,1 $\mu\text{g (g TG)}^{-1}$ am letzten Beprobungstermin in Woche 66. Die Betrachtung der absoluten Ergosterolmenge (Ergosterol pro Holzklötz) ergibt ein anderes Bild (Abbildung 22). Generell war auf Buchenholz mehr Ergosterol nachzuweisen als auf Erle. Die Ergosterolmenge bei Buchenholz stieg zügig an und erreichte in Beprobungswoche 36 einen Maximalwert mit 18 $\mu\text{g/Klotz}$. Ab hier bis zum Versuchsende nahm die Menge wieder ab. Zum letzten Probenentwurf in Woche 66 wurden noch 13,5 $\mu\text{g/Klotz}$ bestimmt. Bei Erlenholz nahm der Ergosterolgehalt bis zur Woche 32 auf ein Maximum von 13,6 $\mu\text{g/Klotz}$ zu. Ab diesem Zeitpunkt sank die Menge wieder stetig ab, in Woche 66 waren pro Erlenholzklötz noch 3,7 $\mu\text{g/Klotz}$ Ergosterol nachzuweisen. Der Gesamtverlauf ist demnach zu unterteilen in zwei ungefähr gleichlange Abschnitte. Während der ersten 32 Wochen nahm die Besiedlung durch aquatische Pilze auf dem Holz zu, danach nahm die Menge der Pilze wieder ab.

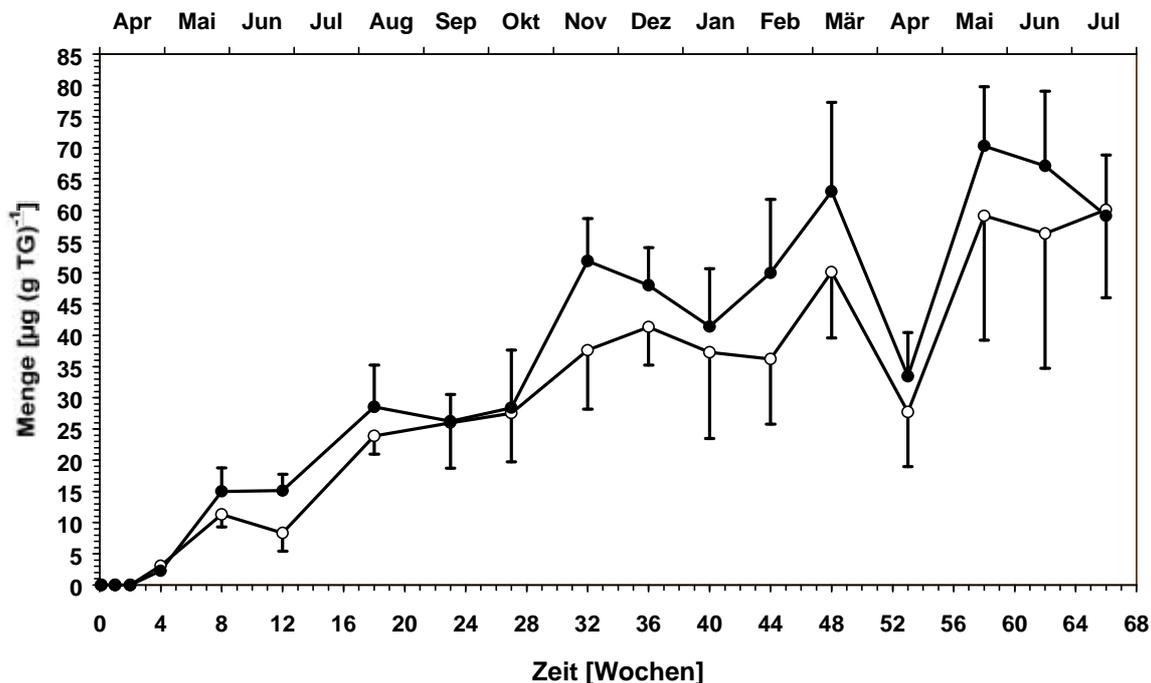


Abbildung 21: Ergosterolgehalt der Holzproben (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf Trockenmasse, im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

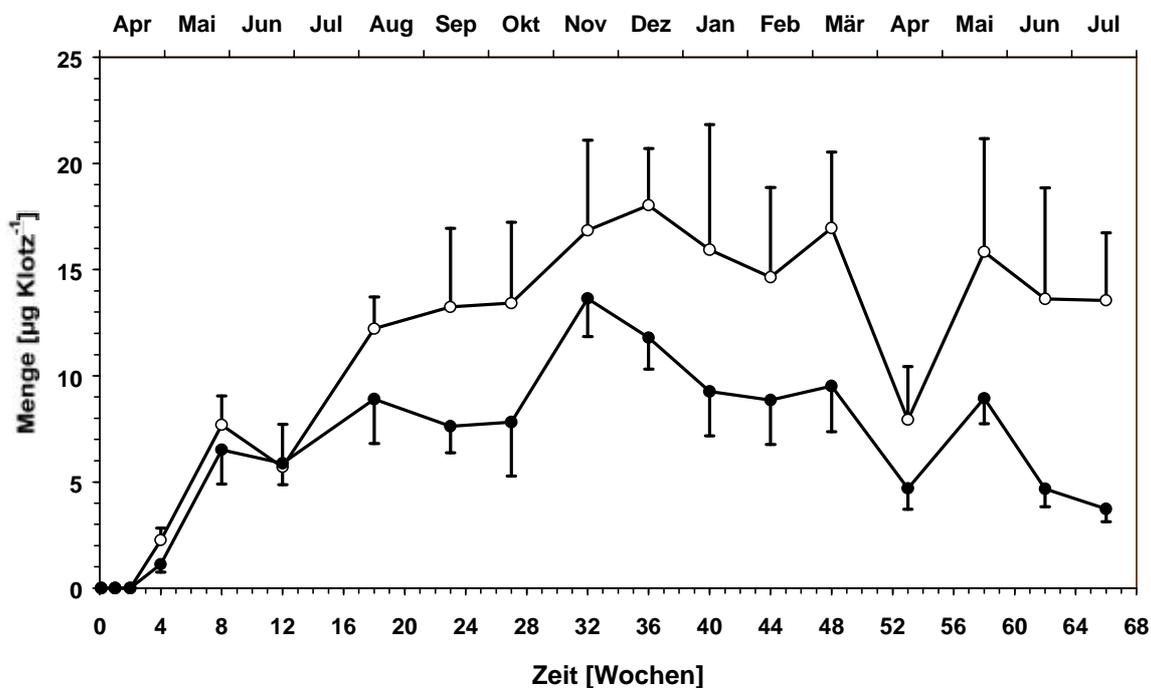


Abbildung 22: Ergosterolgehalt der Holzproben, (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf 1 Klotz, im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

4.6.2 Blätter

Die Abbildung 23 zeigt die Ergosterolmenge, bezogen auf die Trockenmasse. Mit $3,6 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ bei Erlenlaub und einem recht hohen Wert von $20,5 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ bei Buchenlaub war auch am ersten Probestern im November 1997 Ergosterol vorhanden. Während der 9 Inkubationswochen bei Erlenlaub nahm die Besiedlung durch Pilze auf und in den Erlenblättern ständig zu. Zum letzten Probestern in Woche 9 wurden $45,1 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ bestimmt. Bei Buche ist der Verlauf der auf Trockengewicht bezogenen Pilzbiomasse geteilt in einen Abschnitt der Ergosterolzunahme und den sich anschließenden Teil des Rückganges von Ergosterol. Der erste Zeitraum dauerte 7 Wochen, zu dessen Ende wurde mit $53,1 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ die höchste Menge an Ergosterol bestimmt. Anschließend nahm die Pilzbiomasse wieder ab, zum Ende der Inkubationsperiode wurden in Woche 31 $15,2 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ gemessen.

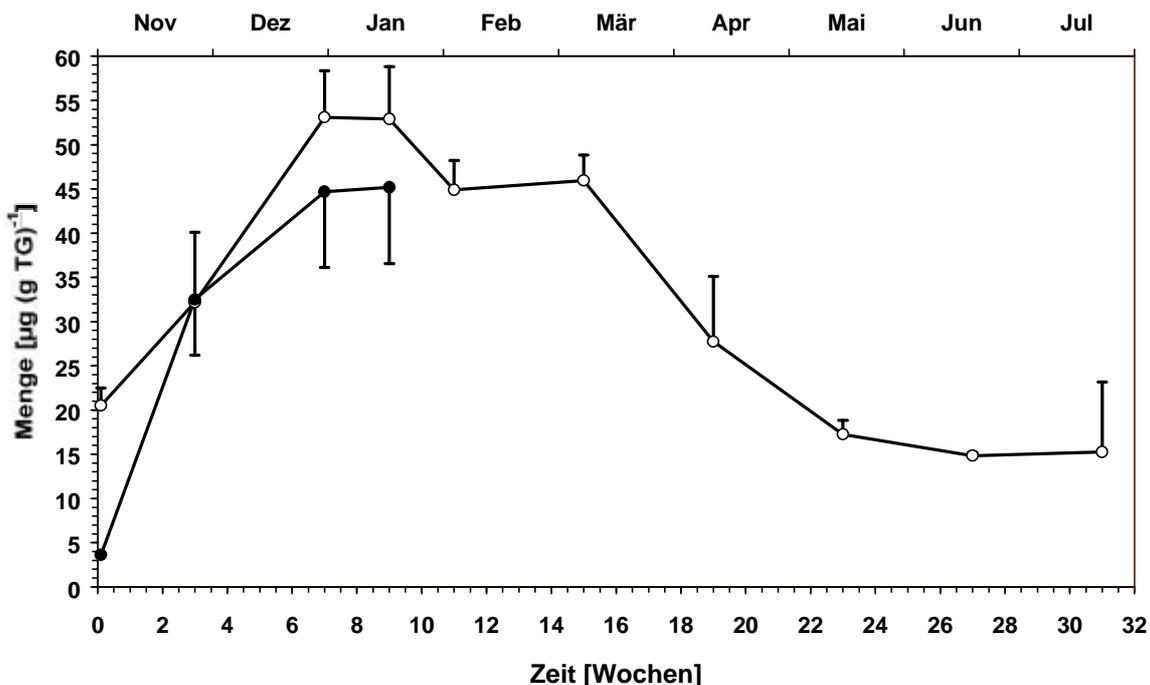


Abbildung 23: Ergosterolgehalt der Blattproben (Buche: O, Erle: ●), bezogen auf Trockenmasse, im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils n=5).

Parallel dazu zeigt Abbildung 24 die absolute Pilzbiomasse. Für Buchenlaub ähnelt diese Kurve dem Ergosterolverlauf, bezogen auf das Trockengewicht. Während der ersten 7 Wochen stieg der Ergosterolgehalt an, in Woche 7 lag das Maximum bei $70 \mu\text{g Blattprobe}^{-1}$. Während der restlichen Zeit bis zu Expositionsende in Woche 31 nahm die Pilzbiomasse wieder ab, zu diesem Zeitpunkt wurde mit $4,5 \mu\text{g Blattprobe}^{-1}$ der niedrigste Wert gemessen. Bei Erle nahm die Ergosterolmenge vom Versuchsbeginn mit $3,7 \mu\text{g Blattprobe}^{-1}$ nur bis zu Woche 3 zu, in der $31 \mu\text{g}$

Blattprobe⁻¹ bestimmt wurden. Im Anschluß daran sank die Ergosterolmenge wieder auf 10 µg Blattprobe⁻¹ ab. Bei beiden Laubarten ist die Inkubation geprägt von einer Phase der Zunahme an Pilzbiomasse mit sich anschließendem Rückgang der Besiedlung.

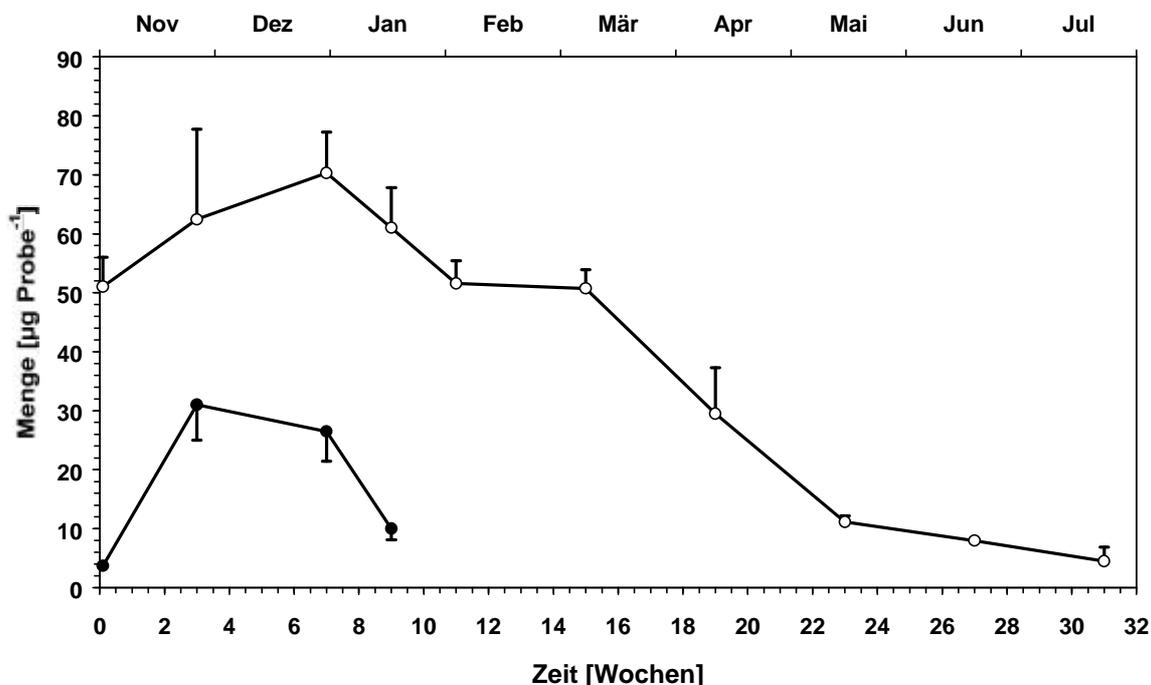


Abbildung 24: Ergosterolgehalt der Blattproben, (Buche: ○, Erle: ●), bezogen auf 1 Probe, im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils n=5).

4.7 Enzymaktivitäten

4.7.1 Holz

4.7.1.1 Cellulolytische Enzyme

4.7.1.1.1 β-Glucosidase

Die Abbildungen 25 und 26 zeigen den Verlauf der β-Glucosidase-Aktivität für die Holzproben. Zu Versuchsbeginn im April 1997 war keine Aktivität nachweisbar. Bereits nach einer Woche Inkubationszeit konnte jedoch auf den Holzklötzen Aktivität gemessen werden, und zwar für Buchenholz ein Substratumsatz von 1,3 µmol h⁻¹ (g TG)⁻¹ und für Erle von 3,8 µmol h⁻¹ (g TG)⁻¹. Bis zu Woche 8 stiegen die Aktivitäten an, hier wurden für Buche 271 µmol h⁻¹ (g TG)⁻¹ und für Erle 431 µmol h⁻¹ (g TG)⁻¹ bestimmt. Bis zur Woche 23 bewegten sich die Aktivitätswerte

für beide Holzarten auf ähnlichem Niveau. In Woche 27 wurde ein Rückgang auf $115 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ für beide Holzarten detektiert. In den darauffolgenden Wochen ergaben sich für beide Holzarten ungerichtete Schwankungen der Werte. Ab Woche 48 für Erle und Woche 53 bei Buche stiegen die Aktivitäten auf ein Maximum an: In Woche 62 wurden für Erlenholz $2036 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und für Buchenholz $889 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ gemessen. Am letzten Beprobungstermin im Juli 1998 lagen die Meßwerte wieder niedriger, Erle zeigte aber eine gegenüber dem vorangehenden Zeitraum immer noch erheblich erhöhte Aktivität.

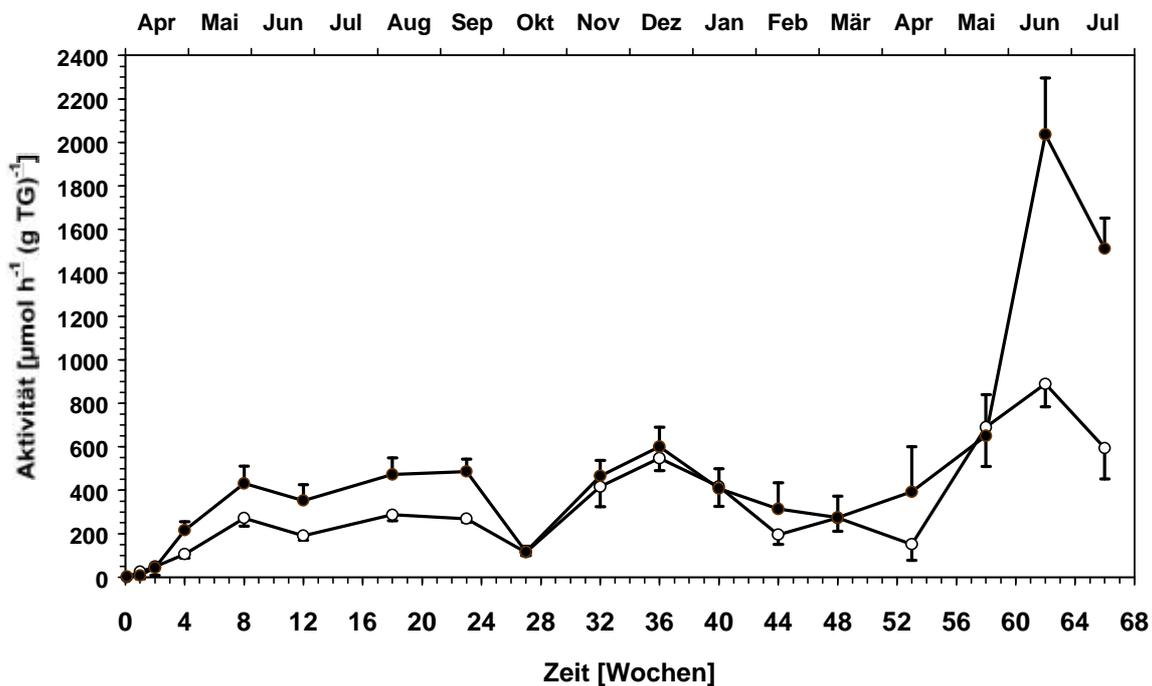


Abbildung 25: β -Glucosidaseaktivität der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils $n=20$).

Die absoluten β -Glucosidase-Aktivitäten pro Holzklötz zeigen einen unterschiedlichen Verlauf im Vergleich mit der Aktivität bezogen auf die Holz trockenmasse. Während der ersten 28 Inkubationswochen waren die Meßwerte für Buche und Erle fast identisch. Ab diesem Zeitpunkt zeigte Buche bis auf eine Ausnahme in Woche 53 stets höhere Glucosidaseaktivitäten als Erle und auch eine größere Variabilität. Der Maximalwert der Enzymaktivität wurde für Buche in Woche 36 mit $238 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$, für Erle in Woche 8 mit $187 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$ gemessen.

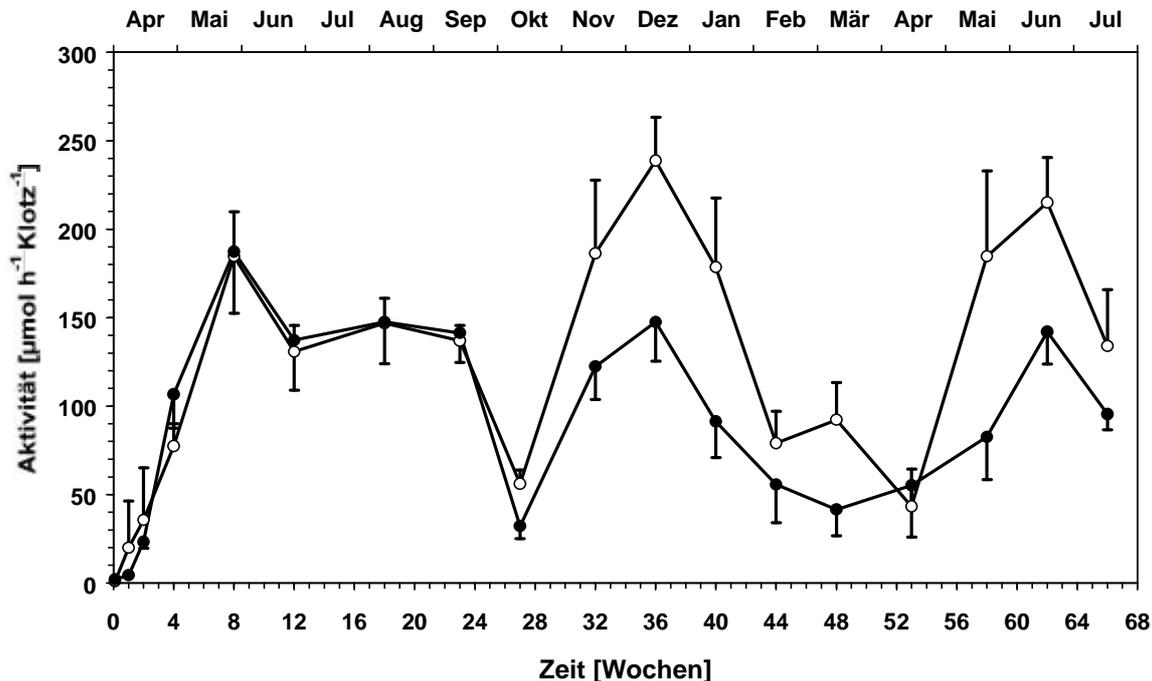


Abbildung 26: β -Glucosidaseaktivität ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$) der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils $n=20$).

4.7.1.1.2 β -Xylosidase

Die Aktivität der β -Xylosidase (Abbildung 27) konnte ebenfalls wie die der β -Glucosidase nach einer Woche Expositionszeit zum ersten Mal nachgewiesen werden, und zwar für Buche mit einer Substratumsatzrate von $3,8 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Auf Erlenholz war die Aktivität nach zwei Wochen Inkubation mit $3,4 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ bestimmbar. Die Aktivitäten dieses Enzyms lagen ungefähr um den Faktor 7 niedriger als die der Glucosidase. Bis auf wenige Ausnahmen ähnelte der Aktivitätsverlauf dem der Glucosidase. Zunächst stiegen die Aktivitäten an und hielten sich auf einem Niveau um $50 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. In Woche 27 wurden wieder niedrigere Werte ($18 - 27 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$) gemessen. Auffallend war ein kurzfristiges Maximum in Woche 32 mit sehr hoher β -Xylosidaseaktivität von $210 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ für Buche und $245 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ für Erle. Im Anschluß daran sanken die Aktivitäten bis zur 53. Inkubationswoche und erreichten einen ähnlichen Wert wie in Woche 27. Gegen Ende der Expositionszeit wurde für Erlenholz ein Maximum mit $275 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ in Woche 62 bestimmt, danach sank die Aktivität stark ab. Die Messwerte bei Buchenholz bewegten sich innerhalb der in der vorausgegangenen Zeit bestimmten Aktivitätsbereiche.

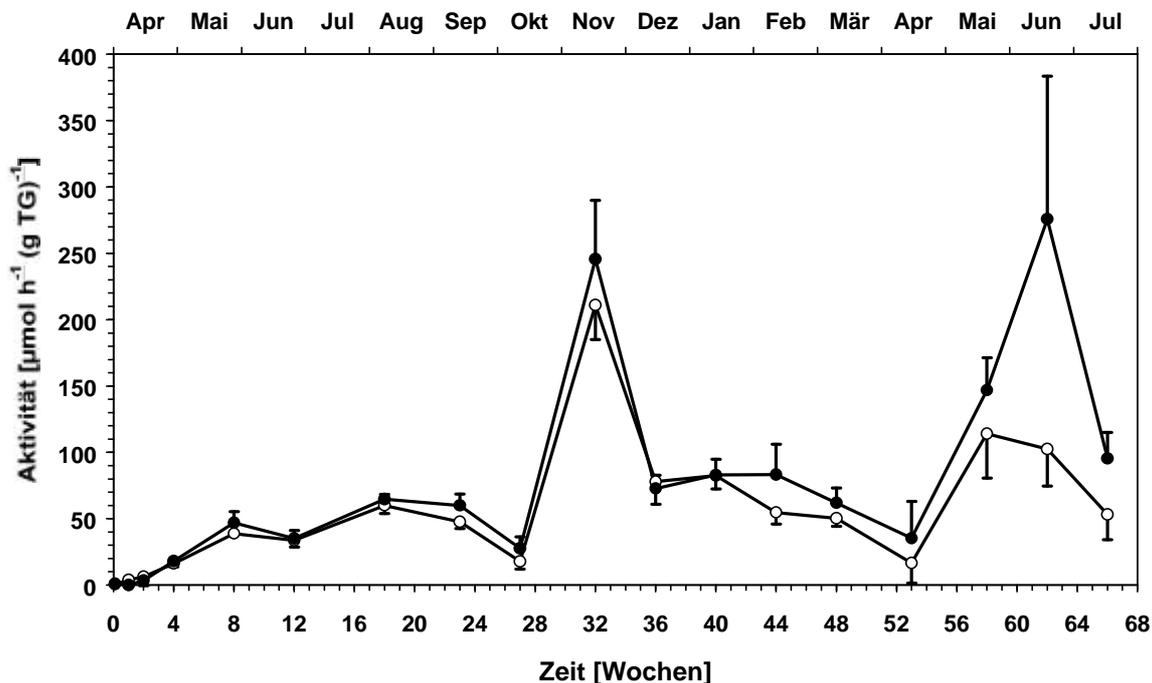


Abbildung 27: β -Xylosidaseaktivität der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils $n=20$).

Die Abbildung 28 zeigt die absoluten Meßergebnisse der β -Xylosidaseaktivität. Für Buchenholz wurden zu jedem Beprobungstermin höhere Aktivitäten bestimmt als für Erlenholz. Der Verlauf der Meßwerte ähnelt dem der Aktivität, bezogen auf die Trockenmasse (Abbildung 27). Auffallend war auch hier wieder der hohe Extremwert in Woche 32, sowohl für Buche als auch für Erle. In den Wochen 27 und 53 wurden sehr niedrige Aktivitäten gemessen. Ließe man das Wertepaar der Woche 32 außer acht (Abschnitt Ergebnisdiskussion, cellulolytische Enzyme, Holz), so ergäben sich permanente Schwankungen der Aktivität ohne besondere Extrema. Ein genereller Trend war über den gesamten Zeitraum nicht festzustellen.

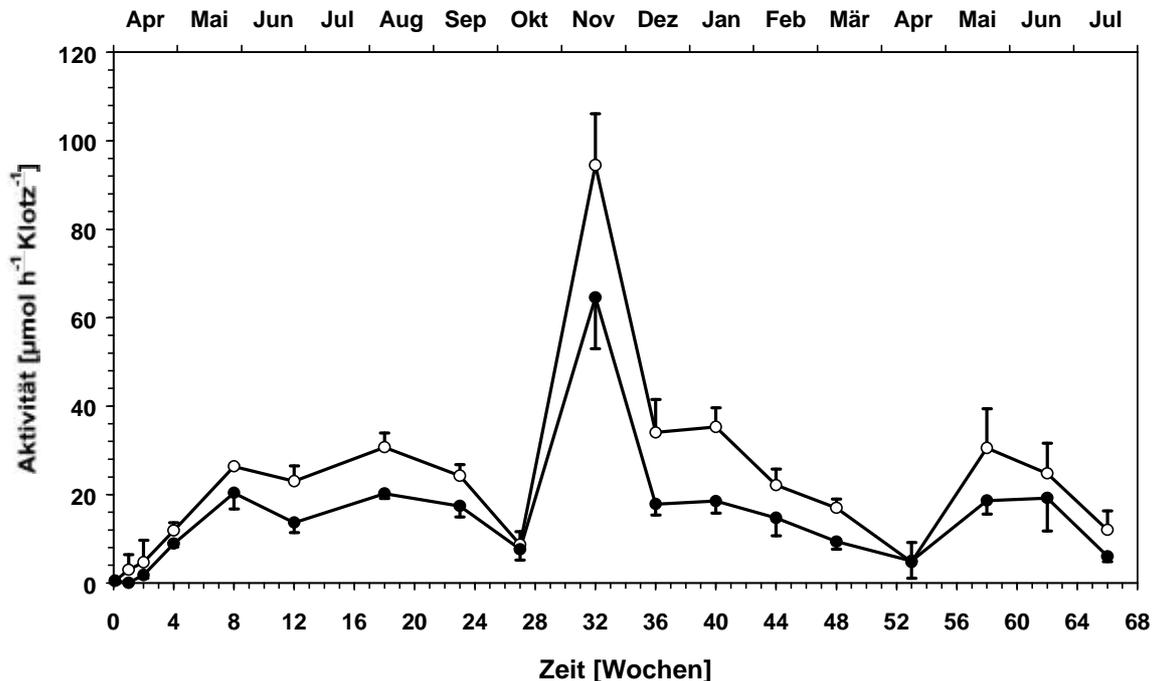


Abbildung 28: β -Xylosidaseaktivität ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$) der Holzproben (Buche: \circ , Erle: \bullet) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils $n=20$).

4.7.1.1.3 Cellobiohydrolase

Cellobiohydrolase war sowohl bei Buche als auch bei Erle erstmalig nach 2 Wochen Inkubation mit niedrigen Aktivitäten nachzuweisen, Buche mit $1,2 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und Erle mit $2,1 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ (Abbildung 29). Bis auf eine Ausnahme in Woche 4 war stets für Erle eine höhere Aktivität als für Buche meßbar. Ein Trend der Zunahme der enzymatischen Aktivität war mit einigen Schwankungen bis zu Woche 44 feststellbar, als für Buche $57 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und für Erle $99 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ gemessen wurden. Hierauf erfolgte ein starker Rückgang der Werte bis zu Woche 53. Buchenholz hatte hier eine Cellobiohydrolaseaktivität nahe dem Wert zu Beginn des Experiments von $5,8 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$, Erlenholz lag mit einem Wert von $30,1 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ deutlich höher. Im Anschluß daran erfolgte ein steiler Anstieg bis Woche 62, hier wurden die höchsten Cellobiohydrolaseaktivitäten des gesamten Probenzeitraumes gemessen: Buche erreichte einen Wert von $74,3 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$, Erle von $141 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Zur letzten Probennahme in Woche 66 war die Enzymaktivität wieder deutlich abgesunken, hier wurden für Buche $13,6 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und für Erle $23,8 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ bestimmt. Insgesamt läßt sich der Verlauf der Enzymaktivität in einen Aufwärtstrend vom Versuchsstart bis zu Woche 44 und einen Abschnitt ungerichteter Schwankungen nach Woche 44 unterteilen. Die Aktivitäten liegen deutlich unten den Werten, die für Xylosidase und für Glucosidase bestimmt

wurden. Dies gilt auch für die absoluten Werte der Cellobiohydrolase (Abbildung 30).

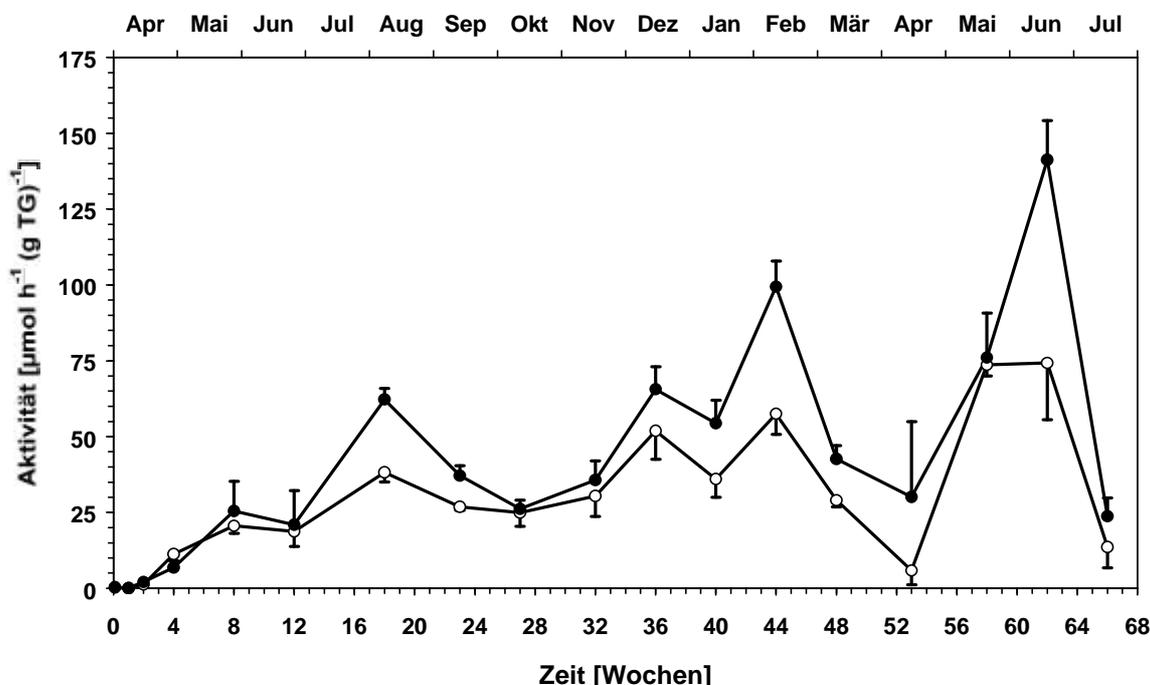


Abbildung 29: Cellobiohydrolaseaktivität der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils n=20).

