



**FRIEDRICH-SCHILLER-
UNIVERSITÄT
JENA**

Chemisch-Geowissenschaftliche Fakultät
Fachrichtung Biogeowissenschaften

**Untersuchung des Einflusses von höheren trophischen
Ebenen auf den Kohlenstoffumsatz und die
Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im
Boden**

Masterarbeit

zur Erlangung des akademischen Grades
Master of Science

vorgelegt von:

Lydia Mielke

Geboren am 19.01.1996 in Forst (Lausitz)

Jena, Januar 2020

1. Gutachter: Prof. Dr. Kirsten Küsel
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Fakultät für Biowissenschaften
Lehrstuhl für aquatische Geomikrobiologie

2. Gutachter: apl. Prof. Dr. Gerd Gleixner
Max-Planck-Institut für Biogeochemie Jena
Abteilung Biogeochemische Prozesse
Gruppe Molekulare Biogeochemie

I Inhaltsverzeichnis

I Inhaltsverzeichnis	I
II Abkürzungsverzeichnis	III
III Abbildungsverzeichnis	V
IV Tabellenverzeichnis	VII
V Zusammenfassung	IX
VI Abstract	XI
1 Einleitung	1
2 Zielstellung und Hypothesen	8
3 Material und Methoden	11
3.1 Material	11
2.1.1 Nematoden und Pilzkulturen	11
3.1.2 Medien	11
3.1.2 Lösungen und Puffer	11
3.1.3 Chemikalien	12
3.1.4 Geräte	13
3.1.5 Verbrauchsmaterial	14
3.2 Methoden	15
3.2.1 Experimentelles Design	15
3.2.2 Bodensubstrat	15
3.2.3 Bepflanzung	16
3.2.4 Kultivierung der Nematoden	16
3.2.5 Extraktion der Nematoden von Agarplatten nach der Kultivierung	17
3.2.6 Beimpfung der Mikrokosmen mit Nematoden	17
3.2.7 Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$	18
3.2.8 Probenahme und Aufbereitung	19
3.2.9 Nematodenextraktion aus den Bodenproben der Mikrokosmen	20
3.2.10 Lipidextraktion allgemein	21
3.2.11 Extraktion des vollständigen Lipidextraktes	23
3.2.12 Trennung der Lipidfraktionen	24
3.2.13 Milde alkalische Hydrolyse und Methylierung	24
3.2.14 Reinigung der Fettsäuremethylester	25
3.2.15 Messung und Berechnung der Konzentration	25
3.2.16 Messung und Berechnung der ^{13}C -Isotopenwerte	27

3.2.17 Statistische Auswertung	28
4 Ergebnisse	31
4.1 Kontrolle der Manipulation der Nematodenarten und -dichten	31
4.2 Ermittlung des Zeitpunktes der maximalen ¹³ C-Aufnahme	32
4.3 Einfluss auf Struktur und Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft	34
4.4 Einfluss auf den Kohlenstoffumsatz der mikrobiellen Gemeinschaft	40
5 Diskussion	48
5.1 Kontrolle der Manipulation der Nematodenarten und -dichten	48
5.2 Einfluss auf Struktur und Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft	49
5.3 Einfluss auf den Kohlenstoffumsatz der mikrobiellen Gemeinschaft	51
5.4 Ausblick	57
VII Literaturverzeichnis	XIII
VIII Danksagung	XVIII
IX Eidesstattliche Erklärung	XIX
X Anhang	XX

II Abkürzungsverzeichnis

AM Pilze	Arbuskuläre Mykorrhizapilze
ANOVA	engl. <i>analysis of variance</i> (Varianzanalyse)
APE	engl. <i>atom percent excess</i> (Atomprozent Anreicherung)
A. bidest.	zweifach destilliertes Wasser
A. dest.	einfach destilliertes Wasser
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	lat. <i>circa</i> (ungefähr)
cm	Centimeter
DNA	engl. <i>desoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure)
et al.	lat. <i>et alii</i> (und andere)
etc.	lat. <i>et cetera</i> (und so weiter)
FAO	engl. <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen)
FID	Flammenionisationsdetektor
FG	Frischgewicht
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
h	Stunde
Ind.	Individuen
IRMS	engl. <i>isotope ratio mass spectrometry</i> (Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie)
Kap.	Kapitel
m	Meter
M	Molar
mbar	Millibar
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
ng	Nanogramm
NLFA	engl. <i>neutral lipid fatty acid</i> (neutrale Lipidfettsäure)
n.s.	nicht signifikant
PCA	engl. <i>principal component analysis</i> (Hauptkomponentenanalyse)
PLFA	engl. <i>phospholipid fatty acid</i> (Phospholipidfettsäure)

ppm	engl. <i>parts per million</i> (Teile pro Million)
PVC	Polyvinylchlorid
rpm	engl. <i>rounds per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
s	Sekunde
SIP	engl. <i>stable isotope probing</i> (Untersuchung stabiler Isotope)
Stabw.	Standardabweichung
TG	Trockengewicht
ü. NN	über Normal-Null
V	Volumen
V-PDB	engl. <i>Vienna Pee Dee Belimnite</i> (Pee Dee Belimnit aus Wien)
W_w	Wassergehalt als Massenanteil
z.B.	zum Beispiel
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μmol	Mikromol

III Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vereinfachte Illustration des Bodennahrungsnetzes mit einigen wichtigen Organismengruppen für den Kohlenstoffkreislauf im Boden	2
Abbildung 2: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden	4
Abbildung 3: Mikroskopische Aufnahmen lebender Nematoden	6
Abbildung 4: Übersicht der verschiedenen Kombinationen der Nematodenzugabe zu den Mikrokosmen und der Negativkontrolle	15
Abbildung 5: Extraktion der Nematoden aus dem Nähragar	17
Abbildung 6: Übersicht der verschiedenen Manipulationen der Nematodenart und -dichte in den Mikrokosmen	18
Abbildung 7: Aufbau der Kammern für die Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ der Mikrokosmen	19
Abbildung 8: Schematische Darstellung des Aufbaus zur Nematodenextraktion aus Bodenproben	21
Abbildung 9: Übersicht der einzelnen Analyseschritte der Extraktion von Phospholipidfettsäuren und neutralen Lipidfettsäuren aus Bodenproben	22
Abbildung 10: Schematischer Aufbau einer BÜCHI-Metallzelle	23
Abbildung 11: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft, ausgedrückt als PLFA-Zusammensetzung, in den Bodenproben der Mikrokosmen bezüglich der verschiedenen Manipulationen von Nematodenart und -dichte	35
Abbildung 12: Mittlere Konzentration von Membranlipiden (PLFA, NLFA) von saprophytischen Pilzen, AM Pilzen und Bakterien in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte	38
Abbildung 13: Mittlere Konzentration von Membranlipiden (PLFA, NLFA) der grampositiven, gramnegativen sowie Actinobakterien und der zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte	39
Abbildung 14: Mittlere ^{13}C -Anreicherung in Membranlipiden (PLFA, NLFA) von saprophytischen Pilzen, AM Pilzen und Bakterien in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte	43
Abbildung 15: Mittlere ^{13}C -Anreicherung in Membranlipiden (PLFA, NLFA) der grampositiven, gramnegativen sowie Actinobakterien und der zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte	45
Abbildung 16: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden bei erhöhter Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch bakterivore Nematoden	54
Abbildung 17: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden bei erhöhter Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch mykovore Nematoden	55

Abbildung 18: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden bei erhöhter Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch bakterivore und mykovore Nematoden	56
Abbildung A1: Vergleich der ^{13}C -Anreicherung in der oberirdischen Biomasse der Pflanzen nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ zwischen den beiden Kammern	XX

IV Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Chemikalien	12
Tabelle 2:	Geräte	13
Tabelle 3:	Verbrauchsmaterial	14
Tabelle 4:	Übersicht der untersuchten neutralen und Phospholipidfettsäuren und ihre Zuordnung zu den mikrobiellen Gruppen	30
Tabelle 5:	Vergleich der extrahierten und der zugegebenen Nematodendichten in den Mikrokosmen	31
Tabelle 6:	Übersicht der mittleren APE ^{13}C -Werte der mikrobiellen Gruppen an den verschiedenen Zeitpunkten der Probenahme	32
Tabelle 7:	Varianzanalyse der APE ^{13}C -Werte der Marker der betrachteten mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen dem ersten und dem zweiten Probenahmezeitpunkt nach 24 h und 48 h nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$	33
Tabelle 8:	Varianzanalyse der APE ^{13}C -Werte der Marker der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen dem zweiten und dem dritten Probenahmezeitpunkt nach 48 h und 72 h nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$	33
Tabelle 9:	Übersicht der mittleren Konzentrationen der einzelnen Marker und der zugehörigen mikrobiellen Gruppen zum Zeitpunkt der maximalen ^{13}C -Anreicherung in der mikrobiellen Biomasse	34
Tabelle 10:	Varianzanalyse des Pilz-Bakterien-Verhältnisses hinsichtlich Unterschieden in Abhängigkeit zur zugegebenen Nematodenart und -dichte	36
Tabelle 11:	Varianzanalyse der Konzentrationen der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede in Abhängigkeit zur zugegebenen Nematodenart und -dichte	37
Tabelle 12:	Lineares Modell der Konzentrationen der mikrobiellen Gruppen in Abhängigkeit zur extrahierten Nematodendichte	39
Tabelle 13:	Übersicht der mittleren APE ^{13}C -Werte der einzelnen Marker und der zugehörigen mikrobiellen Gruppen zum Zeitpunkt der maximalen ^{13}C -Anreicherung in der mikrobiellen Biomasse	41
Tabelle 14:	Varianzanalyse der APE ^{13}C -Werte der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede in Abhängigkeit zur zugegebenen Nematodenart und -dichte	42
Tabelle 15:	Lineares Modell der APE ^{13}C -Werte der mikrobiellen Gruppen in Abhängigkeit zur extrahierten Nematodendichte	44
Tabelle 16:	Übersicht der mittleren APE ^{13}C -Werte der PLFA-Marker der einzelnen bakteriellen Gruppen der Bodenproben mit verschiedenen Nematodenmanipulationen	47
Tabelle A1:	Lineares Modell der APE ^{13}C -Werte der mikrobiellen Gruppen in Abhängigkeit zur Bodenfeuchte	XX

Tabelle A2:	Paarweise Varianzanalyse der Konzentrationen der bakteriellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den zugegebenen Nematodendichten derselben Nematodenart	XXI
Tabelle A3:	Paarweise Varianzanalyse der APE ¹³ C-Werte der bakteriellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den zugegebenen Nematodenarten und der Negativkontrolle	XXII
Tabelle A4:	Paarweise Varianzanalyse der APE ¹³ C-Werte der Gruppen der grampositiven und gramnegativen Bakterien hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den zugegebenen Nematodendichten derselben Nematodenart	XXIII

V Zusammenfassung

Das Interesse am unterirdischen Kohlenstoffkreislauf ist im Kontext der steigenden CO₂-Konzentration in der Atmosphäre in den letzten Jahren erheblich gestiegen, da Böden einen massiven Speicher an Kohlenstoff in Form von organischem Material darstellen (Schmidt *et al.*, 2011). Die mikrobielle Gemeinschaft hat einen entscheidenden Anteil beim Umsatz des organischen Kohlenstoffs im Boden und spielt somit eine wichtige Rolle in der Regulation des Kohlenstoffflusses (Nielsen *et al.*, 2015). Allerdings sind die Bakterien und Pilze als dominierende Gruppen der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden durch Interaktionen untereinander, mit ihren Konsumenten sowie den Pflanzen eng in das unterirdische Nahrungsnetz eingebunden. Daher ist es wichtig, mikrobielle Prozesse im Kontext dieser Interaktionen zu betrachten. Weiterhin unterliegt die Aktivität, Abundanz sowie die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft einer strengen *Top-Down* Kontrolle durch sowohl mykovore als auch bakterivore Organismen (Filser, 2002). Diese direkte Regulation der gefressenen mikrobiellen Gruppe hat allerdings, durch positive und negative Interaktionen mit anderen mikrobiellen Gruppen, ebenfalls einen indirekten Einfluss auf deren Aktivität und Abundanz. In bisherigen Betrachtungen des unterirdischen Kohlenstoffkreislaufes sind diese direkten und indirekten Effekte höherer trophischer Organismen auf den Kohlenstoffumsatz der Mikroorganismen jedoch weitestgehend vernachlässigt worden (Filser *et al.*, 2016).

Das Ziel dieser Arbeit war, den direkten Einfluss höherer trophischer Ebenen auf die mikrobielle Gemeinschaft sowie den indirekten Einfluss aufgrund Interaktionen zwischen Pilzen und Bakterien zu untersuchen. Daher wurden in einem Mikrokosmosexperiment die Dichten von bakterivoren und mykovoren Nematoden manipuliert. Zur Verfolgung der Kohlenstoffflüsse im Boden erfolgte eine Markierung der Mikrokosmen mit ¹³CO₂. Die Analyse der Konzentration sowie ¹³C-Anreicherung in Lipidfettsäuren bildete die Grundlage für Aussagen über die Zusammensetzung und den Kohlenstoffumsatz der mikrobiellen Gemeinschaft.

Insgesamt waren die Konzentrationen der Lipidfettsäuren nur wenig durch die Nematodenmanipulation beeinflusst. Bei gleichbleibender Biomasse der Bakterien in Anwesenheit bakterivorer Nematoden war allerdings gleichzeitig ihr Kohlenstoffumsatz erhöht. Im Gegensatz dazu führte die Anwesenheit mykovorer Nematoden zu einer erhöhten bakteriellen Biomasse jedoch zu einem geringeren Kohlenstoffumsatz. Eine Interpretation der Ergebnisse könnte eine erhöhte Wachstumsrate der Bakterien in Anwesenheit bakterivorer Nematoden sein, welche zu einem erhöhten Kohlenstofffluss in die bakterielle Gemeinschaft führte. Die Erklärung für die indirekten Effekte der mykovoren Nematoden auf die bakterielle Gemeinschaft wäre eine Beeinflussung der Konkurrenz zwischen Bakterien und Pilzen in der Rhizosphäre zu Gunsten der Bakterien bei erhöhter Dichte an mykovoren Nematoden.

Mit der vorliegenden Arbeit konnte am Beispiel von Nematoden nachgewiesen werden, dass höhere trophische Ebenen die Kohlenstoffflüsse der mikrobiellen Gemeinschaft erheblich sowohl direkt als auch indirekt beeinflussen. Somit sind Nahrungsnetzinteraktionen der Bakterien und Pilze mit ihren Fressfeinden wichtig für die exakte Abbildung der realen Verhältnisse im unterirdischen Kohlenstoffkreislauf und sollten nicht vernachlässigt werden. Die Interaktionen im unterirdischen Nahrungsnetz und ihr Einfluss auf den Kohlenstoffkreislauf sind in dieser Arbeit nur an einem Modellsystem untersucht worden, können in natürlichen Ökosystemen jedoch wesentlich komplexer sein. Zur Erstellung realistischer Modelle der Kohlenstoffflüsse im Boden sind daher weitere Untersuchungen notwendig.

VI Abstract

According to the raising CO₂-concentration in the atmosphere the interest in the belowground carbon cycle substantially increased in recent years because soils contain a massive stock of carbon in the form of organic material (Schmidt *et al.*, 2012). The microbial community plays a crucial part in the turnover of organic carbon in the soil, leading to its essential role in the regulation of the carbon flow (Nielsen *et al.*, 2015). As dominating groups in the microbial community bacteria and fungi are closely involved in the belowground food web by interactions among themselves with their feeders and with plants. Hence, it is important to study microbial processes in the context of these interactions. Furthermore, the activity, abundance and composition of the microbial community underlies a strict top down control by bacterivorous and fungivorous organisms (Filser, 2002). However, this direct regulation of the microbial group affected by feeding has also an indirect influence on the activity and abundance of other microbial groups because of positive and negative interactions. Former studies of the belowground carbon cycle mostly neglected these direct and indirect effects of higher trophic organisms on the carbon turnover of microorganisms (Filser *et al.*, 2016).

The aim of this thesis was to investigate the direct influence of higher trophic levels on the microbial community and the indirect influence of the interaction between bacteria and fungi. Therefore, the densities of bacterivorous and fungivorous nematodes were manipulated in a microcosm experiment. To trace the carbon flow in the soil the microcosms were labelled with ¹³CO₂. The analysis of the concentration and the ¹³C-enrichment of lipid fatty acids are used as a proxy for the composition and the carbon turnover of the microbial community.

In total the concentration of the lipid fatty acids was slightly influenced by the nematode manipulation. While the biomass of bacteria remained constant in the presence of bacterivorous nematodes their carbon turnover increased at the same time. In contrast, the presence of fungivorous nematodes lead to an increased bacterial biomass but additionally to a decreased carbon turnover. This might be due to a higher bacterial growth rate in the presence of bacterivorous nematodes, resulting in a higher carbon flow into the bacterial community. A possible explanation for the indirect effects of the fungivorous nematodes on the bacterial community could be a manipulation of the competition between bacteria and fungi in the rhizosphere in favour of the bacteria with an enhanced density of fungivorous nematodes. Using the example of nematodes, this thesis proves that the microbial community is substantially direct and indirect influenced by higher trophic levels. Thus, food web interactions of the bacteria and fungi with their feeders are essential for accurate models of the real conditions in the belowground carbon cycle and should not be neglected. The interactions in the belowground food web and their impact on the carbon cycle were exclusively studied on a

model system in this thesis. Natural ecosystems could be a lot more complex. Therefore, to create realistic models of the carbon flow in the soil further studies are required.

1 Einleitung

Böden bilden die Basis für eine riesige Vielfalt an Leben auf der Erde und gehören zu den biologisch diversesten und reichsten Lebensräumen. Die mikrobielle Gemeinschaft reguliert wichtige Prozesse im Boden, wie z.B. der Biodegradation von Schadstoffen und den Kohlenstoff- sowie Nährstoffkreislauf (Bardgett & van der Putten, 2014).

Im Kontext des Klimawandels und der steigenden CO₂-Konzentration in der Atmosphäre ist das wissenschaftliche Interesse am Kohlenstoffkreislauf in den letzten Jahren immer weiter gestiegen. Terrestrische Ökosysteme spielen dabei eine wichtige Rolle durch photosynthetische Fixierung von atmosphärischen CO₂, der Sequestrierung von Kohlenstoff in der Biomasse in Böden sowie der Freisetzung von CO₂ durch Atmung (Cheng & Gershenson, 2007). Da im organischen Material der Böden dreimal so viel Kohlenstoff fixiert ist wie in der Atmosphäre oder der terrestrischen Vegetation (Schmidt et al., 2011), wird der unterirdische Kohlenstofffluss zunehmend als einer der wichtigsten Teile des gesamten Kreislaufes angesehen (Cheng & Gershenson, 2007). Die mikrobielle Gemeinschaft kontrolliert jeden wichtigen Schritt des unterirdischen Kohlenstoffkreislaufes. Einerseits nehmen die Mikroorganismen den von Pflanzen assimilierten Kohlenstoff zum eigenen Biomasseaufbau und zur Energiegewinnung auf, während sie andererseits den in organischer Materie gebundenen Kohlenstoff durch Atmung in Form von CO₂ wieder an die Atmosphäre abgeben (Abbildung 2) (Liang *et al.*, 2017). Die Prozesse der mikrobiellen Gemeinschaft können jedoch nur im Kontext ihrer Einbindung in das unterirdische Nahrungsnetz vollständig verstanden werden. Dabei wird ihre Zusammensetzung, Aktivität und Abundanz zum einen durch die Pflanzengemeinschaft, als Kohlenstoff- und Nährstoffquelle, und zum anderen durch die Konkurrenz untereinander kontrolliert. Des Weiteren sind ebenso die Regulationen durch höhere Organismen als Konsumenten der Mikroorganismen entscheidend, welche allerdings in bisherigen Betrachtungen der unterirdischen Kohlenstoffdynamik weitestgehend vernachlässigt worden sind (Filser *et al.*, 2016).

Das Zentrum der Interaktionen zwischen Pflanzen, Mikroorganismen und ihren Konsumenten stellt der unmittelbare Bereich um die Wurzeln, die Rhizosphäre, dar (Bonkowski *et al.*, 2004). Aufgrund des von den Pflanzen als Wurzelexsudate abgegebenen, leicht verfügbaren Kohlenstoffs, ist die Rhizosphäre durch hohe mikrobielle Aktivität und Abundanz gekennzeichnet. Obwohl der Anteil der Rhizosphäre am Gesamtvolumen des Bodens gering ist, sind die Raten wichtiger Prozesse für die Funktionalität des Bodens sowie seiner Rolle in verschiedenen Stoffkreisläufen besonders hoch (Koranda *et al.*, 2011).

Die Organismen in der Rhizosphäre und dem Boden allgemein können u.a. entsprechend ihrer Größe eingeteilt werden. Organismen mit einer Körperbreite von weniger als 0,1 mm gehören zu den Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Archaeen) oder der Mikrofauna (z.B. Nematoden, Protisten etc.), bis zu einer Breite von 2 mm spricht man von Mesofauna (z.B. Milben, Springschwänze etc.), während alle größeren Organismen der Makro- oder Megafauna (z.B. Regenwürmer, Ameisen etc.) zugeordnet werden (Nielsen *et al.*, 2015).

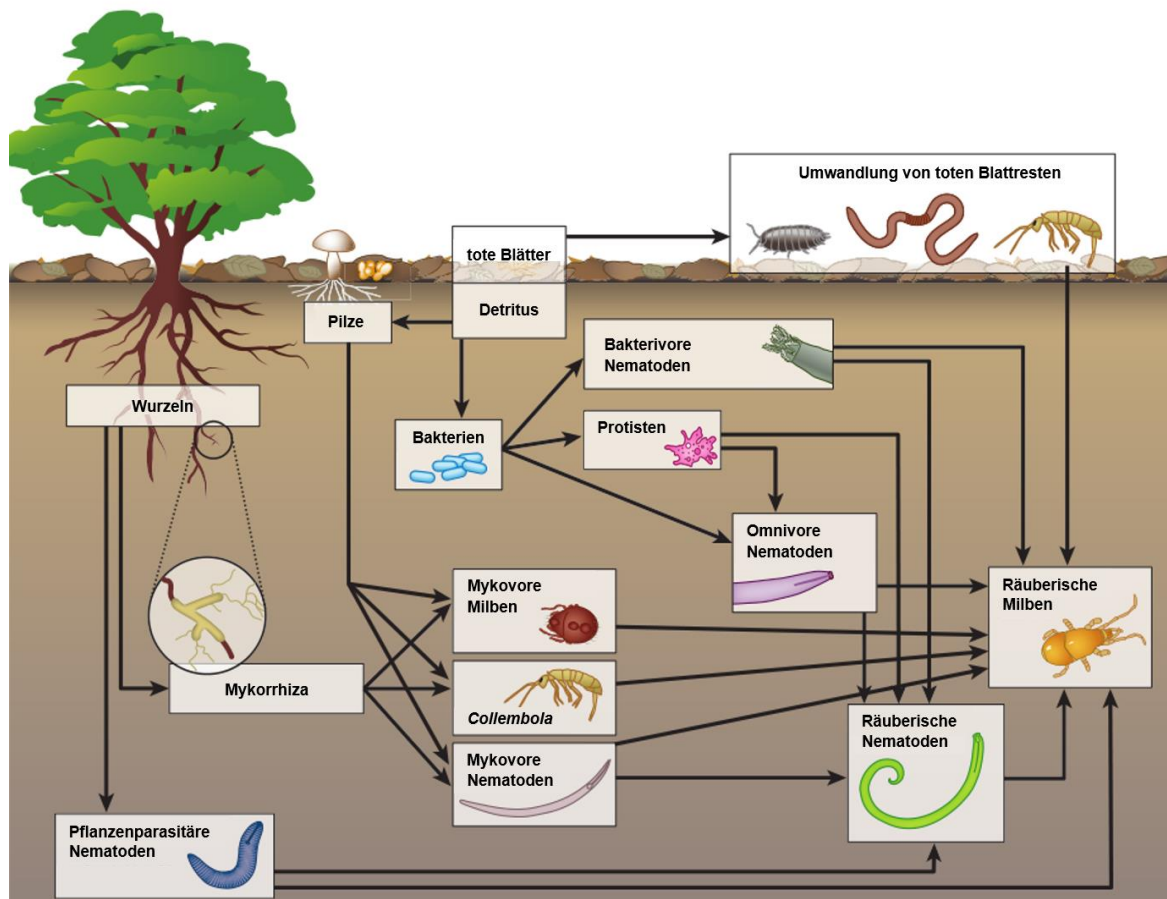


Abbildung 1: Vereinfachte Illustration des Bodennahrungsnetzes mit einigen wichtigen Organismengruppen für den Kohlenstoffkreislauf im Boden. Die Pfeile repräsentieren die Verwertung durch höhere trophische Ebenen (modifiziert nach Nielsen *et al.*, 2015).

Die Mikroorganismen bilden die Basis des heterotrophen Netzwerks im Boden in ihrer Rolle als Pflanzenwurzelsymbionten (z.B. Mykorrhiza, Rhizobien) oder Destruenten. Obwohl Archaeen ebenso im Boden verbreitet sind, repräsentieren sie im Mittel nur 2% der Prokaryoten, so dass die mikrobielle Gemeinschaft im Wesentlichen von Pilzen und Bakterien dominiert wird. Die bakterielle Gemeinschaft besteht größtenteils aus den Phyla Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria sowie Bacteroidetes, während Basidiomyceten und Ascomyceten den Hauptanteil der Pilzgemeinschaft darstellen. Die Mikroorganismen stellen wiederum Nahrung für z.B. Protisten, mykovoren oder bakterivoren Nematoden, mykovoren Milben oder Springschwänzen (*Collembola*) dar, welche wiederum selbst die

Nahrungsgrundlage für größere Fauna wie räuberische Milben oder Nematoden darstellen (Abbildung 1). Andere Organismen leben als Pflanzenparasiten von den lebenden Wurzeln (z.B. pflanzenparasitäre Nematoden), während Regenwürmer, Asseln oder Mikroarthropoden tote Pflanzenreste umwandeln und in das organische Material des Bodens integrieren (Abbildung 1) (Nielsen *et al.*, 2015). Nahrungsnetze in natürlichen Bodenökosystemen können noch wesentlich komplexer sein und weitere Interaktionen sowie Gruppen enthalten.