Wie bei den anderen cellulolytischen Enzymen auch war die absolute Aktivität pro Klotz für Buche bis auf eine Ausnahme in Probenwoche 53 stets höher als die der Erle. Nach dem ersten Nachweis der Cellobiohydrolaseaktivität nach 2 Wochen Inkubation stiegen die Werte sowohl für Buche als auch für Erle bis nahe $20 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$ an. Daran schloß sich eine Phase ständiger Schwankungen der Aktivitäten an. In Woche 44 wurde für Buche ein Maximalwert mit $22,6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$ gemessen. Erle erreichte eine Aktivität von $16,1 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$, dieser Wert lag unter dem Maximalwert für diese Holzart in Woche 18. Im Anschluß daran ging die Aktivität für beide Holzarten bis zur Probenwoche 53 stark zurück, hier wurden für Buche $1,7 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$ und für Erle $4,2 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$ bestimmt. Die letzten 16 Wochen der Exposition sind sowohl für Buche als auch für Erle geprägt durch einen Anstieg und einen sich daran anschließenden Abfall auf ein niedriges Niveau. Dieser Anstieg war für Buche deutlich größer als für Erle. Ein genereller Trend im Verlauf der Enzymaktivität wurde nicht gefunden.

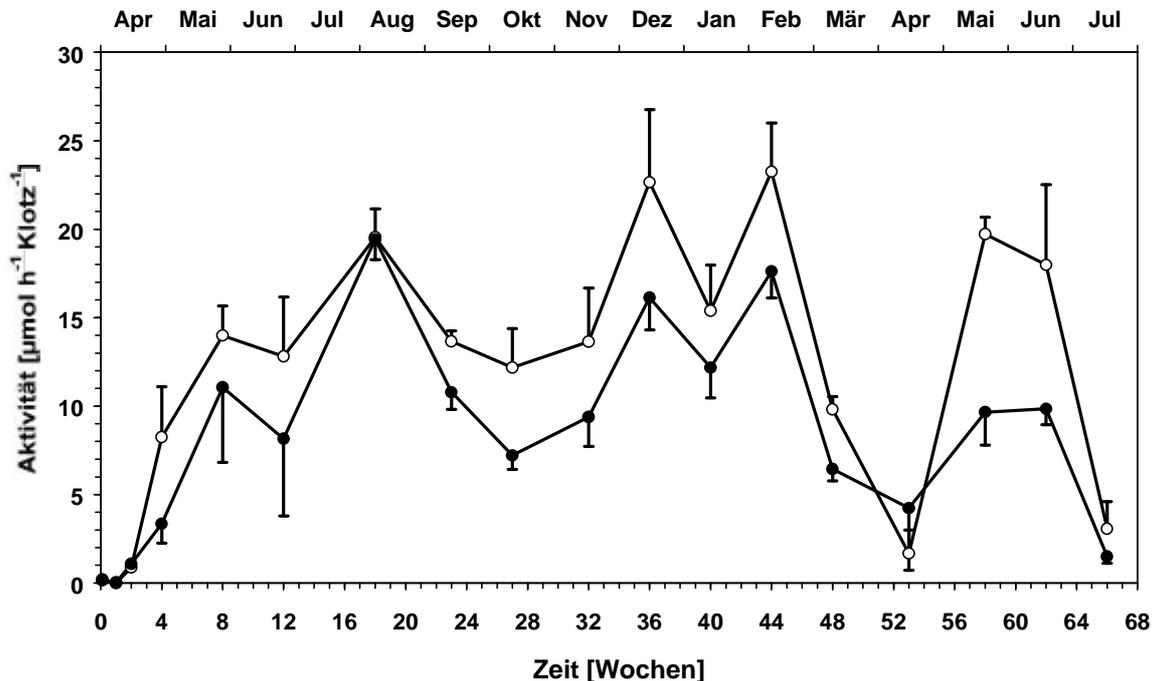


Abbildung 30: Cellobiohydrolaseaktivität ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{Klotz}^{-1}$) der Holzproben (Buche: O, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98. (jeweils $n=20$)

4.7.1.1.4 Endocellulase

Die Aktivität der Endocellulase (Abbildung 31) war zum ersten Mal bereits nach einer Woche Inkubation feststellbar. Während des ganzen Expositionszeitraumes hatte Erlenholz stets höhere Aktivitäten als Buchenholz. Beginnend mit Aktivitäten von $43 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$ bei Buche und $61 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$ (IEU = International Enzyme Units) bei Erle war eine nahezu stetige Aktivitätszunahme über die 66 Inkubationswochen festzustellen. Ausnahmen bildeten Erlenholz in Woche 27 mit einem Rückgang sowie Buchenholz zwischen den Wochen 32 und 44 mit einem kleinen Zwischenmaximum. In Woche 62 wurden die höchsten Aktivitäten für beide Holzarten gemessen. Sie lagen für Buche bei $169 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$ und für Erle bei $558 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$. Zur letzten Probenahme in Woche 66 lagen die Werte wieder niedriger, dennoch zeigt sich ein genereller Aufwärtstrend vom Versuchsstart bis zum Beprobungsende. Die absoluten Werte, auf deren Darstellung verzichtet wird, bewegten sich zwischen $12,1$ und $26,5 \text{ IEU}$ bei Buche sowie $10,5$ und $14,6 \text{ IEU}$ bei Erle, ohne große Schwankungen.

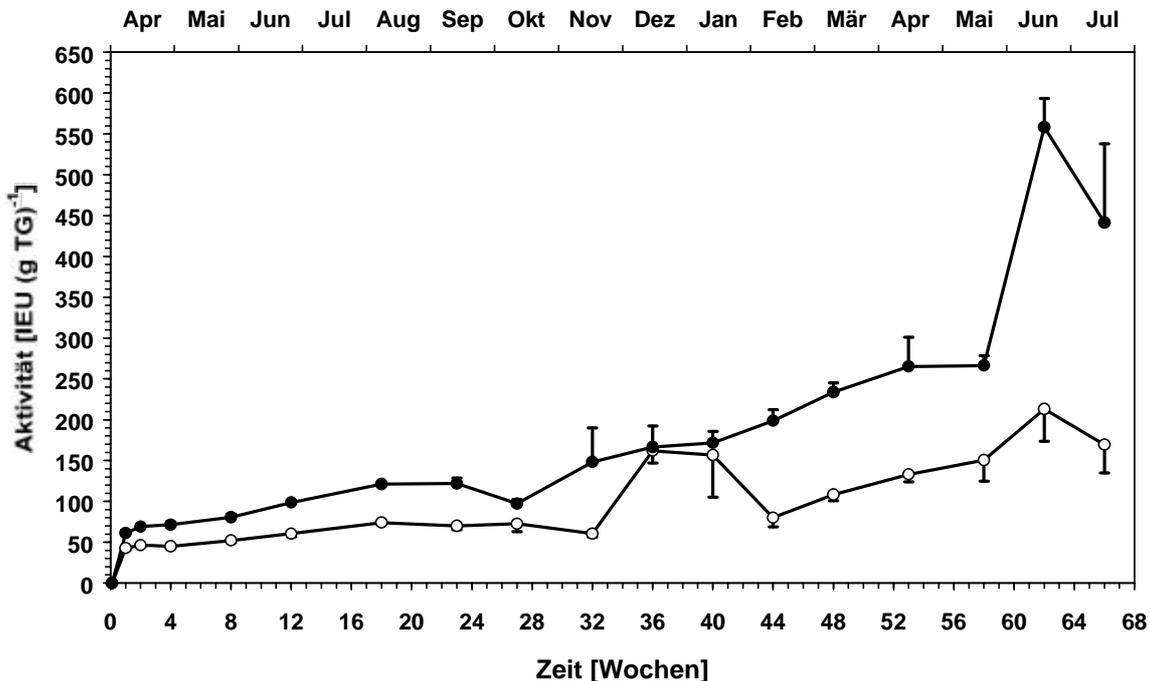


Abbildung 31: Endocellulaseaktivität (IEU (g TG)⁻¹) der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

4.7.1.2 Ligninolytische Enzyme

4.7.1.2.1 Phenoloxidase

Den Verlauf der Phenoloxidaseaktivität zeigt die Abbildung 32. Bereits nach einer Woche konnte die Aktivität dieses Enzyms bestimmt werden. Die Aktivität bei beiden Holzarten ist gekennzeichnet durch einen steilen Anstieg auf ein Maximum mit sich anschließendem Abfall bis auf Werte von fast Null am Ende des Experiments. Für Buche nahm in den ersten Wochen die Aktivität sehr viel stärker zu als für Erle. Nach 4 Wochen Expositionsdauer erreichte die Buche einen Maximalwert von $7,0 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Ab hier gingen die Werte über die gesamte Dauer des Experiments langsam wieder zurück und erreichten nach 66 Wochen Werte nahe Null. Die Aktivität bei Erle stieg langsamer und auch nicht so hoch an, sie erreichte nach 12 Wochen einen ersten Höhepunkt mit einer Aktivität von $4,7 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Nach einem 11-wöchigen Rückgang auf einen Wert von $3,22 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ in Woche 23 stiegen die Meßwerte erneut an und erreichten in Woche 36 eine maximale Aktivität von $5,1 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Ab hier gingen die Werte deutlich zurück und lagen am Ende des Experiments bei ungefähr $0,5 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Zu Beginn des Experiments hatte stets die Buche die höheren Aktivitäten aufzuweisen, ab Woche 27 hingegen zeigte die Erle bis zum Ende nach

66 Wochen die höheren Meßwerte. Die nicht gezeigte absolute Aktivität der Phenoloxidase lag bei Buchenholz zwischen 0 und $4,3 \mu\text{mol Klotz}^{-1}$ und für Erle niedriger mit Werten zwischen 0 und $2,1 \mu\text{mol Klotz}^{-1}$.

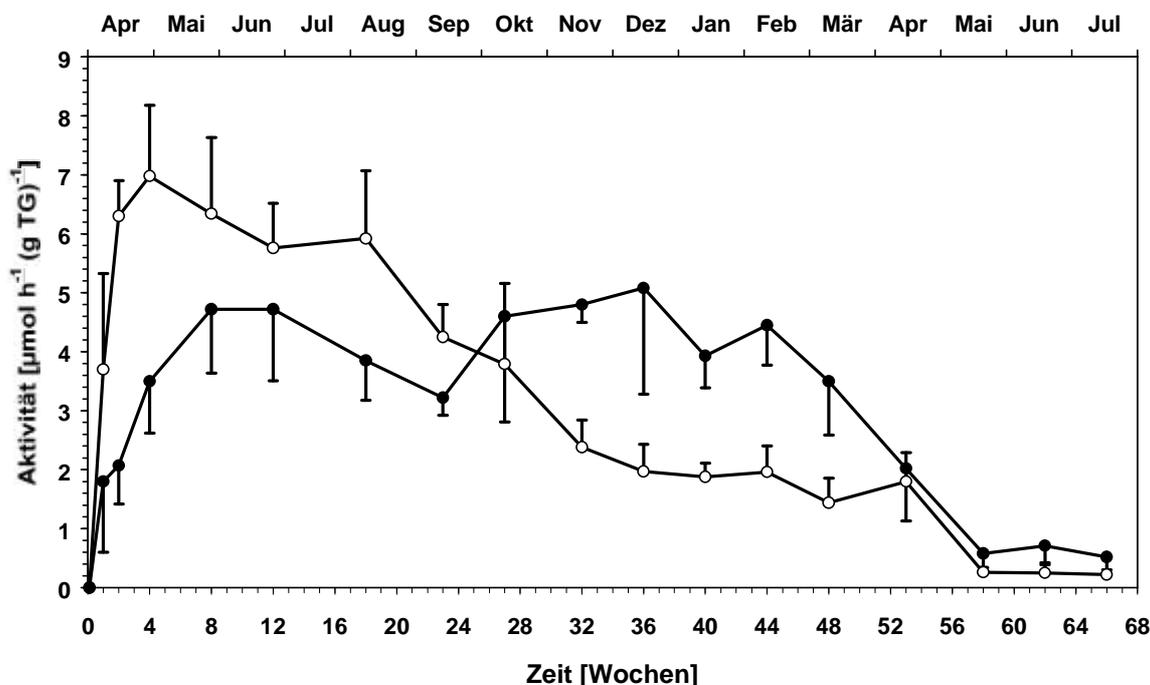


Abbildung 32: Phenoloxidaseaktivität der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

4.7.1.2.2 Peroxidase

Die Peroxidase war bei Erle nach 7 Tagen Expositionszeit und bei Buche erst nach 8 Wochen zum ersten Mal bestimmbar (Abbildung 33). Wie auch bei Phenoloxidase erreichten die Aktivitäten schnell ein Maximum und fielen von dort aus wieder ab. Der höchste Wert wurde für Erlenholz bereits nach 8 Wochen mit $15,2 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ bestimmt. Danach gingen die Aktivitäten wieder schnell zurück, schwankten zwischen Woche 27 und 52 um $2 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und fielen danach unter $1 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ bis Woche 66 ab. Buche erreichte ihr Maximum mit $5,8 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ erst in Woche 18. Danach waren auch ein Rückgang der Aktivitäten und ein Schwanken um einen Wert von $1,5 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ festzustellen. Zwischen Woche 58 und 66 lag die Aktivität nahe Null. Der Vergleich der Verlaufskurven der Peroxidase und der Phenoloxidase läßt Parallelen erkennen. Beide Enzyme erreichten schnell ein Maximum und fielen ab diesem Zeitpunkt wieder in ihren Aktivitäten ab. Am Ende des Experiments waren diese nahe Null. Insgesamt waren bei Peroxidase höhere Aktivitäten zu verzeichnen als bei Phenoloxidase. Für Peroxidase erreichte die Erle schneller den höchsten

Meßwert, für Phenoloxidase die Buche. Die absoluten Aktivitätsmeßwerte, die nicht dargestellt sind, schwankten bei Buchenholz zwischen 0 und $3,6 \mu\text{mol Klotz}^{-1}$ und bei Erlenholz zwischen 0 und $6,6 \mu\text{mol Klotz}^{-1}$. Der Verlauf ähnelt dem der auf Trockengewicht bezogenen Proben.

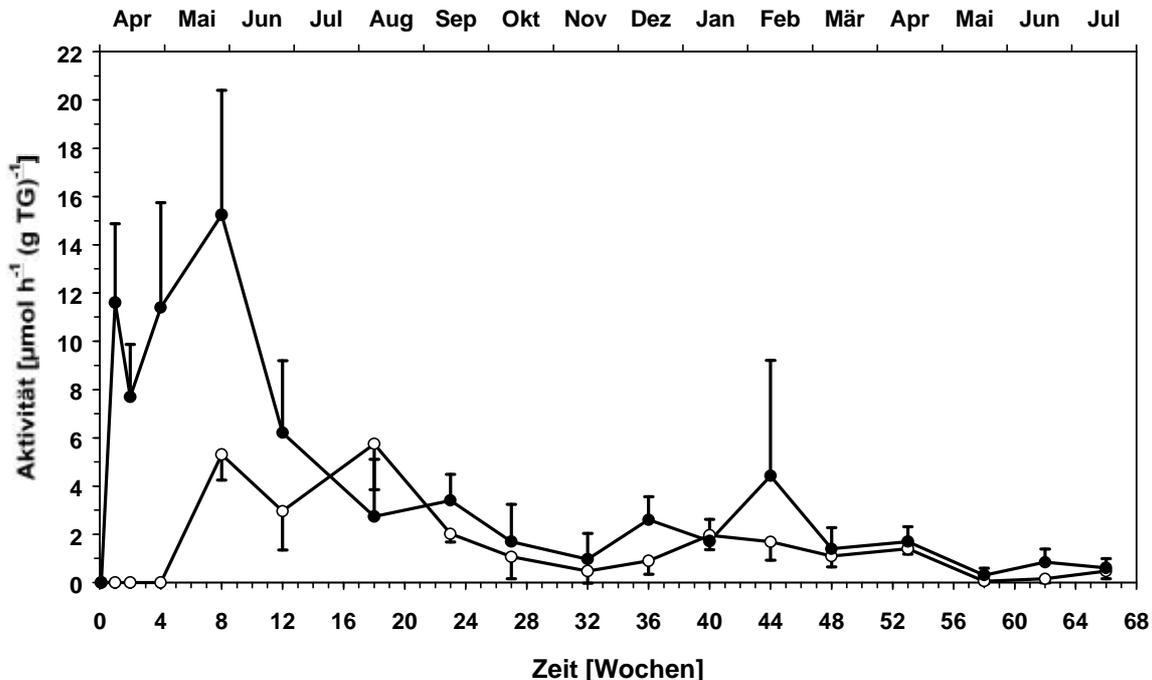


Abbildung 33: Peroxidaseaktivität der Holzproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum April 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

4.7.2 Blätter

4.7.2.1 Cellulolytische Enzyme

4.7.2.1.1 β-Glucosidase

Bereits zu Beginn des Experiments war β-Glucosidaseaktivität nachweisbar, bei Buche eine Aktivität von $102 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und bei Erle von $115 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ (Abbildung 34). Bei der Erle erfolgte ein starker Anstieg auf nahezu $3000 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ in Woche 3. Bis zur Woche 7 war ein nicht signifikanter Rückgang festzustellen, und am letzten Versuchstag nach 9 Wochen wurde die höchste Aktivität mit $4270 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ gemessen. An diesem Versuchstag war die Streuung der Einzelmeßwerte sehr groß. Buche erreichte in Woche 9 ein temporäres Maximum bei $2100 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Von hier ab fielen die Werte bis zur Woche 19 auf $680 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$, ab hier stiegen sie auf einen

der Woche 9 vergleichbaren Wert wieder an. Generell bewegten sich die enzymatischen Aktivitäten für Buche auf deutlich niedrigerem Niveau als für Erle. Die große Streuung der Einzelmeßwerte am Ende der Expositionszeit für jede Blattart ist damit zu begründen, daß in einigen Inkubationsflaschen nur noch sehr wenig, in anderen kein Blattmaterial mehr vorhanden war.

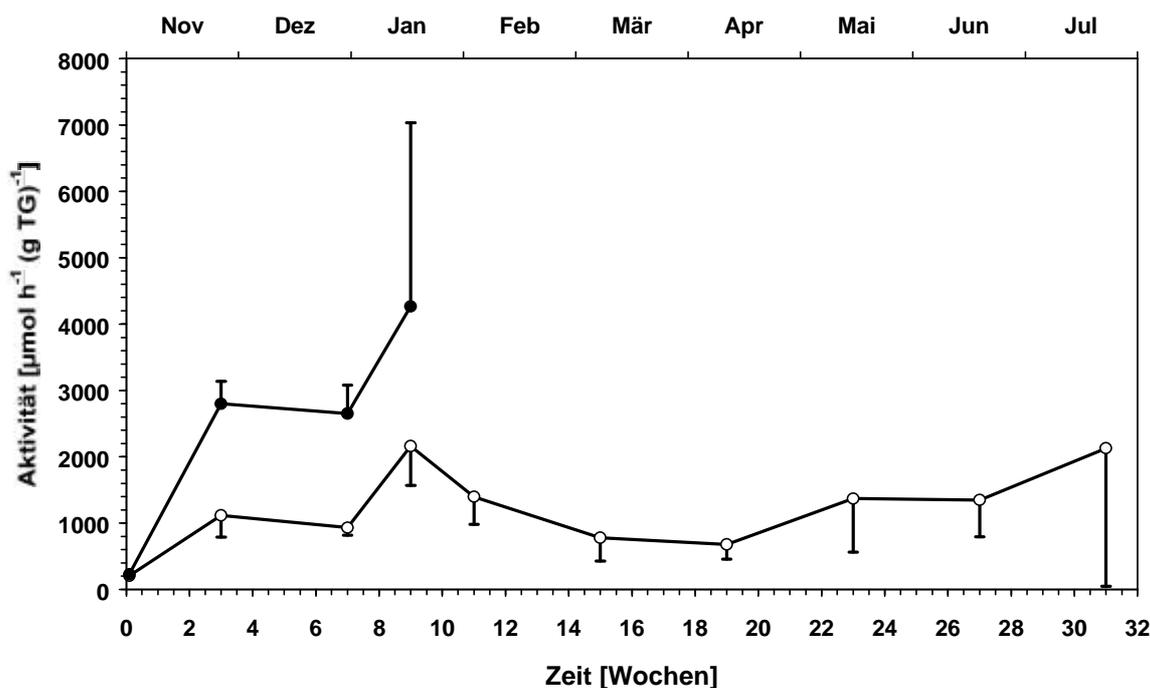


Abbildung 34: β -Glucosidaseaktivität der Blattproben (Buche: O, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils $n=5$).

Die absoluten Meßwerte sind in Abbildung 35 dargestellt. Zu Beginn lag die Aktivität bei $510 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Buche und $234 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Erle. Innerhalb der ersten drei Wochen erfolgte ein starker Anstieg auf $2168 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Buche und $2670 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Erle. Die Aktivität für Erlenlaub ging dann kontinuierlich zurück, in Woche 9 wurde eine Aktivität von $946 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ gemessen. Bei der Buche nahm die Aktivität in Woche 7 ab und stieg darauf auf den Maximalwert von $2492 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ in Woche 9 an. Ab diesem Zeitpunkt nahmen die Aktivitäten bis Woche 15 ab und schwankten daraufhin bis Woche 31 um einen Wert von $700 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$.

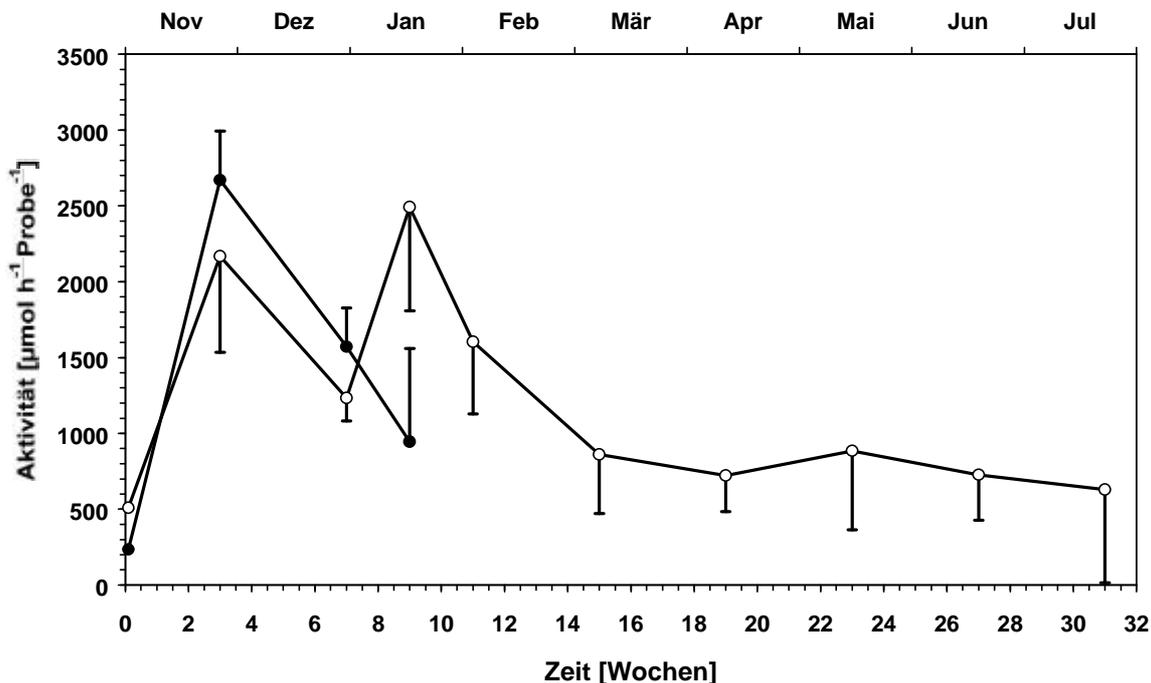


Abbildung 35: β -Glucosidaseaktivität ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$) der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils $n=5$).

4.7.2.1.2 β -Xylosidase

Die Aktivitäten der β -Xylosidase lagen etwa um den Faktor 10 unter denen der β -Glucosidase. Beim Aussetzen der Proben wurden für Buche $19 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und für Erle $37 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ gemessen (Abbildung 36). Für Erle stieg die Aktivität stark bis zu einem Maximum in Woche 7 mit $752 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ an, daraufhin sanken sie bis Woche 9 auf $415 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Die Enzymaktivität für Buchenlaub war viel geringer als die für Erle. Die Werte stiegen bis zur Woche 9 auf $270 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ an, sanken bis Woche 15 auf $123 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ ab und stiegen dann auf einen maximalen Wert von $323 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ in Woche 23. Die Messungen in den Wochen 27 und 31 zeigten wieder niedrigere Werte. Für den gesamten Probenzeitraum von 31 Wochen ließ sich nach erfolgtem Anstieg zu Beginn der Exposition ein Schwanken der Enzymaktivitäten um $170 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ feststellen.

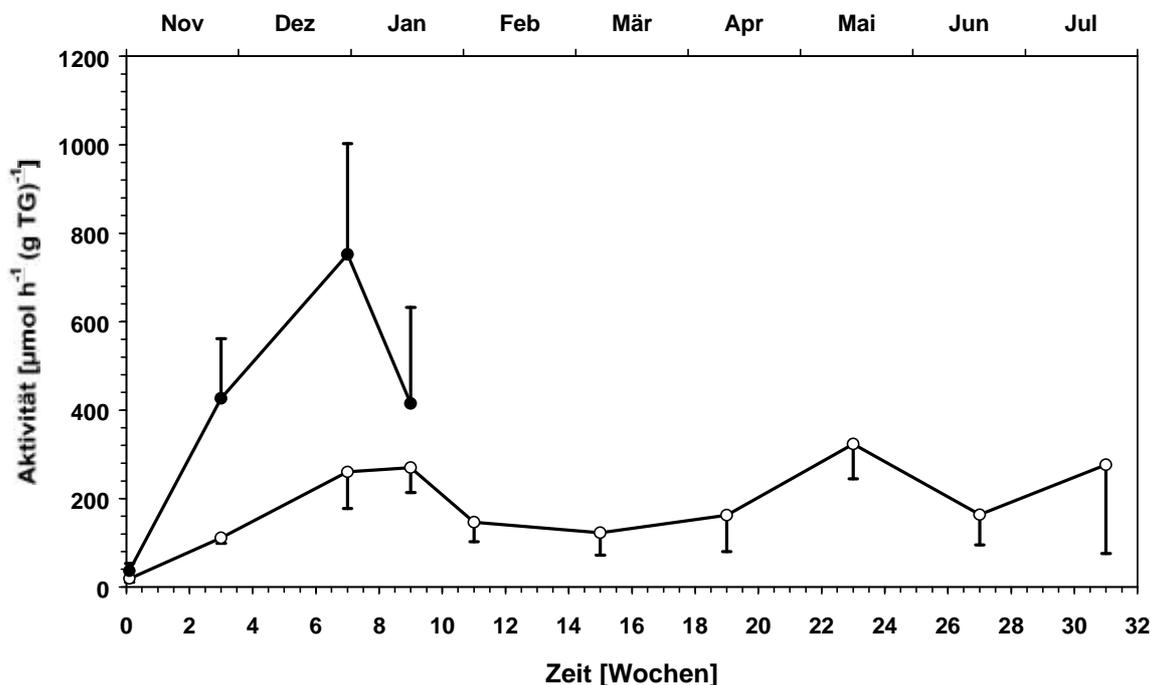


Abbildung 36: β -Xylosidaseaktivität der Blattproben (Buche: \circ , Erle: \bullet) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils $n=5$).

In der Abbildung 37 sind die absoluten Werte der β -Xylosidaseaktivität dargestellt. Zum Versuchsstart wurden Aktivitäten von $47 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Buche und $37,5 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Erlenlaub bestimmt. Bis Woche 7 nahmen die Aktivitäten für beide Laubarten zu, für Erle stärker als für Buche. Die Meßwerte zu diesem Probenstermin waren die höchsten während des gesamten Expositionszeitraumes, sie betragen für Buche $345 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ und für Erle $446 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$. Von diesem Termin an war ein Rückgang der β -Xylosidaseaktivität zu verzeichnen. Zum letzten Probenstermin für Erle in Woche 9 wurden $92 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ bestimmt, die Aktivität bei Buchenlaub nahm bis Woche 15 auf einen Wert von $135 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ ab. Es erfolgte ein leichter Anstieg bis zum Probenstermin in Woche 23 auf $209 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ und ein sich anschließender Rückgang der Werte bis Woche 31 mit $82 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$.

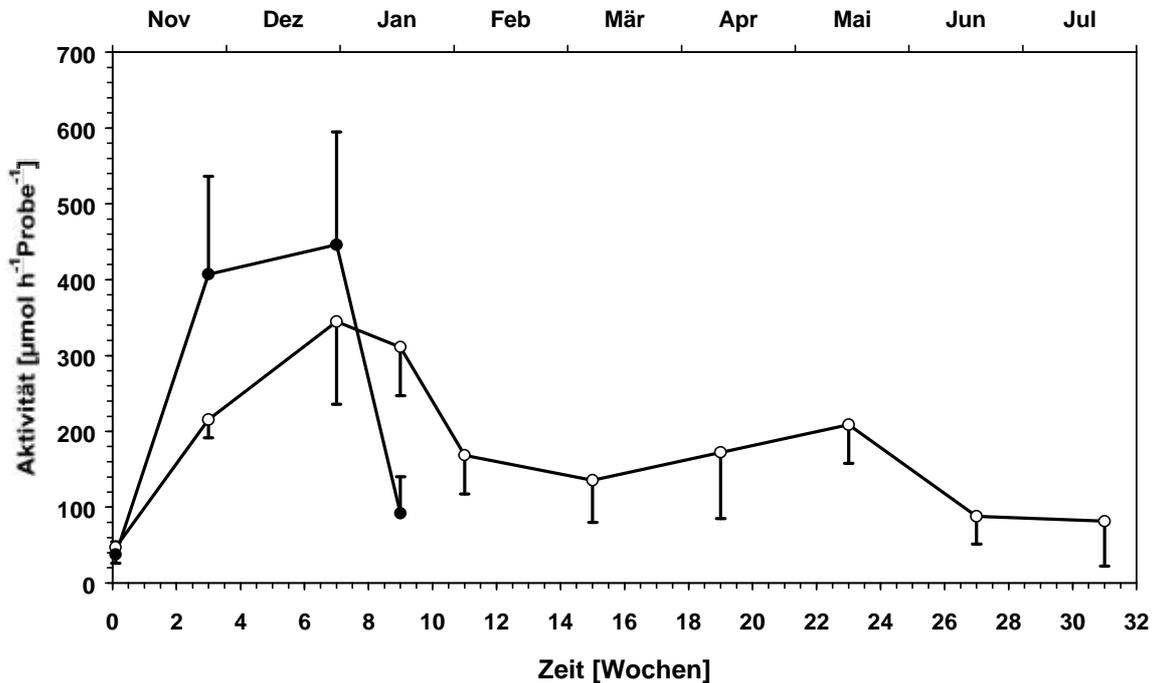


Abbildung 37: β -Xylosidaseaktivität ($\mu\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1} / \text{Probe}$ (0,2 ml Homogenat)) der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils $n=5$).

4.7.2.1.3 Cellobiohydrolase

Der Verlauf der Aktivität der Cellobiohydrolase ist dem der β -Xylosidase ähnlich. Zum Aussetzen der Proben in den Bach wurden sehr niedrige Aktivitäten bestimmt. Sie lagen für Erle bei $1,8 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und für Buche bei $1,0 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ (Abbildung 38). Im Anschluß daran erfolgte ein Anstieg bis zu Woche 7. Hier wurden bei Erlenlaub $722 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und bei Buchenlaub $391 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ an Aktivität bestimmt. Im Anschluß daran nahmen die Werte wieder ab, am letzten Probenstermin für Erle in Woche 9 lag die Aktivität bei $359 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Bei Buche setzte sich die Abnahme der Werte bis zu Woche 19 auf $66,9 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ fort. Die Wochen 23 und 27 zeigten wieder höhere enzymatische Aktivitäten um $200 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$, und am letzten Probenstermin nach 31 Wochen Inkubation wurde die höchste Aktivität mit $519 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ gemessen. Allerdings war zu dieser Beprobung die Streuung sehr groß, was auf fortgeschrittenen unterschiedlichen Abbau des Blattmaterials in den einzelnen Probenflaschen zurückzuführen war.

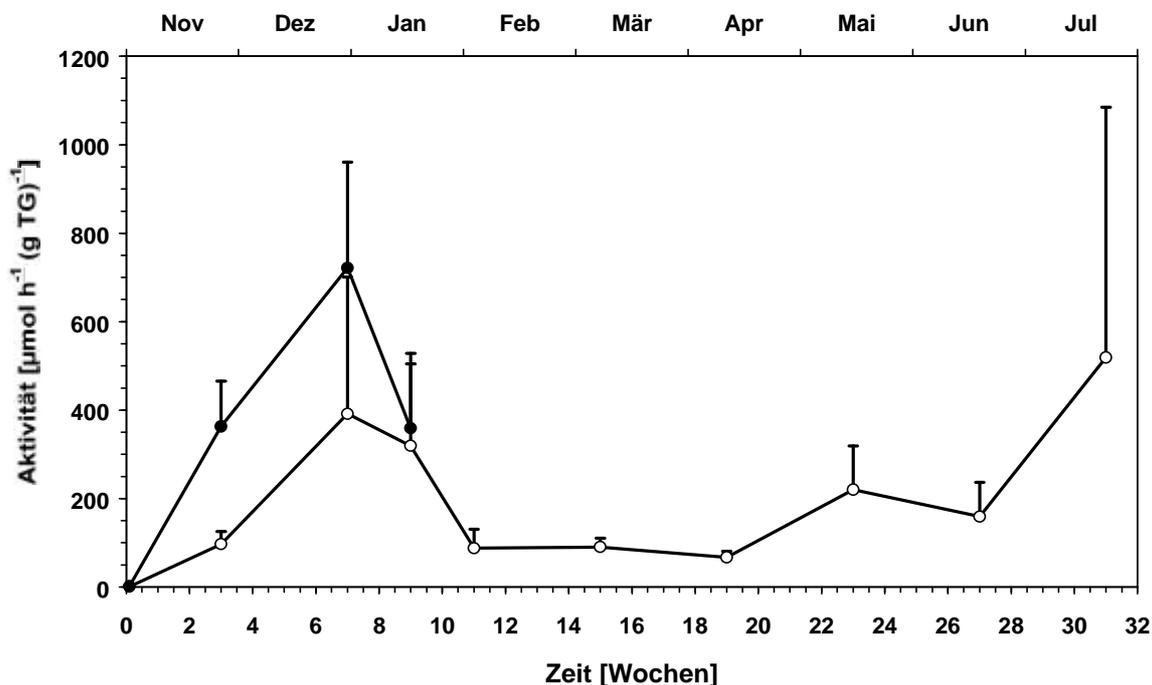


Abbildung 38: Cellobiohydrolaseaktivität der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils $n=5$).

In der Abbildung 39 sind die absoluten Meßergebnisse der Cellobiohydrolase dargestellt. Zum Versuchsstart lagen die Enzymaktivitäten mit $2,6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ für Buche und $1,8 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ sehr niedrig. Es folgte ein Anstieg für beide Blattarten bis Woche 7, hier wurden die Maximalwerte für Buche mit $518 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ und für Erle mit $428 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ bestimmt. Die Aktivität für Erle nahm stark ab, am letzten Probenstermin in Woche 9 lag sie bei $80 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$. Für Buche ging die Aktivität bis Woche 11 auf einen Wert von $101 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ zurück, im weiteren Verlauf bis zur Woche 31 bewegten sich die Aktivitäten mehr oder minder gleichbleibend um diesen Wert, ohne Extrema zu zeigen.

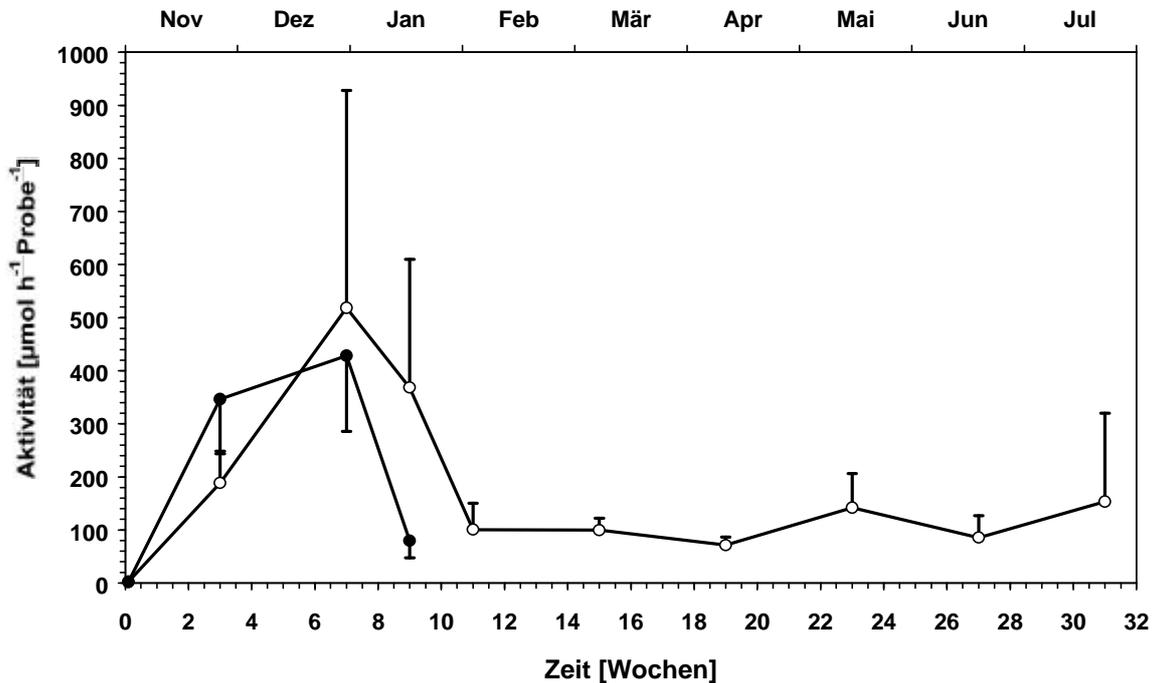


Abbildung 39: Cellobiohydrolaseaktivität ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$) der Blattproben (Buche: O, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils $n=5$).

4.7.2.1.4 Endocellulase

Bei der Inkubation des Blattmaterials zeigte sich der gleiche Trend wie bei den Holzproben. Beim Einsetzen der Proben in den Bach war bereits Endocellulaseaktivität vorhanden (Abbildung 40). Sie lag für Buchenlaub bei $25,3 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$, für Erlenlaub bei $31,3 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$. Generell hatte Erle deutlich höhere Enzymaktivitäten zu verzeichnen als Buche. Es zeigte sich über den gesamten Beprobungszeitraum ein Trend der Aktivitätszunahme auf $987 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$ nach 9 Wochen. Bei Buchenlaub war während der Exposition mehrere Male, zum Beispiel in den Wochen 11, 19 und 27, ein leichter Rückgang der Aktivität zu verzeichnen, insgesamt nahm die Aktivität jedoch bis zum Maximalwert in der Woche 31 zu. Die Aktivität betrug hier $746 \text{ IEU (g TG)}^{-1}$. Die Endocellulaseaktivität lag bei Laub deutlich höher als bei Holz. Die absoluten gemessenen Werte lagen bei Buchenlaub zwischen 63 und $296 \text{ IEU Probe}^{-1}$ und bei Erlenlaub zwischen 31 und $253 \text{ IEU Probe}^{-1}$, diese Werte sind nicht dargestellt.

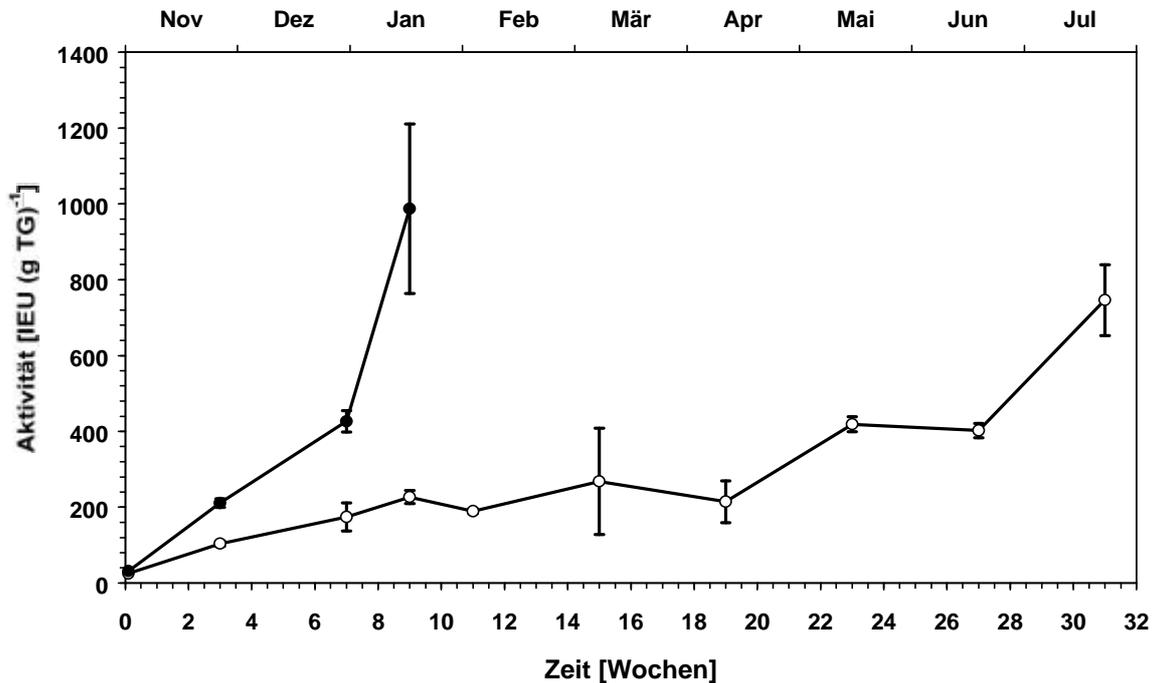


Abbildung 40: Endocellulaseaktivität der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98. Aktivität bezogen auf Trockengewicht (jeweils n=5).

4.7.2.2 Ligninolytische Enzyme

4.7.2.2.1 Phenoloxidase

In der Abbildung 41 ist die Aktivität der Phenoloxidase dargestellt. Beim Einsetzen der Proben in den Bach war bereits Aktivität festzustellen, und zwar bei Buchenlaub $3,0 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und bei Erlenlaub $8,2 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Erle hatte stets eine höhere Aktivität als Buche. Während der 9 Inkubationswochen bei Erle stieg die Aktivität zunächst auf $38 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ in Woche 3, fiel bis Woche 7 auf $23 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ ab und zeigte ein Maximum zum letzten Probenstag in Woche 9 mit $66 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Bei Buche war ein anderer Aktivitätsverlauf festzustellen. Bis zu Woche 7 stieg die Aktivität auf ein Maximum von $16 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ an und sank daraufhin bis Woche 23 wieder ab. Hier war eine Phenoloxidaseaktivität von $1,9 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ meßbar. In den Wochen 27 und 31 war die Aktivität gegenüber dem Wert in Woche 22 leicht erhöht. Dieser Verlauf erinnert an den der Holzproben, bei denen die Phenoloxidase ein Maximum erreichte und ab dort in der Aktivität wieder abfiel. Die nichtgezeigten Absolutwerte befanden sich für Buchenlaub im Bereich zwischen $1,2$ und $22 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$ und für Erle zwischen $8,3$ und $36 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$.

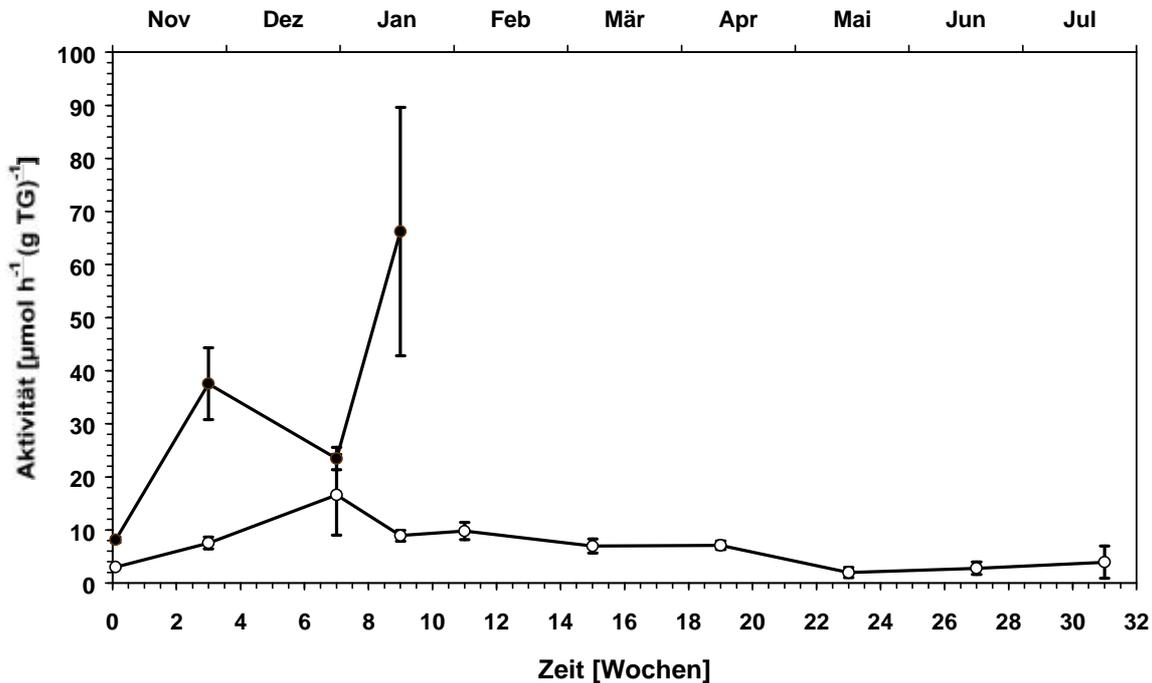


Abbildung 41: Phenoloxidaseaktivität der Blattproben (Buche: ○, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

4.7.2.2 Peroxidase

Wie bei allen anderen untersuchten Enzymen auf Laub zeigte auch die Peroxidase bereits Aktivitäten am ersten Probenstermin. Buchenlaub lag mit $0,45 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ deutlich unter der Aktivität der Erle, die $5,3 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ aufwies (Abbildung 42). Zunächst nahm die Aktivität bei den Laubarten zu. Erle erreichte in Woche 7 ein Maximum mit $11,7 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ und zeigte zum letzten Probenstermin in Woche 9 wieder deutlich niedrigere Werte bei $6,9 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Die Buche erreichte ihre maximale Aktivität in Woche 11 mit $12,7 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. Ab hier nahm die Aktivität kontinuierlich bis Woche 27 auf $2,8 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ ab. Am letzten Probenstag in Woche 31 wurde wieder eine geringfügig höhere Aktivität mit $3,9 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ gemessen. Insgesamt ist der Trend, der bei den Holzproben zu verzeichnen war, auch hier zu sehen. Zunächst erfolgt ein Anstieg der Aktivität bis zu einem Maximalwert mit sich anschließendem Abfall der Werte. Die nicht gezeigten Absolutwerte bewegten sich innerhalb folgender Grenzen: Buchenlaub: $0,4\text{--}14 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$, Erlenlaub $1,5\text{--}8,2 \mu\text{mol h}^{-1} \text{Probe}^{-1}$.

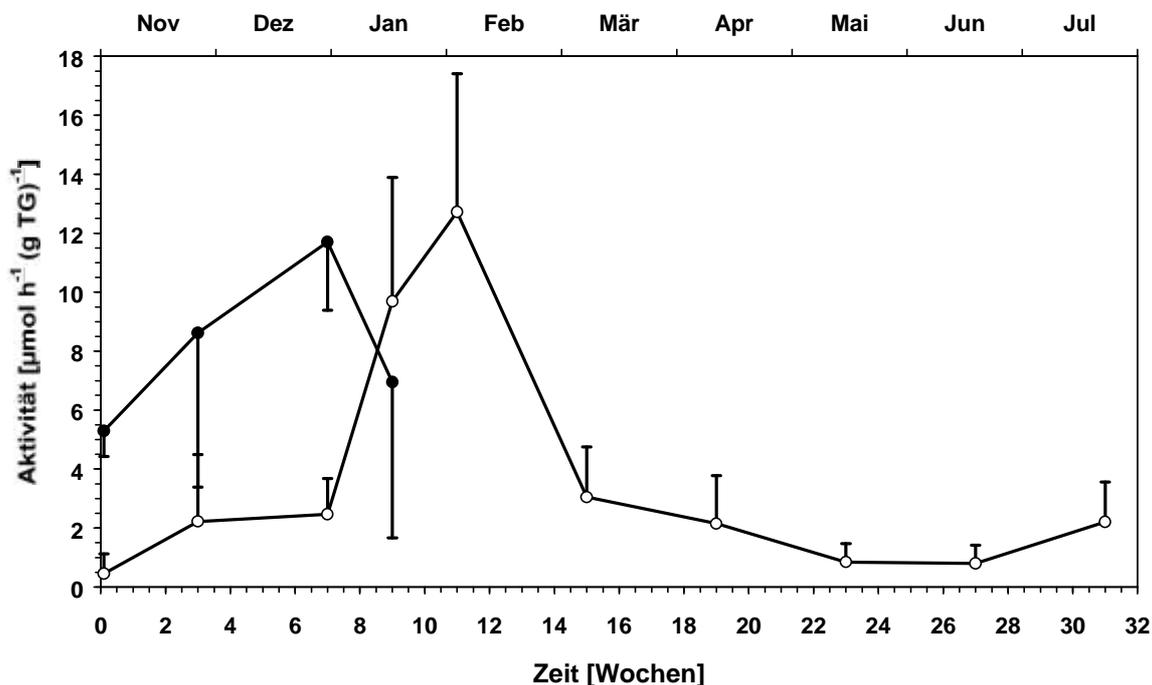


Abbildung 42: Peroxidaseaktivität der Blattproben (Buche: O, Erle: ●) im Untersuchungszeitraum November 97 – Juli 98 (jeweils n=20).

4.8 Statistische Berechnungen

1. Korrelation zwischen Wassertemperatur und mittlerer täglicher Abbaurrate
 Es ergab sich weder für Holz noch für Blätter beider Arten ein Zusammenhang zwischen den Abbauraten zwischen den Probennahmen und der Wassertemperatur des Breitenbachs im Beprobungsabschnitt. Die nichtsignifikante Korrelation (nach Pearson) ergab für Holz einen Wert für von 0,313, für Blätter lag er bei 0,248 ($p < 0,05$).

2. Unterschiedlichkeiten im Abbau zwischen Buche und Erle
 Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über die einzelnen Ergebnisse der statistischen Berechnungen, sowohl der Vergleiche der Regressionskoeffizienten (Trocken- und Feuchtmasse) nach SACHS (1984) als auch der ANOVA (übrige Parameter).

Tabelle 1: Unterschiedlichkeit zwischen den Meßwerten von Erle und Buche über den gesamten Probenzeitraum der einzelnen Parameter. + = signifikant unterschiedlich, - = nicht signifikant unterschiedlich.

Parameter	Holz (H)	Blätter (B)	Signifikanzniveau (p)
Feuchtmasse	+	+	0,05
Trockenmasse	+	+	0,05
β-Glucosidase	+	+	0,001 (H), 0,05 (B)
β-Xylosidase	+	-	0,001 (H), 0,05 (B)
Cellobiohydrolase	+	+	0,001 (H), 0,05 (B)
Endocellulase	-	+	0,05 (H), 0,001 (B)
Phenoloxidase	-	+	0,05 (H), 0,001 (B)
Peroxidase	+	+	0,001 (H), 0,05 (B)
Ergosterol	+	+	0,05 (H), 0,001 (B)
Lignin	+	+	0,001
Phospholipide	+	+	0,001

Die Koeffizienten der Regressionslinien für Feucht- und Trockenmasse waren sowohl bei den Holz- als auch bei den Blattproben signifikant voneinander verschieden.

Für die übrigen Parameter zeigte der Test nach Levene stets eine homogene Verteilung der Varianzen. In der sich anschließenden ANOVA wurde eine Unterschiedlichkeit zwischen Buche und Erle für Holz für die Endocellulasen- und Phenoloxidasenaktivität, für Blätter bei der Xylosidasenaktivität auf dem 5%-Signifikanzniveau zurückgewiesen. Bei allen anderen Parametern war die Unterschiedlichkeit zwischen Buche und Erle entweder signifikant ($p < 0,05$) oder höchstsignifikant ($p < 0,001$).

5 Ergebnisdiskussion

5.1 Holz und Blätter in aquatischen Lebensräumen

Die in der vorliegenden Arbeit als Probenmaterial verwendeten Substrate Holz und Blätter spielen in Fließgewässern eine wichtige Rolle. Während Blätter hauptsächlich als Nahrungsgrundlage für Mikro- und benthische Organismen, aber auch als Refugium in Frage kommen (BOULTON & BOON, 1991), hat Holz in einem Fließgewässer eine Reihe weiterer Funktionen: Größere Holzstücke im Wasser beeinflussen die Struktur und Funktion des Gewässers (HARMON ET AL., 1986; BISSON ET AL., 1987), gewährleisten Stabilität und Erhaltung des Gewässerbettes (MASER & SEDELL, 1994), erhöhen die Substratdiversität und beeinflussen die Sedimentverteilung (EVANS ET AL. 1993), zusätzlich ist Holz ein Habitat für einige Invertebraten (z. B. ANDERSON ET AL., 1978; PHILLIPS, 1995) und Fische (ELLIOTT, 1986). Die einzelnen Prozesse sowohl mechanischer als auch biochemischer Art, die sich bei Eintrag, Besiedlung und dem Abbau von Blättern in einem Fließgewässer abspielen, sind gut untersucht, davon zeugt die große Anzahl der Publikationen. Gründe dafür sind sicher die gute Handhabbarkeit von Blättern und der relativ schnelle Abbau meist innerhalb eines Jahres. Eine gute Übersicht bieten die Literatursauswertungen von WEBSTER & BENFIELD (1986) und BOULTON & BOON (1991). Publikationen über das schwieriger zu bearbeitende Substrat Holz in Fließgewässern beschäftigen sich meist mit Bilanzrechnungen über Eintrag und Transport durch das Wasser (BISSON ET AL., 1987, O'CONNOR, 1992, RICHMOND & FAUSCH, 1995, ELOSEGI ET AL., 1999) oder Untersuchungen zur Besiedlung durch Makroinvertebraten (z. B. ANDERSON ET AL., 1984, CHERGUI & PATTEE, 1991, BOWEN ET AL., 1998).

Biochemische Fragestellungen zum Abbau dieses für Fließgewässer bedeutenden Substrates bearbeiten die Besiedlung von Holzoberflächen durch Pilze (WILLOUGHBY & ARCHER, 1973, LAMORE & GOOS, 1978, SANDERS & ANDERSON, 1979, SHEARER, 1983). Da nur einige Publikationen Parameter wie in der vorliegenden Arbeit messen, können zum Vergleich nur wenige Studien herangezogen werden. Es handelt sich hierbei um die in Australien von SCHOLZ & BOON (1992), in Neuseeland von TANK & WINTERBOURN (1995, 1996) sowie die in Nordamerika von GOLLADAY & SINSABAUGH (1991), SINSABAUGH ET AL. (1991a, 1992b), TANK ET AL. (1993, 1998), sowie TANK & WEBSTER (1998) durchgeführten Studien. Aus Europa sind keine Arbeiten dieser Art bisher publiziert worden. Da insgesamt die Methodik der hier aufgeführten Publikationen wie auch das Probenmaterial von der vorliegenden Arbeit teilweise sehr verschieden sind, muß der Vergleich mit den vorliegenden Publikationen unter Vorbehalt betrachtet

werden. Bei Laub hingegen ist ein Vergleich aufgrund von Studien mit ähnlichem Versuchsaufbau und ähnlichem oder gleichem Probenmaterial besser möglich.

5.2 Abbaurate

In Dekompositionsexperimenten wird Masseverlust immer auf die Trockenmasse bezogen. Der Grund dafür ist sicherlich in der besseren Handhabbarkeit zu sehen. Frische Proben müssen vor dem Wägen von einer unterschiedlich grossen oberflächlich anhaftenden Menge Wassers befreit werden. Dieser Abtrockenvorgang ist nicht gut standardisierbar, und in den durchgeführten Wägungen von Frisch- und Trockensubstanz in dieser Arbeit war die Schwankung der Meßwerte meistens bei den frischen Proben größer. Um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, müßte die Anzahl der Einzelproben, aus welchen der Mittelwert gebildet wird, erhöht werden. Die Möglichkeit, Trockenmasse mit vergleichsweise niedriger Einzelprobenzahl genauer als Frischmasse bestimmen zu können, mündet in die Verwendung dieses Parameters und in den Bezug aller biochemischen Meßwerte auf ihn. In der vorliegenden Arbeit wurde sowohl Trocken- als auch Frischmasse gemessen, um zu überprüfen, ob eine gleichsinnige Tendenz der Meßwerte im Zeitverlauf gegeben war. Abbildung 41 zeigt beispielhaft für Buchenholz die Auftragung von Trockengewicht gegen Frischgewicht.

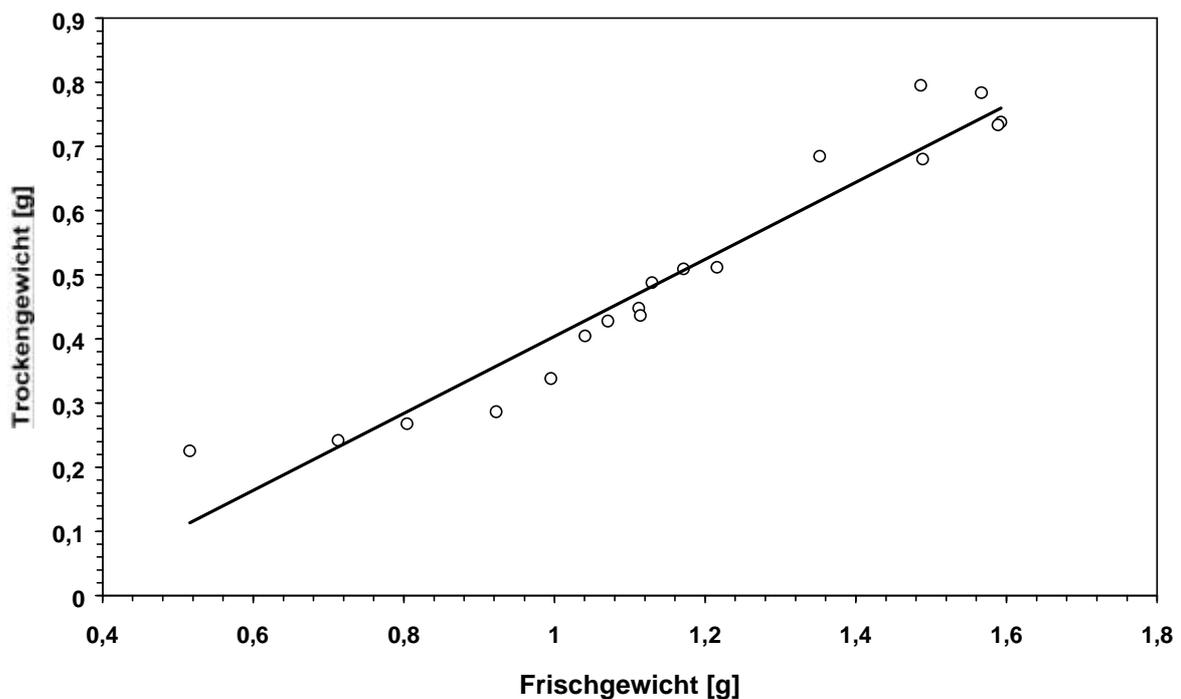


Abbildung 41: Trockengewicht gegen Frischgewicht für Buchenholz, Darstellung mit Regressionsgerade

Hauptsächlich in der Startphase, innerhalb derer das Holz quoll und Wasser aufnahm, liegen die Werte weiter entfernt von der Regressionsgeraden. Die übrigen Werte belegen genauso wie ein Bestimmtheitsmaß von 0,95 eine Parallelität von Frisch- und Trockenmasse. Die vergleichbaren Daten von Erlenholz und den Blattproben werden hier nicht dargestellt, die Ergebnisse sind den hier gezeigten sehr ähnlich.

Da sich sowohl Trocken- als auch Frischmasse im Versuchsverlauf gleichsinnig verhalten und in der Literatur biochemische Abbauparameter stets auf Trockenmasse bezogen werden, wird hier der besseren Vergleichbarkeit wegen auf Darstellung und Diskussion der auf die Frischmasse bezogenen biochemischen Parameter verzichtet.

5.2.1 Holz

Der Abbau des Holzes, ausgedrückt als Masseverlust, begann sehr zügig unmittelbar nach dem Einsetzen der Proben in den Bach. Dieser rasche anfängliche Rückgang ist möglicherweise auf den bei Laub bekannten Vorgang des „leaching“, des schnellen Auswaschens wasserlöslicher Substanzen innerhalb der ersten Inkubationsphase im Gewässer, zurückzuführen (BÄRLOCHER, 1992b, FRANCE ET AL., 1997, MEYER ET AL., 1998). Allerdings ist die Rolle des leaching für den Masseverlust bei Holz bislang kaum untersucht, FRANCE ET AL. (1997) meinen, der Rückgang der Masse bei Holz durch leaching sei im Vergleich zu Blättern zu vernachlässigen. Über den gesamten Untersuchungszeitraum gab es sowohl für Buche als auch für Erle keine wesentlichen Veränderungen der durchschnittlichen Abbaurate k . Nach 66 Wochen Expositionsdauer betrug die Restmasse 28 % für Buchen- und 11 % für Erlenholz der ursprünglichen Trockenmasse, und die durchschnittliche Abbaurate k wurde mit $0,00262 \text{ d}^{-1}$ für Buche und $0,00414 \text{ d}^{-1}$ für Erle berechnet.

In der Studie von SINSABAUGH ET AL. (1992) mit Birkenholz waren nach vergleichbarer Zeit noch zwischen 70 und 95 % der Ausgangssubstanz vorhanden, wobei auch sie keine Schwankung in der Abbaugeschwindigkeit, insbesondere zwischen den Jahreszeiten, feststellten. Im Unterschied zur vorliegenden Arbeit konnten sie während der ersten 4 Inkubationsmonate so gut wie keinen Masserückgang messen, nach dieser Inkubationszeit betrug die Trockenmasse in allen Proben noch mehr als 97 %. SINSABAUGH ET AL. (1992) nehmen in ihrer Studie allerdings einen linearen Zusammenhang zwischen Zeit und Masseverlust an. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, die einen nichtlinearen Zusammenhang zwischen Zeit und Masseabnahme zeigte, indem eine Exponentialfunktion deutlich besser an die Daten angepaßt werden konnte als eine lineare Gleichung. Der Masseverlust der Proben (Neuseeländische

Silberbuche) in der Studie von TANK & WINTERBOURN (1996) betrug nach einer Expositionsdauer von 348 Tagen 39 % der Ausgangstrockenmasse. Die Werte für den vergleichbaren Zeitraum in der vorliegenden Arbeit betragen 57,5 % für Buche und 72,5 % für Erlenholz und sind damit für beide Holzarten deutlich größer. Eine durchschnittliche Abbaurate geben TANK & WINTERBOURN (1996) nicht an. Der Abbau war jedoch in der ersten Hälfte des Inkubationszeitraumes langsamer und nahm dann an Geschwindigkeit zu. TANK & WEBSTER (1998) führten in ihrer Studie zwei Experimente (Frühjahr und Herbst) gleichen Aufbaus mit unterschiedlicher Inkubationsdauer zwischen 120 und 238 Tagen in 2 unterschiedlichen Bächen durch. Im Herbstexperiment nahm die Masse des Holzes in einem Bach sukzessive ab, nach 160 Tagen waren zwischen 10 und 45 % der Ausgangstrockenmasse abgebaut worden. Im anderen Gewässer nahm die Masse des Holzes zunächst um 20 Prozent in den ersten 50 Tagen ab, nahm dann aber kontinuierlich bis zum Versuchsende nach 238 Tagen auf Werte zwischen 100 und 120 % zu. Im Frühjahrsexperiment nahm die Trockenmasse der Proben in beiden Gewässern zunächst um ungefähr 20 % zu, dann aber kontinuierlich ab. Nach 120 Tagen betrug die Trockenmasse zwischen 55 und 80 % der Ausgangsmasse. Die Zunahme der Trockensubstanz ist nur durch einen starken Bewuchs mit Biofilm zu erklären und wurde in der vorliegenden Arbeit ebenfalls an einigen Beprobungstagen beobachtet. Die Zunahme an Biofilm glich jedoch zu keinem Zeitpunkt den Masseabbau aus, so daß zu jeder Probennahme eine Masseabnahme gemessen wurde. Den durchschnittlichen Abbau geben TANK & WEBSTER (1998) mit Werten von $0,00146 \text{ d}^{-1}$ für Eiche und $0,00401 \text{ d}^{-1}$ für Holz des Tulpenbaumes in den Herbstproben und mit $0,00476$ bis $0,0085 \text{ d}^{-1}$ für Tulpenbaumholz in den Frühjahrproben an. Ihre Abbauwerte bewegen sich damit im gleichen Bereich wie die in der vorliegenden Arbeit gefundenen.

Gründe für die Variabilität der Daten im Masseabbau können Unterschiede in der Wassertemperatur sein: Im Jahreszyklus schwankte die Wassertemperatur in der Studie von SINSABAUGH ET AL. (1992) zwischen 0 und 20 °C, bei GOLLADAY UND SINSABAUGH (1991) war die Schwankung zwischen 0 und 25 °C noch größer. TANK & WEBSTER (1998) geben einen Durchschnittswert von 12,3 °C für ihr beprobtes Gewässer an, TANK & WINTERBOURN (1996) 2 – 10 °C für ihren Probenzeitraum. Die Temperaturschwankung des Wassers in der vorliegenden Arbeit zwischen 6,6 und 9,1 °C im Probenzeitraum ist damit noch vergleichsweise gering. Auch der pH-Wert kann den Abbau organischer Substanz in Fließgewässern beeinflussen: Im Breitenbach bewegt er sich im circumneutralen Bereich zwischen 7 und 7,5 (WAGNER ET AL., 1993, PACKROFF & ZWICK, 1996). Auch die Gewässer in der Studie von GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) liegen im circumneutralen Bereich mit pH-Werten zwischen 7,4 und 7,6. Geringfügig niedriger war der pH-Wert in den Studien von TANK & WEBSTER (1998) mit 6,7 und TANK & WINTERBOURN (1996) mit 6,6. SINSABAUGH ET AL. (1992) stellten in ihrem Fließgewässer einen deutlich saureren pH bei 5,0 fest. Bisher liegen keine vergleichenden Arbeiten vor, die den Abbau gleicher Substanz in unterschiedlichen Gewässern unterschiedlichen Chemismus untersuchen, für Blätter ist hingegen eine Hemmung der Abbaurate bei

sinkendem pH belegt (siehe nachfolgender Abschnitt). Wie Temperatur und pH-Wert könnten auch andere Komponenten wie zum Beispiel DOC-Gehalt und bestimmte Nährstoffe Einfluß auf die Abbaugeschwindigkeit haben. Es wird auch angenommen, daß die Anwesenheit phenolischer Verbindungen wie z.B. von Tanninen, generell den Abbau organischer Substanz hemmt (SCHOFIELD ET AL., 1998). Auf diesen Aspekt wird bei den extrazellulären Enzymen näher eingegangen. Für Holz sind keine weiteren Daten dieser Art publiziert worden.