Pflanzen verlagern einen großen Teil des fixierten Kohlenstoffs in den Untergrund als Wurzelexsudate oder -depositionen (Abbildung 2). Der pflanzliche Kohlenstoff dient den saprophytischen Organismen im Boden als Kohlenstoffquelle, während durch die Mineralisierung des organischen Materials u.a. Stickstoff und Phosphor als pflanzenverfügbare Nährstoffe freigesetzt werden (Singh *et al.*, 2004).

Durch die Verwertung der Biomasse der saprophytischen Organismen durch beispielsweise Nematoden oder Protozoen werden die darin eingeschlossenen Nährstoffe wieder freigesetzt und für die Pflanzen nutzbar gemacht. Somit tragen die mikrobiellen Konsumenten entscheidend zur Mineralisation im Boden und zur Nährstoffversorgung der Pflanzen bei. Wurzelexsudate stellen hauptsächlich niedermolekulare leicht verfügbare Kohlenstoffquellen für die Mikroorganismen in der Rhizosphäre dar und stimulieren deshalb die mikrobielle Aktivität und Abundanz sowie gleichzeitig die Konsumenten der mikrobiellen Biomasse. Somit fördert die Freisetzung von Wurzelexsudaten der Pflanzen ihre Nährstoffversorgung durch Verwertung der mikrobiellen Biomasse von höheren trophischen Ebenen. Dieser Prozess wird im englischen als *microbial loop* bezeichnet und ist eine Erklärung für die Verlagerung von mehr als der Hälfte des pflanzlichen Kohlenstoffs in den Untergrund zur Stimulierung der Interaktionen in der Rhizosphäre (Bonkowski *et al.*, 2004).

Wurzelexsudate dienen allerdings nicht nur zur Förderung der Mineralisierung, sondern sie können ebenso das Wachstum von bestimmten mikrobiellen Gruppen fördern oder hemmen. Die Sekretion diverser chemischer Komponenten kann das Ausbilden von symbiontischen Beziehungen mit Mikroorganismen erleichtern oder die Pflanzenwurzeln vor pathogenen Organismen schützen (Hoffland *et al.*, 1992; Holden *et al.*, 1999; Bais *et al.*, 2005). Durch symbiontische Beziehungen mit Mikroorganismen erhält die Pflanze Zugang zu limitierenden Nährstoffen wie Phosphor oder Stickstoff, während sie die Mikroorganismen mit leichtverfügbarem Kohlenstoff versorgt (Wall & Moore, 1999). Arbuskuläre Mykorrhizapilze (AM Pilze) können symbiontische Beziehungen mit den meisten terrestrischen Pflanzen eingehen, welche häufig nicht wirtsspezifisch ist (Miransari, 2011). Die Wirtspflanze versorgt den Symbionten mit Kohlenstoff, während die AM Pilze die Nährstoffaufnahme der Pflanze erhöhen (Smith & Read, 2008). AM Pilze haben zwar selbst keine saprophytischen Eigenschaften nehmen jedoch den anorganischen Stickstoff, der durch den Abbau toten

organischen Materials entsteht, auf und transportieren ihn zur Wirtspflanze (Herman *et al.*, 2012). Die Interaktionen zwischen Pflanzen und Mikroorganismen können jedoch nicht nur positive Wirkungen auf das Pflanzenwachstum haben, sondern ebenso negativ sein, z.B. aufgrund von Pathogenität oder Konkurrenz um Nährstoffe besonders in nährstofflimitierten Ökosystemen (Nielsen *et al.*, 2015).

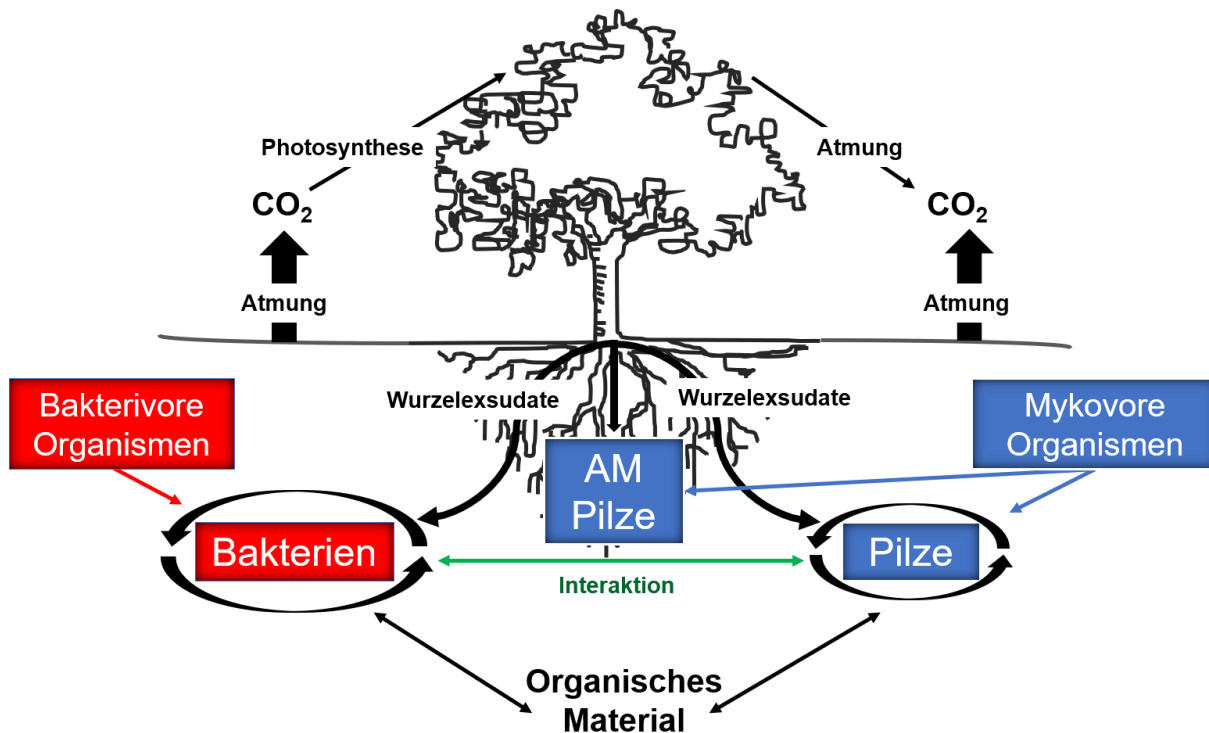


Abbildung 2: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden. Kohlenstoffflüsse sind durch schwarze Pfeile hervorgehoben, die Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch mykovore Organismen mit blauen Pfeilen, durch bakterivore Organismen mit roten Pfeilen sowie die wechselseitige Beziehung zwischen Bakterien und Pilzen mit grünen Pfeilen.

Der pflanzliche Kohlenstoff im Boden wird einerseits von den Bakterien und andererseits von saprophytischen Pilzen abgebaut (Abbildung 2). Saprophytische Pilze zersetzen hauptsächlich schwerabbaubare Komponenten der Pflanzenreste (z.B. Lignin) durch Abgabe von lignocellulolytischen Enzymen als initialen Angriff auf diese komplexen organischen Verbindungen (Crowther *et al.*, 2012). Die bakterielle Gemeinschaft ist im Gegensatz dazu vermehrt am Abbau einfacher Substanzen beteiligt (de Boer *et al.*, 2005). Allgemein erfolgt der Abbau durch die Abgabe mikrobieller Exoenzyme, welche komplexere Verbindungen in Monomere spalten. Diese werden von den Mikroorganismen aufgenommen und in der Zelle weiter verwertet. Während der Verwertung in der Zelle wird ein Teil des Kohlenstoffes zum Energiegewinn als CO₂ veratmet und freigesetzt, während ein anderer Teil zum Aufbau von mikrobieller Biomasse assimiliert wird. Nach dem Tod der Zelle wird die mikrobielle Biomasse in das organische Material des Bodens integriert (Abbildung 2) (Kindler *et al.*, 2006).

Die Dekomposition durch saprophytische Organismen im Boden lässt sich einerseits in den Abbau leichtverfügbarer Wurzelexsudate und -depositionen in der Rhizosphäre und andererseits in den Abbau toter Pflanzenreste und anderem organischen Material im restlichen Teil des Bodens einteilen (Abbildung 2). Gramnegative Bakterien sind hauptsächlich an der Verwertung von Wurzelexsudaten in der Rhizosphäre beteiligt, während grampositive Bakterien bevorzugt das organische Material des Bodens abbauen (Treonis *et al.*, 2004; Paterson *et al.*, 2007). Saprophytische Pilze sind aufgrund ihres Monopols im initialen Abbau von Lignin am Abbau des organischen Materials des Bodens beteiligt (Crowther *et al.*, 2012), leisten jedoch ebenso einen signifikanten Beitrag zum Abbau von Wurzelexsudaten (Butler *et al.*, 2003; Treonis *et al.*, 2004). Somit besteht besonders in der Rhizosphäre ein Konkurrenzdruck zwischen Bakterien und Pilzen, was wahrscheinlich im Rahmen der Evolution zur Ausbildung verschiedener antagonistischer Strategien auf beiden Seiten geführt hat (Abbildung 2) (de Boer *et al.*, 2005). Auf der Seite der Bakterien gibt es eine Vielzahl antimykotischer Reaktionen, wie beispielsweise der Produktion von Cyanwasserstoff, Antibiotika oder lytischen Enzymen. Einen Vorteil in der Konkurrenz um Nährstoffe bietet zudem die Abgabe von z.B. Siderophoren als Chelatoren von Eisen (Whipps, 2001; Wheatley, 2002). Pilze können wiederum diesen antimykotischen Mechanismen durch verschiedene Strategien zur Detoxifikation, z.B. Membrantransportern zum Entfernen von Antibiotika aus der Zelle, oder Modifikationen der bakteriellen Genexpression entgegenwirken (Duffy *et al.*, 2003). Bakterizide Strategien von Pilzen sind neben der Exkretion von antibakteriellen Substanzen die Abgabe von Hydroxylradikalen (Tornberg & Olsson, 2002) oder die Azidifizierung der Umgebung (Goodell, 2003). Des Weiteren gibt es sowohl Pilze, welche Bakterien lysieren und konsumieren (Barron, 1988), als auch Pilzhyphen lysierende Bakterien (Mitchell & Alexander, 1963; Inbar & Chet, 1991; Lim *et al.*, 1991; Chernin *et al.*, 1995; Dijksterhuis *et al.*, 1999).

Neben der Konkurrenz um leichtverfügbare Kohlenstoffverbindungen sind jedoch ebenso positive Interaktionen zwischen Bakterien und Pilzen möglich. Bakterien nutzen die beim initialen Abbau von komplexen Pflanzenkomponenten von Pilzen entstehenden wasserlöslichen Zucker oder phenolischen Verbindungen als Wachstumssubstrate und haben deshalb einen Vorteil aus einer erhöhten Abbauproduktivität der Pilze. Bakterien geben Wachstumsfaktoren (Vitamine) ab oder stimulieren die Enzymaktivität der Exoenzyme der Pilze durch Entfernen der Produkte. Des Weiteren wird durch die bakterielle Produktion von Pektinasen oder Cellulasen die Verfügbarkeit des Substrates für die Pilze erhöht. Außerdem können Bakterien gelöste Stoffe abbauen, welche toxisch für bestimmte Pilzarten sind. Dies könnte insgesamt zu einer erhöhten Abbauproduktivität von Pilzen in Anwesenheit von Bakterien führen (de Boer *et al.*, 2005).

Die Interaktion zwischen Pilzen und Bakterien sowie ihre Rolle im Kohlenstoffkreislauf unterliegt zusätzlich zu allen bisher erläuterten Punkten einer *Top-Down* Kontrolle durch höhere trophische Organismen, welche sich von den Mikroorganismen im Boden ernähren (Abbildung 2). Allgemein beeinflusst das „Abweiden“ der Mikroorganismen von z.B. Protisten oder Nematoden die Aktivität, Biomasse sowie die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft (Filser, 2002).

Nematoden (Abbildung 3) sind die zahlreichste und diverseste Tiergruppe im Boden und der Rhizosphäre in den meisten Ökosystemen (van den Hoogen *et al.*, 2019). Die Nematoden im Boden können anhand ihrer Nahrungspräferenzen eingeteilt werden. Einige haben ein breites Nahrungsspektrum von prokaryotischen Zellen bis zu organischen Partikeln (omnivor), weitere Gruppen leben räuberisch von kleineren Tieren und wieder andere nur durch die Verwertung toter mikrobieller Biomasse oder organischen Partikeln (saprophytisch). Die meisten Nematoden im Boden (70%) ernähren sich allerdings ausschließlich von Bakterien (bakterivor), indem sie mit kleinen Mundhöhlen die prokaryotischen Zellen aussaugen. Ein weiterer großer Teil ernährt sich mithilfe ihres spitzen Mundstachels ausschließlich durch das Aussaugen von Pilzhyphen und -sporen (mykovor). Die letzten beiden Gruppen sind unter den wichtigsten Konsumenten der lebenden mikrobiellen Biomasse und kommen deshalb vermehrt in der dicht von Mikroorganismen besiedelten Rhizosphäre vor. Da sich Nematoden durch schlängeln oder schwimmen fortbewegen, sind sie auf Wasser angewiesen. In trockeneren Zeiten können sie jedoch Dauerformen zur Überdauerung bilden (Ottow, 2011). Weiterhin kann die Abundanz und die Diversität von Bodennematoden als Konsumenten der mikrobiellen Biomasse zur Indikation von Nährstoffumsatz und -fluss durch die Nahrungskette dienen (van den Hoogen *et al.*, 2019)

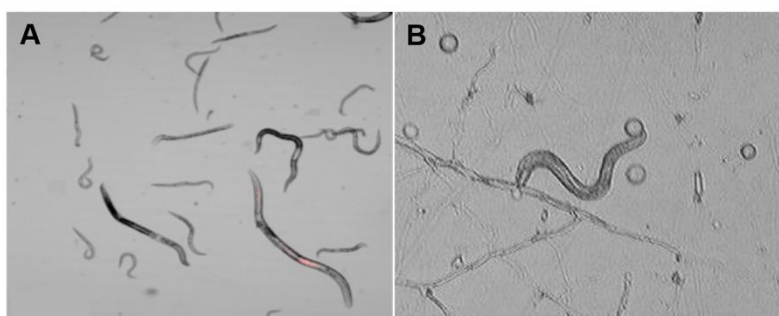


Abbildung 3: Mikroskopische Aufnahmen lebender Nematoden.

A Bakterivore Nematodenart *Acroboloides buetschlii*
(modifiziert nach Kroupitski *et al.*, 2015);

B Mykovore Nematodenart *Aphelenchoides saprophilus* (Knudsen *et al.*, 2015).

Viele Studien haben bisher gezeigt, dass in Anwesenheit von Bakterivoren die Atmung und ebenso die Aktivität der Bakterien im Boden (Coleman *et al.*, 1978; Kuikman *et al.*, 1990; Alpehi *et al.*, 1996; Djigal *et al.*, 2004) und in Süßwassersedimenten (Traunspurger *et al.*, 1997) erhöht ist. Aufgrund der gesteigerten mikrobiellen Aktivität wird durch die Anwesenheit

von bakterivoren Nematoden oder Protisten gleichzeitig der Abbau von Schadstoffen (Zhou *et al.*, 2011) und des organischen Materials (Griffith, 1994; Jiang *et al.*, 2018) des Bodens gefördert. Ingham *et al.* 1985 fanden zudem ein gesteigertes bakterielles Wachstum in Anwesenheit von bakterivoren Nematoden. Die erhöhte mikrobielle Aktivität kann durch zwei Mechanismen begründet werden. Einerseits werden durch die Konsumenten der bakteriellen Biomasse Nährstoffe und labile Kohlenstoffkomponenten frei, was zu günstigeren Bedingungen für das bakterielle Wachstum führt (Griffiths, 1994), andererseits wird durch das beständige „abweiden“ der älteren inaktiven Zellen die bakterielle Gemeinschaft in einem metabolisch aktiveren jüngeren Stadium gehalten (Bonkowski, 2004). Die bakterielle Gemeinschaft kann bei genügend Nährstoff- und Kohlenstoffverfügbarkeit auf die Reduzierung der bakteriellen Biomasse mit kompensierendem Wachstum reagieren (Fu *et al.*, 2005; Nieminen, 2009), was zu einer gleichbleibenden oder steigenden bakteriellen Biomasse in Anwesenheit von bakterivoren Organismen führt (Elliott *et al.*, 1980; Ingham *et al.*, 1985; Sundin *et al.*, 1990). Die Anwesenheit von Bakterivoren kann die bakterielle Biomasse allerdings ebenso nachweislich reduzieren (Coleman *et al.*, 1977; Anderson *et al.*, 1977; Elliott *et al.*, 1979; Zwart & Darbyshire, 1992; Darbyshire *et al.*, 1994). Bakterien können nicht nur mit kompensierendem Wachstum auf ihre Fressfeinde reagieren, sondern weiterhin durch Investition von Energie in Abwehrmechanismen. Dies hat eine geringere Produktion von Biomasse und einen Rückgang der mikrobiellen Atmung zur Folge (Richter *et al.*, 2019). Verschiedene Nahrungspräferenzen der Bakterivoren führen generell zu einer veränderten Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft, da die nicht gefressenen Arten bevorzugt werden und eine erhöhte Abundanz aufweisen. Oft sind Arten aufgrund ihrer Zellwandstruktur (Rønn *et al.*, 2002), ihres filamentösen Wachstums (Rosenberg *et al.*, 2009) oder chemischen Abwehrmechanismen (Mazzola *et al.*, 2009; Jousset *et al.*, 2010) vor ihren Fressfeinden geschützt.

Das „Abweiden“ vom Pilzmyzel durch mykovore Organismen wie Springschwänzen oder Nematoden kann dessen Wachstum und Physiologie beeinflussen (Crowther *et al.*, 2011). Die Anwesenheit von mykovoren Arten schränkt die Hyphenausbreitung ein (Tordoff *et al.*, 2006) und unterbricht zudem den Nährstoff- sowie Kohlenstofftransport durch das Myzel (Tordoff *et al.*, 2011). Die Reaktion der Pilze ist sowohl artspezifisch als auch abhängig von der Dichte der mykovoren Organismen. Bei geringen Dichten der Fressfeinde können die Pilze auf die negativen Effekte mit erhöhter Myzelausbreitung und vermehrten Hyphenverzweigungen im Rahmen von kompensierendem Wachstum reagieren (Crowther *et al.*, 2012). Damit wird eine erhöhte Nährstoffaufnahme (Bengtsson *et al.*, 1993) sowie eine Flucht in weniger kolonisierte Bereiche des Bodens (Hedlund *et al.*, 1991) erreicht. Folglich wird in Anwesenheit einer geringen Zahl von mykovoren Organismen das Pilzwachstum stimuliert (Crowther *et al.*, 2012) sowie die Atmungsrate und Aktivität erhöht

(Hanlon & Anderson, 1979). Im Gegensatz dazu wird bei einer zu hohen Dichte der mykovoren Organismen im Boden das Pilzwachstum gehemmt (Crowther *et al.*, 2012) und die Atmungsrate reduziert (Bardgett *et al.*, 1993). Dies gilt nicht nur für saprophytische Pilze, sondern ebenso für Mykorrhizapilze (Gange & Brown, 2002). Die Mikrofauna im Boden kann durch ihre mykovore Ernährung das Ergebnis konkurrierender Myzelinteraktionen beeinflussen und die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft mitbestimmen. Einerseits wird bei einer zu hohen Dichte ihrer Fressfeinde die Ausbreitung dominierender Arten gehemmt, während andererseits eine geringe Intensität des „Abweidens“ von Hyphen zu einer Stimulierung von weniger konkurrenzstarken Arten führt (Crowther *et al.*, 2012).

Grundsätzlich sind die Wirkungen von höheren trophischen Ebenen auf die mikrobielle Gemeinschaft komplex und beeinflussen aufgrund der Interaktionen innerhalb des Bodennahrungsnetzes ebenso die nicht direkt betroffenen mikrobiellen Gruppen sowie die Pflanzen.

2 Zielstellung und Hypothesen

Pilze und Bakterien als Hauptregulatoren des unterirdischen Kohlenstoffflusses sind durch Wechselwirkungen mit den Pflanzen als Hauptkohlenstoffquelle, Konkurrenz untereinander sowie durch Regulation von höheren trophischen Ebenen eng in das Nahrungsnetz im Boden eingebunden. Deshalb können ihre vielfältigen Funktionen im Ökosystem nicht losgelöst davon betrachtet werden.

Da Bakterien und Pilze sich gegenseitig beeinflussen, jedoch selbst ebenso von bakterivoren sowie mykovoren Organismen im Boden kontrolliert werden, hat die Anwesenheit und Interaktion der Konsumenten der Bakterien und Pilze neben der direkten Wirkung auf die Aktivität und Zusammensetzung der gefressenen mikrobiellen Gruppe ebenso einen Einfluss auf die Interaktion zwischen den beiden dominierenden mikrobiellen Gruppen im Boden. Dieses Zusammenspiel zwischen Bakterien, Pilzen und ihren Konsumenten sowie dessen Einfluss auf den unterirdischen Kohlenstofffluss und die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft ist bisher nur wenig erforscht. Daher beschäftigt sich die zentrale Forschungsfrage dieser Arbeit mit dem Einfluss höherer trophischer Ebenen auf den Kohlenstoffumsatz und die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden.

Zur Beantwortung dieser Frage soll die Dichte von mykovoren sowie bakterivoren Organismen als Konsumenten der beiden dominanten mikrobiellen Gruppen im Boden in einem Mikrokosmosexperiment künstlich erhöht werden. Dieses Experiment kann in folgende Teilaspekte aufgeteilt werden:

1. Nematoden sind gute Modellorganismen, um Kohlenstoffflüsse durch das Nahrungsnetz im Boden zu bestimmen, da sie eine dominierende Gruppe in der Mikrofauna der meisten Böden darstellen, sehr divers sind und alle trophischen Ebenen im Boden abdecken (Pausch *et al.*, 2016). Deshalb soll sowohl eine ausschließlich mykovore sowie ausschließlich bakterivore Nematodenart zur Manipulation der Nematodenarten und -dichten in den Mikrokosmen dienen, um ihre Effekte auf die bakterielle und die Pilzgemeinschaft abzuschätzen. Zur Kontrolle dieser Manipulationen soll ein Vergleich der Nematodendichten im Boden aller Mikrokosmen nach Abschluss des Experimentes mit den vorher zugegebenen Dichten sowie der Negativkontrolle ohne künstliche Nematodenzugabe erfolgen. Auf diese Art und Weise wird sichergestellt, dass die Zugabe der Nematoden die ursprüngliche Nematodendichte tatsächlich erhöht hat und die Manipulationen erfolgreich waren.
2. Die Analyse der Phospholipidfettsäuren (PLFA) sowie neutralen Lipidfettsäuren (NLFA) in einer Bodenprobe stellt eine schnelle und trotzdem sensitive Methode dar, um sowohl Aussagen über die Struktur der bakteriellen als auch der Pilzgemeinschaft als Reaktion auf veränderte Umweltbedingungen zu treffen (Willers *et al.*, 2015). In dieser Arbeit soll durch die Analyse der PLFA- und NLFA-Konzentrationen im Boden der Mikrokosmen der Einfluss der Nematodenzugabe auf die Struktur und die Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft ermittelt werden.
3. Durch *Pulse-Label* Experimente wird die Verteilung des neu assimilierten Pflanzen-Kohlenstoffes im Bodensystem erfasst, indem Pflanzen für wenige Minuten bis Stunden einer erhöhten Konzentration von $^{13}\text{CO}_2$ ausgesetzt werden (Brüggemann *et al.*, 2011). Die Kombination von Lipid-Analysen und der Markierung mit ^{13}C kann zum Detektieren des Kohlenstoffflusses durch die mikrobielle Gemeinschaft im Boden dienen (Yao *et al.*, 2015). Im Rahmen dieser Arbeit soll ein $^{13}\text{CO}_2$ -*Pulse-Label* der Pflanzengemeinschaft der Mikrokosmen erfolgen. Der Einfluss der Nematoden auf den Kohlenstoffumsatz der Mikroorganismen wird bestimmt durch die Messung des maximalen Einbaus von ^{13}C in die Lipidfettsäuren. Durch die Einteilung der mikrobiellen Gruppen anhand ihrer Präferenz der Verwertung von Wurzelexsudaten (wurzelassoziiert) oder des organischen Materials des Bodens (bodenassoziiert) ist der Einfluss der Nematoden auf den Kohlenstofffluss von den Pflanzen in die einzelnen mikrobiellen Gruppen abschätzbar.

4. Der Zeitpunkt des maximalen Einbaus von ^{13}C in die Lipidfettsäuren wird durch den Vergleich ihrer ^{13}C -Anreicherung an mehreren Zeitpunkten nach dem *Pulse-Label* ermittelt. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse werden bei der Auswertung der gemessenen Daten nur die Proben des Zeitpunktes der maximalen ^{13}C -Anreicherung in den Lipidfettsäuren berücksichtigt.

Basierend auf früheren Forschungsergebnissen, wird eine gesteigerte Aktivität, ein erhöhtes Wachstum und folglich ein größerer Kohlenstoffumsatz der Bakterien in Anwesenheit von bakterivoren Nematoden erwartet. Sind genügend Nährstoffe und Substrat zum Wachsen vorhanden, kann die Reduktion der Biomasse infolge der erhöhten Anzahl an Fressfeinden mithilfe von kompensierendem Wachstum ausgeglichen werden. Somit wären die Effekte auf die Struktur und die Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft minimal. Mit steigender Dichte der bakterivoren Nematoden könnte die Reduzierung der bakteriellen Biomasse jedoch so hoch sein, dass sie nicht durch erhöhte Wachstumsraten ausgeglichen werden kann und sich die Struktur der bakteriellen Gemeinschaft zu einer Dominanz der weniger gefressenen Arten verschiebt.

Die Pilzgemeinschaft zeigt eine hohe Sensitivität gegenüber der Dichte mykovorer Organismen. Ist die Dichte der Nematoden gering genug, reagieren die Pilze mit kompensierendem Wachstum und erhöhtem Kohlenstoffumsatz. Bei einer zu hohen Dichte mykovorer Nematoden wird das Myzelwachstum gehemmt und der Kohlenstoffumsatz sinkt. Bakterien und Pilze interagieren miteinander, deshalb wird die Erhöhung der Dichte der Konsumenten der einen Gruppe ebenso die andere beeinflussen. Je nachdem ob unter den experimentellen Bedingungen die positiven oder die negativen Interaktionen zwischen der bakteriellen und der Pilzgemeinschaft überwiegen, resultieren für die nicht gefressene Gruppe Vorteile bei überwiegenden negativen Interaktionen oder Nachteile in Folge dominierender positiver Interaktionen aus der Anwesenheit der Nematoden.