Ein weiterer Faktor, der die Abbaugeschwindigkeit beeinflussen könnte, ist die Beschaffenheit des Holzes selbst. SINSABAUGH ET AL. (1991a) inkubierten in ihrer Studie Nadelholz in einem Fließgewässer. Alle anderen Publikationen berichten von der Exposition von Laubholz. Da sich Laub- und Nadelholz wesentlich in ihrem Aufbau unterscheiden (STRASBURGER, 1991, NULTSCH, 1996), könnte dies ein Grund für unterschiedlich schnellen Abbau sein. Bislang wurde in keiner Studie ein Vergleich der Abbaugeschwindigkeit zwischen Laub- und Nadelhölzern in einem Fließgewässer durchgeführt. Letztlich kommen für Variabilität im Masseabbau unterschiedliche Formen der exponierten Holzkörper in Betracht. Je nach Oberflächenbeschaffenheit und Größe können die Mikroorganismen das angebotene Substrat unterschiedlich schnell und unterschiedlich stark besiedeln. Auf diesen Punkt wurde im Abschnitt 3.4.1 (Methodendiskussion) näher eingegangen.

Tabelle 2 faßt die hier dargestellten Ergebnisse der einzelnen Studien nochmals zusammen.

Tabelle 2: verschiedene Parameter aus Holzabbaustudien mit unterschiedlichem Probenmaterial.

Holzmaterial	Tage inkubiert	Wasser-temp. [°C]	pH	% abgebaut	k-Wert d ⁻¹	Literaturangabe
<i>Betula papyfera</i>	160	0-25	7,4-7,6	-	0,0001-0,0002	GOLLADAY & SINSBAUGH, (1991)
<i>Betula papyfera</i>	480	0-20	5,0	5-30	-	SINSABAUGH ET AL., (1992)
<i>Nothofagus menziesii</i>	348	2-10	6,6	39	-	TANK & WINTERBOURN (1996)
<i>Liriodendron tulipifera</i>	88	12,2-12,3	6,7-6,8	32-55	0,0047-0,0085	TANK ET AL., 1998
<i>Liriodendron tulipifera</i>	120-238	12,3	6,7	20-45	0,00401-0,0085	TANK & WEBSTER, (1998)
<i>Quercus alba</i>	120-238	12,3	6,7	10-25	0,00146	TANK & WEBSTER, (1998)
<i>Alnus glutinosa</i>	468	6,7-8,1	7,0-7,5	89	0,00414	VORLIEGENDE ARBEIT
<i>Fagus sylvatica</i>	468	6,7-8,1	7,0-7,5	72	0,00262	VORLIEGENDE ARBEIT

- = keine Angabe in der Publikation

5.2.2 Blätter

Im Vergleich zu Holz ist die Anzahl von Dekompositionsexperimenten bei Blättern fast unüberschaubar, schon in den ersten Jahrzehnten dieses Jahrhunderts gab es Versuche zum Abbau von Laub (MELIN, 1930). Die einzelnen Prozesse im Abbauvorgang sind gut untersucht. „Leaching“, das Auswaschen wasserlöslicher Substanzen wie Zucker, Aminosäuren, Huminstoffe etc. vermindert die Ausgangsmasse innerhalb weniger Tage je nach Laubart zwischen 15 % und 25 % (PETERSEN & CUMMINS, 1974, WEBSTER & BENFIELD, 1986, FERIANC & TOTH, 1995). Um die Masseabnahme während des Leachings zu erfassen, muß das Probenintervall klein, am besten in Stunden, gewählt werden. In der vorliegenden Arbeit bestand das Ziel der Inkubation von Blattmaterial darin, Vergleiche mit Holz derselben Pflanzen im selben Gewässer zu ermöglichen und die Beteiligung der Mikroorganismen (Bakterien, Pilze) am Abbauvorgang zu erfassen. Daher wurden die Probenintervalle zwischen 2 und 4 Wochen gewählt. Auf das Studium des Leaching wurde auch verzichtet, da diese Daten bereits vorliegen (z. B. GESSNER & CHAUVET, 1994, FABRE & CHAUVET, 1998) und der Masseabbau durch das Leaching sich nicht erheblich von Gewässer zu Gewässer unterscheidet (PETERSEN & CUMMINS, 1974, BIRD & KAUSHIK, 1981, WEBSTER & BENFIELD, 1986).

Ab Versuchsstart war eine rasche Masseabnahme feststellbar. Nach 31 Wochen waren bei Buche noch 10 % der Ausgangsmasse vorhanden. Der Masseabbau folgte einer exponentiellen Funktion. Bei Erle hingegen war der Effekt gegensätzlich zur Buche. Zu Beginn war der Abbau relativ langsam, nach 3 Wochen der Inkubation waren noch 94 % des Blattmaterials präsent. Dies steht jedoch nicht im Gegensatz zum eben beschriebenen Leaching (s.o.). Die mikrobielle Besiedlung erfolgt insbesondere bei Erlenlaub sehr schnell (GESSNER ET AL., 1991a) und sorgt so für eine rasche Zunahme an Masse. Mit fortdauernder Inkubation wurde der Abbau immer schneller und folgte somit eher einer Potenz- denn einer Exponentialfunktion. Die durchschnittliche tägliche Abbaurrate k wurde mit $0,00824 \text{ d}^{-1}$ für Buche und $0,02224 \text{ d}^{-1}$ für Erle errechnet. Diese Werte lassen sich gut in die Literatur eingliedern. GESSNER & CHAUVET (1994) bestimmten für Buchenblätter eine niedrigere tägliche Abbaurrate von $k = 0,0054 \text{ d}^{-1}$, für Erle errechneten sie hingegen einen höheren Wert von $k = 0,0314 \text{ d}^{-1}$. In ihrer Studie folgte der Masseabbau bei Erle einer exponentiellen Funktion, bei Buche könnte sowohl eine lineare als auch eine exponentielle Funktion den Abbau gut beschreiben. Nach 12 Inkubationswochen waren noch ungefähr 15 % der Ausgangsmasse vorhanden, bei Buchenlaub wurde innerhalb von 24 Wochen ungefähr genausoviel Material abgebaut. FABRE & CHAUVET (1998) inkubierten Erlenlaub in einem Fließgewässer entlang eines Höhengradienten zwischen 1857 und 465 m über NN und stellen eine durchschnittliche Abbaurrate zwischen $0,020$ und $0,041 \text{ d}^{-1}$ fest. Zwischen 15 und 37 % der Ausgangsmasse waren bereits nach 37 Inkubationstagen abgebaut. Weitere Abbaustudien, in welchen der Abbau zum Teil anderen Pflanzenmaterials untersucht wurde, sind der Übersichtlichkeit halber in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3: verschiedene Parameter aus Laubbauabbaustudien mit unterschiedlichem Probenmaterial.

Blattmaterial	Tage inkubiert	Wasser-temp. [°C]	pH	% abgebaut	k-Wert d ⁻¹	Literaturangabe
<i>Alnus glutinosa</i>	28	5	-	58	0,0229	GESSNER ET AL. (1991)
<i>Alnus glutinosa</i>	84	11	7,0	70	0,0161	CANHOTO & GRAÇA (1996)
<i>Alnus glutinosa</i>	212	0,3-16,5	6,6-7,0	15-90	0,0011-0,0117	SCHWARZ & SCHWOERBEL (1997)
<i>Alnus glutinosa</i>	63-140	8,8-10,5	6,6-8,2	80-95	0,0235-0,0321	POZO ET AL. (1998)
<i>Alnus glutinosa</i>	37	3,0-9,5	4,5-7,8	15-37	0,020-0,041	FABRE & CHAUVET (1998)
<i>Alnus glutinosa</i>	84	3,3-12,0	7,2-7,9	85	0,0314	GESSNER & CHAUVET (1994)
<i>Alnus glutinosa</i>	63	6,7-8,1	7,0-7,5	78	0,0222	VORLIEGENDE ARBEIT
<i>Alnus incana</i>	438	4,5-5	7,4-8,2	70	0,0013-0,0014	GALAS ET AL. (1996)
<i>Alnus viridis</i>	230	0,8-23	6,7-6,8	50-60	0,0061-0,0305	ROBINSON ET AL. (1998)
<i>Fagus sylvatica</i>	168	3,3-12,0	7,2-9	85	0,0054	GESSNER & CHAUVET (1994)
<i>Fagus sylvatica</i>	225	5,5-8,7	4,5-7,2	6-32	0,0002-0,0018	DANGLES & GUEROLD (1998)
<i>Fagus sylvatica</i>	168	0-7	6,0-8,0	-	0,0027-0,0052	CHAUVET ET AL. (1993)
<i>Fagus sylvatica</i>	217	6,7-8,4	7,0-7,5	88	0,0082	VORLIEGENDE ARBEIT
<i>Nothofagus fusca</i>	95	4-11	6,7	-	0,0055	PARKYN & WINTERBOURN (1997)
<i>Salix fragilis</i>	31	5	-	53	0,0236	GESSNER ET AL. (1991)
<i>Salix spec.</i>	140	5-14	7,9-9,1	45	0,0091	BALDY ET AL. (1995)
<i>Acer saccharum</i>	80	0-25	7,4-7,6	-	0,0237-0,0484	GOLLADAY & SINSABAUGH (1991)
<i>Acer saccharum</i>	77-97	0-14	-	50-70	0,0112-0,0284	HILL & PERROTTE (1995)
<i>Acer saccharum</i>	82	3,3-5,4	4,2-7,5	39-76	0,0032-0,0116	ROWE ET AL. (1996)
<i>Acer rubrum</i>	112	-	4,3-7,7	33-67	0,0037-0,0106	GRIFFITH ET AL. (1995)
<i>Acer rubrum</i>	250	0,5-18,5	6,2-6,9	95-100	0,015-0,034	PAUL & MEYER (1996)
<i>Eucalyptus viminalis</i>	-	7-25	7	-	0,0097-0,0488	CAMPBELL ET AL. (1992)
<i>Eucalyptus globulus</i>	84-182	8,8-10,5	6,6-8,2	75-82	0,0066-0,0169	POZO ET AL. (1998)
<i>Eucalyptus globulus</i>	84	11	7	50	0,0068	CANHOTO & GRAÇA (1996)
<i>Eucalyptus globulus</i>	112	24,4-28,4	6,6-7,2	35	0,0069-0,0073	RAVIRAJA ET AL. (1996)
<i>Quercus ilex</i>	212	0,3-16,5	6,6-7	18-40	0,0010-0,0055	SCHWARZ & SCHWOERBEL (1997)
<i>Quercus alba</i>	112	-	4,3-7,7	16-44	0,0020-0,0059	GRIFFITH ET AL. (1995)
<i>Quercus faginea</i>	84	11	7	18	0,0037	CANHOTO & GRAÇA (1996)
<i>Quercus alba</i>	82	3,3-5,4	4,2-7,5	20-39	0,0017-0,0047	ROWE ET AL. (1996)
<i>Quercus coccinea</i>	95	4-11	6,7	-	0,0099	PARKYN & WINTERBOURN (1997)
<i>Liriodendron tulipifera</i>	112	-	4,3-7,7	59	0,0058-0,0081	GRIFFITH ET AL. (1995)
<i>Liriodendron tulipifera</i>	98-130	10-16	6,3-8,2	8-50	0,0047-0,029	JENKINS & SUBERKROPP (1995)
<i>Liriodendron tulipifera</i>	80	7,8-14,2	5,9-9,6	38-80	0,005-0,014	SUBERKROPP (1995)
<i>Liriodendron tulipifera</i>	125	0,5-18,5	6,2-6,9	93-100	0,016-0,021	PAUL & MEYER (1996)
<i>Populus spec.</i>	82	3,3-5,4	4,2-7,5	45-77	0,0050-0,0098	ROWE ET AL. (1996)
<i>Populus nigra</i>	140	5-14	7,9-8,1	50	0,0045	BALDY ET AL. (1995)
<i>Populus tremuloides</i>	32	15-22	7,1-8,2	30	0,037	ROYER & MINSHALL (1997)
<i>Acacia melanoxylon</i>	-	7-25	7	-	0,0026-0,0415	CAMPBELL ET AL. (1992)
<i>Platanus hybrida</i>	140	5-14	7,9-8,1	70	0,0070	BALDY ET AL. (1995)
<i>Sorbus aucuparia</i>	438	4,5-5	7,4-8,2	40-50	0,0029-0,0031	GALAS ET AL. (1996)
<i>Ulmus procera</i>	95	4-11	6,7	-	0,0269	PARKYN & WINTERBOURN (1997)
<i>Tilia americana</i>	70	-	-	2-60	-	CUMMINS ET AL. (1980)
<i>Anacardium occidentale</i>	112	24,4-28,4	6,6-7,2	30	0,0068-0,01	RAVIRAJA ET AL. (1996)
<i>Ficus bengalensis</i>	112	24,4-28,4	6,6-7,2	35	0,0078-0,009	RAVIRAJA ET AL. (1996)

- = keine Angabe in der Publikation

Der Abbau von *Alnus glutinosa* wurde noch in weiteren Studien untersucht. Die durchschnittliche Abbaurate k lag bei CANHOTO & GRAÇA (1996) und SCHWARZ & SCHWOERBEL (1997) niedriger als in der vorliegenden Arbeit, die Werte von GESSNER ET AL. (1991) und POZO ET AL. (1997) sind den in der vorliegenden Arbeit bestimmten Abbauraten ähnlich. Andere *Alnus*-Arten in den Studien von GALAS ET AL. (1996) und ROBINSON ET AL. (1998) liegen in der Abbaugeschwindigkeit deutlich unter den hier gemessenen Werten.

CHAUVET ET AL. (1993) sowie DANGLES & GUEROLD (1998) stellten für Buchenlaub niedrigere Abbauraten fest, PARKYN & WINTERBOURN (1997) für die neuseeländische Silberbuche ebenfalls eine geringere Abbaurate, als in der vorliegenden Arbeit bestimmt wurde.

Tabelle 3 legt die Unterschiedlichkeit der einzelnen Studien und ihrer Ergebnisse offen. Es wurden fast immer Pflanzenarten, die im jeweiligen Untersuchungsland heimisch sind, exponiert, doch die Variabilität im Versuchsaufbau (Inkubationszeiten zwischen 28 und 438 Tagen) und die mannigfaltigen Unterschiede in der Gewässertypologie und –morphologie (Wassertemperaturen zwischen 0 und 28,4 °C, pH- Werte zwischen 4,2 und 9,6) sowie Unterschiede im Versuchsaufbau (Abschnitt Methodendiskussion, Masseverlust) verdeutlichen, daß ein direkter Vergleich der Daten zwischen verschiedenen Arbeiten nur bedingt möglich ist. Dennoch sind einige Gemeinsamkeiten beim Literaturstudium festzustellen: Ein niedriger pH-Wert hat immer einen Rückgang der Abbaugeschwindigkeit zur Folge. Darüber berichten übereinstimmend MCKINLEY & VESTAL (1982), COLLIER & WINTERBOURN (1987), MULHOLLAND ET AL. (1992), GRIFFITH ET AL. (1995), WEBSTER & BENFIELD (1986), DANGLES & GUEROLD (1998) sowie POZO ET AL. (1998). PETERSEN & CUMMINS (1974) haben aufgrund umfangreichen Literaturstudiums Pflanzen anhand ihrer Abbaugeschwindigkeit in drei Gruppen eingeteilt. Gruppe 1, schnell: k -Werte $> 0,010 \text{ d}^{-1}$, Gruppe 2, mittel: k -Werte $0,005 - 0,010 \text{ d}^{-1}$ und Gruppe 3, langsam: k -Werte $< 0,005 \text{ d}^{-1}$. Nach dieser Kategorisierung gehört Buchenlaub aus der vorliegenden Arbeit in die Gruppe 2, Erlenlaub in die Gruppe 1. Erlenlaub in der Studie von z.B. Schwarz & Schwoerbel (1996) ist in die Gruppe 3 des langsamabbauenden Laubes einzuordnen. WEBSTER & BENFIELD (1986) haben die Einordnung von PETERSEN & CUMMINS (1974) erweitert und in ihrer Literaturlauswertung 117 Dekompositionsstudien nach holzfreien und holzhaltigen Pflanzen getrennt, hierauf wurde die Spannweite der Abbauraten für einzelne Pflanzenfamilien angegeben. Eine Einordnung der Daten der vorliegenden Arbeit in die Auswertung bei WEBSTER & BENFIELD (1986) zeigt, daß die hier bestimmten Abbauraten über dem von ihnen angegeben Durchschnitt liegen. Seit der Literaturlauswertung von WEBSTER & BENFIELD (1986) sind allerdings noch viele neue Arbeiten erschienen (Tabelle 3).

5.3 Ligningehalt

5.3.1 Holz

Zum Start des Experiments lag der Ligningehalt bei 13,6 % für Buche und wenig niedriger bei 12,2 % für Erle. Bis zum Ende der Studie war er auf beinahe 20 % für beide Holzarten angestiegen. Dieser Anstieg der relativen Menge an schwerabbaubarer Substanz dokumentiert, daß vom Holz zunächst Verbindungen abgebaut werden, die chemischen und biologischen Reaktionen leichter zugänglich sind. Schwerabbaubare Substanz akkumuliert, und ihr relativer Gehalt steigt damit an. Innerhalb mehrerer Zeiträume, besonders zwischen Woche 2 und 12, nahm der relative Ligningehalt ab. Diese Abnahme stimmt gut überein mit gleichzeitig hohen ligninolytischen Aktivitäten (Ergebnisse, ligninolytische Enzyme), die einen Abbau des Makromoleküls forcieren. Während späterer, insbesondere während der letzten Inkubationsmonate, war die ligninolytische Enzymaktivität niedrig oder sogar beinahe Null. Hier zeigte sich ein langsamer Anstieg der relativen Ligninmenge und ein sehr langsamer Rückgang des Ligningehaltes pro Holzwürfel. Die Frage, weshalb die ligninolytische Aktivität gegen Ende des Untersuchungszeitraumes absinkt und Lignin daher einer enzymatischen Degradation wahrscheinlich eher zu Beginn der Studie zugänglich ist, kann nicht eindeutig geklärt werden. Die Darstellung der absoluten Ligninmenge (Ergebnisse, Ligningehalt) zeigt, daß der Gehalt zu manchen Probennahmen zunimmt. Dies bedeutete eine Synthese schwer abbaubarer Substanz während des Abbauprozesses. Diese Zunahme wurde in einigen aquatischen wie terrestrischen Studien beobachtet (TRISKA ET AL., 1975, TIWARI & MISHRA, 1983, CHAUVET, 1987, CHAUVET, 1988, GESSNER, 1991a, GESSNER, 1991b, SALAMANCA ET AL., 1998). Eine Erklärung für dieses Phänomen liefern SUBERKOPP ET AL. (1976), die die Anwesenheit von Artefaktlignin vorschlagen. Während nicht genau zu charakterisierender Abbauschritte gehen einzelne, z. B. phenolische Komponenten des Ligninmoleküls Verbindungen mit stickstoffhaltigen Molekülen ein. Nach der Verbindung widerstehen diese Moleküle dem Säureangriff während der Ligninbestimmung und werden so, obwohl es sich nicht mehr um Lignin handelt, als Lignin erfaßt. Eine Überschätzung des Ligningehaltes ist die Folge. Die Formierung dieses Artefaktlignins kann aber ein Grund dafür sein, daß die Aktivität der ligninolytischen Enzyme in den späteren Phasen des Expositionszeitraumes abgesunken ist. Möglicherweise ist Lignin nur noch in geringer Menge vorhanden, da große Teile mit stickstoffhaltigen Komponenten Verbindungen eingegangen sind. Diese sind jedoch wahrscheinlich für die ligninolytischen Enzyme nicht mehr angreifbar. STABEL ET AL. (1979) und WETZEL (1983) berichten, daß refraktäres Material schneller abgebaut wird, wenn es mit leichtabbaubaren Verbindungen vergesellschaftet vorliegt. Während der ersten Monate des Substratabbaus ist ein größerer Anteil von leichtabbaubaren Verbindungen wahrscheinlicher als in den späteren Phasen der Untersuchung. Somit könnte der Anteil labiler organischer Verbindungen ebenfalls einen Einfluß auf die Aktivität der ligninolytischen Enzyme und somit auf den Ligningehalt haben,

wahrscheinlich handelt es sich aber um einen indirekten Effekt, der auf einer allgemeinen Stimulation der Mikroorganismen beruht (WETZEL, 1983).

Mit den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Methoden kann der Vorgang des Ligninabbaus im Fließgewässer nicht eindeutig beschrieben werden. Es scheinen bestimmte Stoffgruppen oder Elemente den Ligninabbau wesentlich zu beeinflussen: Über eine Hemmung des Ligninabbaus im terrestrischen Bereich durch die Anwesenheit von Eisen oder Aluminium berichten MILTNER & ZECH (1998), eine Forcierung des Ligninabbaus durch die Anwesenheit von stickstoffhaltigen Verbindungen fanden AUMEN ET AL., (1983). Das Lignin:Stickstoff-Verhältnis wird als Voraussage für den Abbau eines bestimmten Substrates verwendet (TRISKA ET AL., 1975, MELILLO ET AL., 1982, TAYLOR ET AL., 1989, BERNHARD-REVERSAT & SCHWARTZ, 1997 GALLARDO & MERINO, 1999). Ein Vergleich der in dieser Arbeit erhaltenen Werte mit Literaturdaten kann aber nicht erfolgen, weil in keiner Holzdekompositionsstudie (siehe Ergebnisdiskussion, Holz & Blätter in aquatischen Lebensräumen) der Ligningehalt bestimmt wurde.

5.3.2 Blätter

Zu Beginn des Untersuchungszeitraumes nahm der relative Ligningehalt schnell zu, bei Erlenlaub zu jedem Probetermin, bei Buche bis zur Woche 11. Ab Woche 15 blieb er bei Buchenlaub auf einem Niveau um 45 %. Die absoluten Werte pro Probe zeigen zu Beginn einen Anstieg, der bei Buche besonders ausgeprägt war. Diese Zunahme kann auf die zügige Bildung von Artefaktlignin zurückgeführt werden, die im vorausgegangenen Abschnitt Holz beschrieben wird. Beim Laub sind die Parallelen zwischen ligninolytischer Aktivität und Ligningehalt nicht so augenscheinlich zu interpretieren wie bei Holz. Bei Erlenlaub nahm der relative Ligningehalt immer weiter zu, was sich leicht durch den hohen Nährstoffanteil (die Blätter werden grün abgeworfen) und die sich anschließende schnelle Auswaschung und den schnellen Abbau von leichtlöslichen und leichtabbaubaren Verbindungen im Bach erklären läßt. Die ligninolytische Aktivität ist im Vergleich zur Buche im selben Zeitraum hoch und läßt auf einen intensiven Abbau des Ligninmoleküls schließen. Dies kann mit dem Verlauf des absoluten Ligningehalts auch bestätigt werden. Bei Buche erfolgte in der ersten Inkubationshälfte eine starke Bildung von vermutlich Artefaktlignin, daran schloß sich ein zügiger Abbau des Lignins an. Die ligninolytischen Aktivitäten nahmen bei Phenoloxidase bis Woche 7 und Peroxidase bis Woche 11 zu, dann kontinuierlich bis zum Ende des Probenzeitraumes ab. Da die Peroxidaseaktivitäten im gleichen Bereich wie die der Holzproben liegen, bei der Phenoloxidase aber für eine im Vergleich zu den Holzproben deutlich höhere Aktivität über den gesamten Inkubationszeitraum gemessen wurde, könnte dies für den schnellen Abbau des Makromoleküls Lignin die Erklärung sein.

Die Literatur bietet in einigen Studien Vergleichsmöglichkeiten zur vorliegenden Arbeit. Das von GESSNER (1991b) 8 Wochen lang exponierte Erlenlaub hatte einen Ausgangsligningehalt zwischen 9 und 12 % der Trockenmasse. Über den gesamten Zeitraum stieg der relative Ligningehalt an, zum Ende lag er zwischen 20 und 25 %. Lediglich der in der vorliegenden Arbeit beobachtete starke Anstieg zwischen vorletztem und letzten Probenstermin (Anstieg von 20,6 auf 59 %) weicht stark von den von GESSNER (1991b) bestimmten Daten ab. GESSNER & CHAUVET (1994) geben in ihrer Publikation nur den Ausgangsligningehalt an. Ihre Erlenblattproben hatten ursprünglich einen Ligningehalt von 8 %, der von Buchenlaub lag mit 25,5 % doppelt so hoch wie der Anfangsligningehalt der Buchenblätter der vorliegenden Arbeit. CHAUVET (1987) gibt in seiner Studie den Ligningehalt in % relativ zum Ausgangswert an. Während eines Probenintervalls von 185 Tagen fand er kaum Veränderungen des relativen Ligningehaltes. KUNZE & BONNERT (1982) inkubierten Buchenblätter in Wasser aus Fließgewässern unterschiedlichen organischen Belastungsgrades. Die Proben wurden aber nicht im Gewässer, sondern in Laborbehältern exponiert. Der Ausgangsligningehalt bei den Buchenblättern lag bei 43 %, nach 84 Tagen war er auf Werte zwischen 31 und 34 % abgesunken. Von CHAUVET (1988) wurden Weidenblätter 32 Wochen lang in einem Fluß exponiert. Der Ausgangsligningehalt lag bei 25 %, er stieg innerhalb von 8 Wochen auf Werte zwischen 40 und 50 % an und bewegte sich auf diesem Niveau bis zum Ende der Studie. Auch SUBERKROPP ET AL. (1976) stellten eine Zunahme des relativen Ligningehaltes während des Inkubationszeitraumes fest. Sie exponierten Hickory- und Eichenblätter über einen Zeitraum zwischen 18 und 28 Wochen. Der relative Ausgangsligningehalt von 10 - 12 % bei beiden Blattarten stieg für Hickoryblätter auf 18 % nach 18 Wochen und für Eichenlaub auf 27 % nach 28 Wochen. Der absolute Ligningehalt stieg während der ersten 7 Wochen bei Hickorylaub von 400 mg auf 500 mg pro Probe, bei Eichenlaub von 550 mg auf 700 mg pro Probe an. Danach sank der Ligningehalt bis zum Ende der Inkubation auf ungefähr 250 mg pro Probe für beide Holzarten ab. Diese absolute Zunahme erklären die Autoren (SUBERKROPP et al., 1976) mit der Bildung von Artefaktlignin, die bereits bei den Holzproben (s.o.) besprochen wurde. Einen Anstieg über die Inkubationszeit (für die Ligninmessungen knapp 400 Tage) im relativen Ligningehalt stellten TIWARI & MISHRA (1983) fest. Bei Kiefernnadeln stieg er von ungefähr 28 % auf beinahe 40 %, Teakholzblätter hatten zu Beginn einen Ligningehalt von 20 %, und am Ende lag er zwischen 22 und 30 %. Bis auf die Studie von KUNZE & BONNERT (1982) wurde während des Inkubationszeitraumes immer eine Zunahme entweder im relativen oder absoluten Ligningehalt gemessen. Eine von den anderen hier genannten Publikationen abweichende Methodik (Prinzip der Unlöslichkeit von Lignin in konzentrierten Mineralsäuren) könnte eine Erklärung dafür sein.

5.4 Phospholipidgehalt

5.4.1 Holz

Bereits am ersten Probenstag waren Phospholipide nachweisbar, da es sich um Frischmaterial handelte, dessen Zellen Phospholipide enthielten. Es war zunächst ein Rückgang des Phospholipidgehaltes erwartet worden, da die Zellen absterben und die Besiedlung insbesondere durch Bakterien relativ langsam erfolgt. Aufgrund der vorliegenden Daten ist aber davon auszugehen, daß das Absterben noch eventuell im Holz vorhandener lebender Zellen durch den sich bildenden Biofilmbewuchs ausgeglichen wurde, so daß der Rückgang der Phospholipidmenge unterblieb. Der starke Rückgang der Meßwerte zwischen Woche 18 und 22 kann auf verschiedene Ursachen zurückzuführen sein. Mechanische Einflüsse durch Tiere oder Menschen im Bach können genauso wie ein erhöhter Wasserstand dazu führen, daß der Biofilm auf den Proben abgerissen wird. Dies wurde während des Untersuchungszeitraumes mehrmals beobachtet. In den meisten Fällen war eine niedrigere Menge des jeweiligen Parameters in der folgenden Probennahme zu beobachten. Im Zeitraum dieses rapiden Abfalles der Phospholipide zwischen Woche 18 und 22 war im Breitenbach eine sehr niedrige Wasserführung zu verzeichnen. Da einige Platten der Holzproben trocken zufallen drohten, mußten einige an Orte größerer Wassertiefe versetzt werden, was immer einherging mit einem Abreißen von Teilen des Biofilms. Es ist wahrscheinlich, daß die zufällige Auswahl von den Holzklötzen, die von der Umsetzung betroffen waren, die Ursache für die Abnahme darstellt. Nach diesem Minimalwert in Woche 22 war bis zu Versuchsende ein Trend der Zunahme an Phospholipiden festzustellen. Diese Zunahme ist ein deutliches Indiz für die sich auf den Holzklötzen etablierende Bakteriengesellschaft, da im gleichen Zeitraum die Ergosterolmenge auf den Holzproben abnahm.

Die Erstbesiedlung durch Pilze und die spätere Konkurrenz der dazukommenden Bakterien ist in der Literatur gut belegt (z.B. BÄRLOCHER & KENDRICK, 1974). Der Gehalt an Phospholipiden hat sich bei der Bestimmung der mikrobiellen Biomasse hauptsächlich für Sedimente (WHITE ET AL., 1979, BOTT & KAPLAN, 1985; WHITE, 1988, KOESTER ET AL., 1997) und Bodenproben (BALKWILL ET AL., 1998, BOSSIO & SCOW, 1998, STEINBERGER ET AL., 1999) bewährt, für Holz gibt es keine und für Blätter nur wenige Untersuchungen (s.u.). Daher kann ein Vergleich mit Literaturdaten nicht durchgeführt werden. Aufgrund der vorliegenden Studie kann der Gehalt an Phospholipiden aber in Verbindung mit den anderen bestimmten Parametern (insbesondere Ergosterolgehalt) zur Abschätzung der Biomasse von Mikroorganismen dienen. Die von NEUMANN (1995) für feinpartikulären Detritus angepaßte Methode ließ sich gut auf Holz- oder Blattproben anwenden. Als alleiniger Parameter zur Quantifizierung mikrobieller Biomasse sollte er aber aufgrund der geschilderten methodischen Probleme nicht herangezogen werden.

5.4.2 Blätter

Die Phospholipidgehalte auf den Blattproben lagen deutlich höher als bei Holz. Dies unterstützt die bislang in dieser Arbeit vertretene Annahme, daß Blätter sehr viel schneller von Mikroorganismen besiedelt werden können. Wie auch bei Holz war der Phospholipidgehalt schon zu Beginn der Inkubation im Bach feststellbar. Der deutliche Rückgang der Phospholipide in den Buchenblättern von der ersten zur zweiten Probennahme ist ein Anhaltspunkt dafür, daß sich wahrscheinlich noch lebende Zellsubstanz in den Blättern befunden und die relativ hohen Meßwerte im Vergleich zu den übrigen Probennahmen bei den Blättern hervorgerufen hat. Nach diesem Rückgang blieb der Phospholipidgehalt auf gleichem Niveau bis zu Versuchsende. Bei Erlenlaub nahm der auf das Trockengewicht bezogene Phospholipidgehalt bis zu Versuchsende um mehr als das Doppelte zu, hier glich die mikrobielle Besiedlung das Absterben der Blatzellen aus. In einer Studie von RYDER & HORWITZ (1995) wurde der Abbau zweier Makrophyten in einem Brackwasserfeuchtgebiet in Australien untersucht. Hierbei kam auch die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse durch Phospholipide zum Einsatz. Die Autoren wählten aber eine andere Bestimmungsmethode zur Quantifizierung des Phosphatgehaltes in ihren Proben als die in der vorliegenden Arbeit verwendete aus. Aus ihrer Publikation wird außerdem nicht ersichtlich, ob getrocknetes oder frisches Material verwendet wurde, was einen Einfluß auf den Phospholipidgehalt insbesondere zu Beginn der Exposition haben dürfte. RYDER & HORWITZ (1995) berichten lediglich von seneszenten Blättern, beschreiben aber nicht deren weiteren Zustand. Somit konnte kein Vergleich der vorliegenden Daten mit dieser Studie erfolgen.

Bei Verwendung getrockneten Blattmaterials, in welchem die Zellen abgestorben sind, ist eine Bestimmung der mikrobiellen Biomasse auf dem Substrat durch die Quantifizierung der Phospholipide gut durchführbar. Bei Verwendung frischer oder im Absterben begriffener Substrate ist zu berücksichtigen, daß wahrscheinlich noch lebende Zellsubstanz mit erfaßt wird. Derzeit ist keine Methode verfügbar, die nur bakterielle oder mikrobielle Biomasse präzise und ohne großen Fehler erfaßt. Dies wäre aber für die vorliegende Arbeit wie auch andere Studien wünschenswert, denn mit Hilfe eines solchen exakten Parameters könnten zum Beispiel die enzymatischen Aktivitäten einer Organismengruppe zugeordnet und genauer interpretiert werden.

5.5 Ergosterolgehalt

5.5.1 Holz

Der zeitliche Verlauf der absoluten Menge an Ergosterol läßt sich in zwei etwa gleichlange Abschnitte untergliedern. In der ersten Hälfte des Inkubationszeitraumes nahm die absolute Menge bis zur Woche 32 zu, in welcher die höchsten Werte festgestellt wurden. Im zweiten Abschnitt bis Expositionsende ging die Menge wieder bis auf das Anfangsniveau zurück. Dieser Verlauf paßt gut zu der in der Literatur vertretenen Auffassung, daß in aquatischen Ökosystemen Pilze die Erstbesiedler auf organischem Substrat sind (BÄRLOCHER, 1992a, SUBERKROPP & WEYERS, 1996, MAAMRI ET AL., 1998). Die Menge an Ergosterol nimmt insbesondere bei Buchenholz zügig zu, bei Erle war die Steigerung langsamer, und das Maximum lag deutlich unter dem der Buche. In späteren Abbaustadien treten Bakterien in Konkurrenz zu den Erstbesiedlern (BALDY ET AL., 1995, WEYERS & SUBERKROPP, 1996). Dies wird im zweiten Zeitabschnitt deutlich, währenddessen die Menge an Ergosterol wieder bis auf das in den ersten Wochen der Studie gemessene Niveau abfiel. Die Zunahme in den ersten 32 Wochen sowohl des absoluten als auch des auf Trockenmasse bezogenen Ergosterolgehaltes über den gesamten Zeitraum belegt zum einen die schnelle Besiedlung des Substrates durch Pilze. Zum anderen wird mit zunehmender Expositionsdauer die Größe der Holzklötze immer kleiner, wahrscheinlich wird aber die Oberflächenarchitektur immer komplexer, so daß es den Pilzen möglich wird, ins Innere des Substrates durch Spalten und Risse einzudringen und damit physikalische Abrasion und das Abweiden des Biofilms durch Makroinvertebraten auszugleichen. Die Artzusammensetzung der Hyphomycetengemeinschaft in dieser Studie wurde nicht untersucht. Daher ist es nicht möglich, die erhaltenen Ergosterolmengen durch Umrechnungsfaktoren als Pilzbiomasse auszudrücken. GESSNER & CHAUVET (1993) haben für 14 Stämme aquatischer Hyphomyceten Umrechnungsfaktoren bestimmt, mit deren Hilfe Pilzbiomasse quantifiziert werden kann. Intraspezifische Variabilität der Ergosterolgehalte einiger Stämme, der artspezifische physiologische Einfluß von anderen Sterolen und Lipiden auf die Ergosterolmenge sowie für ein Gewässer spezifische biotische und abiotische Faktoren lassen aber zum derzeitigen Kenntnisstand keine allgemeingültigen Umrechnungsfaktoren für beliebig in einem Fließgewässer inkubierte Proben zu, diese Methodik steckt nach der Auffassung von GESSNER & CHAUVET (1993) „noch in den Kinderschuhen“. Es hat sich die Angabe des relativen und absoluten Ergosterolgehaltes durchgesetzt, Messung der Hyphenlänge, lichtmikroskopische Untersuchungen sowie der Nachweis der pilzlichen Biomasse durch Bestimmung des ATP-Gehaltes konnten sich bislang aufgrund methodischer Probleme nicht etablieren (vgl. Methodendiskussion, Ergosterolgehalt).

Die in dieser Studie aufgenommenen Meßwerte gehen aber einher mit bislang publizierten Daten. GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) stellten während einer 161

Tage dauernden Inkubation von Birken- und Ahornholz ebenfalls einen permanenten Anstieg des Ergosterolgehaltes fest, welcher sich aber aufgrund des Bezugs auf die Oberfläche nicht direkt vergleichen läßt. TANK & WEBSTER (1998) geben absolute Mengen für den Ergosterolgehalt ihrer Proben an, sie bestimmten in einem Experiment einen Anstieg der Menge innerhalb einer Dauer von 120 Tagen und einen anschließenden Rückgang der Werte. In einem zu anderer Jahreszeit durchgeführten Parallelexperiment blieb die Ergosterolmenge über den gesamten Inkubationszeitraum auf gleichem Niveau. In der Studie von TANK ET AL. (1998) war der Expositionszeitraum mit 86 Tagen im Vergleich zu den anderen hier genannten Publikationen recht kurz, aber innerhalb dessen stellten sie in einem manipulierten Fließgewässer mit Holz als alleinigem partikulärem organischem Substrat eine permanente Mengenzunahme von Ergosterol fest. In der von SINSABAUGH ET AL. (1991a) durchgeführten Studie wurde während eines fast sechsmonatigen Probenzeitraumes der gegensätzliche Ergosterolverlauf gemessen: Zur ersten Probennahme war ihr Wert am höchsten, er nahm bis zur letzten Probennahme ab. Ein Grund für diese Meßwerte könnte die von den anderen Studien verschiedene Methode sein: SINSABAUGH ET AL. (1991a) entfernten zu jeder Probennahme lediglich den Biofilm auf der Oberfläche des Holzes, damit entging ihnen die auch zunehmend ins Innere des Substrates vordringende mikrobielle Besiedlung, was die erhaltenen Meßwerte beeinflußt haben kann.

5.5.2 Blätter

Die Besiedlung des Substrates Laub durch Pilze geht deutlich schneller als bei Holz. Die höchsten gemessenen Ergosterolwerte von ungefähr $60 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ sind bei beiden Substraten annähernd gleich, jedoch wird dieses Niveau bei Holz erst nach 60 Wochen Inkubation, bei den Blättern schon nach 7 Wochen erreicht. Da bei den Blättern im Vergleich zu den Holzwürfeln die dritte Dimension kaum von Bedeutung und ein Eindringen der Pilzhyphen aufgrund niedrigeren Ligninisierungsgrades des Blattgewebes wahrscheinlich einfacher ist, kann die Besiedlung des Substrates viel schneller erfolgen als bei Holz. Im Unterschied zu Holz steigt der Ergosterolgehalt, bezogen auf Trockenmasse, nach 7 Wochen nicht weiter an, sondern nimmt nach 9 Wochen langsam wieder ab und zeigt damit ungefähr den gleichen Verlauf wie die absolute auf einen Holzklotz bzw. auf eine Blattprobe bezogene Ergosterolmenge. Die bestimmten Werte deuten darauf hin, daß auf den Blättern die Konkurrenz durch die Bakterien oder die Erschöpfung des für die Pilze verwendbaren Substrates eher einsetzt als bei Holz.

WEYERS & SUBERKROPP (1996) fanden bei Laubproben des Tulpenbaumes einen sehr ähnlichen Verlauf der Ergosterolgehaltes, allerdings lagen die gemessenen Ergosterolmengen mit Werten bis knapp unter $800 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ um eine Zehnerpotenz über den Werten der vorliegenden Arbeit. SUBERKROPP ET AL. (1993)

inkubierten Blätter des Tulpenbaumes in Labormikrokosmen unter standardisierten Bedingungen und ließen jeweils nur die Besiedlung durch einen einzelnen Stamm aquatischer Hyphomyceten zu. Zwei Stämme zeigten über einen gut dreißigtägigen Inkubationszeitraum einen permanenten Anstieg der Ergosterolmenge, ein dritter zeigte den der vorliegenden Arbeit vergleichbaren Ergosterolverlauf mit Zunahme bis zum 15. Inkubationstag und anschließender Abnahme. Einen ähnlichen Zeitverlauf des Ergosterolgehaltes bestimmten auch GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) mit Birken- und Ahornblättern innerhalb von 11 Wochen Inkubation und SUBERKROPP (1995) in zwei von drei Fließgewässern während einer 80-tägigen Exposition mit Blättern von *Liriodendron tulipifera*. Im dritten Fließgewässer nahm der Ergosterolgehalt zu und verblieb nach ungefähr 40 Tagen auf einem Niveau. In seiner Studie lag der Gehalt mit Werten bis zu $1000 \mu\text{g (g TG)}^{-1}$ um eine Zehnerpotenz höher als in der vorliegenden Arbeit. Die bislang fast immer gefundenen Trends im Verlauf der Ergosterolmenge über die Zeit (schnelle Besiedlung, rasche Zu- mit anschließender Abnahme) zeigten auch GESSNER & CHAUVET (1997) für Mikrokosmos- und Freilandstudien mit Erlenlaub, GESSNER & CHAUVET (1994) für 7 verschiedene Blattarten in einem Fließgewässer mit maximal 28-wöchiger Inkubation sowie BALDY ET AL. (1995) mit Weiden-, Pappel- und Platanenlaub bei einer Inkubationszeit von 20 Wochen in einem Freilandexperiment. SUBERKROPP (1997) verwendete die von GESSNER & CHAUVET (1993) (siehe oben, Ergosterolgehalt, Holz) vorgeschlagenen Umrechnungsfaktoren und gibt die Pilzbiomasse in den zwei verschiedenen Einheiten g (g TG)^{-1} sowie g m^{-2} an. Es handelt sich in seiner Publikation allerdings nicht um ein Dekompositionsexperiment der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Art, sondern er sammelte über die Dauer eines ganzen Jahres zufällig im Fließgewässer gefundene Blätter und analysierte die Pilzbiomasse auf ihnen. Diese war zur Zeit des Laubfalles am größten. Insgesamt ist trotz unterschiedlichen Versuchsaufbaues, trotz unterschiedlicher abiotischer Verhältnisse und trotz unterschiedlichen Inkubationsmaterials ein Trend im Abbau von Blättern in Fließgewässern klar ersichtlich: Auf eine rasche Zunahme an pilzlicher Biomasse folgt nach bestimmter Zeit ein meist ebenso rascher Rückgang. Dies wurde für Buchen- und Erlenlaub im Breitenbach bestätigt.

5.6 Enzymaktivitäten

Im folgenden stellen die Angaben zu Enzymaktivitäten jeweils Aussagen bezogen auf die Trockenmasse des Substrates dar, sofern nicht ausdrücklich von absoluten Werten (enzymatische Aktivität pro Klotz oder Probe) gesprochen wird.

5.6.1 Cellulolytische Enzyme

β -Glucosidase, β -Xylosidase, Cellobiohydrolase und Endocellulase

5.6.1.1 Holz

Schon früh nach Inkubationsbeginn war die Aktivität der cellulolytischen Enzyme auf den Holzproben meßbar, β -Glucosidase, β -Xylosidase und Endocellulase nach einer Woche, Cellobiohydrolase nach zwei Wochen Expositionszeit. Dies spiegelt die schnelle Besiedlung des Substrates durch Mikroorganismen wider. Innerhalb der gesamten Verweildauer der Proben im Wasser ergaben sich für die einzelnen Enzyme unterschiedliche Verläufe. Die Aktivität der Endocellulase stieg mit der Zeit immer mehr an, gegen Ende wurden die höchsten Meßwerte bestimmt. Dabei waren die Aktivitäten für Erlenholz deutlich höher als für Buchenholz. Dieser Trend ist eindeutig und steht im Zusammenhang mit der Tatsache, daß mit fortdauernder Inkubation von außen nach innen immer mehr Material den Mikroorganismen zur Verfügung stand. Die Holzklötze wurden zwar immer kleiner, jedoch wurde durch physikalische Abrasion und durch mikrobielle Aktivität die Oberfläche komplexer und wahrscheinlich größer. Pilzhyphen und Bakterien fiel es leichter, auch in Material vorzudringen, welches ihnen zu Versuchsbeginn noch verwehrt war. Gestützt wird diese These durch den Verlauf des Ergosterolgehaltes, der auch während des Expositionszeitraumes kontinuierlich anstieg (Abschnitt Ergosterolgehalt). Ähnliche Trends im Verlauf der Endocellulaseaktivität sind belegt durch die Studien von GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) sowie TANK & WINTERBOURN (1995, 1996) und SINSABAUGH ET AL. (1992b). SINSABAUGH ET AL. (1991a) maßen auf ihren Holzproben einen Monat nach Versuchsbeginn die höchste Endocellulaseaktivität, in der darauffolgenden Probennahme die niedrigste und bei den beiden späteren Probennahmen wieder steigende Werte. Es ist klar, daß sie in epilithischen Biofilmen fast keine Endocellulaseaktivität messen konnten. Auch TANK & WINTERBOURN (1996) stellten fest, daß Endocellulaseaktivität auf Steinen fast nicht meßbar ist. Auf mineralischem Untergrund steht für diese Enzyme nicht genügend Substrat zur Verfügung, so daß hier eine Produktion von Endocellulasen für Mikroorganismen keinen Vorteil bringen würde. Da in den einzelnen Arbeiten die Aktivität dieses Enzyms teilweise auf Trockenmasse, teilweise aber auch auf Flächeneinheiten des Substrates bezogen werden, können mit der vorliegenden Arbeit nur die Trends, aber keine absoluten Werte verglichen werden. Dennoch passen die im Breitenbach gemessenen Endocellulaseaktivitätstrends der Holzproben gut in die Daten aus der Literatur.

Bei den anderen drei in ihrer Aktivität bestimmten cellulolytischen Enzymen war ein Trend über die Inkubationszeit nicht oder nur in Ansätzen vorhanden. Einige Gemeinsamkeiten sind jedoch für alle drei Enzyme augenscheinlich: Bei Bezug der enzymatischen Aktivität auf die Trockenmasse hatte fast stets Erlenholz die größeren Werte zu verzeichnen. Die absolute Aktivität war jedoch nahezu durchgehend auf den Buchenklötzen größer als auf Erle. Erlenholz besitzt aber eine geringere Masse pro Volumeneinheit (Abschnitt Ergebnisse, Masseabnahme), dies erklärt die höheren enzymatischen Aktivitäten bei Bezug auf die Trockenmasse. Die Aktivität dieser drei cellulolytischen Enzyme konnte stets nach β -Glucosidase > Cellobiohydrolase > β -Xylosidase abgestuft werden.

Bei der β -Glucosidase waren die Aktivitätswerte zwar zum Ende höher als zu Beginn der Probennahmen. Zwischenzeitlich nahm die Aktivität aber auch wieder ab, und so ließ sich für dieses Enzym kein genereller Trend feststellen. Insgesamt lag die Aktivität dieses Enzyms aber stets zwischen Faktor 4 und 8 höher als die der β -Xylosidase und Cellobiohydrolase. Bei der Verlaufskurve der β -Xylosidase fällt der außerordentlich hohe Wert in Probenwoche 32 auf. Da ein Fehler in der Versuchsdurchführung an diesem Probenstag nicht ganz ausgeschlossen werden kann, bleiben die Meßwerte zu diesem Probenstermin für die weitere Interpretation außer Betracht. Auch für die β -Xylosidase war kein eindeutiger Trend der Aktivität festzustellen, sondern die Meßwerte zeigten permanente Schwankungen, wobei die Messungen benachbarter Probenstermine gut zueinander paßten und so auf eine Kontinuität der Zu- oder Abnahme schließen ließen. Bei der Cellobiohydrolaseaktivität könnte man einen schwachen Trend der Zunahme über den gesamten Inkubationszeitraum erkennen, wenn nicht in Woche 53 ein starker und in Woche 66 ein noch größerer Rückgang der Werte zu verzeichnen gewesen wäre. Aufgrund der Meßdaten dieser beiden Probenstermine muß auch für dieses Enzym von einem zumindest im letzten Probedrittel undifferenzierten Aktivitätsverlauf gesprochen werden.

Die Literatur macht für extrazelluläre cellulolytische Enzymaktivitäten im Abbau von Holz unterschiedliche Aussagen. SINSABAUGH ET AL. (1992b) stellten über einen achtmonatigen Inkubationszeitraum einen Anstieg der β -Glucosidase-Aktivität fest. Da ihre Untersuchung im Winter startete, im Hochsommer beendet war und sie in ihrer Studie eine Schwankung der Wassertemperatur von 20 °C angeben, könnte allein dieser Parameter für eine Aktivitätssteigerung verantwortlich sein. Zusätzlich verwenden sie eine zur vorliegenden Arbeit unterschiedliche Bestimmungsmethode. Die Aktivität lag bei ihnen zwischen 0 und 22 $\mu\text{mol (g TG)}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und damit bis zu einer Größenordnung niedriger als in der vorliegenden Arbeit. Den gleichen Trend der Aktivitätssteigerung stellten sie für die β -Xylosidase fest, die mit Aktivitäten zwischen 0 und 6,5 $\mu\text{mol (g TG)}^{-1} \text{ h}^{-1}$ auch deutlich unter den Meßwerten der vorliegenden Arbeit lag. Während der ersten 24 Inkubationswochen wurde auch in der vorliegenden Studie eine Aktivitätszunahme für β -Glucosidase und β -Xylosidase gemessen. Ebenso einen Anstieg der β -

Glucosidaseaktivität während eines Versuchszeitraumes von 24 Wochen stellten SCHOLZ & BOON (1993) fest. Ihre Enzymbestimmung beruht allerdings auf der Inkubation mit chromogenen Substanzen, die eine längere Inkubationszeit benötigen (Methodendiskussion, Abschnitt Cellulolytische Enzyme) und der Tatsache, daß sie lediglich den Oberflächenbiofilm in ihren Proben berücksichtigen. Ihre Ergebnisse sind auf die Oberfläche bezogen und können in ihren Werten nicht mit der vorliegenden Arbeit verglichen werden. Diesen Trend der Aktivitätssteigerung für die β -Glucosidase fanden auch GOLLADAY & SINSABAUGH (1991), die ebenfalls für 24 Wochen ihre Holzproben im Fließgewässer inkubierten. Auch sie beziehen die enzymatische Aktivität auf die Oberfläche der Proben. SINSABAUGH ET AL. (1991a) stellten während ihres Untersuchungszeitraumes von 5 Monaten an 4 Probestermine schwankende β -Glucosidaseaktivitäten ohne Trend fest. Für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten cellulolytischen Enzyme bestimmten TANK ET AL. (1998) ebenfalls eine Aktivitätssteigerung an drei Probestermine innerhalb einer Expositionsdauer von 86 Tagen. Ihre Aktivitätswerte für alle Enzyme liegen unter den gemessenen Werten der vorliegenden Arbeit, was durch eine unterschiedliche Methodik hervorgerufen sein kann. β -Glucosidase stieg auf maximal 20, β -Xylosidase auf 4 und Cellobiohydrolase auf $10 \mu\text{mol (g TG)}^{-1} \text{ h}^{-1}$ an. Trotz teilweise sehr verschiedener Methoden und unterschiedlichem Probenmaterial in den einzelnen Studien besteht Gemeinsamkeit darin, daß die Aktivität der cellulolytischen Enzyme zumindest während der ersten 24 Inkubationswochen ansteigt. Die vorliegende Arbeit geht als einzige über den Zeitrahmen bisheriger Studien hinaus und stellt für die Exposition danach eine wechselnde enzymatische Aktivität für β -Glucosidase, β -Xylosidase und Cellobiohydrolase sowie einen weiteren Aufwärtstrend für Endocellulase fest.

5.6.1.2 Blätter

Beim Vergleich der cellulolytischen enzymatischen Aktivität der Blattproben waren Gemeinsamkeiten zwischen den Enzymen genauso festzustellen wie Parallelen zu den Holzproben.

Bei der Endocellulase war über den gesamten Inkubationszeitraum eine Zunahme der Aktivität zu verzeichnen, die bei Erlenlaub viel stärker ausgeprägt war als bei Buchenlaub. Der Maximalwert bei Buche nach 31 Wochen Exposition war bei Erle schon nach 9 Wochen Inkubation übertroffen worden. Diese permanente Aktivitätszunahme wurde auch bei Holz beobachtet (Ergebnisse, Cellulolytische Enzyme, Holz und Ergebnisdiskussion, s.o.), sie war jedoch bei den Blattproben deutlich stärker ausgeprägt. Bei gleicher Masse von Holz- und Blattmaterial ist die Oberfläche bei Blättern viel größer als bei Holz, dadurch bietet sich den Mikroorganismen eine deutlich größere Angriffsfläche, was in einer höheren enzymatischen Aktivität in Blattproben resultiert. Außerdem ist ein Eindringen in innere Blattschichten für Bakterien und Pilzhyphen einfacher als bei Holz, ein Grund dafür ist der im Vergleich zu Blättern bei Holz größere Gehalt an

schwerabbaubarem Material wie Cellulose oder Lignin (TANK ET AL., 1993). Vergleichsstudien für die gefundenen Aktivitätswerte sind nur sehr wenige vorhanden. GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) stellten während einer 80 Tage dauernden Inkubationszeit im ersten Drittel eine Aktivitätssteigerung und in den darauf folgenden zwei Dritteln wieder eine Aktivitätsminderung auf das Ausgangsniveau nahe Null fest. JENKINS & SUBERKROPP (1995) inkubierten Blätter in zwei Fließgewässern unterschiedlichen Chemismus, insbesondere unterschiedlichen pH-Wertes. Im saureren der beiden Gewässer war kein Trend in der Endocellulaseaktivität während einer 130 Tage dauernden Inkubation festzustellen, während der Verlauf im basischeren der beiden Gewässer über eine Dauer von 70 Tagen ungefähr dem von GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) beschriebenen folgte. Allerdings verblieben die Aktivitäten über 50 Tage auf hohem Niveau, bevor sie wieder absanken. LINKINS ET AL. (1990a) stellten bei drei verschiedenen amerikanischen Holzarten unterschiedliche Aktivitätsverläufe fest. Während Ahorn und Eiche innerhalb von 150 Tagen Inkubation langsam ein Maximum erreichten und dann schnell in ihren Aktivitäten abfielen, maßen sie für *Cornus florida* – Holz über 70 Tage eine permanente Aktivitätssteigerung. LINKINS ET AL. (1990b) untersuchten in einer terrestrischen Mikrokosmosstudie dieselben Holzarten wie LINKINS ET AL. (1990a), hier war bei allen drei Holzarten ein Aufwärts- und folgender Abwärtstrend, allerdings zu unterschiedlichen Zeiten, zu beobachten. Da, wie schon bei der Diskussion der Aktivitäten auf Holz angesprochen, sich noch keine standardisierten Einheiten für die Aktivitätsmessungen von Enzymen durchgesetzt haben, können auch hier nur Trends, keine Werte verglichen werden. Die vorliegende Arbeit zeigt Übereinstimmung mit einigen Studien, zum Teil wurden in anderen Arbeiten jedoch auch unterschiedliche Verläufe beobachtet. Auf mögliche Ursachen wird weiter unten eingegangen.

Wie auch bei der Endocellulase waren die Aktivitäten von β -Glucosidase, β -Xylosidase und Cellobiohydrolase in den Blattproben deutlich größer als in den Holzproben. Für diese drei Enzyme wurden folgende Gemeinsamkeiten gefunden: Die Aktivität der Blattproben lag generell höher als die der Holzproben. In der Anfangsphase stieg die Aktivität bis zu einem Maximalwert an. Dieser lag für die β -Glucosidase sowie für die β -Xylosidase in den Buchenblattproben in Woche 9, für die β -Xylosidase in den Erlenblattproben und die Cellobiohydrolase in Woche 7. Es konnte nicht analysiert werden, ob der Wert der β -Glucosidase in den Erlenlaubproben in Woche 9 ein Maximum darstellt, weil aufgrund fortgeschrittenen Abbaues keine weitere Probenahme möglich war. Nach diesem Anstieg erfolgte für alle Enzyme bei Buchenlaub wieder eine Abnahme der Aktivität. Bei Erlenlaub war diese Aktivitätsminderung für β -Xylosidase und Cellobiohydrolase zum Probenstermin in Woche 9 zumindest angedeutet. Zum Inkubationsende hin stieg bei der β -Glucosidase und der Cellobiohydrolase die Aktivität wieder an, bei der β -Xylosidase hielt sie sich auf gleichbleibendem Niveau.

Bis auf die Studie von LINKINS ET AL. (1990b) war die Inkubationszeit im Gewässer in allen anderen Dekompositionsexperimenten, in welchen eines der drei hier genannten Enzyme in seiner Aktivität bestimmt wurde, kürzer. GOLLADAY &

SINSABAUGH (1991) stellten für die β -Glucosidase innerhalb von 80 Tagen den gleichen Aktivitätsverlauf wie für Endocellulase fest: Einem Anstieg innerhalb von 25 Tagen folgte ein Rückgang der Werte bis zum Ende des Experiments. Innerhalb des gleichen Zeitraumes wurde für β -Glucosidase, β -Xylosidase und Cellobiohydrolase in der vorliegenden Arbeit der gleiche Trend beobachtet. SINSABAUGH & GOLLADAY (1991) stellten nach 80 Tagen die weitere Inkubation ein, obwohl das Blattmaterial noch nicht vollständig abgebaut war. Andere Arbeiten bearbeiteten nicht die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Enzyme. LINKINS ET AL. (1990a) bestimmten die Aktivität einer Exocellulase. Trotz unterschiedlicher Methodik nahm die Aktivität für drei unterschiedliche Blattarten (s.o.) zunächst zu und im Anschluß daran bis zum Versuchsende nach 150 Tagen langsam wieder ab. Diesen Trend fanden auch LINKINS ET AL. (1990b), wobei in dieser Studie die Inkubation 260 Tage dauerte. Sie untersuchten ebenfalls eine nicht näher beschriebene Exocellulase. Wahrscheinlich sind mit dem Ausdruck Exocellulase mehrere an den Moleküleenden der Cellulose wirkende hydrolytisch wirkende Enzyme gemeint, die in ihrer Gesamtheit mit einer Methode erfaßt werden. Ebenfalls die Aktivität einer Exocellulase in einem Dekompositionsexperiment untersuchten GRIFFITH ET AL. (1995). Über die Versuchsdauer von 120 Tagen konnten sie für die Blätter dreier amerikanischer Baumarten in drei unterschiedlichen Gewässern keinen Trend in der enzymatischen Aktivität feststellen. Die Literatur zeigt, daß die Vergleichsmöglichkeiten zur vorliegenden Studie rar sind. Für die ersten 100 Inkubationstage sind Parallelen mit bereits durchgeführten Experimenten vorhanden, die vorliegende Arbeit unterstützt diese. Unterschiede im Abbauprozess zwischen Holz und Blättern werden zumindest für die drei extrazellulären Enzyme β -Glucosidase, β -Xylosidase und Cellobiohydrolase augenscheinlich.

5.6.1.3 Aktivitätsverlauf der cellulolytischen Enzyme

Obwohl die in dieser Arbeit bestimmten für den Celluloseabbau wichtigen Enzyme (z. B. JONES & LOCK, 1989, SINSABAUGH ET AL., 1991b) miteinander gut korreliert sind (siehe Anhang), zeigen sie doch einen uneinheitlichen Verlauf. Gründe dafür werden in der Literatur kontrovers diskutiert. Es gibt zwei unterschiedliche Modelle für eine Aktivitätsänderung extrazellulärer Enzyme in natürlichem Umfeld. Die mikrobiellen Lebensgemeinschaften im Fließgewässer beziehen ihre Energie hauptsächlich aus gelöstem und partikulärem organischen Material [gelöster organischer Kohlenstoff, (DOC), sowie partikulärer organischer Kohlenstoff, (POC)] (z.B. THURMAN, 1986, PUSCH ET AL., 1998), das beides in kleineren Bächen eher allochthonen als autochthonen Ursprunges ist (z. B. LEICHTFRIED, 1996). Wesentliche Anteile werden in der Regel gestellt durch Grundwasserzuflüsse, (FIEBIG, 1995), durch Oberflächenzuflüsse und durch allochthone und autochthone Makrophyten (z. B. MANN & WETZEL, 1996), kaum durch Niederschläge (PUSCH ET AL. 1998). Für den Breitenbach wurden diese Daten durch MARXSEN ET AL. (1997)

zusammengetragen. Der Haupteintrag (42 %) an organischem Material gelangt in gelöster Form durch das Grundwasser in den Bach. Die Werte für den Eintrag partikulären Materials werden mit 27 % und die der autochthonen Primärproduktion mit 31 % angegeben.

Das gelöste organische Material besteht aus niedermolekularen (KAPLAN & BOTT, 1983) und hochmolekularen (AMON & BENNER, 1996) Verbindungen. Kleine Moleküle können die Mikroorganismen inkorporieren, dies ist jedoch nur ein unerheblicher Teil des gesamten DOC (MÜNSTER, 1985). Für größere bedienen sie sich der extrazellulären Enzyme, die meist zellgebunden größere Komponenten spalten und für die Mikroorganismen damit verfügbar machen (z. B. CHRÓST, 1990).

Das eine Modell beschreibt den Vorgang, daß bei steigenden DOC-Konzentrationen im Gewässer die extrazelluläre enzymatische Aktivität sinkt (z. B. MIDDELBOE & SONDERGAARD, 1993). Die Synthese extrazellulärer Enzyme wird gehemmt, da die Menge leicht aufnehmbarer Verbindungen groß genug und die ständige Neubildung der Enzyme für die extrazelluläre Hydrolyse energetisch ungünstig ist. Im anderen Modell steigt die Aktivität der Enzyme bei einer sich erhöhenden DOC-Konzentration an (z. B. CHRÓST, 1992). Hier wird davon ausgegangen, daß bei einem erhöhten Nahrungsangebot auch die Stoffwechselforgänge angekurbelt werden und diese eine höhere enzymatische Aktivität hervorrufen. Höchstwahrscheinlich sind in natürlichen Systemen beide Modelle miteinander verwoben (HOPPE ET AL., 1988). Zusätzlich zu diesen beiden Theorien wird in der Literatur die Möglichkeit der Enzymhemmung durch Huminstoffe und Tannine diskutiert. Huminstoffe entstehen aus abgestorbenem Pflanzenmaterial (FALBE & REGITZ, 1990) und stellen den wesentlichen Anteil des DOC im Fließgewässer (WETZEL, 1992, GREMM & KAPLAN, 1997, PUSCH ET AL. 1998). Sie werden während des Transportes verändert (VOLK ET AL., 1997), sind daher kaum identifizierbar (MÜNSTER, 1985, THURMAN, 1986) und können extrazelluläre Enzyme in ihrer Aktivität einschränken (HASLAM, 1978, WETZEL, 1990) oder fördern (STEWART & WETZEL, 1982). Von der Gallussäure abstammende Tannine entstehen unter anderem beim Ligninabbau (FALBE & REGITZ, 1992). Sie unterliegen dem leaching und gelangen so in gelöster Form ins Wasser (SCHOFIELD ET AL., 1998). Ihre Hemmeigenschaften sind eindeutig belegt (GOLDSTEIN & SWAIN, 1965, BENOIT & STARKEY, 1968, CHAMIER, 1987, STOUT, 1989, GESSNER & CHAUVET, 1994). Die Vielzahl beschriebener möglicher Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen, ihrem Metabolismus und ihrer unmittelbaren Umgebung, aber ihre eingeschränkte Quantifizierbarkeit sorgen dafür, daß die auch in dieser Arbeit vorhandenen Schwankungen der extrazellulären enzymatischen Aktivität keinem besonderen Phänomen zugeschrieben werden können.

5.6.2 Ligninolytische Enzyme

Phenoloxidase, Peroxidase

5.6.2.1 Holz

Phenoloxidase und Peroxidase zeigten einen völlig unterschiedlichen Verlauf im Vergleich zu den cellulolytischen Enzymen. Die Aktivität war zum ersten Mal für Phenoloxidase nach sieben Tagen der Exposition bestimmbar. Auch die Peroxidase war auf den Erlenholzproben zum ersten Mal nach einer Woche meßbar, auf Buchenholz erst nach 4 Wochen. Die rasche Bildung dieser beiden Enzyme nach Versuchsbeginn zeigt wie die cellulolytischen Enzyme die rasche Besiedlung durch Mikroorganismen an. Bei der Phenoloxidase auf den Buchenholzproben erreichte die Aktivität sehr rasch nach 4 Wochen Inkubation ihren maximalen Wert und ging danach bis zum Versuchsende kontinuierlich zurück. Auf den Erlenholzproben stieg die Phenoloxidaseaktivität langsamer an, ungefähr in der Mitte des Experiments in Woche 36 wurden die höchsten Aktivitäten gemessen, im Anschluß daran erfolgte auch auf Erle ein kontinuierlicher Rückgang. Dieser Trend wurde auch in Ansätzen bei der Peroxidase gefunden. Hier erreichten die Erlenholzproben viel schneller als die Buchenholzproben den Maximalwert der Aktivität nach 8 Wochen Inkubation, der höchste Meßwert auf Buchenholz wurde nach 18 Wochen gemessen. Im Gegensatz dazu wurden in anderen Studien unterschiedliche Aktivitätsverläufe dieser Enzyme bestimmt: GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) stellten für Phenoloxidase vom Versuchsstart bis zum Ende des Experiments nach 170 Tagen eine durchgehende Steigerung der Werte fest. Bis zu einem Zeitpunkt zwischen 90 und 125 Tagen nach Probenbeginn maßen sie eine Aktivitätszunahme auch für die Peroxidase, danach sanken diese Aktivitäten wieder. In der Studie von TANK ET AL. (1988) konnten die Ergebnisse von GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) zumindest teilweise bestätigt werden. Zu drei Probenahmen im Zeitraum von 86 Tagen nach Versuchsbeginn stiegen sowohl für Phenoloxidase als auch für Peroxidase die Aktivitäten an. SINSABAUGH ET AL. (1992b) maßen in einem Langzeitexperiment, das über zweieinhalb Jahre lief, an einer Probenstelle einen permanenten Anstieg der Phenoloxidaseaktivität, an einer anderen Probenstelle stiegen die Aktivitäten eineinhalb Jahre lang an und gingen im Anschluß daran wieder zurück. Sie geben die Aktivität in derselben Einheit wie in der vorliegenden Arbeit an, deshalb kann hier ein direkter Vergleich erfolgen. In der vorliegenden Arbeit liegt die Phenoloxidaseaktivität über die gesamte Expositionszeit zwischen 0 und $8,3 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$. In der Studie von SINSABAUGH ET AL. (1992b) erreichten die ständig an Aktivität zunehmenden Proben der ersten Probenserie den höchsten Aktivitätswert nahe $5 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$, während das Maximum der zweiten Probenserie bei ungefähr $15 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ lag. Die Aktivitäten beider Studien liegen im selben Bereich. SINSABAUGH ET AL. (1991a) konnten in ihrem Experiment, in welchem sie 5 Monate lang Holzproben in einem Fließgewässer exponierten, keinen Trend der Phenoloxidase und Peroxidase im

Verlauf über die Zeit messen. Die Aktivitäten beider Enzyme waren aber mit höheren Werten bis zu $25 \mu\text{mol h}^{-1} (\text{g TG})^{-1}$ präsent.

Der Vergleich der vorliegenden Arbeit mit den zitierten Studien zeigt folgendes auf: Betrachtet man den gleichen Zeitraum einer Exposition von Holz in einem Fließgewässer, steigt unabhängig von der Holzart die Aktivität von Phenoloxidase und Peroxidase zunächst an. Dies dokumentiert die Besiedlung des Substrates durch die Mikroorganismen. Dieser Anstieg geht unterschiedlich schnell vonstatten. Nach einer wahrscheinlich für die Holzart und die speziellen abiotischen und biotischen Parameter des Fließgewässers charakteristischen Zeit erreichen die Aktivitäten ein Maximum und fallen daraufhin wieder ab. Auch dieser Trend konnte sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in der Studie von SINSABAUGH ET AL. (1992b) festgestellt werden.