3 Material und Methoden

3.1 Material

2.1.1 Nematoden und Pilzkulturen

Die zur Anzucht der Nematoden und Pilze verwendeten Stammkulturen wurden von der Arbeitsgruppe Ökologie von Frau Prof. Liliane Rueß des Institutes für Biologie an der Humboldt Universität zu Berlin bereitgestellt.

3.1.2 Medien

Zur Sterilisation wurden die Medien bei 121°C für 20 min autoklaviert.

Pachlewska Agar	
Glucose	20,00 g
Maltose	5,00 g
KH ₂ PO ₄	1,00 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,50 g
NH ₄ -Tartrat	0,50 g
Thiamin-HCl	5 x 10 ⁻⁵ g
Novobiocin	0,01 g
Fe-Citrat (1%)	0,50 ml
ZnSO ₄ (0,2%)	0,50 ml
Agar-Agar	15 g
A. dest.	<i>ad</i> 1.000 ml

Kartoffelextrakt-Glucose-Agar	
Kartoffelextrakt	4 g
Dextrose	20 g
Agar-Agar	15 g
A. dest. (pH 5,6)	<i>ad</i> 1.000 ml

3.1.2 Lösungen und Puffer

Phosphatpuffer (0,05 M)	
K ₂ HPO ₄	8,71 g
A. bidest. (pH 7,4)	<i>ad</i> 1.000 ml

3.1.3 Chemikalien

Tabelle 1: Chemikalien

Chemikalien	Hersteller
Aceton	Merck KGa, Darmstadt
Agar-Agar Kobe I	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Ammoniumtartrat	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Chloroform	Merck KGa, Darmstadt
Dichlormethan	Merck KGa, Darmstadt
Di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck KGa, Darmstadt
1,2-Di-Nonadecanoyl-sn-Glycero-3-Phosphocholin	Avanti Polar Lipids Inc., Alabaster (USA)
Eisencitrat	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Essigsäure (100%)	Merck KGa, Darmstadt
Glucose-mono-hydrat	Merck KGa, Darmstadt
Isooctan	Merck KGa, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat	VWR International GmbH, Darmstadt
Kaliumhydroxid	VWR International GmbH, Darmstadt
Kartoffelextrakt-Glucose-Agar	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Magnesiumsulfat-hepta-hydrat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, St. Louis (USA)
Methanol	Merck KGa, Darmstadt
Maltose-mono-hydrat	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Methyltridecanoat	Merck KGa, Darmstadt
n-Hexan	Merck KGa, Darmstadt
Natriumsulfat	Merck KGa, Darmstadt
Novobiocin	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
Quartzsand (0,3-0,9 mm Korngröße)	BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen
Salzsäure	Merck KGa, Darmstadt
Silicagel	Merck KGa, Darmstadt
Thiaminhydrochlorid	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
1,2,3-Tri-Nonadecanoyl-sn-Glycerol	
Toluol	Merck KGa, Darmstadt
Zinksulfat	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe

3.1.4 Geräte

Tabelle 2: Geräte

Gerät	Hersteller
Abzug, DELTA control	TROX GmbH, Neukirchen-Vluyn
Analysewaage, XPE205	Mettler-Toledo GmbH, Gießen
Autoklav, Systec DX 45	Systec GmbH, Linden
Blockthermostat BT 200	Kleinfeld Labortechnik GmbH, Gehrden
Büchi-Extraktionsflaschen*	BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen
Büchi-Metallzellen	BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen
Einsätze für GC-Gläschen*	VWR International GmbH, Darmstadt
GC-Gläschen und Deckel	VWR International GmbH, Darmstadt
GC-System 7890B	Agilent Technologies Inc., Santa Clara (USA)
Glastrichter*	Schott AG, Mainz
IRMS Delta V Plus	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Kugelmühle, MM 400	Retsch GmbH, Haan
Laborwaage, PB3002	Mettler-Toledo GmbH, Gießen
Metallfedern	Chromatographie Service GmbH, Langerwehe
Pipetten (10 µl, 100 µl, 1.000 µl, 5.000 µl)	Eppendorf AG, Hamburg
Rotationsverdampfer	BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen
Scheidetrichter*	Schott AG, Mainz
Sieb (2 mm)	Retsch GmbH, Haan
Speed Extractor E-916	BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen
Spitzkolben (25 ml, 50 ml, 100 ml)*	Schott AG, Mainz
Sterilwerkbank, Hera Safe	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Trockenschrank	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Vortexer, REAX control	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach
Zentrifuge, Megafuge 1.0	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Zentrifugengläschen*	Gebr. Rettberg GmbH, Göttingen

* für 5 h bei 500°C gegläht

3.1.5 Verbrauchsmaterial**Tabelle 3: Verbrauchsmaterial**

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Chromabond® Aminopropylsäulen	Macherey Nagel GmbH & Co. KG, Düren
Chromabond® Silicasäulen	Macherey Nagel GmbH & Co. KG, Düren
Fieberglassfilter	Whatman/ GE Healthcare, Chalfont St Giles (GB)
Gaze (20 µm)	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Glaswolle*	Chromatographie Service GmbH, Langerwehe
Pasteurpipetten*	VWR International GmbH, Darmstadt
Petrischalen	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Pipettenspitzen (10 µl, 100 µl, 1.000 µl, 5.000 µl)	Eppendorf AG, Hamburg
Siebgewebe (15 µm)	VWR International GmbH, Darmstadt
Teflonfilter	Merck KGa, Darmstadt

* für 5 h bei 500°C geglüht

3.2 Methoden

3.2.1 Experimentelles Design

Zur Untersuchung des Einflusses von Nematoden auf den Kohlenstoffumsatz und die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden diente die künstliche Zugabe einer mykovoren sowie einer bakterivoren Nematodenart in Mikrokosmen unter annähernd gleichen Bedingungen, um die Schwankungen der Umweltbedingungen auf die mikrobielle Gemeinschaft zu minimieren. Mikrokosmen ohne künstlich zugegebene Nematoden stellten die Negativkontrolle dar. Die Manipulation der Nematodenarten erfolgte sowohl mit der bakterivoren als auch mit der mykovoren Art einzeln, um zum einen die separaten Effekte höherer trophischer Ebenen auf die bakterielle und zum anderen auf die Pilzgemeinschaft in den Mikrokosmen zu bestimmen. Des Weiteren diente die Zugabe der bakterivoren und der mykovoren Nematodenart in Kombination zum Abschätzen der synergetischen Effekte beider Arten auf die mikrobielle Gemeinschaft. Um neben dem Nematodeneffekten außerdem den Effekt der Nematodendichte bestimmen zu können, erfolgte die Nematodenzugabe durch zwei verschiedene Dichten in allen Kombinationen.

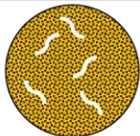
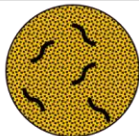
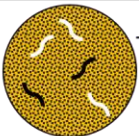
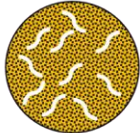
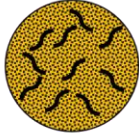
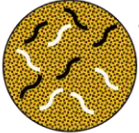
Negativkontrolle (K)	Mykovore Nematoden (F)	Bakterivore Nematoden (B)	Beide (F+B)
Keine künstliche Nematodenzugabe	 + 12 Ind. g ⁻¹ <i>A. saprophilus</i>	 + 12 Ind. g ⁻¹ <i>A. buetschlii</i>	 + 12 Ind. g ⁻¹ <i>A. saprophilus</i> ; <i>A. buetschlii</i>
	 + 24 Ind. g ⁻¹ <i>A. saprophilus</i>	 + 24 Ind. g ⁻¹ <i>A. buetschlii</i>	 + 24 Ind. g ⁻¹ <i>A. saprophilus</i> ; <i>A. buetschlii</i>

Abbildung 4: Übersicht der verschiedenen Kombinationen der Nematodenzugabe zu den Mikrokosmen und der Negativkontrolle

Es wurde jeweils ein kompletter Satz Mikrokosmen aller sechs Manipulationen und der Negativkontrolle (Abbildung 4) in Triplikaten für vier Probenahmezeitpunkte mit einer Gesamtmenge von 84 Mikrokosmen angesetzt.

3.2.2 Bodensubstrat

Das Bodensubstrat stammt aus der Versuchsfläche des Jena-Experiments, welche im Norden von Jena in der Saaleaue liegt (50°55'N, 11°35'E; 130 m ü. NN) (Roscher *et al.*, 2004). Die Proben für die Mikrokosmen wurden neben der Versuchsfläche in unmittelbarer Nähe zum Fluss genommen. Ziel war es, Boden mit einem möglichst hohen Sandgehalt (über 40%) zu verwenden, um räumliche Einschränkungen für die Nematoden, durch zu kleine Porengrößen zu vermeiden. Eine sanfte Vorbehandlung des Bodens erfolgte nach der Gefrier-Tau-Methode nach Poll *et al.* (2007). Der Boden wurde für 48 h bei -20°C gefroren, um danach für sieben

Tage bei Raumtemperatur aufgetaut zu werden. Darauf folgte ein zweiter Gefrierschritt bei -20°C für 48 h sowie erneutes Auftauen bei Raumtemperatur. Durch diese Behandlung sollte die natürliche Nematodendichte des Bodens gesenkt werden, um mögliche Nebeneffekte zu minimieren. Abschließend wurde der Boden zur Reduktion der Meso- und Makrofauna sowie zur Homogenisierung gesiebt (2 mm).

3.2.3 Bepflanzung

Um möglichst naturnahe Bedingungen in den Mikrokosmen zu gewährleisten, wurden typische Pflanzenarten der zentraleuropäischen Frischwiesen (Arrhenatherion) verwendet, da dies der natürlichen Vegetation des Bodenstandortes entspricht (Roscher *et al.*, 2004). Die ausgewählte Pflanzengemeinschaft bestand aus zwei Grasarten (*Poa pratensis*, *Alopecurus pratensis*), einer Leguminose (*Trifolium repens*) sowie einem Kraut (*Leucanthemum vulgare*). Jeweils ein Individuum jeder Art wurde ca. 2 Monate vor Beginn des Experiments zusammen in kleinen Pflanztöpfen (150 ml) angesät und mittels Ebbe-Flut-Verfahren jeweils für 5 min jeden Tag bis zum Keimen der Samen gewässert. Anschließend erfolgte die Bewässerung zwei- bis dreimal wöchentlich je nach Sonneneinstrahlung und Bodenfeuchte. Da die Wachstumsperiode der Pflanze in einem Zeitraum mit geringen Tageslicht von November bis Januar lag, diente eine künstliche Beleuchtung der Pflanzen für 12 h täglich ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photosynthetisch aktive Photonenflussdichte) zusätzlich zum Tageslicht zur Erhöhung der Lichtintensität.

3.2.4 Kultivierung der Nematoden

Die verwendete mykovore Nematodenart *Aphelenchoides saprophilus* wächst auf Pachlewski Agarplatten mit dem Basidomyceten *Laccaria laccata* als Nahrungsquelle, während die verwendeten bakterivoren Nematoden der Art *Acrobelloides buetschlii* auf Kartoffelextrakt-Glucose-Agarplatten mit dem Ascomyceten *Chaetomium globosum* angezogen wurden (Dighton & Ruess, 1996). Die Kultivierung der Pilze erfolgte durch die Überführung von jeweils 1x1 cm großen Stücken einer Pilzmutterplatte unter sterilen Bedingungen auf eine neue Agarplatte. Nach einer Inkubation der neuen Pilzplatten von ca. 4 Wochen bei 20°C in Dunkelheit, war der Pilz groß genug, um mit Nematoden besetzt zu werden. Dies erfolgte ebenfalls durch Überführen von zwei 1x1 cm großen Stücken von gut bewachsenen Nematodenmutterplatten auf die neuen Pilzplatten unter sterilen Bedingungen. Nach einer erneuten Inkubation der Platten bei 20°C in Dunkelheit von ca. 4 Wochen konnten die Nematoden von gut bewachsenen Platten extrahiert werden.

3.2.5 Extraktion der Nematoden von Agarplatten nach der Kultivierung

Die Extraktion der Nematoden aus dem Nähragar erfolgte in PVC-Rohren (\varnothing 10 cm), welche von unten mit einer Gaze (20 μ m) bespannt waren und in mit Wasser gefüllten Glaspetrischalen standen (Abbildung 5). Der mit Nematoden bewachsene Agar wurde aus den Petrischalen in die Plastikrohre überführt und mit Leitungswasser überschichtet. Nach einer Extraktionszeit von 24 h sind die lebenden Nematoden aus dem Agar durch die Gaze in das Wasser gewandert und konnten in einem Becherglas gesammelt werden. Anschließend wurden die Nematoden der gleichen Art im Wasser auf einem Siebgewebe (15 μ m) gesammelt und zur Konzentration in ein geringeres Wasservolumen zurück überführt. Die Bestimmung der Nematodenkonzentration erfolgte durch Auszählen der Individuen in dreimal 10 ml der Nematodensuspension unter einem Mikroskop. Um ähnliche Volumina beider Nematodenarten zu den Mikrokosmen hinzugeben zu können, wurden die Konzentrationen der Nematodensuspensionen durch entsprechende Verdünnung angeglichen.



Abbildung 5: Extraktion der Nematoden aus dem Nähragar

3.2.6 Beimpfung der Mikrokosmen mit Nematoden

In jedem Mikrokosmos erfolgte die Zugabe von vier mal 5 ml Wasser oder Nematodensuspension in vorbereitete Vertiefungen in jeder Ecke des Topfes (Abbildung 6), so dass insgesamt zu der Negativkontrolle 20 ml Leitungswasser, zu der Manipulation mit geringer Nematodendichte 10 ml Wasser und 10 ml Nematodensuspension sowie 20 ml Nematodensuspension zu der Manipulation mit hoher Nematodendichte hinzugefügt wurden. Die Etablierung der zugegebenen Nematoden in der Gemeinschaft im Boden erfolgte zehn Tage unter den Wachstumsbedingungen der Pflanzen. Die Unterschiede in der Tageslichtintensität zwischen den einzelnen Mikrokosmen konnten durch Platzwechsel an jedem zweiten Tag reduziert werden.

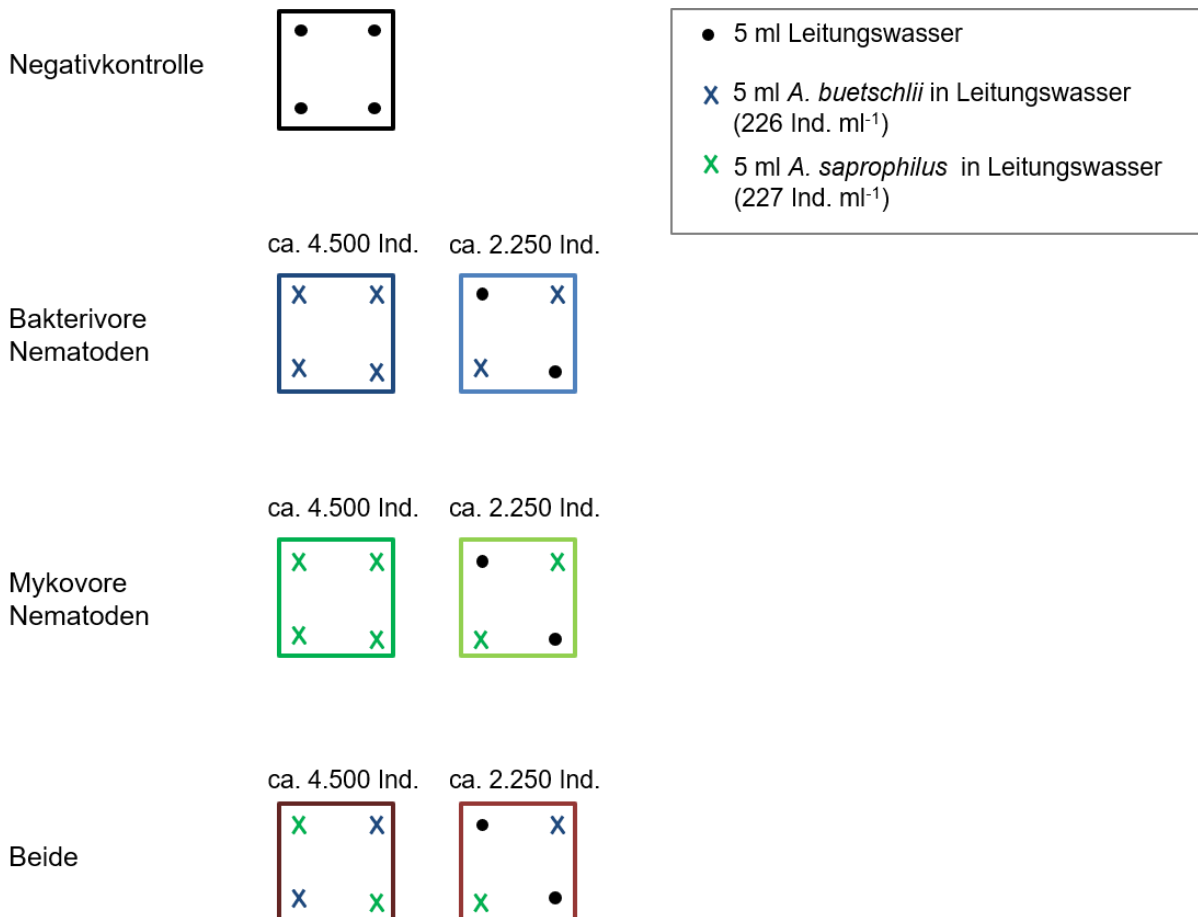


Abbildung 6: Übersicht der verschiedenen Manipulationen der Nematodenart und -dichte in den Mikrokosmen

3.2.7 Markierung mit ¹³CO₂

Die Markierung der Mikrokosmen mit ¹³CO₂ erfolgte in zwei Kammern (Abbildung 7), in denen in etwa die gleiche Anzahl an Pflanzentöpfen jeder Manipulation der Nematodenarten und -dichten sowie der Negativkontrolle in ca. 20 cm Höhe positioniert wurden. In jeder der beiden Kammern haben vier Kühllakkus die Anfangstemperatur von 25°C sowie die Luftfeuchtigkeit konstant gehalten. Die Kernzeit der Markierung mit ¹³CO₂ erfolgte mittags von 10:30 Uhr bis 12:30 Uhr bei einer durchschnittlichen Lichtintensität der Pflanzen von (530,0 ± 159,4) μmol m⁻² s⁻¹ (photosynthetisch aktive Photonenflussdichte).

Vor dem ¹³CO₂ Puls wurde der anfängliche Wert von 482,3 ± 32,9 ppm ¹²CO₂ in beiden Kammern zunächst nur durch die photosynthetische Aktivität der Pflanzen gesenkt. Nach anschließender Reduktion auf 150 ppm CO₂ in beiden Kammern durch Pumpen, erfolgte eine Zugabe von ¹³CO₂ bis zu einem Wert von 280 ppm ¹³CO₂. Anschließend wurde eine Gesamtkonzentration von 400 ± 100 ppm CO₂ mit einem minimalen Anteil von ¹³CO₂ von 280 ppm durch wiederholte Zugabe von ¹³CO₂ und der Bodenrespiration aufrechterhalten. Nach 90 min erfolgte keine weitere Zugabe von ¹³CO₂ mehr, woraufhin die

$^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration in den Kammern sowohl durch die Photosynthese der Pflanzen als auch durch anschließendes Pumpen auf 15 ppm abfiel.

Nach dem Ende der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ wurden die Mikrokosmen für eine halbe Stunde im Freien belüftet und bis zur Probenahme den Bedingungen des Wachstums der Pflanzen ausgesetzt. Um die unterschiedlichen Lichtverhältnisse auszugleichen erfolgte jeden Tag ein Platzwechsel der Mikrokosmen.

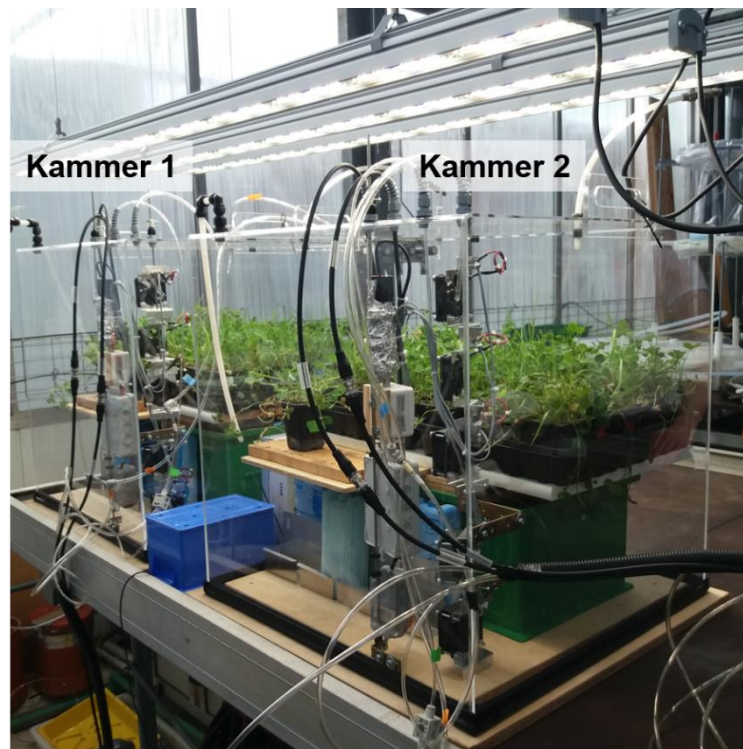


Abbildung 7: Aufbau der Kammern für die Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ der Mikrokosmen

3.2.8 Probenahme und Aufbereitung

Zur Bestimmung des maximalen Einbaus von ^{13}C in die mikrobielle Biomasse erfolgte die Probenahme an drei unterschiedlichen Zeitpunkten: 24 h (T1), 48 h (T2) und 72 h (T3) nach Beginn der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ sowie zur Bestimmung des Hintergrundwertes an ^{13}C mit unmarkierten Mikrokosmen (T0). Um mögliche Unterschiede zwischen den Kammern z.B. bei der Lichtintensität oder der photosynthetischen Aktivität zu berücksichtigen, wurden die Mikrokosmen an den jeweiligen Zeitpunkten der Probenahme zufällig ausgewählt. Aus jedem Mikrokosmos erfolgte eine destruktive Probenahme der oberirdischen Biomasse, der Wurzelbiomasse sowie des Bodens. Die oberirdische Biomasse wurde ca. 2 mm über dem Boden abgeschnitten. Nach der groben Entfernung des Bodens erfolgte eine intensive Reinigung der Wurzeln mit Leitungswasser. Der Boden wurde vor der Probenahme gesiebt (2 mm) und von den restlichen Feinwurzeln befreit. Die Bestimmung des Trockengewichts der Biomasse erfolgte durch Wiegen nach einer Trocknung für 24 h bei 70°C . Zur Berechnung des

Wassergehaltes (W_w) des Bodens diente die Einwaage von ca. 5 g frischen Bodens (Frischgewicht (FG)) sowie das erneute Wiegen der Proben nach einer Trocknung bei 40°C für 72 h (Trockengewicht (TG)). Aus dem Frisch- und Trockengewicht ergibt sich die Bodenfeuchte bzw. der Wassergehalt des Bodens nach Gleichung (1):

$$W_w = \frac{FG-TG}{TG} * 100 [\%] \quad (1).$$

Die Lagerung der frischen Bodenproben bis zur Weiterverarbeitung erfolgte bei -20 °C, während die Biomasseproben nach der Trocknung zunächst mit einer Kugelmühle gemahlen und anschließend bei Raumtemperatur gelagert wurden.

3.2.9 Nematodenextraktion aus den Bodenproben der Mikrokosmen

Aus den Bodenproben erfolgte die Extraktion der Nematoden mit dem in Abbildung 8 schematisch dargestellten Aufbau. Ein PVC-Rohr mit Sieb (250 µm) am Boden wurde zuerst mit einem Milchfilter ausgelegt und anschließend mit der Bodenprobe bis zu einer Höhe von 1 cm (ca. 25 g Boden) gefüllt. Die so präparierten PVC-Rohre konnten in die Trichter mit geschlossenen Silikon-Schlauch überführt werden, welche solange mit Leitungswasser gefüllt wurden, bis der Boden nass, jedoch nicht komplett von Wasser bedeckt war. Dies gewährleistete die permanente Sauerstoffversorgung des Bodens. Innerhalb der Extraktionszeit von 72 h musste der Boden durch wiederholtes Nachfüllen von Wasser in dem nassen Zustand erhalten werden, da die Nematoden im Wasserfilm der Bodenprobe nach unten in den mit Wasser gefüllten Schlauch wanderten. Nach der Extraktion wurde das Wasser aus dem Schlauch über ein Siebgewebe (15 µm) abgelassen, wodurch die Nematoden auf dem Siebgewebe gesammelt und mit ca. 10 ml Wasser in ein Glasgefäß überführt werden konnten.

Die Bestimmung der Konzentration der Nematoden im Wasser erfolgte unter einem Mikroskop, wobei die Nematodenanzahl jeweils dreimal in 10 ml der Probe ausgezählt und der Mittelwert der drei Wiederholungen gebildet wurde.