Einige in der Literatur gefundenen Studien verfolgen Abbauprozesse von Holz nur über eine relativ kurze Expositionszeit zwischen 86 Tagen (TANK ET AL., 1998) oder 150 Tagen (SINSABAUGH ET AL., 1991a). Damit werden später im Abbauprozess auftretende Phänomene nicht mit erfasst. Zusätzlich werden in den eben genannten Arbeiten insbesondere in den Anfangsstadien der Exposition die Untersuchungsintervalle mit teilweise dreimonatigem Intervall relativ groß gewählt. Die schnell vonstatten gehende Besiedlung des Substrates zu Beginn der Inkubation kann mit einem großen Abstand zwischen zwei Probennahmen nicht registriert werden. Die für die vorliegende Arbeit gewählte Zeit von 4 Wochen zwischen 2 Probennahmen kann für einige Parameter wie z.B. die Endocellulase, den Masseabbau oder den Ergosterolgehalt (siehe dort) als ausreichend angesehen werden, da aber die Sprünge in der Aktivität z.B. bei der Peroxidase zwischen zwei Probennahmen sehr groß sind, wären hier kleinere Probenintervalle wünschenswert, um eventuell eintretende Aktivitätsschwankungen durch z. B. Hemmeffekte der ligninolytischen Enzyme (PIND ET AL., 1994) besser zu erfassen. In einer einzigen Arbeit, der von GOLLADAY & SINSABAUGH (1991), wurden Proben innerhalb des ersten Monats nach Inkubationsbeginn genommen und analysiert. Da gerade in den ersten Wochen das Substrat schnell besiedelt wird, sind vermehrte Probennahmen innerhalb dieses Zeitraumes anzuraten, um die Inanspruchnahme des Habitats durch die mikrobiellen Lebensgemeinschaften mitzuverfolgen, wenn man an dieser Fragestellung interessiert ist. Wie auch bei den cellulolytischen Enzymen ist aufgrund zum Teil widersprüchlicher Literaturangaben zur Zeit noch keine generelle Aussage möglich.

5.6.2.2 Blätter

Im Gegensatz zu Holz waren die ligninolytischen Enzyme schon zur ersten Probennahme auf den Blättern nachzuweisen. Die Aktivität war teilweise größer als die Maximalwerte der Holzproben während der gesamten Studie. Da das

Blattmaterial frisch vom Baum gepflückt wurde, muß es sich bei der bestimmten Aktivität um die von Luft- oder terrestrischen Keimen handeln. Im Aktivitätsverlauf werden Parallelen zu Holz deutlich. Auf einen Anstieg bis zu einem Maximum folgte bei Buche ein Rückgang der Aktivitäten. Dies war insbesondere bei den langsamabbauenden Buchenblättern gut zu beobachten. Das Erlenlaub, welches schnell abgebaut wird, veranschaulichte diese Aktivitätsverläufe nur im Ansatz. Dieser Auf- und Abwärtstrend ist nicht eindeutig zu erklären. Es kommen für eine Aktivitätsänderung die gleichen Gründe in Frage wie die für cellulolytische Enzyme genannten (s.o.), nämlich verschiedene biotische und abiotische, für das Gewässer charakteristische Faktoren. Zusätzlich ist aber auch eine während des Abbaus im Fließgewässer stattfindende chemische Zustandsänderung des Substrats Lignin möglich (SUBERKROPP ET AL., 1976, GESSNER, 1991a), die im Zusammenhang mit dem Ligningehalt angesprochen wird (s.u.). In einer einzigen Arbeit wurde ebenfalls die ligninolytische Aktivität von Blattproben gemessen. GOLLADAY & SINSABAUGH (1991) stellten zu Versuchsbeginn zunächst einen ungefähr 10 Tage andauernden Rückgang in der Aktivität fest. Daraufhin stiegen die Werte für beide Enzyme mit einem Zwischentief bis zu Versuchsende nach 80 Tagen an. In der vorliegenden Arbeit wurden innerhalb der ersten 3 Inkubationswochen keine Probenahmen in kleinem Zeitintervall durchgeführt, daher kann keine Aussage darüber gemacht werden, ob bei Erlen- oder Buchenholz auch ein anfänglicher Rückgang der ligninolytischen Aktivität auftritt oder nicht auftritt. Dieses zu Versuchsbeginn relativ große Zeitintervall wurde hervorgerufen durch methodische Problemen, die die gleichzeitige Inkubation mit den Holzproben verursachte. Aussagen über die anfängliche Besiedlung des Erlenlaubes im aquatischen Habitat können aufgrund der vorliegenden Studie nicht gemacht werden (s.o., Holz).

5.6.3 Zusammenfassung der Enzymaktivitäten

Die in dieser Studie untersuchten extrazellulären Enzyme zeigten trotz der Unterschiedlichkeit der Substrate und Inkubationszeiträume Gemeinsamkeiten. Alle extrazellulären Enzyme waren schon nach sehr kurzer Zeit der Exposition bestimmbar, ein deutliches Zeichen für die Besiedlung durch Mikroorganismen. β -Glucosidase, β -Xylosidase und Cellobiohydrolase hatten relativ ähnliche Verlaufskurven (siehe Korrelationen im Anhang). Da diese drei Enzyme am selben Molekül wirken, ist dies nicht verwunderlich. Es war jedoch über den gesamten Inkubationszeitraum keine eindeutige Tendenz im Verlauf der Aktivität über die Zeit festzustellen. Ein Zusammenspiel diverser biotischer und abiotischer Faktoren, mögliche Hemmung durch Tannine und Huminstoffe sowie unterschiedliche Mechanismen zur Aktivitätssteigerung oder- minderung durch das Angebot an gelöster organischer Substanz haben dazu geführt, daß ein Trend während der Versuchszeit nicht zu beobachten war.

Im Gegensatz dazu war bei den ligninabbauenden Enzymen Phenoloxidase und Peroxidase eine Gemeinsamkeit zu beobachten. Es erfolgte bei Holz und Blättern ein relativ rascher Anstieg der Aktivität bis zu einem Maximum. In Anschluß daran nahmen die Aktivitäten wieder ab, in einigen Fällen lagen sie am Ende beinahe bei Null. Zu Beginn der Studie war der Ligninabbau nach kurzer Zeit relativ intensiv, was mit hoher ligninolytischer Aktivität übereinstimmt. In den späteren Phasen der Experimente nahm die ligninolytische Aktivität ab. Diese Abnahme kann durch die Verbindung des Lignins mit anderen Molekülen zu sogenanntem Artefaktlignin erklärt werden. Die Substanz ist refraktär und wird als solche im Bestimmungsgang erfaßt, aufgrund der Verbindung mit anderen Komponenten ist sie für die in dieser Studie bestimmten ligninolytischen Enzyme nicht mehr ausreichend angreifbar. Eine Folge davon kann eine Aktivitätsminderung sein.

Als einziges Enzym zeigte die Endocellulase über den gesamten Expositionszeitraum einen mehr oder weniger kontinuierlichen Anstieg. Es besteht die Möglichkeit, daß sich Organismen, die Endocellulase produzieren, erst zu späterem Zeitpunkt in größerer Anzahl auf den Substraten etabliert haben und damit die Aktivität der Endocellulase vergrößerten. Eventuell bestand aber in frühen Stadien der Experimente kein Erfordernis zur Bildung von Endocellulase, da noch ausreichend angreifbare Moleküle für Cellobiohydrolase und β -Glucosidase zur Verfügung standen. In späteren Phasen wurde durch die Aktivität der Endocellulase die Anzahl der Moleküle der Cellulose erhöht und somit eine neue Wirkungsmöglichkeit für die außen an der Cellulose angreifenden Enzyme geschaffen.

Insgesamt muß festgestellt werden, daß bei der großen Anzahl von Dekompositionsexperimenten in Fließgewässern die Betrachtung mikrobieller Parameter, insbesondere der mikrobiellen Enzyme, ausgenommen die Pilzbiomasse (Abschnitt Ergosterolgehalt), bisher kaum Beachtung gefunden hat. Die immer noch nicht ausgereifte Methodik kann am ehesten als Grund dafür angesehen werden. Es lassen sich jedoch mit dem für eine mikrobielle Population wichtigen Parameter extrazelluläre Enzymaktivität (z. B. CHRÓST, 1990, TANK ET AL., 1998) Aussagen über die Aktivität der Organismengesellschaft und die Unterschiede zwischen verschiedenen Substraten machen, die in Verbindung mit anderen Parametern schließlich zum vollständigen Verständnis der Abbauvorgänge im Fließgewässer einen Beitrag leisten können.

5.7 Die Bedeutung des Abbaus von Holz und Blättern in Fließgewässern

Die vorliegende Studie verfolgte den Abbau zweier für Fließgewässer wichtiger Substrate (Holz und Blätter) unter besonderer Beachtung der Beteiligung von Mikroorganismen. Es konnte für beide Substrate gezeigt werden, daß sehr schnell nach Eintrag des Materials in das Fließgewässer eine mikrobielle Besiedlung erfolgt. Extrazelluläre Enzymaktivitäten, eine Folge der Inanspruchnahme des

Substrats durch die Mikroorganismen und ein Indikator für den Abbau, waren bereits nach sieben Tagen der Exposition im Breitenbach bestimmbar, wenn auch zunächst auf sehr niedrigem Niveau. Der sich anschließende schnelle Anstieg dokumentierte die rasche Annahme des Substrats durch die mikrobiellen Lebensgemeinschaften. Damit ist für beide Substrate die Bedeutung als Besiedlungsmöglichkeit und die Ausschöpfung als Nährstoffpool (s.u.) in Fließgewässern belegt. In den meisten Bächen sind Blätter und Holz immer vorhanden, wenn auch in unterschiedlichen Mengen und unterschiedlicher Zusammensetzung (ELOSEGI ET AL., 1999). Zum Beispiel sind, infolge stattfindender Hochwasserereignisse, vor allem in kleinen Bächen nach dem Zurückgehen des hohen Wasserstandes oft grobe Sedimente und Steine die einzigen zurückgebliebenen Substrate; Blätter und Holz sind dann aufgrund ihres ganzjährigen Eintrages für die Mikroorganismen wichtig für die Wiederbesiedlung. Holz wird dabei eine bedeutende Rolle zugesprochen: Obwohl es sehr langsam abgebaut wird, kann die mikrobielle Biomasse, bezogen auf die Oberfläche, auf Holz größer sein als auf Blättern (GOLLADAY & SINSABAUGH, 1991, TANK ET AL., 1993). Da Mikroorganismen im Biofilm hauptsächlich auf Oberflächen vorliegen (HOLLIBAUGH & AZAM, 1983, PETERS ET AL., 1989, PUSCH ET AL., 1998), sind damit organische Substratoberflächen ebenso bedeutend wie die der Feinsedimente, die allgemein für ihre hohe mikrobielle Aktivität bekannt sind (MARXSEN & WITZEL, 1990, 1991, BOETIUS & LOCHTE, 1994, SCHOLZ & MARXSEN, 1996).

Organische Substrate stellen wichtige Energiequellen für Gewässerorganismen im allgemeinen dar (MALONEY & LAMBERTI, 1995). Bereits mit dem Eintrag beginnt bei Blättern das Auslösen organischer Verbindungen (z.B. BÄRLOCHER, 1992), die in den DOC-Pool eingehen und von Mikroorganismen unmittelbar verwertet werden können (PUSCH ET AL., 1998). Diese leichtlöslichen Substanzen können bis zu 25 % der Blattmasse ausmachen (WEBSTER & BENFIELD, 1986, BOULTON & BOON, 1991) und sind damit ein nicht unwesentlicher Beitrag zum DOC-Gehalt in Fließgewässern (PUSCH ET AL., 1998). Für Holz wird dieser als leaching bezeichnete Vorgang als möglich angenommen (HARMON ET AL., 1986), ihm wird aber für Holz nur eine unbedeutende Rolle zugesprochen (FRANCE ET AL., 1997). Die zurückbleibende, schwerer abbaubare Substanz ist in der Regel bei Holz größer als bei Blättern (WEBSTER & BENFIELD, 1986) und unterliegt weiteren Dekompositionsprozessen. Diese Zerlegung geschieht mit wenigen Ausnahmen (einige Metazoen, einige Algen) durch die Mikroorganismen, da nur sie die notwendigen Enzyme als Voraussetzung besitzen, um chemische Bindungen in der schwerabbaubaren organischen Substanz zu spalten (z. B. OVERBECK & CHRÓST, 1990). Die enzymatische Spaltung dieser organischen Bestandteile wird als limitierender Faktor im Kohlenstofffluß eines Gewässers angesehen (HOPPE, 1993, MIDDELBOE & SONDERGAARD, 1993). Damit kommt den heterotrophen Mikroorganismen mit ihrer Fähigkeit zur Spaltung polymerer organischer Verbindungen eine wichtige Funktion innerhalb der Stoffkreisläufe aquatischer Ökosysteme zu. Auf dem Wege des „microbial loop“ wird das organische Material

in Biomasse umgewandelt (MARXSEN, 1988) und damit in die Nahrungskette eingeschleust (AZAM ET AL., 1983, TRANVIK, 1992).

Je nach Blickwinkel bestehen Unterschiede in der Qualität des organischen Materials. Betrachtet man unterschiedliche Größenklassen organischer Substrate in Fließgewässern, so werden Differenzen in der Besiedlung deutlich. Auf grobpartikulärem Material sind zunächst hauptsächlich aquatische Hyphomyceten anzutreffen (FINDLAY & ARSUFFI, 1989), erst zu einem späteren Zeitpunkt treten Bakterien hinzu. Feinpartikuläres Material wird hingegen von Bakterien dominiert, da eine effektive Besiedlung von Partikeln mit einer Größe < 1 mm durch Hyphomyceten nicht mehr möglich ist (CUMMINS ET AL., 1989). Das andere Besiedlungsmuster der unterschiedlichen Fraktionen könnte sich auch auf einen differierenden Abbau auswirken.

Unter einem anderen Blickwinkel ist die Nahrungsqualität der einzelnen Substrate zu betrachten. In vorausgegangenen Studien konnte gezeigt werden, daß sich einzelne Laubarten im Abbauverhalten in einem Fließgewässer unterscheiden (z. B. SINSABAUGH ET AL., 1981, STEWART & DAVIS, 1989, GESSNER & CHAUVET, 1994, SCHWARZ & SCHWOERBEL, 1997). Dies wurde in der vorliegenden Arbeit durch die Abbauexperimente mit Erlen- und Buchenlaub bestätigt. Bei gleichen physikalischen und chemischen Voraussetzungen bedingt wahrscheinlich die unterschiedliche Zusammensetzung des Laubes die jeweilige Geschwindigkeit des Abbaus; die Komposition der Inhaltsstoffe liefert den Mikroorganismen auch eine unterschiedliche Qualität an leicht- und schwerverwertbaren Komponenten. Dadurch erfolgt der Abbau im Fließgewässer für die eine Laubart schneller, für die andere langsamer. Die Unterschiede im Abbau wurden in der vorliegenden Arbeit auch für Holz gefunden, Erlenholz wurde deutlich schneller abgebaut als Buchenholz. Die Hauptleistung im Abbau von Holz und Blättern kommt den Mikroorganismen zu (SUBERKROPP, 1995, STOCKLEY ET AL., 1998). Dennoch ist die biotische Dekomposition organischer Substrate in Fließgewässern ein Zusammenspiel zwischen mikrobiellen Lebensgemeinschaften und Invertebraten (PARKYN & WINTERBOURN, 1997). Dabei scheinen sich Invertebraten, insbesondere bei Holz, nur bedingt vom Substrat selbst zu ernähren (ANDERSON ET AL., 1984, TANK & WINTERBOURN, 1995). ANDERSON ET AL. (1984) beobachteten, daß Holz über viele Monate im Gewässer konditioniert werden muß, bevor es durch Makroinvertebraten, denen man zumindest eine teilweise xylophage Ernährungsweise zuspricht, besiedelt und genutzt wird. Vielmehr scheint für Makroinvertebraten der Biofilm auf dem Substrat als Nahrungsquelle interessant zu sein. Dieser wird abgeweidet, dabei werden aber auch Fragmente des organischen Substrats mit abgerissen und ingestiert. Ob die abgeweideten Substratstücke auch assimiliert werden können, wird kontrovers diskutiert (z. B. BENKE & WALLACE, 1980, MATTSON, 1980, ANDERSON ET AL., 1984). Aber selbst im Falle der Wiederausscheidung des Materials durch die Invertebraten sorgen die Tiere durch die Beweidung für eine drastische Oberflächenvergrößerung des Substrates und schaffen so neue Besiedlungsmöglichkeiten für Mikroorganismen. Zusätzlich

entstehen durch das Abfressen des Biofilms auf dem Substrat selbst zusätzliche Risse und Spalten, was die Oberfläche vergrößert und den Raum für die mikrobiellen Lebensgemeinschaften erweitert. Für das Argument, daß die Makroinvertebraten hauptsächlich am mikrobiellen Biofilm interessiert sind, spricht die Tatsache, daß sich, unabhängig von der dargebotenen Art und Zusammensetzung der Substrate, das Besiedlungsmuster als auch die Besiedlungsdichte der Invertebraten nicht wesentlich voneinander unterscheidet (TANK & WINTERBOURN, 1995, SCHADE & FISHER, 1997). Insgesamt betrachtet sorgen die mikrobiellen Lebensgemeinschaften für höhere trophische Ebenen für die Verfügbarkeit von Nahrung, Invertebraten ihrerseits stellen durch Zerkleinerungsschritte Besiedlungsmöglichkeiten für die Mikroorganismen bereit.

Da bislang geeignete Methoden zur Beschreibung des Abbaus insbesondere von Holz kaum vorlagen, wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, mit Hilfe biochemischer Parameter, hauptsächlich durch die Bestimmung mikrobieller extrazellulärer Enzymaktivitäten, die Unterschiedlichkeit im Abbauverhalten der einzelnen Substrate zu erfassen. Die statistische Auswertung bestätigte Aussagen der Literatur über Differenzen im Abbau verschiedener Laubarten. Sie bestätigte auch, daß sich Buchen- und Erlenholz im Abbauverhalten im Breitenbach signifikant voneinander unterscheiden. Die Verlaufskurve des Masseverlusts zeigt, daß Erlenholz deutlich schneller als Buchenholz abgebaut wird. Dies wurde auch durch die in ihrer Aktivität bestimmten extrazellulären Enzyme und die anderen Begleitparameter deutlich.

Obwohl die Statistik die Unterschiedlichkeit zwischen Buchen- und Erlenholz belegt, so finden sich bei den biochemischen Parametern nicht die Differenzen in den Aktivitäten bzw. in den Verlaufskurven, die vor dieser Studie erwartet wurden, und welche die Unterschiede im Abbau durch die Mikroorganismen eindeutig aufzeigen sollten. Dies ist wahrscheinlich dadurch zu begründen, daß gerade für die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse und für Inhaltsstoffe von Holz und Blättern nur weniger genaue Methoden zur Verfügung stehen, die eine Interpretation der Ergebnisse erschweren. Bei der Pilzbiomasse beispielsweise hat sich mit der Bestimmung des Ergosterolgehaltes zwar eine einfach durchzuführende Methode gefunden, die einen Stoff quantifiziert, der nur in Pilzen vorkommt. Solange aber keine angemessenen Umrechnungsfaktoren vorliegen, muß dieser Parameter unter Vorbehalt verwendet werden. Der Versuch, in der vorliegenden Arbeit als Parameter für mikrobielle Biomasse den Gehalt der Probe an Phospholipiden heranzuziehen, gelang zwar methodisch, zeigte aber keine Ergebnisse, die eine eindeutige Interpretation zugelassen hätten. Von der Verwendung dieses Parameters zur Quantifizierung mikrobieller Biomasse auf organischen Substraten muß für zukünftige Arbeiten nicht unbedingt abgeraten werden, klar interpretierbare Ergebnisse liefert er aber voraussichtlich nur im Zusammenhang mit anderen Methoden zur Erfassung mikrobieller Biomasse, z.B. dem Auszählen. Genauere Möglichkeiten für die Bestimmung mikrobieller Biomasse existieren bislang jedoch nicht.

Die Methodik zur Bestimmung von enzymatischen Aktivitäten in nativen Proben wurde innerhalb des letzten Jahrzehnts immer sensitiver, mit günstigen Mitteln sind sehr exakte Quantifizierungsmöglichkeiten gegeben. Es lag daher nahe, diese Methoden einzusetzen, um den Abbau organischer Substanz in einem Fließgewässer besser beschreiben zu können. Es hat sich gezeigt, daß die verwendeten und bestimmten Parameter gute Ergebnisse geliefert haben und helfen, den Abbau von Holz und Blättern in einem Fließgewässer zu beschreiben. Die vorliegende Arbeit hat jedoch auch gezeigt, daß sie insgesamt nicht ausreichend sind, um die Vorgänge vollständig zu verstehen. Bei weiterführenden Untersuchungen sollte jedoch auf die Bestimmung mikrobieller extrazellulärer Enzymaktivitäten nicht verzichtet werden; eine verfeinerte Methodik und die Auswahl anderer, zusätzlicher Parameter sind aber vonnöten, um die Prozesse im Ablauf des Abbaus organischer Substrate in Fließgewässern vollständig charakterisieren zu können.

Die in der Einleitung dieser Arbeit formulierten Thesen von der Unterschiedlichkeit im Abbauverhalten verschiedener Laub- und Holzarten im selben Gewässer konnten bestätigt werden. Die Arbeit hat aber auch weiterführende Fragestellungen aufgeworfen. Eine eingehendere Analyse des Biofilms auf den Substraten, zum Beispiel auf molekularer Ebene, könnte weitere Aufschlüsse über die Zusammensetzung auf unterschiedlichen organischen Substraten bringen und zum besseren Verständnis der Rolle dieser wichtigen Komponenten in Fließgewässern beitragen.

6 Zusammenfassung

Organisches Material in Form von Holz und Blättern wird kontinuierlich über das gesamte Jahr in Fließgewässer eingetragen, für Laub gibt es ein Maximum im Herbst. Damit bieten Holz und Blätter eine wichtige Nahrungsgrundlage für aquatische Mikroorganismen, die die Fähigkeit besitzen, durch die Bildung und Freisetzung extrazellulärer Enzyme die hochmolekularen Inhaltsstoffe von Holz und Blättern zu spalten, zu verwerten und anderen Organismen verfügbar zu machen. Bislang wurde lediglich der Abbau von Blättern in Fließgewässern intensiv untersucht, über den Abbau von Holz ist wenig bekannt. Allerdings liegen auch nur wenige Untersuchungen über die Beteiligung von Mikroorganismen am Abbau von Laub vor. Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, Unterschiede im Abbauverhalten von Holzarten einerseits und zu Blättern andererseits offenzulegen. Insbesondere sollte die kaum bekannte Rolle der Mikroorganismen, speziell der Bakterien und Pilze, beim Abbau dieses Material erfaßt werden. Dabei wurde ein besonderes Augenmerk auf die Beteiligung extrazellulärer Cellulose und Lignin abbauender Enzyme gerichtet. In diesem Zusammenhang sollte das auf Wasserproben anwendbare Bestimmungsverfahren für extrazelluläre Enzyme durch fluorogene Modellsubstrate auf Holz und Blätter angepaßt werden.

Die Untersuchungen wurden am Breitenbach durchgeführt, einem kleinen Mittelgebirgsbach 1. Ordnung in Osthessen. Als Probenmaterial dienten Laub und Holz der Baumarten Buche (*Fagus sylvatica*) und Erle (*Alnus glutinosa*), beide Arten kommen im Breitenbachtal häufig vor. Zur Inkubation der Blätter wurden jeweils 5 g frisches Blattmaterial in quadratischen Flaschen mit Seitenwänden aus Polyethylengaze (Maschenweite 500 µm) verwendet, frisches Holz wurde in Form von Würfeln der Kantenlänge 1 cm exponiert. Die Probennahmen erfolgten für Holz zwischen April 1997 und Juli 1998 zunächst im wöchentlichem, nach einem Monat der Exposition der Proben in vierwöchigem Turnus, für Blätter zwischen November 1997 und Juli 1998 in gleichen Probenintervallen.

Die cellulolytischen Enzyme β -D-Glucosidase, β -Xylosidase, Cellobiohydrolase und Endocellulase sowie die ligninolytischen Enzyme Phenoloxidase und Peroxidase wurden jeweils am Tage der Probennahme in ihrer Aktivität bestimmt, während die Begleitparameter Ergosterol-, Lignin- und Phospholipidgehalt zu späterem Zeitpunkt aus demselben Material einer Probe, das gefriergetrocknet wurde, festgestellt wurden. Als weiterer wichtiger Parameter wurde der Masseverlust bestimmt.

Die Trockenmasse der Proben nahm ab Versuchsbeginn kontinuierlich ab. Sowohl bei Holz als auch bei Laub war die Masseabnahme bei Erle jeweils größer als bei Buche. Bei Laub mußte nach 9 Wochen für Erle die weitere Untersuchung wegen

des fast vollständigen Abbaus eingestellt werden, für Buche wurden die Probennahmen bis zur Woche 31 nach Versuchsbeginn fortgesetzt. Die Trockenmasse betrug dann noch 10 % der Ausgangstrockenmasse und bestand nur noch aus Blattskelettbruchstücken. Bei den Holzproben wurden Probennahmen über 16 Monate durchgeführt, dann begann Erlenholz zu zerbröckeln und bedingte die Einstellung der Probenserie. Am letzten Probenstermin waren bei Buche noch 28 % und bei Erle noch 11 % der Ausgangstrockenmasse vorhanden.

Die Methode der Bestimmung extrazellulärer Enzyme durch fluorogene Modellsubstrate konnte erfolgreich auf die organischen Substrate Holz und Blätter angepaßt werden.

Die extrazellulären Enzyme waren spätestens zwei Wochen nach Versuchsstart auf den Holzproben bestimmbar, was eine schnelle Besiedlung durch Mikroorganismen anzeigt. Auf den Blattproben waren sie bereits zum ersten Probenstermin nachzuweisen, ihre Aktivität stieg rasch an.

Die cellulolytischen Enzyme β -Glucosidase, β -Xylosidase und Cellobiohydrolase zeigten über den gesamten Probenzeitraum bei beiden Substraten keinen augenscheinlichen Trend. Die Aktivität der β -Glucosidase lag stets fast eine Größenordnung über der der beiden anderen Enzyme. Die Endocellulase nahm in ihrer Aktivität für Holz und Blätter vom Probenbeginn bis zum Versuchsende stetig zu. Auf Erle war die auf Trockenmasse bezogene Aktivität der cellulolytischen Enzyme fast immer höher als auf Buche, und die Blattproben zeigten eine deutlich höhere Aktivität im Vergleich zu Holz.

Anders verhielt sich die Aktivität der ligninolytischen Enzyme Phenoloxidase und Peroxidase. Sowohl bei Holz als auch bei Blättern nahm die Aktivität zu, stieg artbedingt zeitlich versetzt auf ein Maximum an und sank daraufhin wieder ab. Bei der Phenoloxidase war dieser Trend eindeutiger als bei der Peroxidase. Zum Schluß der Versuchsserien wurden sehr niedrige ligninolytische Aktivitäten bestimmt. Die Aktivitäten auf Erle waren auch bei den ligninabbauenden Enzymen höher als auf Buche, und Blätter zeigten stets höhere Aktivitäten als Holz.

Der Ergosterolgehalt, bezogen auf Trockenmasse, stieg bei den Holzproben während des gesamten Versuchszeitraumes an und erreichte gegen Ende der Exposition ein Maximum. Die absolute Ergosterolmenge pro Holzklötzchen verzeichnete während der ersten Versuchshälfte einen Anstieg und in der zweiten wieder einen Rückgang auf das Ausgangsniveau. Bei den Blattproben war ebenfalls sowohl für die absolute Angabe (pro Probengefäß) wie bei Bezug auf Trockenmasse ein Anstieg mit sich anschließendem Abfall feststellbar. Insgesamt lag der maximale Ergosterolgehalt auf Holz nach 66 Wochen auf demselben Niveau wie der auf Blättern nach bereits 9 Wochen. Die Ergebnisse zeigen, daß Blätter schneller besiedelt werden als Holz. Außerdem scheinen zu späteren Zeitpunkten der Exposition Pilze in den Hintergrund zu treten, was sich in einem Rückgang des Ergosterolgehaltes äußert.

Der relative Ligningehalt lag für alle Proben zu Versuchsbeginn um 12 % und nahm im Verlauf der Untersuchung zu. Zum Versuchsende wiesen die Holzproben einen durchschnittlichen Ligningehalt um 20 % auf. Bei den Blattproben stieg der relative Ligningehalt bei Buche bis auf ein Niveau um 40 % an und pendelte bis zum Ende um diesen Wert. Bei Erle nahm der Ligningehalt innerhalb von 9 Wochen der Exposition auf beinahe 60 % zu. Die absoluten Ligningehalte pro Probe zeigten einen Rückgang während der Untersuchung. Zwischenzeitlich stiegen die Werte aber auch an. Dies kann durch die Bildung von sogenanntem Artefaktlignin, eine Verbindung von Lignin mit stickstoffhaltigen Komponenten, erklärt werden. Artefaktlignin wird methodisch bedingt als Lignin erfaßt und führt so zu einer scheinbaren Steigerung des absoluten Ligningehalts während der Inkubation. Die Bildung von Artefaktlignin könnte auch als Grund für den Rückgang der ligninolytischen Aktivitäten zu späteren Versuchszeitpunkten in Frage kommen. Als Folge der Artefaktligninbildung wird die Menge des für die Mikroorganismen verfügbaren Lignins reduziert, eine Aktivitätsminderung der ligninabbauenden Enzyme ist die Folge.

Der Verlauf der Phospholipidgehalte zeigte sowohl für Blätter als auch für Holz kein eindeutiges Bild. Bei Blättern bewegten sie sich auf annähernd gleichem Niveau, bei den Holzproben erfolgte nach anfänglichem Verbleiben auf einem Niveau nach 18 Wochen ein drastischer Rückgang der Werte, der durch ein Versetzen der Proben im Bach infolge niedrigen Wasserstandes ausgelöst worden sein könnte. Ab hier war bis Versuchsende ein Trend der Zunahme an Phospholipiden festzustellen, was auf eine permanente Vergrößerung der bakteriellen Besiedlung in der zweiten Hälfte der Untersuchung hindeutet.

Die statistische Auswertung belegte für Holz und für Blätter signifikante Unterschiedlichkeit im Abbau zwischen den beiden Baumarten. Die Korrelationskoeffizienten aus den Daten des Trockenmasseverlusts waren für Holz wie für Blätter signifikant voneinander verschieden. Die durchgeführte ANOVA ergab für beinahe alle bestimmten Parameter (Ausnahmen: Holz: Endocellulase und Phenoloxidase, Blätter: β -Xylosidase) eine signifikante Unterschiedlichkeit zwischen Buche und Erle.

Die erhaltenen Daten lassen sich gut in publizierte Studien eingliedern, soweit Daten zur Verfügung stehen. Sie schaffen eine Vergleichsmöglichkeit insofern, als noch keine Studie dieser Art in Europa durchgeführt wurde.

Es konnte gezeigt werden, daß sich Buche und Erle sowohl bei Laub als auch bei Holzproben in ihrem Abbauverhalten signifikant voneinander unterscheiden. Unterschiedliche Holz- und Blattarten stellen den aquatischen Mikroorganismen eine unterschiedliche Nahrungsqualität zur Verfügung, was sich in unterschiedlichem Abbau ausdrückt.

7 Literatur

- Abelho, M.; Gessner, M. O.; Cressa, C.; Schmitt, A. L.; Graca, M. A. S.; Barrios, C.; Perez, B. Maldonado, V. & Callies, K. A. (1998). Comparison of leaf breakdown rates in contrasting geographic areas. Abstract, 27. SIL Kongreß, Dublin, Irland, 1998 und persönliche Korrespondenz.
- Adler, T. (1977): Lignin chemistry - past - present & future. *Wood Sci. Technol.* **11**: 169-218
- Admiraal, W. & Tubbing, G. M. J. (1991): Extracellular enzyme activity associated with suspended matter in the River Rhine. *Freshwater Biology* **26**: 507-517
- Allan, J. D. (1995): *Stream ecology. Structure and function of running waters.* Chapman & Hall, London, 388 Seiten
- Almin, K. E. & Eriksson, K.-E. (1967): Enzymic degradation of polymers. I. Viscosimetric method for the determination of enzymic activity. *Biochimica et Biophysica Acta* **139**: 238-247
- Amon, R. M. W. & Benner, R. (1996): Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology & Oceanography* **41**: 41-51
- Anderson, N. H.; Sedell, J. R.; Roberts, L. M. & Triska, F. J. (1978): The role of aquatic macroinvertebrates in processing of woody debris in coniferous forest streams. *American Midl. Naturalist* **100**: 64-82
- Anderson, N. H.; Steedman, R. J. & Dudley, T. (1984): Patterns of exploitation by stream invertebrates of wood debris (xylophagy). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **22**: 1874-1852
- Aumen, N. G.; Bottomley, P. J.; Ward, G. M. & v.Gregory, S. (1983): Microbial decomposition of wood in streams: distribution of microflora and factors effecting [¹⁴C]lignocellulose mineralization. *Applied and Environmental Microbiology* **46** (6): 1409-1416
- Azam, F. & Cho, B. C. (1987): Bacterial utilization of organic matter in the sea. In: Fletcher, M.; Gray, T. R. G. & Jones, J. G. (Hrsg.): *Ecology of microbial communities.* Cambridge University Press: 261-281
- Azam, F.; Fenchel, T.; Field, F. G.; Gray, J. S.; Meyer-Reil, L.-A. & Thingstad, F. (1983): The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology – Progress Series* **10**: 257-263
- Baldy, V.; Gessner, M. O. & Chauvet, E. (1995): Bacteria, fungi and the breakdown of leaf-litter in a large river. *Oikos* **74** (1): 93-102
- Bärlocher, F. (Hrsg.) (1992a): *The ecology of aquatic hyphomycetes.* Springer, New York, 225 Seiten
- Bärlocher, F. (1992b): Effects of drying and freezing autumn leaves on leaching and colonization by aquatic hyphomycetes. *Freshwater Biology* **28**: 1-7
- Bärlocher, F. & Kendrick, B. (1974): Dynamics of the fungal population on leaves in a stream. *Journal Ecology* **62**: 761-791

- Balkwill, D. L.; Murphy, E. M.; Fair, D. M.; Ringelberg, D. B. & White, D. C. (1998): Microbial communities in high and low recharge environments: Implications for microbial transport in the vadose zone. *Microbial Ecology* **35** (2): 156-171
- Belanger, C.; Desrosiers, B. & Lee, K. (1997): Microbial extracellular enzyme activity in marine sediments- extreme pH to terminate reaction and sample storage. *Aquatic Microbial Ecology* **13** (2): 187-196
- Benfield, E. F.; Paul Jr., R. W. & Webster, J. R. (1979): Influence of exposure technique on leaf breakdown rates in streams. *Oikos* **33**: 386-391
- Benke, A. C. & Wallace, J. B. (1980): Trophic basis of production among net-spinning caddisflies in a southern Appalachian stream. *Ecology* **61**: 108-118
- Benner, R.; Lay, J.; K'nees, E. & Hodson, R. E. (1988): Carbon conversion efficiencies for bacterial protocols on lignocellulose: implications for detritus-based food webs. *Limnology and Oceanography* **33**: 1514-1526
- Benoit, R. E. & Starkey, R. H. (1968): Enzyme inactivation as a factor in the inhibition of decomposition of organic matter by tannins. *Soil Science* **105**: 203-208
- Bernfield, P. (1955): Amylases, α & β . *Methods in Enzymology* **1**: 149-150
- Bernhard-Reversat, F. & Schwartz, D. (1997): Change in lignin content during litter decomposition in tropical forest soils (Congo): comparison of exotic plantations and native stands. *C. R. Acad. Sci. Paris - Sciences de la Terre et des Planetes* **325** (6): 427-432
- Bird, G. A. & Kaushik, N. E. (1981): Coarse particulate organic matter in streams. In: Lock, M. A. & Williams, D. D. (Hrsg.): *Perspectives in running water ecology*. Plenum Press, New York & London, 41-68
- Bisson, P. A.; Bilby, R. E.; Bryant, M. D.; Dollof, C. A.; Grette, G. B.; House, R. A.; Murphy, M. L.; Koski, K. V. & Sedell, J. R. (1987): Large woody debris in forested streams in the Pacific Northwest: past, present and future. In: Salo, E. O. & Cundy, T. W. (Hrsg.): *Streamside management: Forestry and Fishery Interactions*. College of Forest Resources, University of Washington, Seattle, 143-190
- Bisswanger, H. (1979): *Theorie und Methoden der Enzymkinetik*. Verlag Chemie, Weinheim: 239 Seiten
- Bockock, K. L. (1964): Changes in the amounts of dry matter, nitrogen, carbon and energy in decomposing woodland leaf litter in relation to the activities of the soil fauna. *Journal Ecology* **52**, 273-284
- Boetius, A. & Lochte, K. (1994): Regulation of microbial enzymatic degradation of organic matter in deep sea-sediments. *Marine Ecology – Progress Series* **104** (3): 299-307
- Boschker, H. T. S. & Cappenberg, T. E. (1998): Patterns of extracellular enzyme activities in littoral sediments of lake Gooimeer, the Netherlands. *FEMS Microbiology Ecology* **25** (1): 79-86
- Bossio, D. A. & Scow, K. M. (1998): Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology* **35** (3): 265-278
- Bott, T. & Kaplan, L. A. (1985): Bacterial biomass, metabolic rate, and activity in stream sediments: relation to environmental variables and multiple assay conditions. *Applied and Environmental Microbiology* **50** (2): 508-522

- Boulton, A. J. & Boon, P. I. (1991): A review of methodology to measure leaf litter decomposition in lotic environments: Time to turn over an old leaf? *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **42**: 1-43
- Bowen, K. L.; Kaushik, N. K. & Gordon, A. M. (1998): Macroinvertebrate communities and biofilm chlorophyll on woody debris in two Canadian oligotrophic lakes. *Archiv für Hydrobiologie* **141** (3): 257-281
- Brehm, J. & Meijering, M. P. D. (1990): *Fließgewässerkunde*. Quelle und Meyer, Heidelberg, 311 Seiten.
- Burton, T. M.; Stanford, R. M. & Allan, J. W. (1985): Acidification effects on stream biota and organic matter processing. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Science* **42**: 669-675
- Cameron, G. N. & LaPoint, T. W. (1978): Effects of tannins on the decomposition of Chinese Tallow leaves by terrestrial and aquatic insects. *Oecologia* **32**: 349-366
- Campbell, I. C. & Fuchshuber, L. (1995): Polyphenols, condensed tannins, and processing rates of tropical and temperate leaves in Australian streams. *Journal of the North American Benthological Society* **14** (1): 174-182
- Campbell, I. C.; James, K. R.; Hart, B. T. & Devereaux, A. (1992): Allochthonous coarse particulate organic material in forest and pasture reaches of two south-eastern Australian streams. II. Litter processing. *Freshwater Biology* **27**: 353-365
- Canhoto, C. & Graça, M. A. S. (1996): Decomposition of *Eucalyptus globulus*-leaves and 3 native leaf species (*Alnus glutinosa*, *Castanea sativa* and *Quercus faginea*) in a Portuguese low-order stream. *Hydrobiologia* **333** (2): 79-85
- Chamier, A.-C. (1987): Effect on pH on microbial degradation of leaf litter in seven streams of the English Lake District. *Oecologia* **71**: 491-500
- Chauvet, E. (1987): Changes in the chemical composition of alder, poplar and willow leaves during decomposition in a river. *Hydrobiologia* **148**: 35-44
- Chauvet, E. (1988): Influence of the environment on willow leaf litter decomposition in the alluvial corridor of the Garonne River. *Archiv für Hydrobiologie* **112** (3): 371-386
- Chauvet, E.; Giani, N. & Gessner, M. O. (1993): Breakdown and invertebrate colonization of leaf litter in two contrasting streams: significance of oligochaetes in a large river. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Science* **50**: 488-495
- Chauvet, E.; Fabre, E.; Elosegi, A. & Pozo, J. (1997): The impact of eucalypt on the leaf-associated aquatic hyphomycetes in Spanish streams. *Canadian Journal of Botany* **75** (6): 880-887
- Chen, Chen-Loung & Chang, Hou-Min (1985): Chemistry of Lignin Biodegradation. In: Higuchi, T. (Hrsg.): *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*. Academic Press, New York, Kapitel 19: 535-556
- Chergui, H. & Pattee, E. (1991): The breakdown of wood in the side arm of a large river: Preliminary investigations. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **24**: 1785-1788
- Chojnacky, D.C. (1994): Estimating the amount of dead wood in live pinyon and juniper trees. *Western Journal of Applied Forestry* **9** (1): 18-20
- Chróst, R. (1990): Microbial Ectoenzymes in aquatic Environments. In: Overbeck, J. & Chróst, R. (Hrsg.): *Aquatic Microbial Ecology: Biochemical and Molecular Approaches*. Springer, New York. Kapitel 3: 47-78

- Chróst, R. (1992): Significance of bacterial ectoenzymes in aquatic environments. *Hydrobiologia* **243/44**: 61-70
- Chróst, R. & Krambeck, H.-J. (1986): Fluorescence correction for measurements of enzyme activity in natural waters using methylumbelliferyl substrates. *Archiv für Hydrobiologie* **106** (1): 79-90
- Chróst, R. & Rai, H. (1993): Ectoenzyme activity and bacterial secondary production in nutrient-impooverished and nutrient-enriched feshwater mesocosms. *Microbial Ecology* **25**: 131-150
- Chróst, R. J.; Münster, U.; Albrecht, D.; Witzel, K. P. & Overbeck, J. (1989): Photosynthetic production and exoenzymatic degradation of organic matter in euphotic zone of an eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* **11**: 223-242
- Collier, K. J. & Winterbourn, M. J. (1987): Breakdown of kamahi leaves in four South Westland streams. *Mauri Ora* **14**: 33-42
- Collins, P. J.; Field, J. A.; Teunissen, P. & Dobson, A. D. W. (1997): Stabilization of lignin peroxidases in white rot fungi by tryptophan. *Applied and Environmental Microbiology* **63** (7): 2543-2548
- O'Connor, N. A. (1992): Quantification of submerged wood in a lowland Australian stream system. *Freshwater Biology* **27**, 387-395
- Cullen, D. & Kersten, P. J. (1996): Enzymology and Molecular Biology of Lignin Degradation. In: Brambl, R. & Marzluf, G. A. (Hrsg): *The Mycota III. A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research: Biochemistry and molecular biology*. Springer, Berlin / New York. Kapitel 13: 295-312
- Cummins, K. W.; Klug, M. J.; Wetzel, R. G.; Petersen, R. C.; Suberkropp, K.; Manny, B. A.; Wuycheck, J. C. & Howard, F. O. (1972): Organic enrichment with leaf leachate in experimental lotic ecosystems. *BioScience* **22**: 719-722
- Cummins, K. W.; Spengler, G. R. ; Ward, G. M.; Speaker, R. M.; Ovink, R. W. et al. (1980): Processing of confined and naturally entrained leaf litter in a woodland stream ecosystem. *Limnology & Oceanography* **25**: 952-957
- Cummins, K. W.; Wilzbach, M. A.; Gates, D. M.; Perry, J. B. & Taliaferro, W. B. (1989): Shredders and riparian vegetation. *BioScience* **39**: 24-30
- Dangles, O. & Guerold, F. (1998): A comparative study of beech leaf breakdown, energetic content, and associated fauna in acidic and non-acidic streams. *Archiv für Hydrobiologie* **144** (1): 25-39
- Darah, I. & Ibrahim, C. O. (1998): Laboratory-scale production of lignin-degrading enzymes by free and entrapped cells of *Phanerochaete chrysosporium* in a tubular air-lift bioreactor. *Folia Microbiologica* **43** (2): 161-168
- Delaney, M.; Brown, S.; Lugo, A. E.; Torres Lezama, A. & Bello Quintero, N. (1998): The quantity and turnover of dead wood in permanent forest plots in six life zones of Venezuela. *Biotropica* **30** (1): 2-11
- Duddridge, J. E. & Wainwright, M. (1982): Enzyme activity and kinetics in substrate-amended river sediments. *Water Research* **16**: 329-334
- Eckert, R. (1986): *Tierphysiologie*. Georg Thieme, Stuttgart / New York, 697 Seiten
- Eggert, C.; Temp, U. & Eriksson, K.-E. L. (1996): Laccase-producing white rot fungus lacking lignin peroxidase and manganese peroxidase. *ACS Symposium Series* **655**: 130-150

- Ekblad, A.; Wallander, H. & Näsholm, T. (1998): Chitin and ergosterol combined to measure total and living fungal biomass in ectomycorrhizas. *New Phytologist* **138**: 143-149
- Elliot, S. T (1986): Reduction of dolly varden population and macrobenthos after removal of logging debris. *Trans. Amer. Fish. Soc.* **115**: 392-400
- Eloegi, A.; Diez, J. R. & Pozo, J. (1999): Abundance, characteristics and movement of woody debris in four Basque streams. *Archiv für Hydrobiologie* **144** (4): 455-471
- Eriksson, K.-E. & Hollmark, B. H. (1969): Kinetic studies of the action of cellulase upon sodium carboxymethyl cellulose. *Archives Biochemistry Biophysics* **133**: 233-237
- Eriksson, K.-E. & Wood, T. M. (1985): Biodegradation of Cellulose. In: Higuchi, T. (Hrsg.): *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*. Academic Press, New York, Kapitel 17: 469-503
- Eriksson, K.-E.; Blanchette, R. A. & Ander, P. (1990): *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components*. Springer, Berlin / New York, 407 Seiten
- Evans, B. F.; Townsend, C. R. & Crowl, T. A. (1993): Distribution and abundance of coarse woody debris in some southern New Zealand streams from contrasting forest catchments. *New Zealand Journal of marine and freshwater Research* **27**: 227-239
- Fabre, E. & Chauvet, E. (1998): Leaf breakdown along an altitudinal stream gradient. *Archiv für Hydrobiologie* **141** (2): 167-179
- Falbe, J. & Regitz, M. (Hrsg.) (1990): *Römpp Chemie Lexikon Band 3*, 9. Auflage. Thieme, Stuttgart, 1679-2580
- Falbe, J. & Regitz, M. (Hrsg.) (1992): *Römpp Chemie Lexikon Band 6*, 9. Auflage. Thieme, Stuttgart, 4429-5314
- Fan, L. T.; Lee, Y. H. & Gharpuray, M. M. (1982): The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. *Advanced Biochem. Eng.* **23**: 157-187
- Fan, L. T.; Gharpuray, M. M. & Lee, Y. H. (1987): *Cellulose Hydrolysis*. Springer, Berlin & New York, 198 Seiten.
- Ferienc, P. & Toth, D. (1995): Water-absorption, leaching loss rates and nutrient efflux from leaf-litter of 4 tree species into environment. *Biologia* **50** (6): 529-533
- Fiebig, D. M. (1995): Groundwater discharge and its contribution of dissolved organic carbon to an upland stream. *Archiv für Hydrobiologie* **134** (2): 129-155
- Findlay, R. H.; King, G. M. & Watling, L. (1989): Efficacy of phospholipid analysis in determining microbial biomass in sediments. *Applied and Environmental Microbiology* **55**: 2888-2893
- Findlay, S. E. G. & Arsuffi, T. L. (1989): Microbial growth and detritus transformations during decomposition of leaf litter in a stream. *Freshwater Biology* **21**: 261-269
- Fisher, S. G. & Likens, G. E. (1973): *Energy flow in Bear Brook, New Hampshire: An integrative approach to stream ecosystem metabolism*. *Ecological Monographs* **43**: 421-439
- France, R. L. (1995): Empirically estimating the lateral transport of riparian leaf-litter to lakes. *Freshwater Biology* **34** (3): 495-499

- France, R.; Culbert, H.; Freeborough, C. & Peters, R. (1997): Leaching and early mass-loss of boreal leaves and wood in oligotrophic water. *Hydrobiologia* **345**: 209-214
- Frostegård, A.; Tunlid, A. & Bååth, E. (1991): Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods* **14**: 151-163
- Frostegård, A.; Tunlid, A. & Bååth, E. (1993): Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology* **59** (11): 3605-3617
- Frostegård, A. & Bååth, E. (1996): The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils* **22**: 59-65
- Galas, J.; Bednarz, E.; Dumnicka, A.; Starzecka, A. & Wojtan, K. (1996): Litter decomposition in a mountain cave water. *Archiv für Hydrobiologie* **138** (2): 199-211
- Gallardo, A. & Merino, J. (1999): Control of leaf litter decomposition rate in a Mediterranean shrubland as indicated by N, P and lignin concentrations. *Pedobiologia* **43**: 64-72
- Gerhardt, A. (1992): Qualitative and quantitative investigations on the detritus content of the Breitenbach (Eastern Hesse, FRG). *Archiv für Hydrobiologie* **124** (1): 35-51
- Gessner, M. (1991a): Fallaubabbau im Fließgewässer: Dynamik aquatischer Hyphomyceten und chemische Blattveränderungen. Dissertation, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 110 Seiten
- Gessner, M. O. (1991b): Differences in processing dynamics of fresh and dried leaf litter in a stream ecosystem. *Freshwater Biology* **26**: 387-398
- Gessner, M. O. (1997): Fungal biomass, production and sporulation associated with particulate organic matter in streams. *Limnetica* **13** (2): 33-44
- Gessner, M. O. & Chauvet, E. (1993): Ergosterol-to-biomass conversion factors for aquatic hyphomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* **59** (2): 502-507
- Gessner, M. O. & Chauvet, E. (1994): Importance of stream microfungi in controlling breakdown rates of leaf litter. *Ecology* **75**: 1807-1817
- Gessner, M. O. & Chauvet, E. (1997): Growth and production of aquatic hyphomycetes in decomposing leaf litter. *Limnology and Oceanography* **42** (3): 496-505
- Gessner, M. O. & Newell, S. Y. (1997): Bulk quantitative methods for the examination of eukaryotic organoosmotrophs in plant litter. In: Hurst, C. J.; Knudsen, G. R., McInerney, M. J.; Stetzenbach, L. D. & Walter, M. V. (Hrsg.): *Manual of Environmental Microbiology*, ASM press, Washington, D.C., 295-308.
- Gessner, M. O. & Schmitt, A. L. (1996): Use of Solid-Phase extraction to determine ergosterol concentrations in plant tissue colonized by fungi. *Applied and Environmental Microbiology* **62** (2): 415-419
- Gessner, M. O.; Meyer, E. & Schwörbel, J. (1991a): Rapid processing of fresh leaf litter in an upland stream. *Verhandlungen Internat. Verein. Limnol.* **24**: 1846-1850

- Gessner, M. O.; Bauchrowitz, M. A. & Escutier, M. (1991b): Extraction and quantification of Ergosterol as a measure of fungal biomass in leaf litter. *Microbial Ecology* **22**: 285-291
- Godshalk, G. L. & Wetzel, R. G. (1978): Decomposition of aquatic angiosperms I.: Dissolved components. *Aquatic Botany* **5**: 281-300
- Goering, H. K. & van Soest, P. J. (1970): Forage fiber analysis. *Agriculture Handbook No. 379*, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Washington: 1-20
- Goldstein, J. L. & Swain, T. (1965): The inhibition of enzymes by tannins. *Phytochemistry* **4**: 185-192
- Golladay, S. W. & Sinsabaugh, R. L. (1991): Biofilm development on leaf and wood surfaces in a boreal river. *Freshwater Biology* **25**: 437-450
- Gosz, J. R.; Likens, G. E. & Bormann, F. H. (1972): Nutrient content of litter fall on the Hubbard Brook Experimental Forest. *Ecology* **53**, 769-784
- Goulder, R. & Baker, J. H. (1991): Submerged leaf surfaces as a microbial habitat. In: Andrews, J. H. & Hirano, S. S. (Hrsg.): *Microbial Ecology of Leaves*. Springer, New York, 60-86
- Green, P. & Peterken, G. F. (1997): Variation in the amount of dead wood in the woodlands of the lower Wye valley, UK, in relation to the intensity of management. *Forestry Ecology & Management* **98** (3): 229-238
- Gremm, T. J. & Kaplan, L. A. (1998): Dissolved carbohydrate concentration, composition, and bioavailability to microbial heterotrophs in stream water. *Acta Hydrochimica et hydrobiologica* **26** (3): 167-171
- Griffith, M. B.; Perry, S. A. & Perry, W. B. (1995): Leaf litter processing and exoenzyme production on leaves in streams of different pH. *Oecologia* **102**: 460-466
- Hanlon, R. D. G. (1982): The breakdown and decomposition of allochthonous and autochthonous plant litter in an oligotrophic lake (Llyn Frongoch). *Hydrobiologia* **88**: 257-261
- Hantke, B.; Domany, I.; Fleischer, P.; Koch, M. Pless, P.; Wiendl, M. & Melzer, A. (1996): Depth profiles of the kinetics of phosphatase activity in hardwater lakes of different trophic level. *Archiv für Hydrobiologie* **135** (4): 451-471
- Harmon, M. E.; Franklin, J. F.; Swanson, F. J.; Sollins, P.; Lattin, J. D.; Anderson, N. H.; Gregory, S. V.; Cline, S. P.; Aumen, N. G.; Sedell, J. R.; Cormack K. Jr. & Cummins, K. W. (1986): Ecology of coarse woody debris in temperate ecosystems. *Advances in Ecological Research* **15**, 133-302
- Harrison, P. G. & Mann, K. H. (1975): Detritus formation from eelgrass (*Zostera marina* L.): the relative effects of fragmentation, leaching and decay. *Limnology & Oceanography* **20**: 924-934
- Haslam, E. (1974): Polyphenol-protein interactions. *Biochemical Journal* **139**: 285-288
- Hendel, B. & Marxsen, J. (1997): Measurement of low-level extracellular enzyme activity in natural waters using fluorogenic model substrates. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* **25** (5): 253-258
- Hendel, B.; Marxsen, J. & Preuß, G. (1995): Messung extrazellulärer Enzymaktivitäten im Grundwasser. II. Die Bestimmungsgrenzen beim Einsatz von Methylumbelliferyl-Verbindungen. *DVWK-Materialien* 1/1995: 79-142

- Hill, B. H. & Perrotte, W. T. (1995): Microbial colonization, respiration, and breakdown of maple leaves along a stream-marsh continuum. *Hydrobiologia* **312** (1): 11-16
- Hollibaugh, J. T. & Azam, F. (1983): Microbial Degradation of dissolved proteins in seawater. *Limnology and Oceanography* **28**: 1104-1116
- Holzapfel-Pschorn, A.; Obst, U. & Haberer, K. (1987) Sensitive Methods for the determination of microbial activities in water samples using fluorogenic substrates. *Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie* **327**: 521-523
- Hoppe, H.-G. (1983): Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl - substrates. *Marine Ecology - Progress Series* **11**: 299-308
- Hoppe, H.-G. , Kim, S. J. & Gocke, K. (1988): Microbial decomposition in aquatic environments: combined process of extracellular enzyme activity and substrate uptake. *Applied and Environmental Microbiology* **54**: 784-790
- Hoppe, H.-G. (1993): Use of fluorogenic model substrates for extracellular enzyme activity (EEA) measurement of bacteria. In: Kemp, P. F.; Sherr, B. F.; Sherr, E. B. & Cole, J. J. (Hrsg.): *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton / Ann Arbor / London / Tokyo. Kapitel 48: 423-431
- Horvath, T. G. & Callies, K. (1999): Microbial decomposition of riparian vegetation along the Breitenbach: Colonization dynamics of aquatic Hyphomycetes. Abstract. *Bulletin of the North American Benthological Society* **16** (1): 128
- Hulme, M. A. (1971): Viscosimetric Determination of Carboxycellulase in Standard International Units. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **147**: 49-54
- Hulme, M. A. (1988): Viscosimetric Determination of Carboxymethylcellulase Activity. In: Wood, W. A. & Kellogg, S. T. (Hrsg.): *Methods in Enzymology Volume 160, Biomass, Part A, Cellulose and Hemicellulose*. Academic Press, San Diego / New York. Kapitel 13: 130 - 135
- Jackson, C. R.; Foreman, C. M. & Sinsabaugh, R. L. (1995): Microbial enzyme activities as indicators of organic matter processing rates in a Lake Erie coastal wetland. *Freshwater Biology* **34** (2): 329-342
- Janshekar, R. & Fiechter, A. (1983): Lignin: Biosynthesis, application, and biodegradation. *Advanced Biochemistry Eng. Biotechnol.* **27**: 119-186
- Janshekar, H.; Brown, C. & Fiechter, A. (1981): Determination of biodegraded lignin by ultraviolet spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta* **130**: 81- 91
- Jenkins, C. C. & Suberkropp, K. (1995): The influence of water chemistry on the enzymatic degradation of leaves in streams. *Freshwater Biology* **33** (2): 245-253
- Jones, S. E. & Lock, M. A. (1989): Hydrolytic extracellular enzyme activity in heterotrophic biofilms from two contrasting streams. *Freshwater Biology* **22**: 289-296
- Jones, S. E. & Lock, M. A. (1993): Seasonal determinations of extracellular hydrolytic activities in heterotrophic and mixed heterotrophic / autotrophic biofilms from two contrasting rivers. *Hydrobiologia* **257**: 1-16
- Kaplan, L. A. & Bott, T. L. (1983): Microbial heterotrophic utilization of dissolved organic matter in a piedmont stream. *Freshwater Biology* **13**: 363-377

- Kaushik, N. K. & Hynes, H. B. N. (1968): Experimental study on the role of autumn-shed leaves in aquatic environments. *Journal Ecology* **56**: 229-243
- Kaushik, N. K. & Hynes, H. B. N. (1971): The fate of the dead leaves that fall into streams. *Archiv für Hydrobiologie* **68**: 465-515
- Kimmel, W. G.; Murphy, D. J.; Sharpe, W. E. & DeWalle, D. R. (1985): Macroinvertebrate community structure and detritus processing rates in two southwestern Pennsylvania streams acidified by atmospheric deposition. *Hydrobiologia* **124**: 97-102
- Kirby, K. J.; Webster, S. D. & Antczak, A. (1991): Effects of forest management on stand structure and the quality of fallen dead wood. Some British and Polish examples. *Forest Ecology & Management* **43** (1-2): 167-174
- Kirby, K. J.; Reid, C. M.; Thomas, R. C. & Goldsmith, F. B. (1998): Preliminary estimates of fallen dead wood and standing dead trees in managed and unmanaged forests in Britain. *Journal of Applied Ecology* **35** (1): 148-155
- Kirk, T. K. (1975): Lignin-degrading enzyme systems. *Biotechnology and Bioengineering Symp.* **5**: 139-150
- Kirk, T. K.; Farrell, R. L. (1987): Enzymatic „Combustion“: The microbial degradation of Lignin. *Annual Reviews in Microbiology* **41**: 465-505
- Kirk, T. K. & Shimada, M. (1985): Lignin Biodegradation: The microorganisms and the physiology and biochemistry of degradation by white-rot fungi. In: Higuchi, T. (Hrsg.): *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*. Academic Press, New York. Kapitel 21: 579-605
- Koch, K. D. (1989): Ernährungsökologische Untersuchungen an *Gammarus pulex* (L.) und *Gammarus fossarum* Koch, 1835 (Crustacea, Amphipoda) in einem Wiesenbach und einem Waldbach. Dissertation, Fachbereich Biologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, 194 Seiten
- Koester, M.; Dahlke, S. & Meyer-Reil, L. A. (1997): Microbiological studies along a gradient of eutrophication in a shallow coastal inlet in the southern Baltic Sea (Nordruegensche Bodden). *Marine Ecology-Progress Series* **152** (1-3): 27-39.
- Kok, C. J. & van der Velde, G. (1991): The influence of selected water quality parameters on the decay rate and exoenzymatic activity of detritus of *Nymphaea alba* L. floating leaf blades in laboratory experiments. *Oecologia* **88**: 311-316
- Krankina, O. N. & Harmon, M. E. (1995): Dynamics of the dead wood carbon pool in northwestern Russian boreal forests. *Water, Air & Soil Pollution* **82** (1-2): 227-238
- Kshatriya, S.; Sharma, G. D. & Mishra, R. R. (1992): Enzyme activities related to litter decomposition in forests of different age and altitude in North East India. *Soil Biology and Biochemistry* **24**: 265-270
- Kuhad, R. C.; Singh, A. & Eriksson, K.-E. L. (1997): Microorganisms and Enzymes involved in the Degradation of Plant Fiber Cell Walls. In: Scheper, T. (Hrsg.): *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology* 57. *Biotechnology in the Pulp & Paper Industry*. Springer, Berlin / New York: 47-124
- Kunze, C. & Bonnert, R. (1982): Blattabbau in Wasserproben aus einem belasteten Fließgewässer. *Angewandte Botanik* **56**: 237-242
- Kuperman, R. G. & Carriero, M. M. (1997): Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* **29** (2): 179-190

- Kupfahl, H. G. (1965): Erläuterungen zur Geologischen Karte von Hessen, 1:25.000, Blatt 5323 Schlitz. In: Hessisches Landesamt für Bodenforschung (Hrsg.), Wiesbaden, 258 Seiten.
- Lamore, B. J. & Goos, R. D. (1978): Wood-inhabiting fungi of a freshwater stream in Rhode Island. *Mycologia* **70**: 1025-1034
- Landesvermessungsamt Hessen (1988): Topographische Karte 1:25.000, Blatt 5323: Schlitz
- Larsen, V. J. (1982): The effects of pre-drying and fragmentation on the leaching of nutrient elements and organic matter from *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Litter. *Aquatic Botany* **14**: 29-39
- Laurent, P. & Servais, P. (1995): Fixed bacterial biomass estimated by potential exoproteolytic activity. *Canadian Journal of Microbiology* **31** (8): 749-752
- Leichtfried, M. (1996): Organic matter in bed-sediments of the River Danube and a small unpolluted stream, the Oberer Seebach. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* **113**: 87-98
- Linkins, A. E.; Sinsabaugh, R. L.; McClaugherty, C. M. & Melillo, J. M. (1990a): Comparison of cellulase activity on decomposing leaves in a hardwood forest and woodland stream. *Soil Biology and Biochemistry* **22**: 423-425
- Linkins, A. E.; Sinsabaugh, R. L.; McClaugherty, C. A. & Melillo, J. M. (1990b): Cellulase activity on decomposing leaf litter in microcosms. *Plant & Soil* **23**: 17-25
- Ljungdahl, L. G. & Eriksson, K.-E. (1985): Ecology of microbial cellulose degradation. *Advances in microbial Ecology* **8**: 237-299
- Maamri, A., Chergui, H. & Pattee, E. (1997): Leaf litter processing in a temporary northeastern Moroccan river. *Archiv für Hydrobiologie* **140**: 513-531
- Maamri, A.; Chauvet, E.; Chergui, H.; Gourbière, F. & Pattee, E. (1998): Microbial dynamics on decaying leaves in a temporary Moroccan river. I – Fungi. *Archiv für Hydrobiologie* **144** (1): 41-59
- Magalhaes, D. B.; Decarvalho, M. E. A.; Bon, E.; Neto, J. S. A. & Kling, S. H. (1996): Colorimetric assay for lignin peroxidase activity determination using methylene blue as substrate. *Biotechnology Techniques* **10** (4): 273-276
- Maloney, D. C. & Lamberti, G. A. (1995): Rapid decomposition of summer-input leaves in a northern Michigan stream. *American Midland Naturalist* **133** (1): 184-195
- Mann, C. J. & Wetzel, R. G. (1996): Loading and utilization of dissolved organic carbon from emergent macrophytes. *Aquatic Botany* **53** (1-2): 61-72
- Marsden, W. L. & Gray, P. P. (1986): Enzymatic hydrolysis of cellulose in lignocellulosic materials. *CRC Critical Reviews in Biotechnology* **3**: 235-276
- Marxsen, J. (1980): Untersuchungen zur Ökologie der Bakterien in der fließenden Welle von Bächen. I. Chemismus, Primärproduktion, CO₂-Dunkelfixierung und Eintrag von partikulärem organischen Material. *Archiv für Hydrobiologie/ Supplement* **57**, 461-533
- Marxsen, J. (1988): Evaluation of the importance of bacteria in the carbon flow of a small open grassland stream, the Breitenbach. *Archiv für Hydrobiologie* **111** (3): 339-350
- Marxsen, J. & Witzel, K.-P. (1990): Measurement of exoenzymatic activity in streambed sediments using methylumbelliferyl-substrates. *Archiv für Hydrobiologie Beihefte Ergebnisse der Limnologie* **34**: 21-28

- Marxsen, J. & Witzel, K.-P. (1991): Significance of extracellular enzymes for organic matter degradation and nutrient regeneration in small streams. In: Chróst, R. J. (Hrsg.): Microbial enzymes in aquatic environments. Springer, New York, 270-285
- Marxsen, J. & Fiebig, D. M. (1993): Use of perfused cores for evaluating extracellular enzyme activity in stream-bed sediments. *FEMS Microbiology Ecology* **13**: 1-12
- Marxsen, J., Schmidt, H.-H. & Fiebig, D. M. (1997): Organic matter dynamics in the Breitenbach, Germany. *Journal of the North American Benthological Society* **16**, 28-32.
- Maser, C. & Sedell, J. R. (1994): From the forest to the sea. The ecology of wood in streams, rivers, estuaries, and oceans. St Lucie Press, Delray Beach, 200 Seiten
- Mason, H. S. (1948): The Chemistry of Melanin. III. Mechanism of the Oxidation of Dihydroxyphenylalanine by tyrosinase. *Journal Biol. Chem.* **172**: 83-99
- Mattson, W. J. (1980): Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **11**: 119-161
- McKinley, V. L. & Vestal, J. R. (1982): Effects of acid on plant litter decomposition in an arctic lake. *Applied and Environmental Microbiology* **43**: 1188-1195
- Melillo, J. M.; Aber, J. D. & Muratore, J. J. (1982): Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* **63** (3): 621-626
- Melin, E. (1930): Biological decomposition of some types of litter from North American forests. *Ecology* **11**: 72-101
- Meyer, J. L.; Wallace, J. B. & Eggert, S. L. (1998): Leaf litter as a source of dissolved organic carbon in streams. *Ecosystems* **1** (3): 240-249
- Middelboe, M. & Sondergaard, (1993): Bacterioplankton growth yield: Seasonal variations and coupling to substrate lability and β -glucosidase activity. *Applied and Environmental Microbiology* **59** (11): 3916-3921
- Middelboe, M.; Sondergaard, M.; Letarte, Y. & Borch, N. H. (1995): Attached and free-living bacteria: production and polymer hydrolysis during a diatom bloom. *Microbial Ecology* **29**: 231-248
- Miettinen, I. T.; Vartiainen, T. & Martikainen, P. J. (1996): Bacterial enzyme activities in ground water during bank filtration of lake water. *Water Research* **30** (10): 2495-2501
- Miltner, A. & Zech, W. (1998): Beech leaf litter lignin degradation and transformation as influenced by mineral phases. *Organic geochemistry* **28** (7-8): 457-463
- Mitchell, A. & Wilkinson, J. (1987): Pareys Buch der Bäume. Nadel- und Laubbäume in Europa nördlich des Mittelmeeres. Paul Parey, Hamburg und Berlin, 271 Seiten
- Münster, U. (1985): Investigations about structure, distribution and dynamics of different organic substrates in the DOM of lake Plußsee. *Archiv für Hydrobiologie / Supplement* **70** (4): 429-480
- Münster, U.; Heikkinen, E. & Knulst, J. (1998a): Nutrient composition, microbial biomass and activity at the air-water interface of small boreal forest lakes. *Hydrobiologia* **363**: 261-270