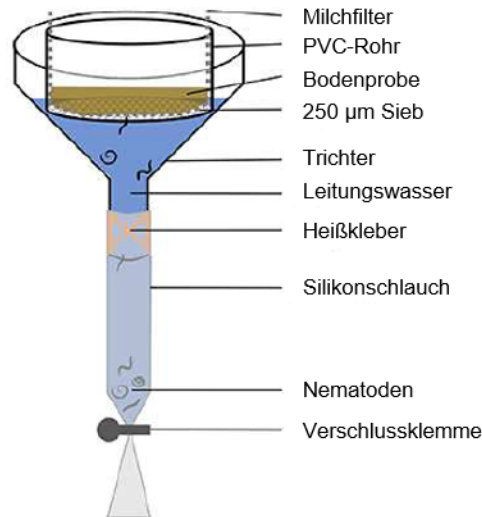


Abbildung 8: Schematische Darstellung des Aufbaus zur Nematodenextraktion aus Bodenproben (modifiziert nach Cesarz, 2018)

3.2.10 Lipidextraktion allgemein

Die Lipidfettsäureextraktion erfolgte nach dem gängigen Protokoll der Arbeitsgruppe molekulare Biogeochemie am Max-Planck-Institut für Biogeochemie in Jena. Eine Übersicht der einzelnen Schritte der Extraktion ist in Abbildung 9 dargestellt. Die Verwendung von zwei Standardlösungen diente zur Korrektur der Ergebnisse. Sowohl der interne Standard der PLFA-Extraktion 1,2-Di-Nonadecanoyl-sn-Glycero-3-Phosphocholin (19:0) als auch der interne Standard 1,2,3-Tri-Nonadecanoyl-sn-Glycerol (19:0) der Extraktion aller neutralen Lipidfettsäuren wurden jeweils zur Bestimmung der Extraktionseffizienz verwendet, während die Zugabe des internen instrumentellen Standards Tridecansäure-Methylester (13:0) zur Korrektur des Verlustes bei der Gaschromatographie (GC) diente.

Vor Beginn der Extraktion der Bodenproben dieser Arbeit wurde die Objektivität des Extraktionsverfahrens überprüft. Die Effizienz der einzelnen Extraktionen diente als Indikator des Einflusses des Experimentators auf die Analyse. Da die Extraktionseffizienz allerdings keinen relevanten Einfluss auf die Gesamtkonzentration der Lipidfettsäuren der Extrakte hatte, resultiert die Variabilität der Daten zwischen den Extraktionen der gleichen Bodenprobe aus ihrer natürlichen Heterogenität (Projektmodulbericht Lydia Mielke, 2019).

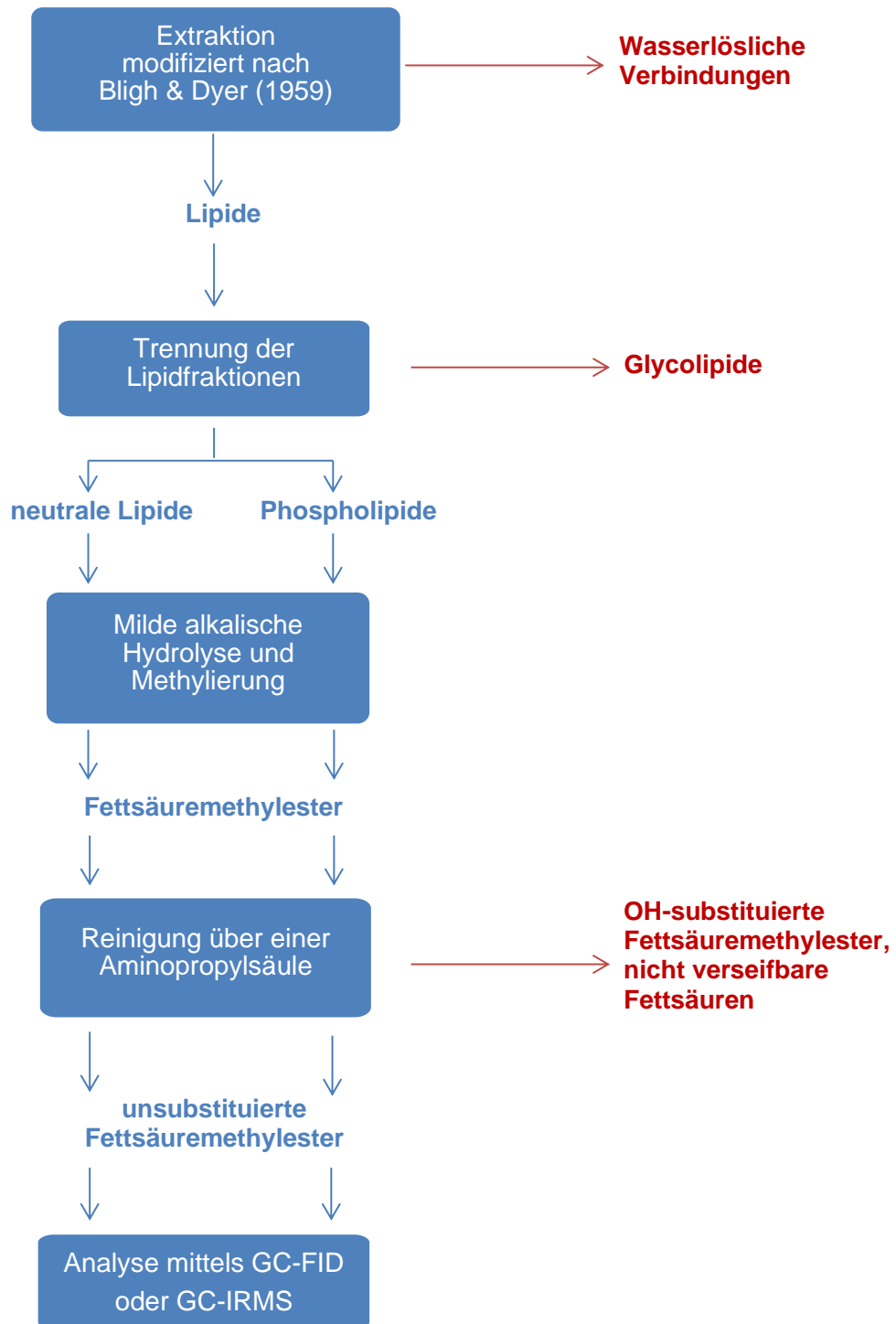


Abbildung 9: Übersicht der einzelnen Analyseschritte der Extraktion von Phospholipidfettsäuren und neutralen Lipidfettsäuren aus Bodenproben (modifiziert nach Förster, 2018)

3.2.11 Extraktion des vollständigen Lipidextraktes

Im ersten Schritt der Extraktion von Lipidfettsäuren wurde die gesamte Lipidfraktion in der Bodenprobe von den wasserlöslichen Komponenten separiert. Die Extraktion erfolgte modifiziert nach Bligh & Dyer (1959) im *BÜCHI-Speed-Extractor* mit einem Gemisch aus Chloroform, Methanol und Phosphatpuffer im Verhältnis von 2:1:0,8. Dazu wurden zunächst die Metallzellen zweimal mit dem Extraktionspuffer bei 70°C und 120 bar gespült sowie vorher entsprechend des Aufbaus in Abbildung 10 präpariert.

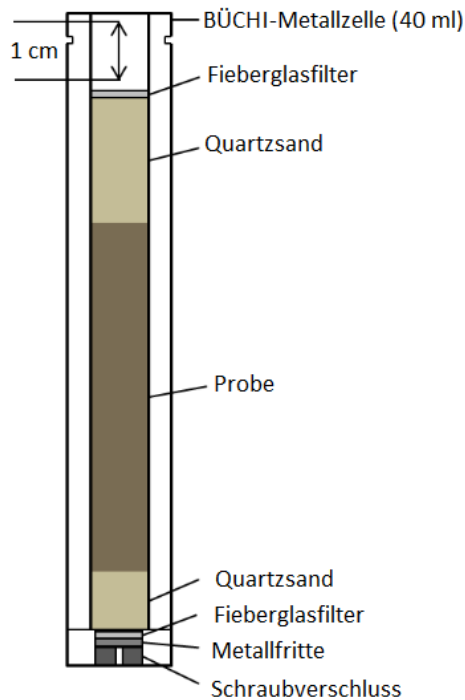


Abbildung 10: Schematischer Aufbau einer BÜCHI-Metallzelle (modifiziert nach Förster, 2018)

Zur Bestimmung der Extraktionseffizienz nach Gleichung 3 und 4 diente die Zugabe von jeweils 10 µl Phospholipidstandardlösung 19:0 (5 mg ml⁻¹) sowie 10 µl NLFA-Standardlösung 19:0 (5 mg ml⁻¹) zu jeder Probe. Die Extraktion der Lipide aus ca. 10 g Boden erfolgte durch dreimalige Elution mit Extraktionspuffer bei 70°C und 120 bar. Zur weiteren Trennung der Lipidfraktion von wässrigen Lösungsmitteln diente die Zugabe von jeweils 20 ml Chloroform und 20 ml A. bidest. zu jeder Probe. Nach der vollständigen Phasentrennung waren die Lipide in der unteren Chloroformphase und die wässrigen Lösungsmittel in der oberen Wasserphase gelöst. Nach Entfernung der wässrigen Phase bis auf ca. 1 cm über der Chloroformphase wurde die verbliebene Probenlösung für eine erneute Phasentrennung zur Entfernung der verbliebenen wässrigen Reagenzien in einen mit Chloroform gespülten Scheidetrichter überführt und nach dreimaligen Spülen der Probengefäße mit Chloroform für ca. 1 h bis zur vollständigen Phasentrennung stehen gelassen. Nach der Überführung der unteren Chloroformphase in 100 ml Spitzkolben sowie Reduzierung des Volumens im

Rotationsverdampfer bei 40°C und 474 mbar konnten die erhaltenen Gesamtlipidextrakte weiterverarbeitet werden.

3.2.12 Trennung der Lipidfraktionen

Der gesamte Lipidextrakt wurde in einem weiteren Schritt in eine neutrale Lipidfraktion, eine Glycolipidfraktion sowie eine Phospholipidfraktion aufgetrennt. Die Trennung des gesamten Lipidextraktes in die verschiedenen Fraktionen erfolgte durch Elution der Proben über Silica-Säulen (12 ml) mit Chloroform, Aceton sowie Methanol aufgrund der steigenden Polarität des Lösungsmittels. Die Säulen wurden zunächst mit 1 V Chloroform gespült, um die Luft im Silicagel zu entfernen. Nach dem Auftragen der Proben erfolgte im nächsten Schritt die Elution der neutralen Lipide mit 2 V Chloroform, während die Phospholipide mit 2 V Methanol eluiert wurden. Vor der Elution der Phospholipide mussten die weniger polaren Glycolipide mit 2 V Aceton extrahiert und verworfen werden. Sowohl das Volumen der neutralen Lipidfraktion als auch der Phospholipidfraktion wurde im Rotationsverdampfer reduziert. Dabei erfolgte die Verdampfung des Methanols bei 40°C und 337 mbar sowie die des Chloroforms bei 40°C und 474 mbar.

3.2.13 Milde alkalische Hydrolyse und Methylierung

Innerhalb dieses Reaktionsschrittes sollten die Esterbindungen zwischen den Fettsäuren und dem Glycerinrückgrat gespalten und Fettsäuremethylester gebildet werden. Dazu wurden sowohl die neutralen Lipide als auch die Phospholipide mit 5 ml Kaliumhydroxid in Methanol (0,01 g ml⁻¹) versetzt. Durch dreimaliges Spülen der Probengefäße mit einem Gemisch aus Toluol und Methanol (1:1) konnte die Ausbeute erhöht werden. Nach der Inkubation des Reaktionsgemisches bei 37°C für 15-20 min wurde die Reaktion durch Senken des pH-Wertes auf 6 unter Verwendung von Essigsäure (1 M) gestoppt. Zur Trennung der Fettsäuremethylester von den wässrigen Reagenzien diente die Zugabe von jeweils 10 ml Chloroform und A. bidest. sowie die folgende Phasentrennung nach dem Mischen der Proben. Die Phasentrennung konnte durch Zentrifugieren bei 3.000 rpm für 10 min beschleunigt werden. Um das verbliebene Wasser aus den Proben zu entfernen, wurden die Proben mit Natriumsulfat getrocknet. Hierfür erfolgte die Präparation von Glastrichtern mit etwas Glaswolle im Schaftanfang und ca. 2 Löffeln Natriumsulfat darauf. Diese Trichter wurden zweimal mit Chloroform gespült bevor die untere Phase der zentrifugierten Proben über den Trichter gegossen sowie in einem Spitzkolben aufgefangen werden konnte. Zu der verbliebenen oberen Phase erfolgte nun jeweils die Zugabe von 5 ml Chloroform und nach Mischen der Proben eine erneute Phasentrennung durch Zentrifugation bei 3.500 rpm für 5 min. Die untere Phase wurde ein weiteres Mal auf die mit Natriumsulfat gefüllten Trichter gegeben und die darauffolgenden Arbeitsschritte wiederholt. Die Ausbeute konnte durch

dreimaliges Spülen der Trichter mit Chloroform erhöht werden. Zur Weiterverarbeitung der Extrakte erfolgte eine Volumenreduktion des Chloroforms bei 40°C sowie 474 mbar.

3.2.14 Reinigung der Fettsäuremethylester

In diesem Extraktionsschritt sollten die für die Messung relevanten nicht substituierten Fettsäuremethylester von den OH-substituierten sowie den nicht verseifbaren Fettsäuren getrennt werden. Dazu erfolgte die Elution der Proben über einer Aminopropylsäule (3 ml) durch ein Gemisch aus n-Hexan und Dichlormethan (3:1). Nach dem Entfernen der Luft aus den Säulen durch mehrmaliges Spülen mit dem n-Hexan und Dichlormethan Gemisch, konnten die Proben auf die Säulen gegeben werden. Zur Erhöhung der Ausbeute wurden die Probengefäße dreimal mit dem Elutionsmittel gespült. Im nächsten Schritt erfolgte die Elution der nicht substituierten Fettsäuremethylester mit 1,5 V n-Hexan und Dichlormethan (3:1). Das Volumen der gereinigten Proben wurde für die Analyse mittels Gaschromatographie (GC) auf ca. 50 µl durch Trocknung reduziert und die Probe in GC-Gläschen überführt. Als interner instrumenteller Standard erfolgte die Zugabe von 300 µl Fettsäuremethylester-Standardlösung 13:0 (100 ng µl⁻¹), wobei die Probengefäße jeweils dreimal mit 100 µl Standardlösung gespült wurden. Nach diesem letzten Schritt konnten die Proben im GC-FID sowie im GC-IRMS gemessen werden.

3.2.15 Messung und Berechnung der Konzentration

Die Konzentration der Lipidfettsäuren wurde durch zweifache Messung der Extrakte mit dem GC-FID und Bildung des Mittelwertes der Doppelbestimmungen ermittelt. Die Berechnung der Konzentration aus der Peakfläche im Chromatogramm erfolgte mithilfe einer Kalibriergeraden. Diese wurde durch die Messung einer externen Standardlösung, bestehend aus allen gesättigten, unverzweigten Fettsäuremethylestern mit einer Kettenlänge von zwölf bis 23 Kohlenstoffatomen, in einer Konzentration von 12,5 ng µl⁻¹, 25 ng µl⁻¹, 50 ng µl⁻¹ sowie 100 ng µl⁻¹ erstellt.

Nach der Korrektur der Konzentrationen der Fettsäuremethylester durch Bezug auf den instrumentellen Standard erfolgte die Berechnung der Masse durch Multiplikation mit dem eingesetzten Volumen (300 µl). Um aus der Masse des Fettsäuremethylesters (m_{FAME}) die für die Auswertung relevante Masse der Fettsäure (m_{FS}) zu erhalten, wurde die Masse mit dem Verhältnis der Molaren Massen des Fettsäuremethylesters (M_{FAME}) und der Fettsäure (M_{FS}) multipliziert (Gleichung 2):

$$m_{FS} = \frac{M_{FAME}}{M_{FS}} * m_{FAME} \quad (2).$$

Die Extraktionseffizienz der Proben berechnet sich anhand des zu Beginn der Extraktion zugegebenen internen Phospholipidstandards nach Gleichung 3 sowie des neutralen Lipidstandards 19:0 nach Gleichung 4:

$$\begin{aligned} \text{Extraktionseffizienz} &= \frac{n_{19:0,\text{gemessen}} * 100}{n_{19:0,\text{eingesetzt}} * 2} \\ &= \frac{\frac{m_{19:0,\text{gemessen}}}{M_{FAME,19:0}} * 100}{\frac{m_{19:0,\text{eingesetzt}}}{M_{Std,19:0}} * 2} \end{aligned} \quad (3),$$

$$\begin{aligned} \text{Extraktionseffizienz} &= \frac{n_{19:0,\text{gemessen}} * 100}{n_{19:0,\text{eingesetzt}} * 3} \\ &= \frac{\frac{m_{19:0,\text{gemessen}}}{M_{FAME,19:0}} * 100}{\frac{m_{19:0,\text{eingesetzt}}}{M_{Std,19:0}} * 3} \end{aligned} \quad (4).$$

Hierbei ist $M_{FAME,19:0}$ die molare Masse des Fettsäuremethylesters 19:0, $M_{Std,19:0}$ die molare Masse des verwendeten Standards 19:0; $n_{19:0,\text{gemessen}}$ die Stoffmenge des am Ende der Extraktion erhaltenen Fettsäuremethylesters 19:0, $n_{19:0,\text{eingesetzt}}$ die Stoffmenge des vor der Extraktion zugegebenen Standards 19:0, $m_{19:0,\text{gemessen}}$ die Masse des am Ende der Extraktion erhaltenen Fettsäuremethylesters 19:0 und $m_{19:0,\text{eingesetzt}}$ die Masse des vor der Extraktion zugegebenen Standards 19:0.

Zuletzt erfolgte eine Korrektur der Konzentrationsunterschiede aufgrund unterschiedlicher Extraktionseffizienzen der Proben (Gleichung 5):

$$m_{FS,\text{korrigiert}} = \frac{m_{FS} * 100}{\text{Extraktionseffizienz}} \quad (5).$$

Die Endkonzentration der Fettsäure ergibt sich aus dem Bezug der korrigierten Masse der Fettsäure ($m_{FS,\text{korrigiert}}$) auf das Trockengewicht (TG) der Bodenproben (Gleichung 6):

$$\text{Endkonzentration (Fettsäure)} = \frac{m_{FS,\text{korrigiert}}}{TG} \quad (6).$$

3.2.16 Messung und Berechnung der ^{13}C -Isotopenwerte

Die Isotopenwerte der PLFA- und NLFA-Extrakte wurden durch Messung in Triplikaten mit dem GC-IRMS, ausgedrückt als $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im Bezug zum V-PDB Standard in ‰ (Gleichung 7), gemessen.

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Probe}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Standard}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Standard}}} * 1.000 \quad (7),$$

$\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Probe}}$ entspricht hier dem gemessenen Verhältnis von ^{13}C zu ^{12}C in der Probe, während $\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Standard}}$ das Verhältnis von ^{13}C zu ^{12}C im VDB-Standard (0,0111802) darstellt.

Ausreißer innerhalb der Wiederholungsmessungen einer Probe wurden mithilfe des Ausreißertests nach Grubbs (Grubbs, 1969) erkannt und im Folgenden aus der Analyse ausgeschlossen. Bei den restlichen Messwerten erfolgte zunächst eine Korrektur des Versatzes während der Messung anhand des bekannten $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes des internen 19:0 Standards nach Gleichung 8:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{korr}} = \frac{(\delta^{13}\text{C}_{\text{bekannt}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{gemessen}})}{\left(1 + \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{gemessen}}}{1.000}\right)} \quad (8),$$

wobei $\delta^{13}\text{C}_{\text{bekannt}}$ der bekannte Wert des Fettsäuremethylesters 19:0 (-30,628091‰) ist und $\delta^{13}\text{C}_{\text{gemessen}}$ der tatsächlich gemessene Wert.

Die so korrigierten Wiederholungsmessungen wurden anschließend gemittelt sowie um den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der während der Methylierung hinzugefügten Methylgruppe korrigiert (Gleichung 9):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{Meth,korr}} = \frac{(N * \delta^{13}\text{C}_{\text{korr}}) - \delta^{13}\text{C}_{\text{MeOH}}}{N-1} \quad (9),$$

hierbei ist N die Anzahl der Kohlenstoffatome des Fettsäuremethylesters und $\delta^{13}\text{C}_{\text{MeOH}}$ der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des für die Methylierung verwendeten Methanols (-30,2‰).

Mithilfe der auf diese Weise korrigierten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte lassen sich die Atomprozent an ^{13}C in den betrachteten Fettsäuren ($AP^{13}\text{C}$) nach Gleichung 10 berechnen:

$$AP^{13}\text{C} = \frac{100\%}{1 + \frac{1}{\left(\frac{\delta^{13}\text{C}}{1.000\text{‰}} + 1\right) * \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Standard}}}} \quad (10).$$

Die Anreicherung an ^{13}C gegenüber den nicht mit $^{13}\text{CO}_2$ markierten Referenzproben ergibt sich aus der Differenz der entsprechenden $AP^{13}\text{C}$ -Werte. Diese wurden, um die tatsächliche Menge an eingebauten ^{13}C in den untersuchten PLFA- und NLFA-Extrakten zu erhalten, noch einmal mit der Gesamtmenge an Kohlenstoffatomen in der Fettsäure multipliziert. Somit ergeben sich die zur Auswertung benutzten Werte der Anreicherung mit ^{13}C in den Fettsäuren ($APE^{13}\text{C}$) nach Gleichung 11 in $\text{ng }^{13}\text{C g}^{-1}\text{ TG Boden}$:

$$APE^{13}\text{C} = \frac{(AP^{13}\text{C}_{Probe} - AP^{13}\text{C}_{Kontrolle}) * \text{Endkonzentration (Fettsäure)} * C_{FS}}{100\%} * 1.000 \quad (11),$$

wobei $AP^{13}\text{C}_{Probe}$ den Atomprozent ^{13}C in der mit $^{13}\text{CO}_2$ markierten Probe entspricht, $AP^{13}\text{C}_{Kontrolle}$ den Mittelwert der Atomprozent ^{13}C in den nicht mit $^{13}\text{CO}_2$ markierten Referenzproben und C_{FS} der Anteil an Kohlenstoffatomen in der Fettsäure.

3.2.17 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte ausschließlich mit den Proben des Zeitpunktes der maximalen Anreicherung an ^{13}C in den neutralen sowie den Phospholipidfettsäuren.

Eine Varianzanalyse (ANOVA) der $APE^{13}\text{C}$ -Werte der einzelnen PLFA- und NLFA-Marker diente zur Bestimmung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen der ^{13}C -Anreicherung der verschiedenen Zeitpunkte der Probenahme. Somit konnte der Zeitpunkt des maximalen Einbaus von ^{13}C in die PLFA- und NLFA-Marker bestimmt werden.

Zur Bestimmung des Einflusses der zugegebenen Nematoden auf die PLFA-Zusammensetzung in den Mikrokosmen diente eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) mithilfe von Canoco 5.0 (Microcomputer Power, Ithaca (USA)). Weitere Aussagen zum Einfluss der Nematoden auf die Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft ergab eine Varianzanalyse des Pilz-Bakterien Verhältnisses hinsichtlich Unterschieden zwischen den Manipulationen von Nematodenart und -dichte sowie der Negativkontrolle. Das Verhältnis von Pilz- zu bakterieller Biomasse wurde aus der Konzentration des Pilzmarkers 18:2 ω 6,9 bezogen auf die Summe der Konzentration aller bakteriellen Marker gebildet.

Der Test auf lineare Zusammenhänge zwischen der Konzentration bzw. der $APE^{13}\text{C}$ -Werte der betrachteten PLFA- und NLFA-Marker mit der Bodenfeuchte sowie der extrahierten Nematodendichte in den Bodenproben erfolgte mithilfe linearer Modelle.

Die statistische Analyse zum Einfluss von Nematodenart und -dichte auf die Biomasse und die ^{13}C -Aufnahme der mikrobiellen Gemeinschaft wurde jeweils für verschiedene mikrobielle Gruppen durchgeführt, welche entsprechend ihrer Lebensräume und bevorzugten Kohlenstoffquellen in „wurzelassoziiert“ sowie „bodenassoziiert“ eingeteilt wurden. Dabei erfolgte die Zuordnung der PLFA und NLFA-Marker zu den mikrobiellen Gruppen entsprechend anerkannter Publikationen (Tabelle 4). Ob allgemein signifikante Unterschiede in den Mittelwerten von Konzentration sowie ^{13}C -Anreicherung der Marker zwischen den

verschiedenen Nematodenmanipulationen vorhanden waren, konnte mit einer Varianzanalyse getestet werden. Welche Nematodenmanipulationen sich voneinander unterschieden wurde durch einen paarweisen Mittelwertvergleich in einer weiteren ANOVA bestimmt.

Die Varianzanalysen sowie die linearen Modelle wurden mithilfe der Statistiksoftware R für Windows (Version 3.6.1; R Development Core Team, 2019) durchgeführt.

Die Varianzanalysen der Konzentration der PLFA- und NLFA-Marker erfolgte unter Berücksichtigung der Identität der Einzelmarker nach der folgenden allgemeinen Formel:

$aov(\text{Konzentration} \sim x + \text{Error}(\text{Marker}))$.

Je nach Art der Analyse steht x für $\text{Nematodenart} * \text{Nematodendichte}$, Nematodenart oder Nematodendichte .

In der ANOVA der ^{13}C -Anreicherung der PLFA- und NLFA-Marker (ausgedrückt als $\text{APE } ^{13}\text{C}$) wurde ebenfalls die Identität der Einzelmarker als zufälliger Fehler miteinbezogen:

$aov(\text{APE } ^{13}\text{C} \sim z + \text{Error}(\text{Marker}))$,

wobei für z in Abhängigkeit zur Fragestellung $\text{Nematodenart} * \text{Nematodendichte}$, Nematodenart , Nematodendichte oder der *Zeitpunkt der Probenahme* eingesetzt wurde.

Die unterschiedliche ^{13}C -Anreicherung in der Biomasse der Pflanzen zwischen den beiden Kammern (Abbildung A1 im Anhang) konnte, aufgrund der ungleichen Verteilung der Mikrokosmen, in der statistischen Analyse der $\text{APE-}^{13}\text{C}$ -Werte der PLFA- und NLFA-Marker nicht berücksichtigt werden. Von einer Korrektur der ^{13}C -Anreicherung in den Fettsäuremarkern anhand der Werte in der Biomasse wurde ebenfalls abgesehen, da dies auf Mikrokosmosebene zu keiner Senkung der Variabilität führte obwohl die ^{13}C -Anreicherung der Pflanzen im Mittel erhebliche Unterschiede zeigte (Abbildung A1 im Anhang).

Tabelle 4: Übersicht der untersuchten neutralen und Phospholipidfettsäuren und ihre Zuordnung zu den mikrobiellen Gruppen

Mikrobielle Gruppe	Fettsäure	Marker	Literatur
bodenassoziierte Mikroorganismen			Mellado-Vázquez <i>et al.</i> , 2016
Grampositive Bakterien	PLFA	15:0i, 15:0a, 16:0i, 17:0i, 17:0a	Zelles, 1997
Actinobakterien	PLFA	10Me17:0, 10Me18:0	Zelles, 1999
Saprophytische Pilze	PLFA	18:2 ω 6,9	Zelles, 1997
wurzelassoziierte Mikroorganismen			Mellado-Vázquez <i>et al.</i> , 2016
Gramnegative Bakterien	PLFA	16:1 ω 5, 16:1 ω 7, 17:1, 18:1 ω 7, 18:1 ω 9	Zelles, 1997
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	PLFA	cy17:0, cy19:0	Zelles, 1997
Arbuskuläre Mykorrhizapilze	NLFA	16:1 ω 5	Olsson, 1999
Unspezifisch	PLFA	16:0, 18:0	
Mikrobielle Biomasse	Summe aller gemessenen Phospholipidfettsäuren		

4 Ergebnisse

4.1 Kontrolle der Manipulation der Nematodenarten und -dichten

Die Nematodendichten, welche aus den Bodenproben der verschiedenen Manipulationen von Nematodenart und -dichte extrahiert wurden, sind im Mittel 80% höher als die durchschnittlichen extrahierten Nematodendichten der Negativkontrollen. Insgesamt lagen die extrahierten Dichten aller Nematodenmanipulationen unabhängig von Nematodenart und -dichte etwa im gleichen Bereich (Tabelle 5). Mit einem Wert von durchschnittlich $(12,6 \pm 3,7)$ Individuen g^{-1} Boden (TG) konnten aus den Manipulationen mit bakterivoren und mykovoren Nematoden zusammen am meisten Individuen extrahiert werden. Im Mittel über beide zugegebenen Dichten lässt sich im Gegensatz dazu kaum ein Unterschied der extrahierten Dichten der Manipulationen mit nur mykovoren oder bakterivoren Nematoden erkennen (bakterivor: $9,2 \pm 2,3$; mykovor: $9,7 \pm 3,5$ Individuen g^{-1} Boden (TG)).

Tabelle 5: Vergleich der extrahierten und der zugegebenen Nematodendichten in den Mikrokosmen. (Mittelwert \pm Standardabweichung)

Art der Manipulation	Extrahierte Nematodendichte [g^{-1} Boden (TG)]	Zugegebene Nematodendichte [g^{-1} Boden (TG)]	Verhältnis der extrahierten zur zugegebenen Nematodendichte [%]
Bakterivore Nematoden 1	$9,4 \pm 2,5$	12,2	77
Bakterivore Nematoden 2	$9,0 \pm 2,2$	24,4	37
Mykovore Nematoden 1	$7,5 \pm 1,6$	12,2	62
Mykovore Nematoden 2	$12,0 \pm 3,6$	24,5	49
Beide Nematodenarten 1	$11,6 \pm 3,1$	12,2	95
Beide Nematodenarten 2	$13,6 \pm 4,2$	24,4	56
Negativkontrolle	$5,9 \pm 1,3$	0,0	

Beim Vergleich der extrahierten mit den zugegebenen Nematodendichten (Tabelle 5) ergaben sich zum Teil erhebliche Unterschiede sowohl zwischen den verschiedenen Manipulationen der Nematodenarten und -dichten als auch im direkten Vergleich der extrahierten mit der zugegebenen Dichte einer Manipulation. Die extrahierten Nematodendichten der Mikrokosmen mit geringer sowie hoher Dichte an bakterivoren Nematoden waren in etwa gleich hoch. Im Vergleich dazu unterschieden sich die extrahierten Nematodendichten der Mikrokosmen mit mykovoren Nematoden zwischen den beiden Nematodendichten um 38%. Die Betrachtung der extrahierten Nematodendichten aus den Mikrokosmen mit sowohl erhöhter Dichte an bakterivoren als auch an mykovoren Nematoden zeigte einen Unterschied von nur 15% im Gegensatz zu den Mikrokosmen mit mykovoren Nematoden.

Insgesamt waren die extrahierten Nematodendichten in allen Mikrokosmen mit manipulierter Nematodendichte mit Ausnahme der bakterivoren Nematodenart bei einer größeren

zugegebenen Dichte ebenso höher. Jedoch sank das Verhältnis von extrahierter zu zugegebener Nematodendichte mit höherer Dichte unterschiedlich stark in Abhängigkeit von der Nematodenart. Die mykovore Nematodenart führte gegenüber der bakterivoren Nematodenart allgemein zu einem stärkeren Anstieg der extrahierten Nematodendichte bei steigender zugegebener Dichte gleichzeitig sank das Verhältnis der beiden Dichten weniger (Tabelle 5).

4.2 Ermittlung des Zeitpunktes der maximalen ^{13}C -Aufnahme

Die mittleren APE ^{13}C -Werte der meisten mikrobiellen Gruppen mit Ausnahme der Actinobakterien und der AM Pilze zeigten die höchste ^{13}C -Anreicherung in den PLFA- und NLFA-Markern 48 h nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ der Pflanzen (T2) (Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht der mittleren ^{13}C -Anreicherung in den Markern der mikrobiellen Gruppen an den verschiedenen Zeitpunkten der Probenahme 24 h (T1), 48 h (T2) und 72 h (T3) nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ der Mikrokosmen. (Mittelwert \pm Standardabweichung)

	APE ^{13}C [ng ^{13}C g $^{-1}$ Boden (TG)]		
	T1	T2	T3
Saprophytische Pilze	2,99 \pm 1,18	4,61 \pm 1,81	3,69 \pm 1,91
AM Pilze	68,19 \pm 26,87	79,14 \pm 33,32	100,81 \pm 44,48
Bakterien	0,76 \pm 0,31	1,22 \pm 0,51	1,11 \pm 0,48
Grampositive Bakterien	0,38 \pm 0,17	0,92 \pm 0,43	0,90 \pm 0,43
Actinobakterien	0,03 \pm 0,04	0,09 \pm 0,06	0,18 \pm 0,12
Gramnegative Bakterien	2,62 \pm 1,00	3,77 \pm 1,48	3,29 \pm 1,28
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	0,02 \pm 0,03	0,09 \pm 0,06	0,08 \pm 0,09

Für alle bakteriellen Marker und dem Marker für saprophytische Pilze wurde ein statistisch signifikanter Anstieg der APE ^{13}C -Werte zwischen der ersten Probenahme nach 24 h und der zweiten Probenahme nach 48 h (Tabelle 6 und 7), jedoch kein Unterschied zwischen der zweiten Probenahme und der dritten Probenahme nach 72 h (Tabelle 8) detektiert. In der Analyse der bakteriellen Untergruppen zeigten die Marker der grampositiven Bakterien sowie die zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien ein ähnliches Verhalten. Eine Ausnahme stellten die Marker dar, welche den Actinobakterien oder den gramnegativen Bakterien zugeordnet wurden. Für diese Marker konnte eine unterschiedliche ^{13}C -Anreicherung sowohl zwischen dem ersten und dem zweiten (Tabelle 7) als auch zwischen dem zweiten und dem dritten Probenahmezeitpunkt (Tabelle 8) ermittelt werden. Während die mittlere ^{13}C -Anreicherung in den Markern der gramnegativen Bakterien zwischen der Probenahme nach 48 h und der nach 72 h sank, stiegen die Werte in den Markern für Actinobakterien an (Tabelle 6). Aufgrund der hohen und sehr variablen APE ^{13}C -Werte sowie der im Vergleich

dazu geringen Anzahl an statistischen Wiederholungen durch nur einen NLFA-Marker der AM-Pilze, zeigten diese keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Zeitpunkten der Probenahme (Tabelle 7 und 8).

Tabelle 7: Varianzanalyse der APE ^{13}C -Werte der Marker der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen dem ersten und dem zweiten Probenahmezeitpunkt nach 24 h und 48 h nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$. Statistisch signifikante Unterschiede sind fett markiert.

	F-Wert	p-Wert
Saprophytische Pilze	11,89	0,001
AM Pilze	1,37	0,248
Bakterien	55,55	< 0,001
Grampositive Bakterien	107,00	< 0,001
Actinobakterien	28,93	< 0,001
Gramnegative Bakterien	26,785	< 0,001
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	37,77	< 0,001

Tabelle 8: Varianzanalyse der APE ^{13}C -Werte der Marker der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen dem zweiten und dem dritten Probenahmezeitpunkt nach 48 h und 72 h nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$. Statistisch signifikante Unterschiede sind fett, marginal signifikante kursiv markiert.

	F-Wert	p-Wert
Saprophytische Pilze	2,62	0,114
AM Pilze	3,19	<i>0,082</i>
Bakterien	3,76	<i>0,053</i>
Grampositive Bakterien	0,08	0,778
Actinobakterien	17,60	< 0,001
Gramnegative Bakterien	4,32	0,039
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	0,57	0,453

Da für die Mehrheit der mikrobiellen Gruppen somit zum Zeitpunkt T2, 48 h nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$, die höchste Anreicherung an ^{13}C in den PLFA detektiert wurde, erfolgte die weitere Auswertung ausschließlich mit den Messwerten dieser Proben.

4.3 Einfluss auf Struktur und Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft

Die mittleren Konzentrationen der einzelnen PLFA-Marker variierte stark. Die höchste Konzentration hatte der Marker 18:1 ω 7 ($8,93 \pm 1,53 \mu\text{g g}^{-1}$), während der Marker 17:0i die geringste Konzentration aufwies ($0,60 \pm 0,12 \mu\text{g g}^{-1}$) (Tabelle 9). In der Analyse der übergeordneten mikrobiellen Gruppen ergab sich für die bakteriellen Marker die höchste mittlere PLFA-Konzentration dicht gefolgt von dem PLFA-Marker für saprophytische Pilze. Die Gruppe der AM Pilze wurde durch einen NLFA-Marker repräsentiert, welcher sehr viel höher konzentriert war als die PLFA Marker (Tabelle 9).

Bei der Betrachtung der einzelnen bakteriellen Untergruppen konnte die höchste Konzentration bei den Markern der gramnegativen Bakterien, gefolgt von den Actinobakterien, gemessen werden, während die Marker der grampositiven und die zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien die geringsten Konzentrationen von ca. $2 \mu\text{g g}^{-1}$ aufwiesen (Tabelle 9).

Tabelle 9: Übersicht der mittleren Konzentrationen der einzelnen Marker und der zugehörigen mikrobiellen Gruppen zum Zeitpunkt der maximalen ^{13}C -Anreicherung in der mikrobiellen Biomasse (T2). (Mittelwert \pm Standardabweichung)

	Konzentration [$\mu\text{g g}^{-1}$]
Saprophytische Pilze	
18:2 ω 6,9 (PLFA)	$2,29 \pm 0,81$
AM Pilze	
16:1 ω 5 (NLFA)	$26,00 \pm 12,73$
Bakterien	
Grampositive Bakterien	
15:0a (PLFA)	$3,17 \pm 0,55$
15:0i (PLFA)	$4,50 \pm 0,76$
16:0i (PLFA)	$2,07 \pm 0,36$
17:0a (PLFA)	$1,23 \pm 0,21$
17:0i (PLFA)	$0,60 \pm 0,12$
Actinobakterien	
10Me17:0 (PLFA)	$4,73 \pm 0,70$
10Me18:0 (PLFA)	$1,87 \pm 0,31$
Gramnegative Bakterien	
16:1 ω 5 (PLFA)	$3,04 \pm 0,51$
16:1 ω 7 (PLFA)	$4,45 \pm 0,77$
17:1 (PLFA)	$2,00 \pm 0,35$
18:1 ω 7 (PLFA)	$8,93 \pm 1,53$
18:1 ω 9 (PLFA)	$6,81 \pm 1,32$
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	
cy17:0 (PLFA)	$1,77 \pm 0,29$
cy19:0 (PLFA)	$3,76 \pm 0,65$

Die Hauptkomponentenanalyse (PCA) zeigte, dass die PLFA-Zusammensetzung in den Bodenproben der Mikrokosmen kaum von den Nematodenmanipulationen beeinflusst worden ist. Die Variabilität in der PLFA-Zusammensetzung der Proben war zwischen den biologischen Replikaten ebenso groß wie zwischen den einzelnen Manipulationen der Nematodenart und -dichte sowie der Negativkontrolle (Abbildung 11).

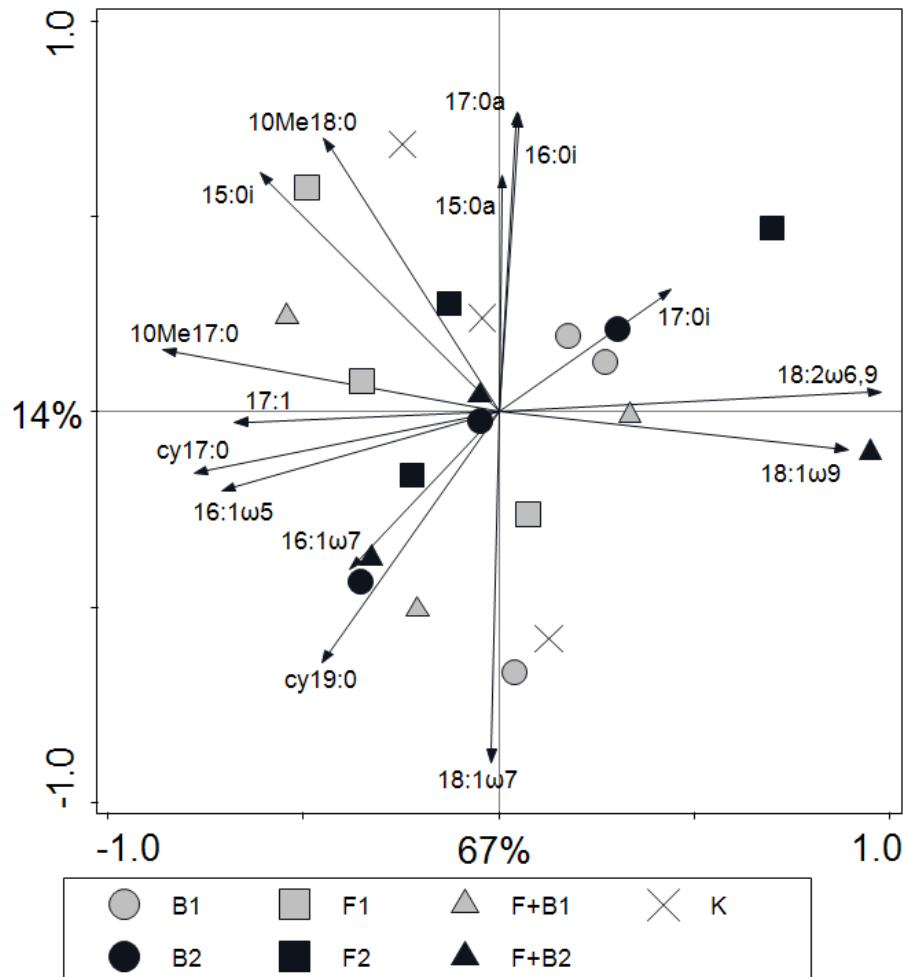


Abbildung 11: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft, ausgedrückt als PLFA-Zusammensetzung, in den Bodenproben der Mikrokosmen bezüglich der verschiedenen Manipulationen von Nematodenart und -dichte. Die Nematodenmanipulationen bestanden aus Inkubation der Mikrokosmen mit bakterivoren Nematoden (B); mit mykovoren Nematoden (F); mit beiden Nematodenarten (F+B) sowie der Negativkontrolle (K) ohne zugegebene Nematoden. Die Inkubation mit Nematoden erfolgte in zwei Konzentrationsstufen, so dass die Nematodendichte entweder niedrig (1) oder hoch war (2).

Der größte Anteil der Variabilität (67%) in der PLFA-Zusammensetzung der Proben konnte unter anderem durch die Unterschiede in der Konzentration des Markers für saprophytische Pilze 18:2ω6,9 erklärt werden (Abbildung 11). Deshalb wurde zusätzlich zur PCA untersucht, ob das Pilz-Bakterien Verhältnis von Nematodenart und -dichte beeinflusst war. Jedoch ergab

dies ebenso keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Nematodenmanipulationen und der Negativkontrolle (Tabelle 10).

Somit war anhand der Analyse der PLFA-Zusammensetzung bzw. des Pilz-Bakterien Verhältnisses kein Einfluss der Nematodenmanipulation auf die Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft feststellbar.

Tabelle 10: Varianzanalyse des Pilz-Bakterien Verhältnisses hinsichtlich Unterschieden in Abhängigkeit zur zugegebenen Nematodenart und -dichte.

	F-Wert	p-Wert
Nematodenart	0,08	0,973
Nematodendichte	0,91	0,356
Nematodenart x Nematodendichte	0,72	0,504

Die Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft, repräsentiert durch die Konzentration der einzelnen Marker, zeigte allerdings vereinzelte Unterschiede in Abhängigkeit von manipulierter Nematodenart und -dichte sowie deren Interaktion (Tabelle 11).

Ausschließlich die Konzentrationen der bakteriellen Marker zeigten statistisch signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Nematodenmanipulationen (Tabelle 11). Diese setzten sich aus einem Einfluss der zugegebenen Nematodendichten sowie der Interaktion Nematodenart x Nematodendichte auf die Konzentration der Marker zusammen. Der Einfluss der Interaktion Nematodenart x Nematodendichte (Tabelle 11) bedeutete, dass die Dichtemanipulation bei bakterivoren und mykovoren Nematoden jeweils einen verschiedenen Effekt auf die Konzentration der Marker hatte. Der paarweise Mittelwertvergleich mithilfe einer weiteren Varianzanalyse (ANOVA) ergab ausschließlich einen Anstieg der Konzentration der bakteriellen Marker mit zunehmender Dichte mykovorer Nematoden (Tabelle A2 im Anhang, Abbildung 12). Die Dichte hatte jedoch bei Manipulationen mit rein bakterivoren sowie mit bakterivoren und mykovoren Nematoden zusammen keinen Einfluss auf die Konzentrationen der bakteriellen Marker (Abbildung 12).

Tabelle 11: Varianzanalyse der Konzentrationen der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede in Abhängigkeit zur zugegebenen Nematodenart und -dichte. Statistisch signifikante Ergebnisse sind fett markiert.

	F-Wert	p-Wert
Saprophytische Pilze		
Nematodenart	0,02	0,996
Nematodendichte	0,92	0,352
Nematodenart x Nematodendichte	1,01	0,388
AM Pilze		
Nematodenart	0,10	0,959
Nematodendichte	0,07	0,791
Nematodenart x Nematodendichte	0,38	0,692
Bakterien		
Nematodenart	1,64	0,181
Nematodendichte	6,84	0,009
Nematodenart x Nematodendichte	21,38	< 0,001
Grampositive Bakterien		
Nematodenart	0,92	0,432
Nematodendichte	2,47	0,120
Nematodenart x Nematodendichte	8,71	< 0,001
Actinobakterien		
Nematodenart	1,21	0,323
Nematodendichte	2,18	0,149
Nematodenart x Nematodendichte	4,48	0,019
Gramnegative Bakterien		
Nematodenart	0,30	0,826
Nematodendichte	2,54	0,121
Nematodenart x Nematodendichte	7,55	< 0,001
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)		
Nematodenart	0,43	0,732
Nematodendichte	0,96	0,335
Nematodenart x Nematodendichte	4,54	0,018

Der Unterschied der Interaktion Nematodenart x Nematodendichte (Tabelle 11) beruhte somit auf den im Vergleich zu den anderen Nematodenarten steigenden Konzentration aller bakteriellen Marker mit höherer Dichte an mykovoren Nematoden (Abbildung 12). Aufgrund dieser hohen mittleren Konzentrationen der bakteriellen Marker bei zunehmender Dichte mykovorer Nematoden, war gleichzeitig der Mittelwert aus allen Proben mit hoher Nematodendichte höher. Daraus resultierte ein genereller Effekt der Nematodendichte auf die Konzentration aller bakteriellen Marker (Tabelle 11). Jedoch konnte kein genereller linearer Zusammenhang zwischen extrahierter Nematodendichte und PLFA-Konzentration der Proben ermittelt werden (Tabelle 12).

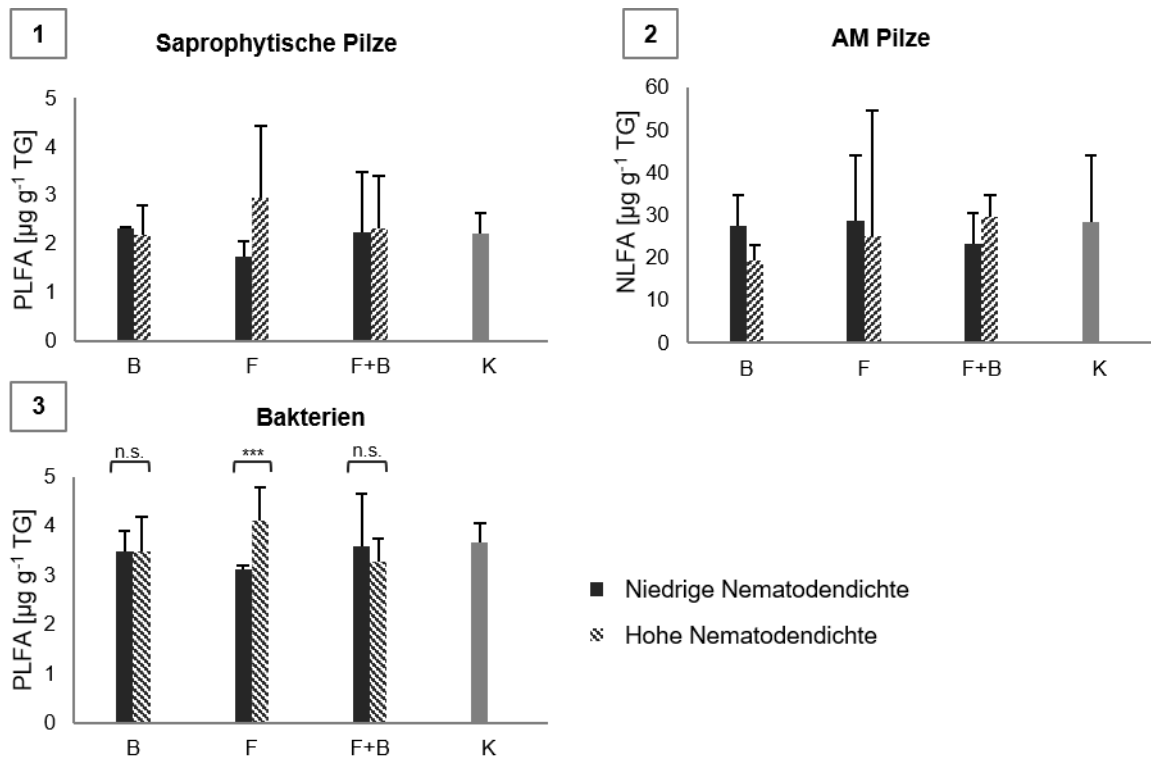


Abbildung 12: Mittlere Konzentration von Membranlipiden (PLFA, NLFA) von saprophytischen Pilzen (1), AM Pilzen (2) und Bakterien (3) in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte. Die Nematodenmanipulationen bestanden aus Inkubation der Mikrokosmen mit bakterivoren Nematoden (B); mit mykovoren Nematoden (F); mit beiden Nematodenarten (F+B) sowie der Negativkontrolle (K) ohne zugegebene Nematoden. Die Daten zur statistischen Signifikanz entstammen zusätzlichen paarweisen Mittelwertvergleichen. Diese wurden ausschließlich für mikrobielle Gruppen mit Unterschieden in der Konzentration der Marker zwischen den Nematodenmanipulationen durchgeführt (***) $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; . $p < 0,1$; n.s. (nicht signifikant) $p > 0,1$).

Eine detailliertere Betrachtung der Konzentration der Marker der bakteriellen Untergruppen ergab ebenfalls einen Einfluss der Interaktion Nematodenart x Nematodendichte (Tabelle 11). Diese beruhte wie bei der gemeinsamen Betrachtung aller bakteriellen Marker auf der steigenden Konzentration mit zunehmender Dichte mykovorer Nematoden, während kein Unterschied in der Konzentration zwischen den Dichten der bakterivoren Nematoden oder beiden Nematodenarten nachgewiesen werden konnte (Abbildung 13).