- Münster, U.; Heikkinen, E.; Salonen, K. & de Haan, H. (1998b): Tracing of peroxidase activity in humic lake water. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **26** (3): 158-166
- Mulholland, P. J.; Palumbo, A. V. & Elwood, J. W. (1987): Effects of acidification on leaf decomposition in streams. *Journal of the North American Benthology Society* **5**: 147-158
- Mulholland, P. J.; Driscoll, C. T.; Elwood, J. W.; Osgood, M. P.; Palumbo, A. V.; Rosemond, A. D.; Smith M. E. & Schofield, C. (1992): Relationships between stream acidity and bacteria, macroinvertebrates, and fish: a comparison of north temperate and south temperate mountain streams, U.S.A. *Hydrobiologia* **239**: 7-24
- Murphy, J. F.; Giller, P. S. & Horan, M. A. (1998): Spatial scale and the aggregation of stream macroinvertebrates associated with leaf packs. *Freshwater Biology* **39** (2): 325-337
- Mutch, R. A.; Steedman, R. J.; Berté, S. B. & Pritchard, G. (1983): Leaf breakdown in a mountain stream: a comparison of methods. *Archiv für Hydrobiologie* **97** (1): 89-108
- Neumann, P. (1995): Untersuchungen zur Nahrungsqualität von benthischem feinputikulärem Detritus für Feinputikelsammler, unter dem Aspekt seiner biochemischen Zusammensetzung im Breitenbach. Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 135 Seiten
- Newell, S. Y. (1992): Estimating fungal biomass and productivity in decomposing litter. In: Carroll, G. C. & Wicklow, D. T. (Hrsg.): *The fungal community. Its organisation and role in the ecosystem*. Marcel Dekker, New York, 2. Auflage: 521-561
- Nömmik, A. (1938): Über die Zersetzungsgeschwindigkeit des gefallenen Laubes und der Koniferennadeln und über den Schwund einiger in ihnen enthaltenen Elemente. *Bodenkunde und Pflanzenernährung* **8**: 77-100
- Nultsch, W. (1996): *Allgemeine Botanik*. Thieme, Stuttgart, 10. Auflage, 602 Seiten
- Nykvist, N. (1963): Leaching and decomposition of water-soluble organic substances from different types of leaf and needle litter. *Studia Forestalia Suecia* **3**: 1-31
- Overbeck, J. & Chróst, R. (1990): *Aquatic Microbial Ecology. Biochemical and molecular approaches*. Springer, New York, 190 Seiten
- Packroff, G. (1994): Die Ciliaten des Breitenbachs; faunistisch-ökologische Untersuchungen an einem Mittelgebirgsbach. Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 178 Seiten.
- Packroff, G. & Zwick, P. (1996): The ciliate fauna of an unpolluted foothill stream, the Breitenbach, 1: Qualitative aspects. *Limnologica* **26** (3): 255-262
- Padgett, D. E. & Posey, M. H. (1993): An evaluation of the efficiencies of several ergosterol extraction techniques. *Mycology Research* **97** (12): 1476-1480
- Parkyn, S. M. & Winterbourn, M. J. (1997): Leaf breakdown and colonisation by invertebrates in a headwater stream: Comparisons of native and introduced tree species. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **31**: 301-312
- Paul, M. J. & Meyer, J. L. (1996): Fungal biomass of 3 leaf litter species during decay in an Appalachian stream. *Journal of the North American Benthological Society* **15** (4): 421-432

- Peters, G. T.; Benfield, E. F. & Webster, J. R. (1989): Chemical composition and microbial activity of seston in a southern Appalachian Virginia USA headwater stream. *Journal of the North American Benthological Society* **8** (1): 74-84.
- Petersen, R. C. & Cummins, K. W. (1974): Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology* **4**: 343-368
- Phillips, E. C. (1995): Associations of aquatic Coleoptera with coarse woody debris in ozark streams, Arkansas. *Coleopterists Bulletin* **49**: 119-126
- Pidgeon, R. W. J. & Cairns, S. C. (1981): Decomposition and colonization by macroinvertebrates of native and exotic leaf material in a small stream in New England (Australia): *Hydrobiologia* **77**: 113-127
- Pind, A.; Freeman, C. & Lock, M. A. (1994): Enzymatic degradation of phenolic materials in peatlands – measurement of phenol oxidase activity. *Plant & Soil* **159**: 227-231
- Polit, J. I. & Brown, S. (1996): Mass and nutrient content of dead wood in a Central Illinois floodplain forest. *Wetlands* **16** (4): 488-494
- Pozo, J.; Gonzalez, E.; Diez, J. R.; Molinero, J. & Elozegi, A. (1997): Inputs of particulate organic-matter to streams with different riparian vegetation. *Journal of the North American Benthological Society* **16** (3): 602-611
- Pozo, J.; Basaguren, A.; Elozegi, A.; Molinero, J.; Fabre, E. & Chauvet, E. (1998): Afforestation with *Eucalyptus globulus* and leaf litter decomposition in streams of northern Spain. *Hydrobiologia* **373/374**: 101-109
- Pusch, M.; Fiebig, D. M.; Brettar, I.; Eisenmann, H.; Ellis, B. K.; Kaplan, L. A.; Lock, M. A.; Naegeli, M. W. & Traunspurger, W. (1998): The role of micro-organisms in the ecological connectivity of running waters. *Freshwater Biology* **40**: 453-495
- Raviraja, N. S.; Sridhar, K. R. & Bärlocher, F. (1996): Breakdown of introduced and native leaves in two Indian streams. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie* **81** (4): 529-539
- Reid, C. M.; Fogga, A. & Speight, M. (1996): Dead wood in the caledonian pine forest. *Forestry (Oxford)* **69** (3): 275-279
- Richmond, A. D. & Fausch, K. D. (1995): Characteristics and function of large woody debris in subalpine Rocky Mountain streams in northern Colorado. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **52**: 1789-1802
- Robinson, C. T.; Gessner, M. O. & Ward, J. V. (1998): Leaf breakdown and associated macroinvertebrates in alpine glacial streams. *Freshwater Biology* **40**: 215-228
- Rong, Q.; Sridhar, K. R. & Bärlocher, F. (1995): Food selection in 3 leaf-shredding stream invertebrates. *Hydrobiologia* **316** (3): 173-181
- Rowe, J. M.; Meegan, S. K.; Engstrom, E. S.; Perry, S. A. & Perry, W. B. (1996): Comparison of leaf processing rates under different temperature regimes in 3 headwater streams. *Freshwater Biology* **36** (2): 277-288
- Royer, T. V. & Minshall, G. W. (1997): Rapid breakdown of allochthonous and autochthonous plant material in an eutrophic river. *Hydrobiologia* **344**: 81-86
- Ryder, D. S. & Horwitz, P. (1995): Seasonal water regimes and leaf-litter processing in a wetland on the Swan coastal-plain, Western-Australia. *Marine and Freshwater Research* **46** (7): 1077-1084
- Sachs, L. (1984): *Angewandte Statistik*. Springer, Berlin, 6. Auflage, 552 Seiten

- Sala, M. M. & Guede, H. (1996): Influence of algae and crustacean zooplankton on patterns of microbial hydrolytic enzyme activities: An experimental approach. *Archiv für Hydrobiologie Special Issues Advanced Limnology* **48**: 143-154
- Salamanca, E. F.; Kaneko, N.; Katagiri, S. & Nagayama, Y. (1998): Nutrient dynamics and lignocellulose degradation in decomposing *Quercus serrata* leaf litter. *Ecological Research* **13**: 199-210
- Sanders, P. F. & Anderson, J. M. (1979): Colonization of wood blocks by aquatic hyphomycetes. *Trans. Br. Mycol. Society* **73** (1): 103-107
- Schade, J. D. & Fisher, S. G. (1997): Leaf-litter in a sonoran desert stream ecosystem. *Journal of the North American Benthological Society* **16** (3): 612-626
- Schlosser, D.; Grey, R. & Fritsche, W. (1997): Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes versicolor*. Distribution of extra- and intracellular enzyme activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood. *Applied Microbiology and Biotechnology* **47** (4): 412-418
- Schoemaker, H. E. & Piontek, K. (1996): On the interaction of lignin peroxidase with lignin. *Pure & Applied Chemistry* **68** (11): 2089-2096
- Schofield, J. A.; Hagerman, A. E. & Harold, A. (1998): Loss of tannins and other phenolics from willow leaf litter. *Journal of Chemical Ecology* **24** (8): 1409-1421
- Scholz, O. & Boon, P. I. (1993): Biofilm development and extracellular enzyme activities on wood in billabongs of South-eastern Australia. *Freshwater Biology* **30**: 359-368
- Scholz, O. & Marxsen, J. (1996): Sediment phosphatases of the Breitenbach, a first-order Central European stream. *Archiv für Hydrobiologie* **135**, 433-450
- Schwadorf, K. & Müller, H.-M. (1989): Determination of Ergosterol in cereals, mixed feed components, and mixed feeds by liquid chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **72** (3): 457-462
- Schwarz, A. E. & Schwoerbel, J. (1997): The aquatic processing of sclerophyllous and malacophyllous leaves on a mediterranean island (Corsica) - spatial and temporal patterns. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* **33** (2): 107-119.
- Shearer, C. A. (1983): Patterns of occurrence of ascomycetes associated with decomposing twigs in a Midwestern stream. *Mycologia* **73** (3): 518-530
- Shevchenko, S. M. & Bailey, G. W. (1996): Life after death: Lignin-Humic Relationships reexamined. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **26** (2): 95-153
- Simek, K.; Babenzien, D.; Bittl, T.; Koschel, R.; Macek, M.; Nedoma, J. & Vrba, J. (1998): Microbial food webs in an artificially divided acidic bog lake. *International Review of Hydrobiology* **83** (1): 3-18
- Sinsabaugh R. L. & Linkins, A. E. (1990): Enzymic and chemical analysis of particulate organic matter from a boreal river. *Freshwater Biology* **23**: 301-309
- Sinsabaugh, R. L.; Linkins, A. E. (1993): Statistical modeling of litter decomposition from integrated cellulase activity. *Ecology* **74** (5): 1594-1597
- Sinsabaugh, R. L. & Findlay, S. (1995): Microbial production, enzyme activity, and carbon turnover in surface sediments of the Hudson River estuary. *Microbial Ecology* **30** (2): 127-141
- Sinsabaugh, R. L.; Benfield, E. F. & Linkins, A. E. (1981): Cellulase activity associated with decomposition of leaf litter in a woodland stream. *Oikos* **36** (2): 184-190

- Sinsabaugh, R. L.; Golladay, S. W. & Linkins, A. E. (1991a): Comparison of epilithic and epixylic biofilm development in a boreal river. *Freshwater Biology* **25**: 179-187
- Sinsabaugh, R. L.; Antibus, R. K. & Linkins, A. E. (1991b): An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **34**: 43-54
- Sinsabaugh, R. L.; Weiland, T. & Linkins, A. E. (1992a): Enzymic and molecular analysis of microbial communities associated with lotic particulate organic matter. *Freshwater Biology* **28** (3): 393-404
- Sinsabaugh, R. L.; Antibus, R. K.; Linkins, A. E.; McClaugerty, C. A.; Rayburn, L.; Repert, D. & Weiland, T. (1992b): Wood decomposition over a first-order water shed: Mass loss as a function of lignocellulose activity. *Soil Biology & Biochemistry* **24**: 743-749
- Somville, M. & Billen, G. (1983): A method for determining exoproteolytic activity in natural waters. *Limnology & Oceanography* **28** (1): 190-193
- Stabel, H.-H.; Moaledj, K. & Overbeck, J. (1979): On the degradation of dissolved organic molecules from Plußsee by oligocarbophilic bacteria. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* **12**: 95-104
- Stewart, A. J. & Wetzel, R. G. (1982): Influence of dissolved humic materials on carbon assimilation and alkaline phosphatase activity in natural algal-bacterial assemblages. *Freshwater Biology* **12**: 369-380
- Stewart, B. A. & Davis, B. R. (1989): The influence of different litter bag designs on the breakdown of leaf material in a small mountain stream. *Hydrobiologia* **183**: 173-177
- Steinberger, Y.; Zelles, L.; Bai, Q. Y.; von Luetzow, M. & Munich, J. C. (1999): Phospholipid fatty acid profiles as indicators for the microbial community structure in soils along a climatic transect in the Judean Desert. *Biology & Fertility of Soils* **28** (3): 292-300
- Stockley, R. A.; Oxford, G. S. & Ormond, R. F. G. (1998): Do invertebrates matter? Detrital processing in the River Swale-Ouse. *The Science of the total Environment* **210/211**: 427-435
- Stout, R. J. (1989): Effects of condensed tannins on leaf processing in mid-latitude and tropical streams. A theoretical approach. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Science* **46**: 1097-1106
- Strasburger, E.; Noll, F.; Schenck, H. & Schimper, A. F. W. (1991): *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*. Gustav Fischer, Stuttgart, Jena, New York, 33. Auflage, 1030 Seiten
- Sturtevant, B. R.; Bissonette, J. A.; Long, J. N. & Roberts, D. W. (1997): Coarse woody debris as a function of age, stand structure and disturbance in boreal Newfoundland. *Ecological Applications* **7** (2): 702-712
- Suberkropp, K. (1995): The influence of nutrients on fungal growth, productivity, and sporulation during leaf breakdown in streams. *Canadian Journal of Botany (Supplement 1)* **73**: 1361-1369
- Suberkropp, K. (1997): Annual production of leaf decaying fungi in a woodland stream. *Freshwater Biology* **38** (1): 169-178
- Suberkropp, K. & Klug, M. J. (1976): Fungi and bacteria associated with leaves during processing in a woodland stream. *Ecology* **57**: 707-719

- Suberkropp, K. & Weyers, H. (1996): Application of fungal and bacterial production methodologies to decomposing leaves in streams. *Applied and Environmental Microbiology* **62** (5): 1610-1615
- Suberkropp, K.; Godshalk, G. L. & Klug, M. J. (1976): Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. *Ecology* **57**: 720-727
- Suberkropp, K.; Arsuffi, T. L. & Anderson, J. P. (1983): Comparison of degradative ability, enzymatic activity, and palatability of aquatic hyphomycetes grown on leaf litter. *Applied and Environmental Microbiology* **46**: 237-244
- Suberkropp, K.; Gessner, M. O. & Chauvet, E. (1993): Comparison of ATP and Ergosterol as indicators of fungal biomass associated with decomposing leaves in streams. *Applied and Environmental Microbiology* **59** (10): 3367-3372
- Tank, J. L. & Winterbourn, M. J. (1995): Biofilm development and invertebrate colonization of wood in four New Zealand streams of contrasting pH. *Freshwater Biology* **34** (2): 303-315
- Tank, J. L. & Winterbourn, M. J. (1996): Microbial activity and invertebrate colonization in a New Zealand forest stream. *New Zealand Journal of Marine & Freshwater Research* **30** (2): 271-280
- Tank, J. L. & Webster, J. R. (1998): Interaction of substrate and nutrient availability on wood biofilm processes in streams. *Ecology* **79** (6): 2168-2179
- Tank, J. L.; Webster, J. R. & Benfield, E. F. (1993): Microbial respiration on decaying leaves and sticks in a southern Appalachian stream. *Journal of the North American Benthological Society* **12**: 394-405
- Tank, J. L.; Webster, J. R.; Benfield, E. F. & Sinsabaugh, R. L. (1998): Effect of leaf litter exclusion on microbial enzyme activity associated with wood biofilms in streams. *Journal of the North American Benthological Society* **17** (1): 95-103
- Taylor, B. R. & Bärlocher, F. (1996): Variable effects of air-drying on leaching losses from tree leaf litter. *Hydrobiologia* **325**: 173-182
- Taylor, B. R.; Parkinson, D. & Parsons, W. F. J. (1989): Nitrogen and lignin content as predictors of litter decay rates: a microcosm test. *Ecology* **70** (1): 97-104
- Thurman, E. M. (1986): *Organic Geochemistry of natural waters*. Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht / Boston / Lancaster, 497 Seiten
- Tien, M.; Kirk, T. K.; Bull, C. & Fee, J. A. (1986): Steady-state and transient-state kinetic studies on the oxidation of 3,4-dimethylbenzyl Alcohol catalyzed by the ligninase of *Phanerocheate chrysosporium* Burds. *Journal of Biological Chemistry* **261** (4): 1687-1693
- Tiwari, B. K. & Mishra, R. R. (1983): Dry weight loss and changes in chemical composition of pine (*Pinus kesiya* Royle) needles and teak (*Tectona grandis* L.) leaves during processing in a freshwater lake. *Hydrobiologia* **98**: 249-256
- Tranvik, L. (1992): Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop. *Hydrobiologia* **229**: 107-114
- Triska, F. J.; Sedell, J. R. & Buckley, B. (1975): The processing of conifer and hardwood leaves in two coniferous forest streams: II. Biochemical and nutrient changes. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **19**: 1628-1639

- Tunlid, A. & White, D. C. (1992): Biochemical analysis of biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. *Soil Biochemistry* **7**: 229-262
- Tyrrell, L. E. & Crow, T. R. (1994): Dynamics of dead wood in old-growth hemlock-hardwood forests of northern Wisconsin and northern Michigan. *Canadian Journal of Forest Research* **24** (8): 1672-1683
- Vares, T.; Kalsi, M. & Hatakka, A. (1995): Lignin peroxidases, Manganese peroxidases, and other ligninolytic enzymes produced by *Phlebia radiata* during solid-state fermentation of wheat straw. *Applied and Environmental Microbiology* **61** (10): 3515-3520
- Vollhardt, K. P. C. (1990): *Organische Chemie*. VCH-Wiley, Weinheim, 1398 Seiten
- Volk, C. J.; Volk, C. B. & Kaplan, L. A. (1997): Chemical composition of biodegradable dissolved organic matter in streamwater. *Limnology & Oceanography* **42**: 39-44
- Vrba, J.; Kofronovabobkova, J.; Pernthaler, J.; Simek, K.; Macek, M. & Psenner, R. (1997): Extracellular, low-affinity beta-n-acetylglucosaminidases linked to the dynamics of diatoms and crustaceans in freshwater systems of different trophic degree. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie* **82** (2): 277-286
- Wagner, R.; Schmidt, H. H. & Marxsen, J. (1993): The hyporheic habitat of the Breitenbach, spatial structure and physicochemical conditions as a basis for benthic life. *Limnologica* **23** (4): 285-294
- Webster, J. R. & Benfield, E. F. (1986): Vascular Plant Breakdown in Freshwater Ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**: 567-594
- Weete, J. D. (1989): Structure and Function of sterols in fungi: *Advances in Lipid Research* **23**: 115-167
- Wetzel, R. G. (Hrsg.) (1983): *Limnology*, Second Edition. Saunders College Publishing, Philadelphia, 767 Seiten
- Wetzel, R. G. (1990): Extracellular enzymatic interactions: storage, redistribution and interspecific communication. In: Chróst, R. (Hrsg.): *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer, New York, Kapitel 2: 7-28
- Wetzel, R. G. (1992): Gradient-dominated ecosystems: sources and regulatory functions of dissolved organic matter in freshwater ecosystems. *Hydrobiologia* **229**: 181-198
- Weyers, H. S. & Suberkropp, K. (1996): Fungal and bacterial production during the breakdown of yellow poplar leaves in 2 streams. *Journal of the North American Benthological Society* **15** (4): 408-420
- Whiles, M. R. & Wallace, J. B. (1997): Leaf-litter decomposition and macroinvertebrate communities in headwater streams draining pine and hardwood catchment. *Hydrobiologia* **353**: 107-119
- White, D. C. (1988): Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity. *Archiv für Hydrobiologie Beihefte Ergebnisse der Limnologie* **31**: 1-18
- White, D. C.; Davis, W. M.; Nickels, J. S.; King, J. D. & Bobbie, R. J. (1979): Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. *Oecologia* **40**: 51-62
- Willoughby, E. G. & Archer, J. F. (1973): The fungal spora of freshwater streams and its colonization pattern on wood. *Freshwater Biology* **3**: 219-239

-
- Yamashita, T. & Takeda, H. (1998): Decomposition and nutrient dynamics of leaf-litter in litter bags of 2 mesh sizes set in 2 dipterocarp forest sites in peninsular Malaysia. *Pedobiologia* **42** (1): 11-21
 - Yoshida, S. (1997): Degradation and Synthesis of Lignin and its related compounds by fungal ligninolytic enzymes. *Wood Research* **84**: 76-129
 - Zeikus, J. G. (1982): Lignin Metabolism and the Carbon Cycle. *Polymer Biosynthesis, Biodegradation and Environmental Recalcitrance. Advances in Microbial Ecology* **5**: 211-243

8 Anhang

Tabelle 4: Mittelwerte, Standardabweichungen und Maximalwerte aller biotischen Parameter im jeweiligen Untersuchungszeitraum

Parameter	Bezug auf Trockengew. (g TG) oder abs. Werte (a)	Baum (Buche = B, Erle = E)	Mittelwerte im jeweiligen Zeitraum		Standardab- weichung		Maximalwert	
			Holz	Blätter	Holz	Blätter	Holz	Blätter
b-Glucosidase ($\mu\text{mol h}^{-1}$)	TG	B	305	1212	238	583	889	2160
		E	488	2486	498	1448	2036	4267
	a	B	119	1183	69,7	651	238	2492
		E	89,8	1355	54,0	895	187	2670
b-Xylosidase ($\mu\text{mol h}^{-1}$)	TG	B	54,9	186	49,7	89	211	323
		E	75,4	407	75	253	276	752
	a	B	22,7	177	20,5	92	94,4	344
		E	14,7	245	13,9	183	64,6	446
Cellobiohydro- lase ($\mu\text{mol h}^{-1}$)	TG	B	28,6	195	22,7	157	74,3	519
		E	41,7	361	35,9	254	141	722
	a	B	11,6	173	7,54	147	23,3	518
		E	8,24	214	5,70	178	19,4	428
Endocellulase (IEU)	TG	B	94,2	276	55,3	193	213	746
		E	176	414	135	359	558	987
	a	B	14,4	221	5,43	59	26,5	296
		E	12,8	176	3,29	85	15,4	253
Phenoloxidase ($\mu\text{mol h}^{-1}$)	TG	B	3,07	6,92	2,31	4,15	6,98	16,6
		E	3,00	33,8	1,66	21,4	5,08	66,2
	a	B	1,81	8,49	1,69	6,23	5,12	22,0
		E	0,90	18,2	0,60	10,5	2,05	35,8
Peroxidase ($\mu\text{mol h}^{-1}$)	TG	B	1,40	3,66	1,68	3,91	5,75	12,7
		E	4,14	8,14	4,37	2,37	15,24	11,7
	a	B	0,73	18,2	1,04	10,5	3,60	35,8
		E	1,67	5,53	2,27	2,50	6,62	8,22
Phospholipide (μmol)	TG	B	0,96	3,32	0,47	0,88	1,87	5,30
		E	1,23	5,07	0,51	1,65	2,28	7,40
	a	B	0,42	4,15	0,16	3,24	0,66	13,2
		E	0,30	3,03	0,26	0,93	1,11	4,22
Ergosterol (μg)	TG	B	28,1	32,5	20,2	14,8	60,1	53,1
		E	33,3	31,5	23,6	16,9	70,3	45,2
	a	B	10,4	40,0	6,18	23,4	18,0	70,3
		E	6,28	17,8	3,98	11,3	13,64	31,0
Lignin (% TG bzw. mg/Probe)	TG	B	14,8	44,1	3,63	10,4	21,4	54,9
		E	17,7	28,6	5,30	17,6	28,5	59,0
	a	B	70,6	468	26,3	191	128	810
		E	46,7	149	21,3	23,5	89,7	180

Tabelle 5: Korrelationen nach Spearman der einzelnen Parameter untereinander, getrennt nach Substrat und Baumart

Substrat	Parameter	Korreliert mit	r- Wert	p-Wert < als
Holz, Buche	β -Glucosidase	β -Xylosidase	0,672	0,002
		Cellobiohydrolase	0,78	0,0001
		Endocellulase	0,875	0,000005
		Phenoxidase	-0,521	0,026
		Ergosterol	0,842	0,000011
		Trockenmasse	-0,74	0,00035
	β -Xylosidase	Cellobiohydrolase	0,607	0,007
	Ergosterol	0,61	0,006	
	Trockenmasse	-0,53	0,03	
	Cellobiohydrolase	Ergosterol	0,72	0,007
		Trockenmasse	-0,63	0,004
	Endocellulase	Ergosterol	0,84	0,00001
		Trockenmasse	-0,85	0,000006
	Lignin	Ergosterol	0,47	0,048
		Trockenmasse	-0,52	0,025
	Phospholipide	Trockenmasse	-0,61	0,006
	Ergosterol	Trockenmasse	-0,95	0,0000001
Holz, Erle	β -Glucosidase	Cellobiohydrolase	0,73	0,0006
		Endocellulase	0,70	0,001
		Phenoxidase	0,78	0,0001
		Lignin	0,50	0,031
		Ergosterol	0,71	0,0000001
		Trockenmasse	-0,76	0,0000001
	β -Xylosidase	Cellobiohydrolase	0,54	0,02
		Endocellulase	0,51	0,03
		Phenoxidase	0,61	0,006
		Ergosterol	0,72	0,0006
	Trockengewicht	-0,57	0,01	
Cellobiohydrolase	Endocellulase	0,73	0,005	
	Phenoxidase	0,68	0,001	
	Lignin	0,66	0,003	
	Ergosterol	0,83	0,00002	
	Trockengewicht	-0,77	0,0001	
Endocellulase	Phenoxidase	0,59	0,01	
	Lignin	0,74	0,0005	
	Ergosterol	0,87	0,000003	
	Trockengewicht	-0,92	0,0000001	
Phenoxidase	Lignin	0,57	0,01	
	Ergosterol	0,67	0,002	
	Trockengewicht	-0,74	0,0004	
Lignin	Ergosterol	0,66	0,003	
	Trockengewicht	-0,88	0,000009	
Ergosterol	Trockengewicht	-0,87	0,000003	
Blätter, Buche	β -Glucosidase	β -Xylosidase	0,70	0,02
		Cellobiohydrolase	0,71	0,02
		Endocellulase	0,68	0,04
		Lignin	0,69	0,03
		Phospholipide	-0,65	0,04
		Trockengewicht	-0,65	0,04
	β -Xylosidase	Cellobiohydrolase	0,80	0,005
		Lignin	0,64	0,046
	Trockengewicht	-0,72	0,018	
	Cellobiohydrolase	Endocellulase	0,68	0,028
	Endocellulase	Trockengewicht	-0,86	0,001
	Phenoxidase	Ergosterol	0,85	0,002
	Peroxidase	Ergosterol	0,63	0,048
	Lignin	Trockengewicht	-0,74	0,013
Blätter, Erle	β -Xylosidase	Cellobiohydrolase	0,998	0,001
		Peroxidase	0,951	0,048
	Cellobiohydrolase	Peroxidase	0,958	0,041
	Endocellulase	Lignin	0,952	0,047
	Phospholipide	0,97	0,026	
	Trockengewicht	-0,98	0,019	
Phospholipide	Trockengewicht	-0,96	0,034	

Lebenslauf

Björn Hendel

geboren am 20. Juli 1967 in Butzbach

1973 – 1977	Schrenzerschule Butzbach, Grundschule
1977 – 1986	Weidigschule Butzbach, Gymnasium
1986	Abitur
1986 – 1988	Zivildienst
1988 – 1989	Fachhochschule Gießen-Friedberg, Studium der Elektrotechnik
1989 – 1996	Justus-Liebig-Universität Gießen, Studium Lehramt an Gymnasien, Fächer Biologie und Geographie
1992	Zwischenprüfung
1993 – 1995	Justus-Liebig-Universität Gießen, Studium der Biologie, Abschluß Diplom
1995	Diplomprüfung. Diplomarbeit: „Eignung fluorogener Modellsubstrate zur Bestimmung mikrobieller Aktivitäten. Wo liegen die Bestimmungsgrenzen zur Untersuchung von Wasserproben?“ Angefertigt an der Limnologischen Fluss-Station des Max-Planck-Instituts für Limnologie in Schlitz
1996	1. Staatsexamen in Biologie / Geographie, Lehramt an Gymnasien
1996	Beginn der Dissertation an der Limnologischen Fluss-Station des Max-Planck-Instituts für Limnologie in Schlitz

Erklärung

Ich versichere, daß ich meine Dissertation

„Der mikrobielle Abbau von Holz und Laub im Breitenbach unter besonderer Berücksichtigung der Bedeutung extrazellulärer Enzyme“

selbständig, ohne unerlaubte Hilfe, angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir genannten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Schlitz,

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 MATERIAL UND METHODEN	3
2.1 DAS UNTERSUCHUNGSGEBIET	3
2.2 PROBENSTELLEN	4
2.2.1 Probenstelle 1	5
2.2.2 Probenstelle 2	5
2.3 VERSUCHSAUFBAU.....	5
2.3.1 Holzproben	6
2.3.2 Blattproben	6
2.4 ZEITPUNKTE DER PROBENNAHMEN	7
2.5 PROBENAUFBEREITUNG.....	7
2.6 BESTIMMUNG DER EINZELNEN PROBENPARAMETER	9
2.6.1 Abiotische Begleitparameter	9
2.6.2 Biochemische Probenparameter.....	9
2.6.2.1 Masseverlust.....	10
2.6.2.2 Ligningehalt.....	11
2.6.2.3 Phospholipidgehalt.....	12
2.6.2.4 Ergosterolgehalt.....	13
2.6.2.5 Enzymaktivitäten.....	15
2.6.2.5.1 β -D-Glucosidase, β -D-Cellobiohydrolase, β -Xylosidase	15
2.6.2.5.2 Endocellulase	16
2.6.2.5.3 Phenoloxidase und Peroxidase	17
2.7 STATISTISCHE BERECHNUNGEN	18
3 METHODENDISKUSSION.....	20
3.1 ZEITPUNKTE DER PROBENINKUBATION	20
3.1.1 Holz.....	20
3.1.2 Blätter.....	20
3.2 PROBENMATERIAL.....	21
3.3 PROBENAUFBEREITUNG.....	22
3.4 MASSEVERLUST.....	23
3.4.1 Holz.....	23
3.4.2 Blätter.....	25
3.5 LIGNINGEHALT	28
3.6 PHOSPHOLIPIDGEHALT	29
3.7 ERGOSTEROLGEHALT.....	29
3.8 ENZYMAKTIVITÄTEN.....	31
3.8.1 Cellulolytische Enzyme.....	31
3.8.1.1 Endocellulase.....	31
3.8.1.2 β -Glucosidase, Cellobiohydrolase, β -Xylosidase.....	32
3.8.2 Ligninolytische Enzyme	34

4	ERGEBNISSE	37
4.1	ABIOTISCHE PARAMETER.....	37
4.2	ALLGEMEINE HINWEISE ZU DEN ABBILDUNGEN IM TEIL ERGEBNISSE.....	38
4.3	MASSEABNAHME	38
4.3.1	Holz	38
4.3.2	Blätter	41
4.4	LIGNINGEHALT	43
4.4.1	Holz	43
4.4.2	Blätter	45
4.5	PHOSPHOLIPIDE.....	47
4.5.1	Holz	47
4.5.2	Blätter	49
4.6	ERGOSTEROLGEHALT.....	51
4.6.1	Holz	51
4.6.2	Blätter	53
4.7	ENZYMAKTIVITÄTEN.....	54
4.7.1	Holz	54
4.7.1.1	Cellulolytische Enzyme	54
4.7.1.1.1	β -Glucosidase.....	54
4.7.1.1.2	β -Xylosidase	56
4.7.1.1.3	Cellobiohydrolase	58
4.7.1.1.4	Endocellulase	60
4.7.1.2	Ligninolytische Enzyme	61
4.7.1.2.1	Phenoloxidase	61
4.7.1.2.2	Peroxidase.....	62
4.7.2	Blätter	63
4.7.2.1	Cellulolytische Enzyme	63
4.7.2.1.1	β -Glucosidase.....	63
4.7.2.1.2	β -Xylosidase	65
4.7.2.1.3	Cellobiohydrolase	67
4.7.2.1.4	Endocellulase	69
4.7.2.2	Ligninolytische Enzyme	70
4.7.2.2.1	Phenoloxidase	70
4.7.2.2.2	Peroxidase.....	71
4.8	STATISTISCHE BERECHNUNGEN	72
5	ERGEBNISDISKUSSION	74
5.1	HOLZ UND BLÄTTER IN AQUATISCHEN LEBENSÄUMEN	74
5.2	ABBAURATE.....	75
5.2.1	Holz	76
5.2.2	Blätter	79
5.3	LIGNINGEHALT	82
5.3.1	Holz	82
5.3.2	Blätter	83
5.4	PHOSPHOLIPIDGEHALT	85

5.4.1 Holz.....	85
5.4.2 Blätter.....	86
5.5 ERGOSTEROLGEHALT.....	87
5.5.1 Holz.....	87
5.5.2 Blätter.....	88
5.6 ENZYMAKTIVITÄTEN.....	90
5.6.1 Cellulolytische Enzyme.....	90
5.6.1.1 Holz.....	90
5.6.1.2 Blätter.....	92
5.6.1.3 Aktivitätsverlauf der cellulolytischen Enzyme.....	94
5.6.2 Ligninolytische Enzyme.....	96
5.6.2.1 Holz.....	96
5.6.2.2 Blätter.....	97
5.6.3 Zusammenfassung der Enzymaktivitäten.....	98
5.7 DIE BEDEUTUNG DES ABBAUS VON HOLZ UND BLÄTTERN IN FLIEßGEWÄSSERN.....	99
6 ZUSAMMENFASSUNG.....	104
7 LITERATUR.....	107
8 ANHANG.....	125