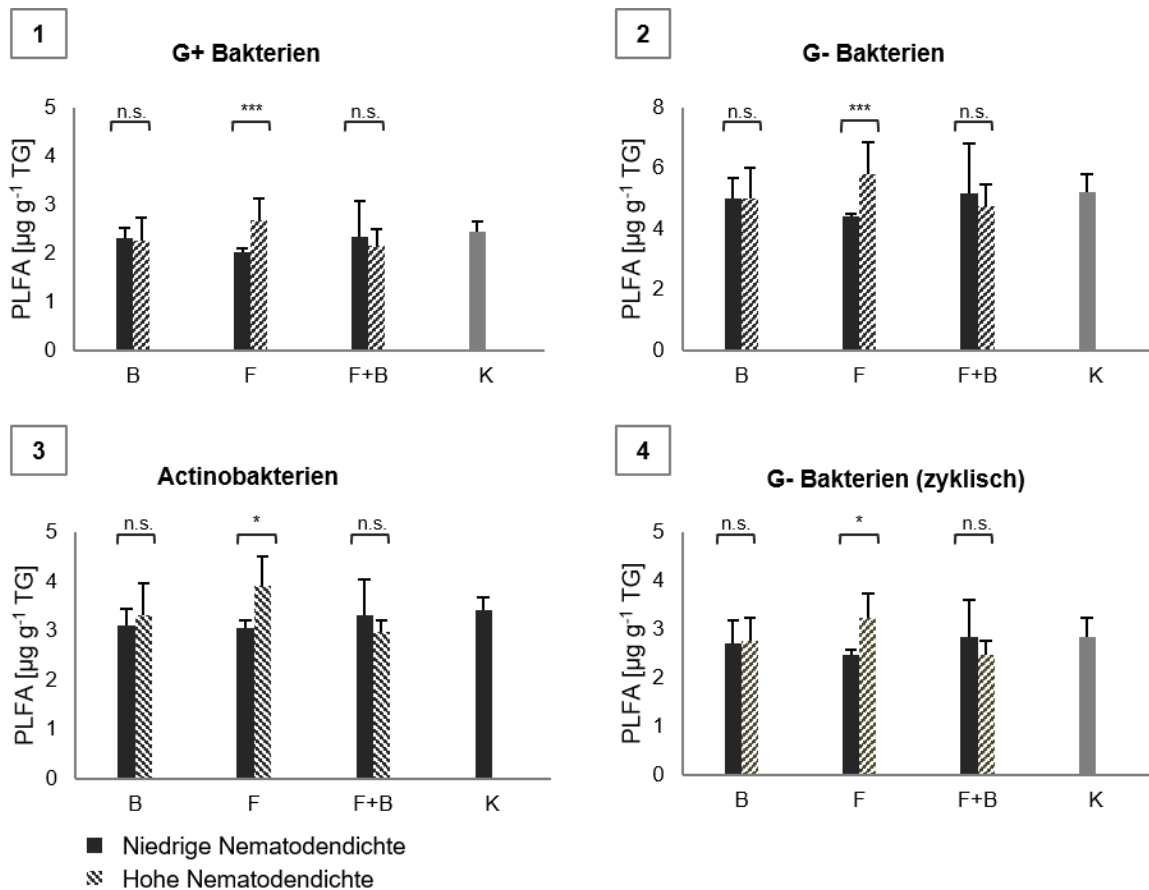


Abbildung 13: Mittlere Konzentration von Membranlipiden (PLFA, NLFA) der grampositiven (G+) (1), gramnegativen (G-) (2) sowie Actinobakterien (3) und der zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien (G- Bakterien zyklisch) (4) in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte. Die Nematodenmanipulationen bestanden aus Inkubation der Mikrokosmen mit bakterivoren Nematoden (B); mit mykovoren Nematoden (F); mit beiden Nematodenarten (F+B) sowie der Negativkontrolle (K) ohne zugegebene Nematoden. (***) $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; . $p < 0,1$; n.s. (nicht signifikant) $p > 0,1$

Tabelle 12: Lineares Modell der Konzentrationen der mikrobiellen Gruppen in Abhängigkeit zur extrahierten Nematodendichte.

	t-Wert	p-Wert
saprophytische Pilze	1,95	0,066
AM Pilze	-0,31	0,758
Bakterien	1,68	0,094
Grampositive Bakterien	1,08	0,285
Actinobakterien	0,57	0,569
Gramnegative Bakterien	1,35	0,182
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	0,97	0,340

Zusammenfassend hatte die Manipulation der Nematodenarten und -dichten in den Mikrokosmen nur einen sehr geringen Einfluss auf die Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft. Allein die mykovoren Nematoden führten überraschender Weise mit steigender Dichte zu einem Anstieg der bakteriellen Biomasse unabhängig von der Zuordnung zu wurzelassoziierten oder bodenassoziierten Gruppen.

4.4 Einfluss auf den Kohlenstoffumsatz der mikrobiellen Gemeinschaft

Die APE ^{13}C -Werte der PLFA-Marker hatten ein Maximum von $(5,442 \pm 2,039) \text{ ng } ^{13}\text{C g}^{-1}$ im Marker für gramnegative Bakterien 18:1 ω 7 und ein Minimum von $(0,032 \pm 0,030) \text{ ng } ^{13}\text{C g}^{-1}$ im zyklischen Marker cy19:0 für gramnegative Bakterien (Tabelle 13). Die mittlere ^{13}C -Anreicherung im Marker für saprophytische Pilze war mehr als doppelt so hoch verglichen mit dem Mittelwert der bakteriellen Marker. Der NLFA-Marker der AM-Pilze hatte jedoch einen erheblich höheren mittleren APE ^{13}C -Wert von fast $80 \text{ ng } ^{13}\text{C g}^{-1}$ verglichen mit den PLFA-Markern (Tabelle 13).

Eine genauere Betrachtung der bakteriellen Untergruppen zeigte die höchsten mittleren APE ^{13}C -Werte in den Markern der gramnegativen Bakterien. Im Vergleich dazu konnten für die Marker der grampositiven Bakterien im Mittel nur APE ^{13}C -Werte $< 1 \text{ ng } ^{13}\text{C g}^{-1}$ sowie für die zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien und die Marker der Actinobakterien nur Werte von unter $0,1 \text{ ng } ^{13}\text{C g}^{-1}$ gemessen werden.

Tabelle 13: Übersicht der mittleren APE ^{13}C -Werte der einzelnen Marker und der zugehörigen mikrobiellen Gruppen zum Zeitpunkt der maximalen ^{13}C -Anreicherung in der mikrobiellen Biomasse (T2). (Mittelwert \pm Standardabweichung)

	APE ^{13}C [ng ^{13}C g $^{-1}$ Boden (TG)]
Saprophytische Pilze	
18:2 ω 6,9 (PLFA)	4,61 \pm 1,81
AM Pilze	
16:1 ω 5 (NLFA)	79,14 \pm 33,32
Bakterien	
1,22 \pm 0,51	
Grampositive Bakterien	
0,92 \pm 0,43	
15:0a (PLFA)	1,14 \pm 0,58
15:0i (PLFA)	0,99 \pm 0,44
16:0i (PLFA)	1,36 \pm 0,62
17:0a (PLFA)	0,94 \pm 0,44
17:0i (PLFA)	0,15 \pm 0,07
Actinobakterien	
0,09 \pm 0,06	
10Me17:0 (PLFA)	0,11 \pm 0,08
10Me18:0 (PLFA)	0,08 \pm 0,05
Gramnegative Bakterien	
3,77 \pm 1,48	
16:1 ω 5 (PLFA)	3,43 \pm 1,223
16:1 ω 7 (PLFA)	3,04 \pm 0,99
17:1 (PLFA)	0,12 \pm 0,06
18:1 ω 7 (PLFA)	5,44 \pm 2,04
18:1 ω 9 (PLFA)	6,80 \pm 3,09
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	
0,09 \pm 0,06	
cy17:0 (PLFA)	0,15 \pm 0,08
cy19:0 (PLFA)	0,03 \pm 0,03

Für den Kohlenstoffumsatz der mikrobiellen Gemeinschaft, ausgedrückt als maximale ^{13}C -Anreicherung (APE ^{13}C) in den PLFA und NLFA-Markern, konnten für die bakteriellen Marker statistisch signifikante Effekte der Manipulationen von Nematodenart und -dichte nachgewiesen werden (Tabelle 14).

Tabelle 14: Varianzanalyse der APE ¹³C-Werte der mikrobiellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede in Abhängigkeit zur zugegebenen Nematodenart und -dichte. Statistisch signifikante Ergebnisse sind fett, marginal signifikante kursiv markiert.

	F-Wert	p-Wert
saprophytische Pilze		
Nematodenart	0,94	0,447
Nematodendichte	0,36	0,557
Nematodenart x Nematodendichte	0,52	0,608
AM Pilze		
Nematodenart	0,18	0,906
Nematodendichte	0,59	0,454
Nematodenart x Nematodendichte	0,02	0,980
Bakterien		
Nematodenart	9,86	< 0,001
Nematodendichte	2,28	0,132
Nematodenart x Nematodendichte	0,58	0,560
Grampositive Bakterien		
Nematodenart	13,60	< 0,001
Nematodendichte	7,91	0,006
Nematodenart x Nematodendichte	<i>2,83</i>	<i>0,064</i>
Actinobakterien		
Nematodenart	<i>2,57</i>	<i>0,071</i>
Nematodendichte	6,35	0,017
Nematodenart x Nematodendichte	0,31	0,736
Gramnegative Bakterien		
Nematodenart	5,77	0,001
Nematodendichte	0,73	0,396
Nematodenart x Nematodendichte	0,23	0,793
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)		
Nematodenart	0,62	0,607
Nematodendichte	2,00	0,167
Nematodenart x Nematodendichte	0,30	0,740

In der Analyse der gesamten bakteriellen Marker wurde ein Unterschied in den mittleren APE ¹³C-Werten mit verschiedenen Manipulationen der Nematodenarten jedoch nicht der -dichten oder der Interaktion Nematodenart x Nematodendichte (Tabelle 14) ermittelt. Zusätzlich durchgeführte paarweise Mittelwertvergleiche (Tabelle A3 im Anhang) lieferten genauere Aussagen darüber, welche Manipulationen der Nematodenart sich in ihrer ¹³C-Anreicherung voneinander unterschieden.

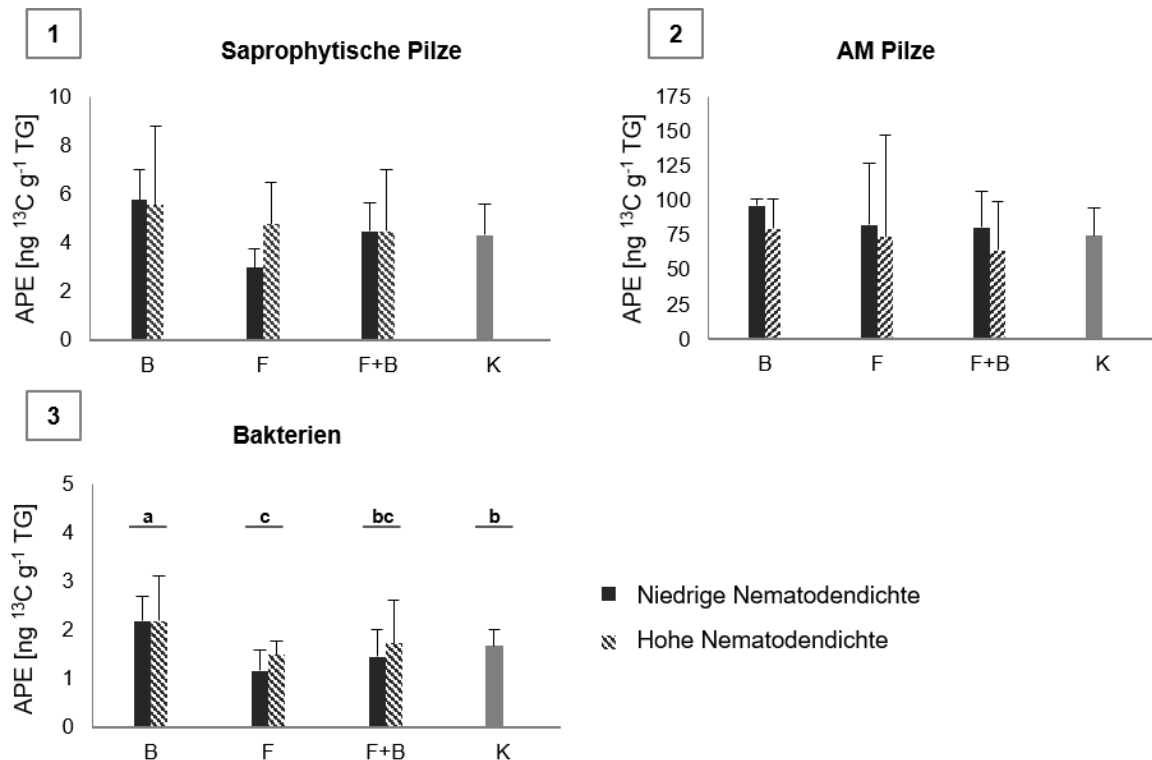


Abbildung 14: Mittlere ^{13}C -Anreicherung (APE ^{13}C -Werte) in Membranlipiden (PLFA, NLFA) von saprophytischen Pilzen (1), AM Pilzen (2) und Bakterien (3) in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte. Die Nematodenmanipulationen bestanden aus Inkubation der Mikrokosmen mit bakterivoren Nematoden (B); mit mykovoren Nematoden (F); mit beiden Nematodenarten (F+B) sowie der Negativkontrolle (K) ohne zugegebene Nematoden. Die Daten zur statistischen Signifikanz entstammen zusätzlichen paarweisen Mittelwertvergleichen. Diese wurden ausschließlich für mikrobielle Gruppen mit Unterschieden in der ^{13}C -Anreicherung der Marker zwischen den Nematodenmanipulationen durchgeführt. Unterschiedliche Buchstaben stehen für statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), gleiche Buchstaben für nicht signifikante Unterschiede.

In allen bakteriellen Markern war die ^{13}C -Anreicherung, verglichen mit der Negativkontrolle, bei Zugabe bakterivorer Nematoden höher, jedoch geringer bei mykovoren Nematoden. Mit beiden Nematodenarten unterschied sich die ^{13}C -Anreicherung weder von der Negativkontrolle noch von den mykovoren Nematoden. Allerdings waren die APE ^{13}C -Werte der bakteriellen Marker kleiner verglichen mit den bakterivoren Nematoden (Abbildung 14). Im Mittel war die ^{13}C -Anreicherung der bakteriellen Marker 31% höher mit bakterivoren Nematoden verglichen mit der Negativkontrolle, während die Werte mit mykovoren Nematoden um 21% gegenüber der Negativkontrolle sanken. Im Vergleich mit den mykovoren Nematoden waren die mittleren APE ^{13}C -Werte mit bakterivoren Nematoden sogar um 65% erhöht, während gegenüber beiden Nematodenarten nur eine Zunahme von 38% ermittelt wurde.

Die Marker der einzelnen bakteriellen Untergruppen zeigten ebenfalls statistisch signifikante Reaktionen in ihrer ^{13}C -Anreicherung auf die Manipulationen der Nematodenart und zudem auf die Dichte der Nematoden (Tabelle 14). Eine Ausnahme stellten die zyklischen Marker der

gramnegativen Bakterien dar, da sich für diese Marker keine Unterschiede in der ^{13}C -Anreicherung zwischen den Nematodenmanipulationen ergaben.

Einen Effekt der Nematodendichte konnte sowohl für die grampositiven bakteriellen Marker als auch für die ebenfalls grampositiven separat analysierten Marker der Actinobakterien ermittelt werden (Tabelle A4 im Anhang). In beiden bakteriellen Untergruppen setzte sich der Dichteeffekt aus einem Anstieg der APE ^{13}C -Werte mit zunehmender Dichte an mykovoren Nematoden zusammen (Abbildung 15). Die ^{13}C -Anreicherung in den grampositiven Markern stieg außerdem ebenfalls mit erhöhter Dichte beider Nematodenarten an, während in beiden bakteriellen Untergruppen keine Reaktion auf eine erhöhte Dichte bakterivorer Nematoden detektiert wurde (Abbildung 15). Es ließ sich jedoch kein linearer Zusammenhang zwischen extrahierter Nematodendichte und den APE ^{13}C -Werten der Fettsäuremarker der einzelnen mikrobiellen Gruppen feststellen (Tabelle 15).

Tabelle 15: Lineares Modell der APE- ^{13}C -Werte der mikrobiellen Gruppen in Abhängigkeit zur extrahierten Nematodendichte.

	t-Wert	p-Wert
saprophytische Pilze	0,79	0,441
AM Pilze	-0,69	0,500
Bakterien	0,46	0,646
Grampositive Bakterien	0,77	0,441
Actinobakterien	0,85	0,403
Gramnegative Bakterien	0,44	0,662
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	0,70	0,488

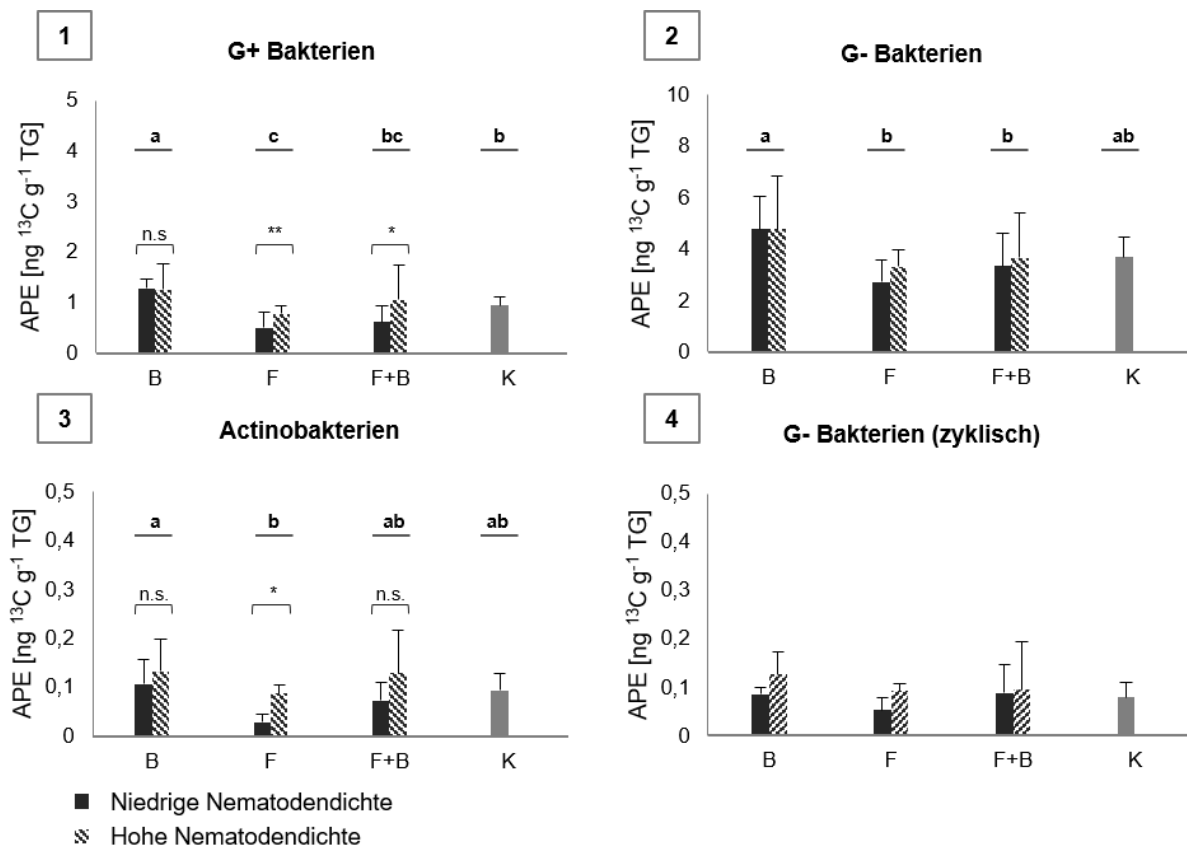


Abbildung 15: Mittlere ^{13}C -Anreicherung (APE ^{13}C -Werte) in Membranlipiden (PLFA, NLFA) der grampositiven (G+) (1), gramnegativen (G-) (2) sowie Actinobakterien (3) und der zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien (G- Bakterien zyklisch) (4) in Abhängigkeit zur Manipulation von Nematodenart und -dichte. Die Nematodenmanipulationen bestanden aus Inkubation der Mikrokosmen mit bakterivoren Nematoden (B); mit mykovoren Nematoden (F); mit beiden Nematodenarten (F+B) sowie der Negativkontrolle (K) ohne zugegebene Nematoden. Die Daten zur statistischen Signifikanz entstammen zusätzlichen paarweisen Mittelwertvergleichen. Diese wurden ausschließlich für bakterielle Untergruppen mit Unterschieden in der ^{13}C -Anreicherung der Marker zwischen den Nematodenmanipulationen durchgeführt (** $p < 0,001$; * $p < 0,01$; * $p < 0,05$; . $p < 0,1$; n.s. (nicht signifikant) $p > 0,1$). Unterschiedliche Buchstaben stehen für statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), gleiche Buchstaben für nicht signifikante Unterschiede.

Sowohl die Marker der gramnegativen, der grampositiven als auch der Actinobakterien unterschieden sich in ihrer ^{13}C -Anreicherung in Abhängigkeit zur Manipulation der Nematodenart (Tabelle 14).

Die Marker der grampositiven Bakterien verhielten sich hinsichtlich ihrer Reaktion auf die Manipulation der Nematodenart ähnlich wie die gesamten bakteriellen Marker (Abbildung 14, 15). Die Mittelwerte der APE ^{13}C -Werte stiegen mit bakterivoren Nematoden um 34% gegenüber der Negativkontrolle, um 99% gegenüber den mykovoren Nematoden sowie um 51% gegenüber beiden Nematodenarten an. Im Gegensatz dazu sank die ^{13}C -Anreicherung in den grampositiven Markern um 11% mit mykovoren Nematoden gegenüber der Negativkontrolle. Allerdings konnte kein statistisch signifikanter Unterschied in

den APE ^{13}C -Werten der grampositiven Marker zwischen beiden Nematodenarten und der Negativkontrolle oder den mykovoren Nematoden festgestellt werden (Abbildung 15).

Die ^{13}C -Anreicherung in den Markern für gramnegative Bakterien war mit bakterivoren Nematoden gegenüber mykovoren Nematoden sowie beiden Nematodenarten um 58% bzw. 36% signifikant erhöht (Abbildung 15). Im Gegensatz zu den grampositiven Markern konnte allerdings nur ein steigender bzw. sinkender statistischer Trend gegenüber der Negativkontrolle sowohl bei den bakterivoren als auch bei den mykovoren Nematoden ermittelt werden (Tabelle A3 im Anhang). Aus den Mittelwerten der Einzelmarker (Tabelle 16) wurde dennoch eine geringere ^{13}C -Anreicherung aller gramnegativen Marker mit mykovoren Nematoden sowie eine höhere mit bakterivoren Nematoden ersichtlich.

Für die Marker der Actinobakterien konnte eine Erhöhung der APE ^{13}C -Werte mit bakterivoren Nematoden um 108% ausschließlich gegenüber mykovoren Nematoden ermittelt werden (Abbildung 15). Die Mittelwerte der Einzelmarker (Tabelle 16) zeigten jedoch eine vergleichbare Reaktion auf die Manipulation der Nematodenart wie die übrigen bakteriellen Untergruppen.

Insgesamt ließ sich nur ein geringer Effekt der Nematodendichte auf die APE ^{13}C -Werte der bakteriellen Marker ableiten. Allein die grampositiven bakteriellen Marker und die Marker der Actinobakterien stiegen bei einigen Nematodenarten mit zunehmender Nematodendichte an. Weiterhin zeigten die Ergebnisse in Anwesenheit von bakterivoren Nematoden für die meisten bakteriellen Untergruppen einen erhöhten Kohlenstoffumsatz bzw. Einbau von ^{13}C in die PLFA-Marker, während die Anwesenheit von mykovoren Nematoden diesen senkte. In der Manipulation mit beiden Nematodenarten unterschied sich jedoch die ^{13}C -Anreicherung in allen bakteriellen Untergruppen nicht von der Negativkontrolle.

Tabelle 16: Übersicht der mittleren APE ¹³C-Werte [ng ¹³C g⁻¹ Boden (TG)] der PLFA-Marker der einzelnen bakteriellen Gruppen der Bodenproben mit verschiedenen Nematodenmanipulationen. (Mittelwert ± Standardabweichung)

	B		F		F+B		K
	1	2	1	2	1	2	
Grampositive Bakterien							
15:0a	1,63 ± 0,27	1,57 ± 0,62	0,56 ± 0,38	1,01 ± 0,21	0,70 ± 0,38	1,37 ± 1,00	1,15 ± 0,20
15:0i	1,39 ± 0,22	1,31 ± 0,52	0,53 ± 0,29	0,86 ± 0,17	0,68 ± 0,32	1,14 ± 0,68	1,02 ± 0,230
16:0i	1,92 ± 0,35	1,85 ± 0,79	0,79 ± 0,47	1,11 ± 0,23	0,99 ± 0,45	1,51 ± 0,97	1,36 ± 0,21
17:0a	1,25 ± 0,12	1,32 ± 0,54	0,52 ± 0,39	0,79 ± 0,15	0,61 ± 0,35	1,07 ± 0,67	1,02 ± 0,24
17:0i	0,20 ± 0,02	0,20 ± 0,08	0,08 ± 0,04	0,12 ± 0,03	0,11 ± 0,07	0,20 ± 0,13	0,16 ± 0,05
Actinobakterien							
10Me17:0	0,14 ± 0,07	0,15 ± 0,1	0,01 ± 0,02	0,1 ± 0,03	0,08 ± 0,04	0,13 ± 0,1	0,14 ± 0,08
10Me18:0	0,07 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,13 ± 0,08	0,05 ± 0,02
Gramnegative Bakterien							
16:1ω5	4,37 ± 1,87	4,43 ± 2,08	3,26 ± 0,69	3,17 ± 0,50	3,29 ± 0,91	2,54 ± 0,59	2,97 ± 0,78
16:1ω7	3,92 ± 1,30	3,48 ± 1,31	2,56 ± 0,80	2,27 ± 0,67	2,93 ± 0,97	3,08 ± 1,05	3,06 ± 0,76
17:1	0,17 ± 0,04	0,16 ± 0,07	0,06 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,11 ± 0,06	0,15 ± 0,08	0,11 ± 0,02
18:1ω7	6,98 ± 1,60	6,45 ± 2,67	3,68 ± 0,95	4,84 ± 0,97	5,46 ± 3,12	5,41 ± 2,90	5,27 ± 1,25
18:1ω9	8,51 ± 1,50	9,44 ± 5,31	4,10 ± 1,96	6,27 ± 1,51	5,02 ± 2,01	7,19 ± 4,68	7,04 ± 1,16
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)							
cy17:0	0,13 ± 0,46	0,21 ± 0,1	0,09 ± 0,05	0,16 ± 0,02	0,12 ± 0,08	0,15 ± 0,17	0,16 ± 0,06
cy19:0	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,04	0,000

B bakterivore Nematoden; **F** mykovore Nematoden; **F+B** beide Nematodenarten; **K** Negativkontrolle
1 geringe Nematodendichte; **2** hohe Nematodendichte

5 Diskussion

5.1 Kontrolle der Manipulation der Nematodenarten und -dichten

Die Erhöhung der natürlichen Nematodendichte in den Mikrokosmen konnte anhand einer durchschnittlich um 80% höheren extrahierten Dichte nach künstlicher Zugabe von Nematoden im Vergleich zur Negativkontrolle gezeigt werden. Allerdings korrelierte nicht bei allen Manipulationen die zugegebene mit der extrahierten Nematodendichte. Die Zugabe der höheren Dichte an Nematoden führte besonders im Fall der bakterivoren Art nicht zu einer ebenso höheren Nematodendichte nach der Extraktion aller Nematoden aus den Bodenproben. Dies lässt auf die Einstellung eines natürlichen Gleichgewichts in den Mikrokosmen innerhalb der zehn Tage nach der Zugabe der Nematoden schließen. Die natürliche Dichte an mykovoren oder bakterivoren Nematoden in den Mikrokosmen ließ sich nur so weit durch künstliche Zugabe von Nematoden erhöhen bis ihre Nahrungsquelle erschöpft bzw. die Konkurrenz zu groß wurde. Folglich konnten sich nur so viele der zugebenen Nematoden etablieren, wie bei der verfügbaren Nahrungsmenge an Bakterien oder Pilzen möglich war. Jedoch wird die Nahrungskonkurrenz nicht nur von der Größe der Nahrungsquelle, sondern ebenfalls von der Anzahl an Konkurrenten bestimmt (Gilad, 2008). Demnach spielt ebenso die Zusammensetzung der ursprünglichen Nematodengemeinschaft in den Mikrokosmen eine wichtige Rolle. Durch die Gefrier-Tau-Methode (Poll *et al.*, 2007) sollte die natürliche Nematodendichte im Boden gesenkt werden, um eine bessere Etablierung der zugegebenen Nematoden zu ermöglichen. Maboreke *et al.* (2018) konnten allerdings nach Anwendung dieser Methode eine Verschiebung der ursprünglichen Zusammensetzung an Nematoden im Boden zu einer im Vergleich zu den pflanzenparasitären und mykovoren Nematoden größeren Anzahl an bakterivoren Nematoden nachweisen. Viele Nematoden darunter Organismen der Gattungen *Aphelenchoides* und *Acrobelloides* gehen unter extremen Bedingungen, beispielsweise Wassermangel oder sehr tiefen Temperaturen, in inaktive Dauerstadien über. Die Rückkehr in den Normalzustand erfolgt nach Ende der ungünstigen Umweltbedingungen (McSorley, 2003). Die Generationszeiten bakterivorer Nematoden sind kürzer verglichen mit pflanzenparasitären oder mykovoren Nematoden, weswegen dies ein Grund für ihre schnellere Erholung von der Behandlung des Bodens sein könnte (Maboreke *et al.*, 2018). Wegen der höheren Ausgangsdichte an bakterivoren Nematoden, konnte ihre Dichte in den Mikrokosmen mit der Zugabe weiterer Organismen aufgrund der größeren Konkurrenz wahrscheinlich nur begrenzt erhöht werden. Dies könnte ein Grund für die unveränderte extrahierte Nematodendichte der Proben mit manipulierter Dichte bakterivorer Nematoden auch nach Zugabe der doppelten Menge an Individuen sein. Die mykovoren Nematoden konnten währenddessen besser in der ursprünglichen Gemeinschaft

etabliert werden, da ihre natürliche Dichte durch die Behandlung des Bodens erfolgreicher gesenkt werden konnte.

Zusätzlich sollten eventuelle methodische Ursachen berücksichtigt werden. Während die zugegebene Nematodendichte genau bekannt war, wurden durch die post-experimentale Nematodenextraktion aus den Bodenproben nicht alle Nematoden im Boden erfasst und Unterschiede in der Effizienz dieser Extraktion zwischen den Mikrokosmen sind sehr wahrscheinlich. Der Übergang aus dem Leitungswasser in den Boden der Mikrokosmen geht einher mit erhöhtem Stresslevel für die Nematoden, weshalb erwartungsgemäß nicht alle zugegebenen Nematoden überlebt haben. Aus diesem Grund wurden die zugegebenen Dichten entsprechend hoch gewählt. Die Überlebensrate der Nematoden unterschied sich je nach Art und Mikrokosmos, womit die nicht direkt mit der zugegebenen Dichte an Nematoden korrelierten extrahierten Nematodendichten erklärt werden könnten. Ein weiterer Grund wären die Unterschiede der einzelnen Bodenproben der Mikrokosmen in ihrer Nematodenabundanz, infolge der heterogenen Verteilung der Nematoden im Boden.

5.2 Einfluss auf Struktur und Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft

Die Ergebnisse der PLFA- und NLFA-Konzentrationen in den Bodenproben ergaben sehr viel höhere Werte für den NLFA-Marker der AM Pilze verglichen mit allen PLFA-Markern. Der NLFA-Marker 16:1 ω 5 ist ein Speicherlipid, welches mit den Pilzsporen assoziiert werden kann (Olsson, 1999). Als Zellmembrankomponenten haben die Phospholipidfettsäuren eine erheblich geringere Konzentration. Die gemessenen PLFA-Konzentrationen zeigten weiterhin eine Dominanz der gramnegativen über die grampositiven Bakterien. Da gramnegative Bakterien sich hauptsächlich von Wurzelexsudaten ernähren, während grampositive Bakterien vermehrt das organische Material des Bodens abbauen (Treonis *et al.*, 2004; Paterson *et al.*, 2007), ist dies ein Indiz für die hohe Relevanz der Wurzelexsudate für den Kohlenstofffluss in den Mikrokosmen. Die geringe Größe der Mikrokosmen führt zu einer nahezu vollständigen Durchwurzelung des Bodens. Somit würde dies für einen starken Einfluss der Rhizosphäre auf die mit dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse sprechen. Die Rhizosphäre ist gekennzeichnet durch einen Überschuss an leichtverfügbaren Kohlenstoffquellen aufgrund der Wurzelexsudate (Koranda *et al.*, 2011). Während der Verwertung der mikrobiellen Biomasse durch die Nematoden wurden die darin eingeschlossenen Nährstoffe wieder freigesetzt und standen für das mikrobielle Wachstum zur Verfügung (Bonkowski *et al.*, 2004). Unter diesen Bedingungen erscheint es sehr wahrscheinlich, dass die mikrobielle Gemeinschaft auf die erhöhte Dichte an Nematoden mit kompensierendem Wachstum reagiert hat. Wie erwartet, waren deshalb die Effekte der Nematoden auf die Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft minimal, obwohl frühere Studien

eine Verschiebung der bakteriellen Gemeinschaft in Richtung weniger gefressener Arten nachweisen konnten (Griffith *et al.*, 1999; Mazzola, 2007).

Das kompensierende Wachstum der gefressenen Arten war zudem der Grund für die gleichbleibende bakterielle Biomasse. Eine gleichbleibende und sogar steigende bakterielle Biomasse in Anwesenheit bakterivorer Organismen wurde schon von mehreren Studien beobachtet (Elliott *et al.*, 1980; Ingham *et al.*, 1985; Sundin *et al.*, 1990). Interessanterweise hatten die mykovoren Nematoden einen indirekten begünstigenden Effekt auf die bakterielle Biomasse. Maboreke *et al.* (2017) fanden ebenso eine erhöhte bakterielle Biomasse in Anwesenheit der mykovoren Springschwänze der Art *Protaphorura armata* und begründeten es mit erhöhtem Wachstum der Bakterien durch die Freisetzung von Nährstoffen aus der Pilzbiomasse. Durch die Anwesenheit von mykovoren Nematoden wird die Kohlenstoff- und Nährstoffversorgung der Pilze negativ beeinflusst (Tordoff *et al.*, 2011). Diese erhöhten negativen Effekte auf die saprophytischen Pilze könnten jedoch ebenso deren Konkurrenzfähigkeit um Kohlenstoff und Nährstoffen gegenüber den Bakterien gesenkt sowie die Investierung zusätzlicher Energie in antagonistische Strategien wie der Bildung von antibakteriellen Substanzen verhindert haben. Daraus würde eine geringere Senkung der bakteriellen Biomasse durch die Pilze folgen, was die Konzentration der bakteriellen Marker im Umkehrschluss gegenüber Mikrokosmen mit geringerer Dichte an mykovoren Nematoden erhöht. Der negative Effekt der Nematoden auf die Pilzbiomasse konnte jedoch nicht gezeigt werden. Ein Grund dafür könnte die geringe Anzahl an statistischen Replikaten verglichen mit der hohen Variabilität der Konzentration der Pilzmarker sein. Sowohl die saprophytischen als auch die AM Pilze wurden nur durch einen Marker repräsentiert. Deswegen war es nicht möglich bei den Gruppen der Pilze durch Zusammenfassen mehrerer Marker die Anzahl statistischer Replikate und die Signifikanz der Ergebnisse zu erhöhen

Im Vergleich dazu zeigte die Anwesenheit von mykovoren Nematoden zusammen mit bakterivoren Nematoden keine Erhöhung der bakteriellen Biomasse, da möglicherweise die zugegebene Dichte der mykovoren Nematoden für statistisch signifikante Effekte zu gering war. Mit einer weniger hohen Dichte an mykovoren Nematoden waren die resultierenden negativen Effekte auf das Pilzwachstum wahrscheinlich nicht stark genug, um die Konkurrenzfähigkeit der Pilze zu vermindern. Zusätzlich erfolgte eine Kontrolle der bakteriellen Biomasse durch die bakterivoren Nematoden, wodurch möglicherweise dem Anstieg der bakteriellen Biomasse durch die indirekten Effekte der mykovoren Nematoden entgegengewirkt wurde. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit gefundenen Ergebnissen wurde ein reduzierender Effekt der mykovoren Nematodenart, *A. saprophilus*, auf die Biomasse aller mikrobiellen Gruppen in der Rhizosphäre um Eichensetzlinge von Maboreke *et al.* (2018) nachgewiesen. Das Bodensubstrat der Eichensetzlinge wurde bei dieser Studie von Maboreke und Mitarbeitern zusätzlich zu den Nematoden mit Ektomykorrhizakulturen beimpft.

A. saprophilus ernährt sich bevorzugt von Ektomykorrhiza Pilzen (Dighton & Ruess, 1996). Die Effekte im Experiment von Maboreke *et al.* (2018) resultierten deshalb wahrscheinlich hauptsächlich aus der Reduzierung der Ektomykorrhiza Pilze durch *A. saprophilus*. Dies kann aufgrund der Verwendung einer Graslandpflanzengemeinschaft für die Reaktion der mikrobiellen Gemeinschaft in dieser Arbeit jedoch vernachlässigt werden.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse deutlich, dass die Effekte der Nematoden auf die Struktur und Biomasse der mikrobiellen Gemeinschaft nicht nur von den Nematodenarten und -dichten im Boden abhängen, sondern ebenso von den Interaktionen zwischen den mikrobiellen Gruppen, der Nährstoff- und Kohlenstoffverfügbarkeit sowie der oberirdischen Pflanzengemeinschaft.

5.3 Einfluss auf den Kohlenstoffumsatz der mikrobiellen Gemeinschaft

Die Ergebnisse der ^{13}C -Anreicherung der PLFA- und NLFA-Marker repräsentieren die Verteilung des von den Pflanzen assimilierten Kohlenstoffs in der mikrobiellen Biomasse zum Zeitpunkt der Probenahme. Der Großteil des pflanzlichen Kohlenstoffes wird an die AM Pilze als Wurzelsymbionten abgegeben und erklärt den viel höheren mittleren APE ^{13}C -Wert des NLFA-Markers 16:1 ω 5. Ein anderer großer Teil des Pflanzenkohlenstoffes wird durch Wurzelexsudate in den Boden abgegeben. Die höchsten APE ^{13}C -Werte der PLFA-Marker können den Gruppen der saprophytischen Pilze und den gramnegativen Bakterien zugeordnet werden, da diese sich hauptsächlich von Wurzelexsudaten ernähren und somit einen direkten Zugang zu dem von den Pflanzen assimilierten ^{13}C haben (Treonis *et al.*, 2004). Im Gegensatz dazu ernähren sich grampositive Bakterien und die grampositive Untergruppe der Actinobakterien hauptsächlich von dem organischen Material des Bodens (Treonis *et al.*, 2004; Paterson *et al.*, 2007), wodurch die Aufnahme des ^{13}C aus der pflanzlichen Biomasse durch die vorherige Integration in das organische Material des Bodens verzögert wird. Zudem wird der schwerere Kohlenstoff aus der neu assimilierten mit ^{13}C angereicherten pflanzlichen Biomasse mit älterem nicht markiertem organischem Material stark verdünnt. Dies ist ein Grund für die deutlich geringeren Aufnahme von ^{13}C in die PLFA-Marker der grampositiven und der Actinobakterien. Ein weiterer Grund könnte die langsamere Stoffwechselaktivität besonders der Actinobakterien sein. Die zyklischen Marker cy17:0 und cy19:0 werden von gramnegativen Bakterien als Reaktion auf extreme Umweltbedingungen synthetisiert (Kaur *et al.*, 2005) und könnten unter den experimentellen Bedingungen möglicherweise nicht so häufig synthetisiert worden sein, was eine Erklärung für ihre geringe Aufnahme von ^{13}C wäre. Somit erscheinen extreme Bedingungen während des Experimentes eher unwahrscheinlich. Dies unterstützt die Annahme von optimalen Wachstumsbedingungen für die Bakterien und kompensierendes Wachstum als Reaktion auf die Anwesenheit der

Nematoden. In der Rhizosphäre sind meistens gute Wachstumsbedingungen für Mikroorganismen vorhanden. Die zyklischen Marker cy17:0 und cy19:0 können eindeutig gramnegativen Bakterien zugeordnet werden. Da die Synthese dieser Marker jedoch nur unter extremen Bedingungen stattfindet, sind sie für Untersuchungen der Kohlenstoffflüsse in der Rhizosphäre ungeeignet.

Ein Effekt der manipulierten Nematodenarten und -dichten in den Mikrokosmen konnte aus den gleichen Gründen wie bei der Analyse der Konzentrationen aufgrund der hohen Variabilität und geringen Anzahl an Replikaten der beiden Pilzmarker nur für die bakteriellen Gruppen erhalten werden. Diese Annahme wird durch die Tatsache unterstützt, dass bei der Zusammenfassung der ^{13}C -Anreicherung der bakteriellen Marker als Summe ebenso keine statistisch signifikanten Ergebnisse erreicht werden konnten.

Die Bodenfeuchte der Mikrokosmen zählt als möglicher Einflussfaktor für die bakterielle Aktivität und möglicherweise ebenso für den Einbau von ^{13}C in die PLFA-Marker. Es besteht jedoch kein linearer Zusammenhang zwischen Bodenfeuchte und APE ^{13}C -Werten der Lipidfettsäuremarker (Tabelle A1 im Anhang). Da ebenso kein Zusammenhang zwischen den APE ^{13}C -Werten und der extrahierten Nematodendichte erhalten wurde, beruhen die ermittelten Effekte der Manipulation der Nematodenarten und -dichten wahrscheinlich größtenteils auf der Verschiebung der Zusammensetzung der Nematodengemeinschaft in den Mikrokosmen zu Gunsten der zugegebenen Art.

Es lässt sich ein genereller Trend der APE ^{13}C -Werte als Reaktion auf die Zugabe der verschiedenen Nematodenarten aus der Betrachtung der Mittelwerte (Tabelle 16) für alle Marker ableiten. Jedoch zeigten nicht alle bakteriellen Untergruppen eine statistisch signifikante Reaktion im ^{13}C -Einbau in ihre Biomasse auf die Erhöhung der Abundanz einzelner Nematodenarten. Die marginal signifikanten Trends der gramnegativen Marker könnten eventuell ohne die erhöhte Variabilität aufgrund der verschiedenen Aufnahmeraten von $^{13}\text{CO}_2$ der Pflanzen in den Kammern (Abbildung 11), ebenfalls statistisch signifikant gewesen sein. Eine Senkung oder Berücksichtigung dieser Variabilität in der Auswertung war jedoch aus den in Methoden 3.2.17 beschriebenen Gründen nicht möglich. Die bakterielle Untergruppe der Actinobakterien wird im Vergleich zu den grampositiven und gramnegativen Bakterien nur durch zwei Marker repräsentiert. Dies gilt ebenso für die zyklischen Marker der gramnegativen Bakterien. Diese geringere Anzahl an statistischen Replikaten beider Gruppen könnte in gleicher Weise wie bei den Pilzmarkern zu weniger statistisch signifikanten Effekten geführt haben. Die Effekte der Nematodenart auf den Kohlenstoffumsatz aller betrachteten bakteriellen Gruppen sind unabhängig von ihrem Lebensraum bzw. ihrer bevorzugten Kohlenstoffquelle ähnlich. Folglich kann ein bevorzugtes Fressen einzelner Gruppen durch die Nematoden wahrscheinlich ausgeschlossen werden. Ebenso scheinen die indirekten Effekte der mykovoren Nematoden alle bakteriellen Gruppen in gleicher Weise zu betreffen.

Insgesamt hatten die bakterivoren Nematoden wie erwartet eine positive Wirkung auf den Kohlenstoffumsatz der Bakterien, da die Bakterien auf den erhöhten Fraßdruck mit erhöhtem Wachstum reagierten (Ingham *et al.*, 1985). Folglich wird durch die zunehmende Neubildung bakterieller Biomasse mehr ^{13}C in die PLFA-Marker im Vergleich zur Negativkontrolle eingebaut. Die Zugabe der mykovoren Nematoden hat interessanter Weise einen entgegengesetzten Effekt und senkt den Kohlenstoffumsatz und den Einbau von ^{13}C in die bakterielle Biomasse. Obwohl ein gesteigertes bakterielles Wachstum aufgrund der Freisetzung von Nährstoffen aus der Pilzbiomasse erwartet werden könnte (Maboreke *et al.*, 2017). Dieser negative Effekt der mykovoren Nematoden wird in der gemeinsamen Manipulation mit der bakterivoren und mykovoren Nematodenart von dem positiven Effekt der bakterivoren Nematoden kompensiert, so dass die ^{13}C -Anreicherung der bakteriellen Biomasse keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Negativkontrolle aufweist.

Allein die grampositiven Bakterien und ebenso die grampositive Untergruppe der Actinobakterien reagieren mit einem erhöhten Einbau von ^{13}C in ihre Biomasse d.h. mit stärkerem Wachstum auf eine erhöhte Dichte mykovorer Nematoden bzw. beider Nematodenarten. Somit führt eine erhöhte Dichte von mykovoren Nematoden im Fall der grampositiven Bakterien nicht zu einer Verstärkung ihres negativen Effektes auf den Kohlenstoffumsatz, sondern zu einer Abschwächung.

Eine mögliche zusammenfassende Interpretation dieser interessanten Ergebnisse ist im Folgenden ausgeführt.

Bei einer erhöhten Dichte an bakterivoren Nematoden müssen die Bakterien nicht nur mit dem Konkurrenzdruck und den antagonistischen Strategien der Pilzgemeinschaft fertig werden, sondern unterliegen zusätzlichem Fraßdruck durch die erhöhte Anzahl an bakterivoren Nematoden (Abbildung 16).

Diese Faktoren senken permanent die bakterielle Biomasse und halten die bakterielle Gemeinschaft in einem metabolisch aktiveren Zustand, da bevorzugt ältere inaktive Zellen gefressen werden. Die Bakterien reagieren auf die negativen Effekte von sowohl Pilzen als auch Nematoden mit erhöhtem Wachstum. Gleichzeitig ist der Kohlenstoffumsatz durch die ständige Neubildung bakterieller Biomasse erhöht. Die bakterielle Biomasse bleibt konstant, da die reduzierenden Effekte durch das erhöhte Wachstum ausgeglichen werden können (Abbildung 16).

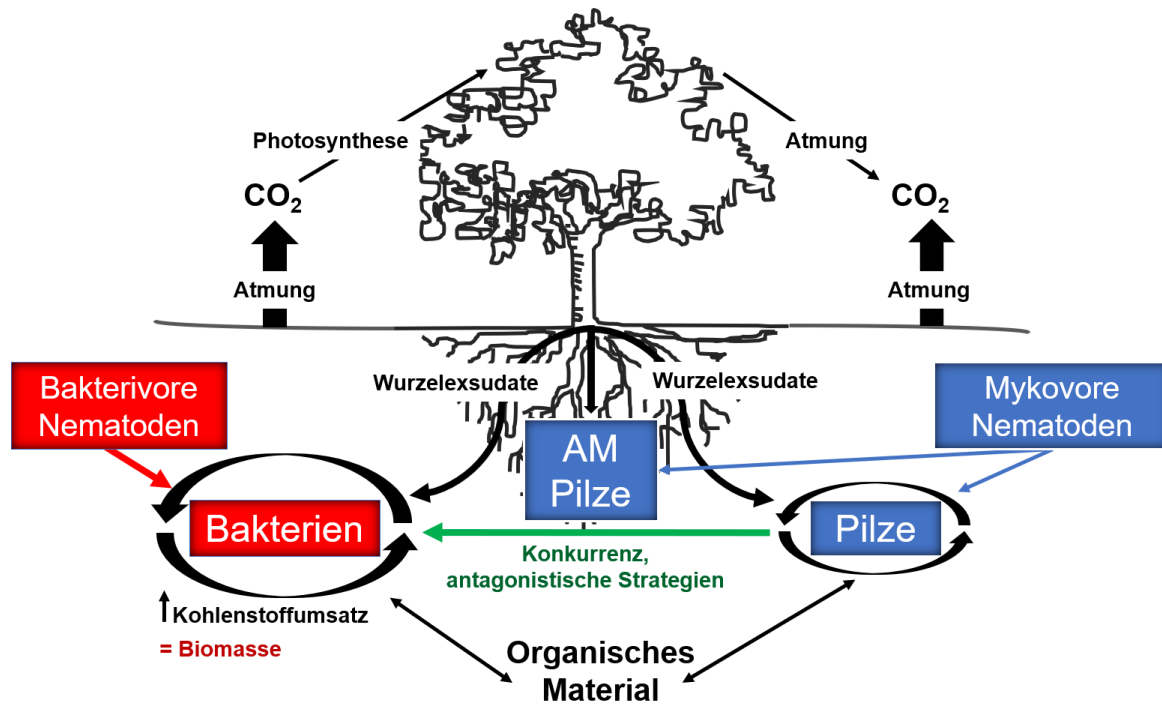


Abbildung 16: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden bei erhöhter Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch bakterivore Nematoden. Kohlenstoffflüsse sind durch schwarze Pfeile hervorgehoben, die Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch mykovore Nematoden mit blauen Pfeilen, durch bakterivore Nematoden mit roten Pfeilen sowie die wechselseitige Beziehung zwischen Bakterien und Pilzen mit grünen Pfeilen.

Die Anwesenheit mykovorer Nematoden hat einen positiven Effekt auf die bakterielle Biomasse im Boden. Aufgrund des erhöhten Fraßdrucks auf die Pilzgemeinschaft durch die Nematoden könnte der Konkurrenzdruck um Nährstoffe und Kohlenstoff zwischen Pilzen und Bakterien gesunken sein. Außerdem könnte die Reduzierung der Pilzbiomasse durch die Nematoden zu einer Verminderung der antibakteriellen Strategien der Pilze führen. Einen weiteren Vorteil für das bakterielle Wachstum bietet zudem die Freisetzung zusätzlicher Nährstoffe aufgrund der Mineralisierung der Pilzbiomasse durch die Nematoden. Zusätzlich ist die Dichte an bakterivoren Nematoden nicht erhöht, weshalb insgesamt die Reduzierung der bakteriellen Biomasse im Vergleich zur Manipulation mit der bakterivoren Nematodenart geringer ist (Abbildung 17). Die Biomasse der Bakteriengemeinschaft ist aufgrund dieser Faktoren erhöht. Jedoch sinkt ihr Kohlenstoffumsatz wegen der geringeren Erneuerung der bakteriellen Biomasse sowie der größeren Anzahl älterer inaktiver Zellen. Die älteren inaktiven Zellen werden nicht verwertet nehmen allerdings auch keinen neuen mit ¹³C angereicherten Kohlenstoff auf und führen insgesamt zu einer „Verdünnung“ der Anreicherung der bakteriellen Biomasse mit ¹³C und zu kleineren APE ¹³C-Werten. Im Fall der grampositiven Bakterien wird bei der höheren Dichte mykovorer Nematoden dieser Verdünnungseffekt möglicherweise durch ein erhöhtes Wachstum aufgrund der freigesetzten Nährstoffe kompensiert. Eine andere

Erklärung für den Anstieg des ^{13}C -Einbaus in die Biomasse der grampositiven Bakterien wäre die Nutzung der mit ^{13}C angereicherten Nekromasse der Pilze als Kohlenstoffquelle. Als Folge der erhöhten Dichte mykovorer Nematoden ist die tote Pilzbiomasse in diesen Mikrokosmen ebenfalls größer. Ein ähnlicher Effekt ist ebenfalls in den Manipulationen mit erhöhter Dichte beider Nematodenarten zu beobachten.

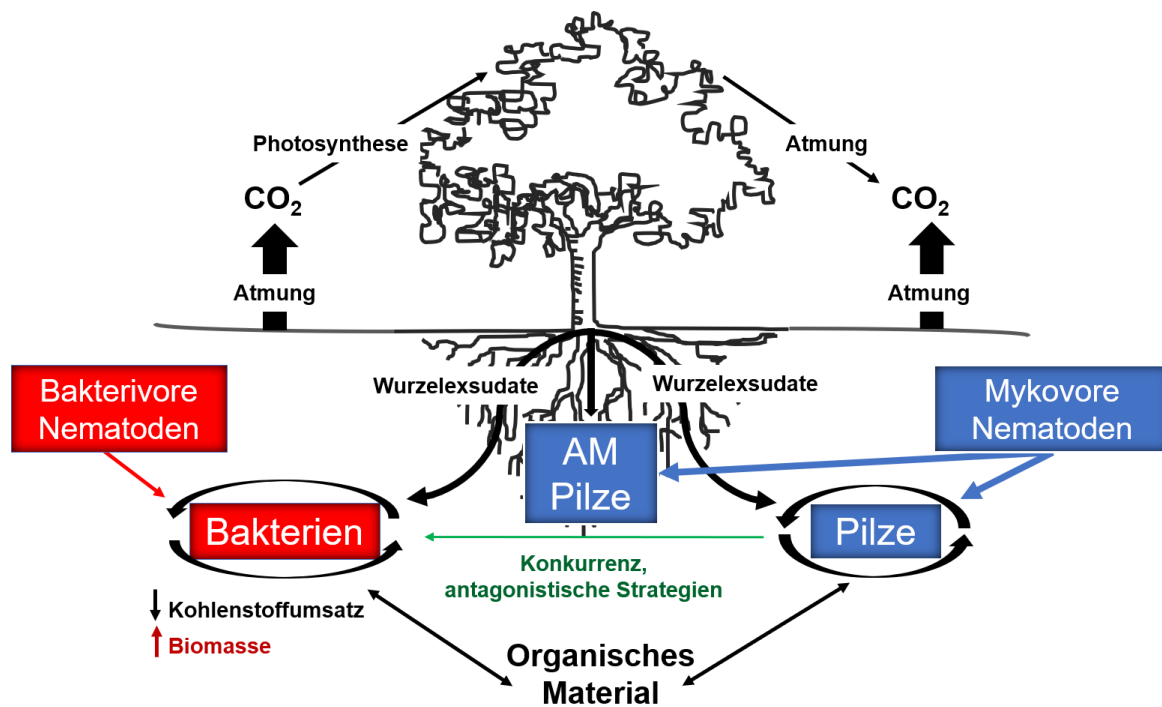


Abbildung 17: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden bei erhöhter Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch mykovore Nematoden. Kohlenstoffflüsse sind durch schwarze Pfeile hervorgehoben, die Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch mykovore Nematoden mit blauen Pfeilen, durch bakterivore Nematoden mit roten Pfeilen sowie die wechselseitige Beziehung zwischen Bakterien und Pilzen mit grünen Pfeilen.

Die Manipulation mit sowohl der bakterivoren als auch der mykovoren Nematodenart repräsentiert eine Kombination der einzelnen Effekte der Nematodenarten. Die bakterielle Biomasse wird zwar einerseits durch die erhöhte Dichte bakterivorer Nematoden gesenkt, unterliegt jedoch gleichzeitig weniger negativen Effekten durch die Pilze (Abbildung 18). Die Verminderung des Konkurrenzdrucks und der antagonistischen Strategien der Pilze hat einen negativen Einfluss auf den Kohlenstoffumsatz der Bakterien. Die Erneuerung der bakteriellen Biomasse aufgrund des stärkeren Wachstums in Anwesenheit bakterivorer Nematoden kompensiert dies allerdings, weshalb der Kohlenstoffumsatz im Vergleich zur Negativkontrolle keinen Unterschied zeigt. Die bakterielle Biomasse ist aufgrund der erhöhten Regulation durch bakterivore Nematoden im Gegensatz zur alleinigen Manipulation mit mykovoren Nematoden nicht erhöht, sondern konstant wie in der Manipulation mit bakterivoren Nematoden.

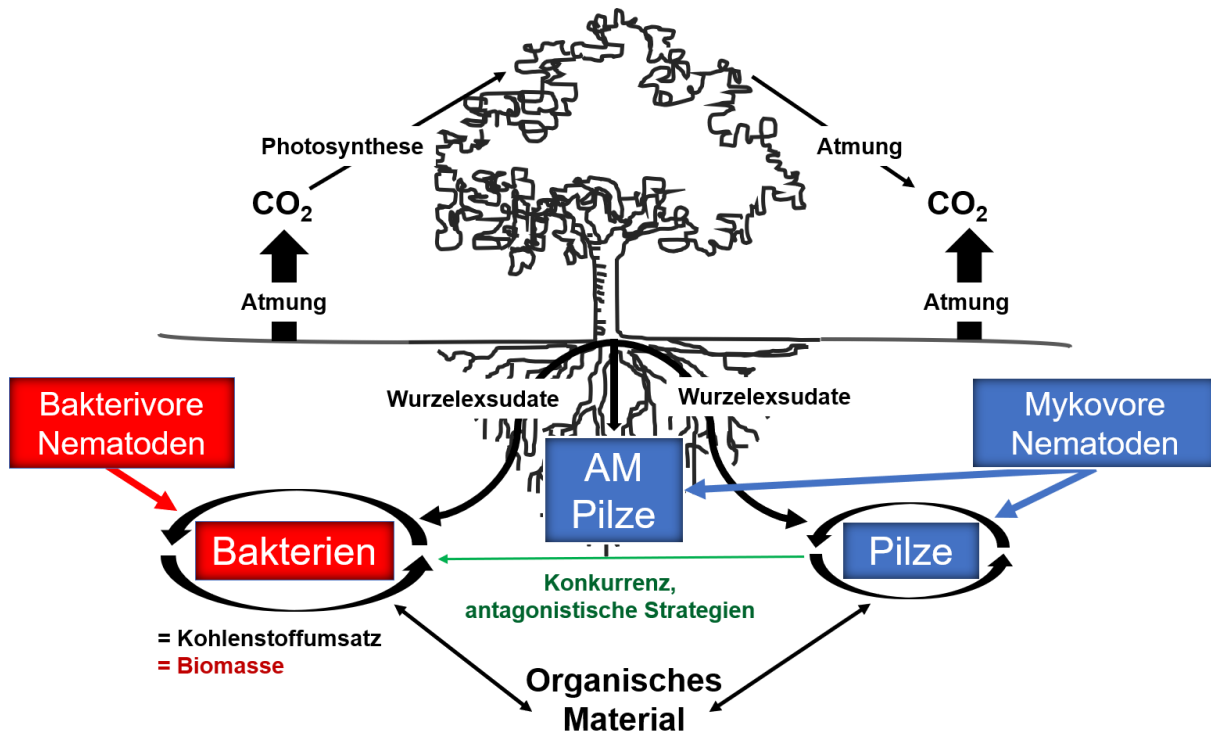


Abbildung 18: Vereinfachte prinzipielle Darstellung des Kohlenstoffflusses und der Nahrungsnetzinteraktionen im Boden bei erhöhter Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch bakterivore und mykovore Nematoden. Kohlenstoffflüsse sind durch schwarze Pfeile hervorgehoben, die Regulation der mikrobiellen Gemeinschaft durch mykovore Organismen mit blauen Pfeilen, durch bakterivore Organismen mit roten Pfeilen sowie die wechselseitige Beziehung zwischen Bakterien und Pilzen mit grünen Pfeilen.

Insgesamt führt die Anwesenheit bakterivorer Nematoden durch Erhöhung der bakteriellen Wachstumsraten zu einem erhöhten Kohlenstofffluss in die Biomasse der Bakterien, während mykovore Nematoden im Gegensatz dazu die negativen Effekte der Pilze auf die Bakterien abschwächen und damit ihre Aktivität und ihr Wachstum senken sowie indirekt den Kohlenstofffluss in die bakterielle Biomasse reduzieren.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit konnte die direkte und indirekte Beeinflussung des unterirdischen Kohlenstoffflusses durch Nematoden, als Vertreter höherer trophischer Ebenen, gezeigt werden. Ebenso wird die Relevanz von Interaktionen zwischen Pilzen und Bakterien in der Rhizosphäre für den Kohlenstoffkreislauf deutlich. Saprophytische Pilze scheinen durch Konkurrenzstrategien gegen Bakterien, in gleicher Weise wie Nematoden oder andere Fressfeinde der Bakterien, einen positiven Einfluss auf den Kohlenstoffumsatz zu haben. Das Zusammenspiel der komplexen Interaktionen in unterirdischen Nahrungsnetzen spielt eine wichtige Rolle für die Kohlenstoffflüsse im Boden und kann für realistische Aussagen nicht vernachlässigt werden. Daher sollten in zukünftigen Modellierungen des unterirdischen Kohlenstoffkreislaufes die Nahrungsnetzinteraktionen so gut wie möglich mit einbezogen werden. Da die Art der Interaktionen allerdings von der Art der oberirdischen

Pflanzengemeinschaft, der Kohlenstoff- und Nährstoffverfügbarkeit im Boden sowie der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft abhängt, können noch keine generellen Aussagen getroffen werden und weiter Nachforschungen sind notwendig.

5.4 Ausblick

Diese Arbeit zeigte mit dem verwendeten Modellsystem des unterirdischen Nahrungsnetzes einen erheblichen Effekt auf den Kohlenstofffluss und den Kohlenstoffumsatz der Mikroorganismen. Für generelle Aussagen sollten in weiteren Untersuchungen die Beziehungen zwischen höheren trophischen Ebenen und dem Kohlenstoffumsatz für andere natürliche Systeme mit anderen Bedingungen hinsichtlich Nährstoffverfügbarkeit und vorhandener mikrobieller und Pflanzengemeinschaft aufgeklärt werden. Weitere komplexere Manipulationen mit höheren trophischen Ebenen könnten zum vollständigen Verständnis des Einflusses der komplexen Nahrungsnetzinteraktion auf den unterirdischen Kohlenstofffluss beitragen.

In zukünftigen Studien sollte die Anzahl an Replikaten erhöht sowie ihre Variabilität gesenkt werden, um mögliche Effekte der Nematodenmanipulationen auf die Pilzgemeinschaft final abzuklären. Eine Erhöhung der Replikate wäre zum einen durch Ansetzen einer größeren Zahl biologischer Replikate möglich jedoch in gleicher Weise durch wiederholtes Extrahieren der PLFA- und NLFA in analytischen Replikaten. Mehrere analytische Replikate würden zudem zu repräsentativeren Messwerten der biologischen Replikate führen, da die Bodenproben der Mikrokosmen trotz des Siebens nicht vollständig homogen sind. Die Variabilität zwischen den biologischen Replikaten kann durch kontrolliertere Bedingungen der Mikrokosmen gesenkt werden. Dies könnte durch Verwendung von sterilem Boden und Zugabe bekannter Kulturen von Bakterien, Pilzen, Pflanzen sowie höheren Organismen, wie Nematoden, erreicht werden. Jedoch senkt ein solcher Ansatz die Aussagekraft der Ergebnisse für natürliche Bedingungen, da natürliche Systeme durch Heterogenität und Komplexität gekennzeichnet sind, welche auf diese Weise zu sehr vereinfacht werden würden. Dieser Ansatz bietet jedoch den Vorteil einer definierten Manipulation der Nematoden ohne Hintergrundgemeinschaft.

Die Erhöhung der Dichte der bakterivoren Nematoden in dieser Arbeit war aufgrund der Hintergrundgemeinschaft nur zu einem bestimmten Grad möglich. Nach Poll *et al.* (2007) kann durch die Gefrier-Tau-Methode die Nematodendichte nur kurzfristig (wenige Wochen) gesenkt werden. Die Zugabe der Nematoden sollte deshalb nur kurze Zeit später erfolgen. Die bakterivoren Nematoden hatten sich in der Zeit, welche die Pflanzengemeinschaft zum Wachstum auf dem schon vorbehandelten Bodensubstrat benötigte, möglicherweise schon zu sehr vermehrt. In zukünftigen Untersuchungen sollten deshalb die Pflanzen separat angezogen und nur zwei bis drei Wochen nach der Behandlung des Bodens direkt vor der Manipulation der Nahrungsnetzinteraktionen in die Mikrokosmen überführt werden.

Für die weitere Überprüfung des Erfolges der Manipulationen in dieser Arbeit müsste als nächster Schritt die taxonomische Bestimmung der aus den Bodenproben extrahierten Nematoden erfolgen, um die Verschiebung der Nematodengemeinschaft zu Gunsten der zugegebenen Arten nachzuweisen.

Die Analyse der Lipidfettsäuren bietet zwar viele Vorteile gegenüber genetischen Methoden wie der gemeinsamen Analyse von Bakterien und Pilzen und der Aufklärung von Stoffflüssen in Kombination mit der Markierung mit stabilen Isotopen. Durch eine anschließende Sequenzierung der DNA aus den Bodenproben der Mikrokosmen, wären allerdings genauere Aussagen zur Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft als Reaktion auf die Nematodenmanipulationen möglich. Die Markierung der DNA mit stabilen Isotopen (DNA-SIP) liefert des Weiteren nähere Erkenntnisse über die mikrobiellen Arten, welche tatsächlich mit kompensierendem Wachstum auf die Anwesenheit der Nematoden reagieren und deshalb aktiver sind. Nutzt man ^{18}O oder Deuterium statt ^{13}C zu Markierung der DNA lassen sich aus der Analyse generelle Aussagen zur Aktivität unabhängig vom Kohlenstofffluss ableiten.

Mithilfe der zusätzlichen genetischen Ergebnisse sowie der auf die Ergebnisse dieser Arbeit aufbauenden weiterführenden Untersuchungen kann der Zusammenhang zwischen Nahrungsnetzinteraktionen und Stoffflüssen im Boden weiter aufgeklärt und in zukünftigen Modellen des unterirdischen Kohlenstoffkreislaufs berücksichtigt werden. Dies würde zu einem besseren Verständnis des Kohlenstoffkreislaufes und der Reaktion terrestrischer Ökosysteme auf die erhöhten CO_2 -Konzentrationen in der Atmosphäre beitragen.

VII Literaturverzeichnis

- Alpei, J.; Bonkowski, M.; Scheu, S. (1996):** Protozoa, Nematoda and Lumbricidae in the rhizosphere of *Hordelymus europaeus* (Poaceae). Faunal interactions, response of microorganisms and effects on plant growth. *Oecologia* 106 (1), 111–126.
- Anderson, R. V.; Elliott, E. T.; McClellan, J. F.; Coleman, D. C.; Cole, C. V.; Hunt, H. W. (1977):** Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. III. Biotic interactions of bacteria, amoebae, and nematodes. *Microbial ecology* 4 (4), 361–371.
- Bais, H. P.; Prithiviraj, B.; Jha, A. K.; Ausubel, F. M.; Vivanco, J. M. (2005):** Mediation of pathogen resistance by exudation of antimicrobials from roots. *Nature* 434 (7030), 217–221.
- Bardgett, R. D.; Whittaker, J. B.; Frankland, J. C. (1993):** The effect of collembolan grazing on fungal activity in differently managed upland pastures. A microcosm study. *Biol Fertil Soils* 16 (4), 255–262.
- Bardgett, R. D.; van der Putten, W. H. (2014):** Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505–11.
- Barron, G. L. (1988):** Microcolonies of bacteria as a nutrient source for lignicolous and other fungi. *Can. J. Bot.* 66 (12), 2505–2510.
- Bengtsson, G.; Hedlund, K.; Rundgren, S. (1993):** Patchiness and compensatory growth in a fungus-Collembola system. *Oecologia* 93 (2), 296–302.
- Bligh, E. G.; Dyer, W. J. (1959):** A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (8), 911–917.
- de Boer, W.; Folman, L. B.; Summerbell, R. C.; Boddy, L. (2005):** Living in a fungal world. Impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS microbiology reviews* 29 (4), 795–811.
- Bonkowski, M. (2004):** Protozoa and plant growth. The microbial loop in soil revisited. *New Phytol* 162 (3), 617–631.
- Brüggemann, N.; Gessler, A.; Kayler, Z.; Keel, S. G.; Badeck, F.; Barthel, M. et al. (2011):** Carbon allocation and carbon isotope fluxes in the plant-soil-atmosphere continuum. A review. *Biogeosciences* 8 (11), 3457–3489.
- Butler, J. L.; Williams, M. A.; Bottomley, P. J.; Myrold, D. D. (2003):** Microbial community dynamics associated with rhizosphere carbon flow. *Applied and environmental microbiology* 69 (11), 6793–6800.
- Cesarz, S. (2018):** Protocol nematode extraction & counting/identification preparations. Versuchsprotokoll. unveröffentlicht.
- Cheng, W.; Gershenson A. (2007):** Carbon Fluxes in the Rhizosphere. In: Z. G. Cardon und J. L. Whitbeck (Hg.): The rhizosphere. An ecological perspective. Amsterdam: Elsevier Academic Press, S. 31–56.
- Chernin, L.; Ismailov, Z.; Haran, S.; Chet, I. (1995):** Chitinolytic *Enterobacter* agglomerans Antagonistic to Fungal Plant Pathogens. *Applied and environmental microbiology* 61 (5), 1720–1726.
- Coleman, D. C.; Anderson, R. V.; Cole, C. V.; Elliott, E. T.; Woods, L.; Champion, M. K. (1978):** Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. IV. Flows of metabolic and biomass carbon. *Microbial ecology* 4 (4), 373–380.
- Coleman, D. C.; Cole, C. V.; Anderson, R. V.; Blaha, M.; Champion, M. K.; Clarholm, M. et al. (1977):** An Analysis of Rhizosphere-Saprophage Interactions in Terrestrial Ecosystems. *Ecological Bulletins* (25), 299–309.
- Crowther, T. W.; Boddy, L.; Hefin Jones, T. (2011):** Species-specific effects of soil fauna on fungal foraging and decomposition. *Oecologia* 167 (2), 535–545.
- Crowther, T. W.; Boddy, L.; Hefin Jones, T. (2012):** Functional and ecological consequences of saprotrophic fungus-grazer interactions. *The ISME journal* 6 (11), 1992–2001.
- Darbyshire, J. F.; Davidson, M. S.; Chapman, S. J.; Ritchie, S. (1994):** Excretion of nitrogen and phosphorus by the soil ciliate *Colpoda steinii* when fed the soil bacterium *Arthrobacter* sp. *Soil Biology and Biochemistry* 26 (9), 1193–1199.

- Dighton, J.; Ruess, L. (1996):** Cultural studies on soil nematodes and their fungal hosts. *Nematologica* 42 (3), 330–346.
- Dijksterhuis, J.; Sanders, M.; Gorris, L. G.; Smid, E. J. (1999):** Antibiosis plays a role in the context of direct interaction during antagonism of *Paenibacillus polymyxa* towards *Fusarium oxysporum*. *Journal of applied microbiology* 86 (1), 13–21.
- Djigal, D.; Brauman, A.; Diop, T. A.; Chotte, J. L.; Villenave, C. (2004):** Influence of bacterial-feeding nematodes (Cephalobidae) on soil microbial communities during maize growth. *Soil Biology and Biochemistry* 36 (2), 323–331.
- Duffy, B.; Schouten, A.; Raaijmakers, J. M. (2003):** Pathogen self-defense. Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual review of phytopathology* 41, 501–538.
- Elliott, E. T.; Cole, C. V.; Coleman, D. C.; Anderson, R. V.; Hunt, H. W.; McClellan, J. F. (1979):** Amoebal growth in soil microcosms. A model system of C, N, and P. Trophic dynamics. *International Journal of Environmental Studies* 13 (2), 169–174.
- Elliott, E. T.; Anderson, R. V.; Coleman, D. C.; Cole, C. V. (1980):** Habitable Pore Space and Microbial Trophic Interactions. *Oikos* 35 (3), 327–335.
- FAO (1998):** World reference base for soil resources. Rome (World soil resources reports, 84).
- Filser, J. (2002):** The role of Collembola in carbon and nitrogen cycling in soil, *Pedobiologia* 46, 234–245,
- Filser, J.; Faber, J. H.; Tiunov, A. V.; Brussaard, L.; Frouz, J.; de Deyn, G. et al. (2016):** Soil fauna. Key to new carbon models. *SOIL* 2 (4), 565–582.
- Förster, M. (2018):** Extraction of phospholipid fatty acids (PLFA) and neutral lipid fatty acids (NLFA) with Büchi Speed Extractor. Versuchsprotokoll. unveröffentlicht.
- Fu, S.; Ferris, H.; Brown, D.; Plant, R. (2005):** Does the positive feedback effect of nematodes on the biomass and activity of their bacteria prey vary with nematode species and population size? *Soil Biology and Biochemistry* 37 (11), 1979–1987.
- Gilad, O. (2008):** Competition and Competition Models. In: S. E. Jørgensen und B. D. Fath (Hg.): *Encyclopedia of Ecology*. Amsterdam: Elsevier Academic Press, S. 707–712.
- Goodell, B. (2003):** Brown-Rot Fungal Degradation of Wood. Our Evolving View. In: B. Goodell (Hg.): *Wood deterioration and preservation. Advances in our changing world*, Bd. 845. Washington, DC: American Chemical Society (ACS Symposium Series, 845), S. 97–118.
- Griffiths, B. S. (1994):** Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil. Their effectson microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere. *Plant Soil* 164 (1), 25–33.
- Griffiths B.S.; Bonkowski M.; Dobson G.; Caul S. (1999):** Changes in soil microbial community structure in the presence of microbial-feeding nematodes and protozoa. *Pedobiologia* 43, 297–304.
- Grubbs, F. E. (1969):** Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples. *Technometrics* 11 (1), 1–21.
- Hanlon, R. D. G.; Anderson, J. M. (1979):** The effects of collembola grazing on microbial activity in decomposing leaf litter. *Oecologia* 38 (1), 93–99.
- Hedlund, K.; Boddy, L.; Preston, C. M. (1991):** Mycelial responses of the soil fungus, *Mortierella isabellina*, to grazing by *Onychiurus armatus* (collembola). *Soil Biology and Biochemistry* 23 (4), 361–366.
- Herman, D. J.; Firestone, M. K.; Nuccio, E.; Hodge, A. (2012):** Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus and a soil microbial community mediating litter decomposition. *FEMS microbiology ecology* 80 (1), 236–247.
- Hoffland, E.; Boogaard, R.; Nelemans, J.; Findenegg, G. (1992):** Biosynthesis and root exudation of citric and malic acids in phosphate-starved rape plants. *New Phytol* 122 (4), 675–680.
- Holden, M. T.; Ram Chhabra, S.; de Nys, R.; Stead, P.; Bainton, N. J.; Hill, P. J. et al. (1999):** Quorum-sensing cross talk. Isolation and chemical characterization of cyclic dipeptides from *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria. *Molecular microbiology* 33 (6), 1254–1266.

- van den Hoogen, J.; Geisen, S.; Routh, D.; Ferris, H.; Traunspurger, W.; Wardle, D. A. et al. (2019):** Soil nematode abundance and functional group composition at a global scale. *Nature* 572 (7768), 194–198.
- Inbar, J.; Chet, I. (1991):** Evidence that chitinase produced by *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soil-borne plant pathogens by this bacterium. *Soil Biology and Biochemistry* 23 (10), 973–978.
- Ingham, R. E.; Trofymow, J. A.; Ingham, E. R.; Coleman, D. C. (1985):** Interactions of Bacteria, Fungi, and their Nematode Grazers. Effects on Nutrient Cycling and Plant Growth. *Ecological Monographs* 55 (1), 119–140.
- Jiang, Y.; Zhou, H.; Chen, L.; Yuan, Y.; Fang, H.; Luan, L. et al. (2018):** Nematodes and Microorganisms Interactively Stimulate Soil Organic Carbon Turnover in the Macroaggregates. *Frontiers in microbiology* 9, 2803.
- Jousset, A.; Rochat, L.; Scheu, S.; Bonkowski, M.; Keel, C. (2010):** Predator-prey chemical warfare determines the expression of biocontrol genes by rhizosphere-associated *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology* 76 (15), 5263–5268.
- Kaur, A.; Chaudhary, A.; Kaur, A.; Choudhary, R.; Kaushik, R. (2005):** Phospholipid fatty acid - A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Science* 89 (7), 1103-1112.
- Kindler, R.; Miltner, A.; Richnow, H.; Kastner, M. (2006):** Fate of gram-negative bacterial biomass in soil—mineralization and contribution to SOM. *Soil Biology and Biochemistry* 38 (9), 2860–2870.
- Knudsen, G. R.; Kim, T. G.; Bae, Y.-S.; Dandurand, L.-M. C. (2015):** Use of Quantitative Real-Time PCR to Unravel Ecological Complexity in a Biological Control System. *ABB* 06 (04), 237–244.
- Koranda, M.; Schnecker, J.; Kaiser, C.; Fuchslueger, L.; Kitzler, B. (2011):** Microbial processes and community composition in the rhizosphere of European beech – The influence of plant C exudates. *Soil Biology and Biochemistry* 43 (3), 551–558.
- Kroupitski, Y.; Pinto, R.; Bucki, P.; Belausov, E.; Ruess, L.; Spiegel, Y.; Sela, S. (2015):** *Acroboloides buetschlii* as a potential vector for enteric pathogens. *Nematol* 17 (4), 447–457.
- Kuikman, P. J.; Jansen, A. G.; van Veen, J. A.; Zehnder, A. J. B. (1990):** Protozoan predation and the turnover of soil organic carbon and nitrogen in the presence of plants. *Biol Fertil Soils* 10 (1), 22–28.
- Liang, Chao; Schimel, Joshua P.; Jastrow, Julie D. (2017):** The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nature Microbiology* 2 (8), 1-6.
- Lim, H. S.; Kim, Y. S.; Kim, S. D. (1991):** *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 Genetic Transformation and Antifungal Mechanism against *Fusarium solani*, an Agent of Plant Root Rot. *Applied and environmental microbiology* 57 (2), 510–516.
- Maboreke, H. R.; Bartel, V.; Seiml-Buchinger, R.; Ruess, L. (2018):** Micro-Food Web Structure Shapes Rhizosphere Microbial Communities and Growth in Oak. *Diversity* 10 (1), 15.
- Maboreke, H. R.; Graf, M.; Grams, T. E. E.; Herrmann, S.; Scheu, S.; Ruess, L. (2017):** Multitrophic interactions in the rhizosphere of a temperate forest tree affect plant carbon flow into the belowground food web. *Soil Biology and Biochemistry* 115, 526–536.
- Mazzola, M. (2007):** Manipulation of rhizosphere bacterial communities to induce suppressive soils. *Journal of nematology* 39 (3), 213–220.
- Mazzola, M.; de Bruijn, I.; Cohen, M. F.; Raaijmakers, J. M. (2009):** Protozoan-induced regulation of cyclic lipopeptide biosynthesis is an effective predation defense mechanism for *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology* 75 (21), 6804–6811.
- McSorley, R. (2003):** Adaptions of nematodes to environmental extremes. *Florida Entomologist* 86 (2), 138–142.
- Mellado-Vázquez, P. G.; Lange, M.; Bachmann, D.; Gockele, A.; Karlowsky, S.; Milcu, A. et al. (2016):** Plant diversity generates enhanced soil microbial access to recently photosynthesized carbon in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 94, 122–132.
- Mielke, L. (2019):** Lipidfettsäure-Extraktion von Bodenproben. Projektmodulbericht. Molekulare Biogeochemie. Max-Planck-Institut für Biogeochemie. Jena.

- Miransari, M. (2011):** Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Applied microbiology and biotechnology* 89 (4), 917–930.
- Mitchell, R.; Alexander, M. (1963):** Lysis of soil fungi by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 9 (2), 169–177.
- Nielsen, U. N.; Wall, D. H.; Six, J. (2015):** Soil Biodiversity and the Environment. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 40 (1), 63–90.
- Nieminen, J. (2009):** Modelling the interactions of soil microbes and nematodes. *Nematol* 11 (4), 619–629.
- Olsson, P. A. (1999):** Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS microbiology ecology* 29 (4), 303–310.
- Ottow, J. C. G. (2011):** Mikrobiologie von Böden. Biodiversität, Ökophysiologie und Metagenomik. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- Paterson, E.; Gebbing, T.; Abel, C.; Sim, A.; Telfer, G. (2007):** Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil. *The New phytologist* 173 (3), 600–610.
- Pausch, J.; Hofmann, S.; Scharroba, A.; Kuzyakov, Y.; Ruess, L. (2016):** Fluxes of root-derived carbon into the nematode micro-food web of an arable soil. *Food Webs* 9, 32–38.
- Poll, J.; Marhan, S.; Haase, S.; Hallmann, J.; Kandeler, E.; Ruess, L. (2007):** Low amounts of herbivory by root-knot nematodes affect microbial community dynamics and carbon allocation in the rhizosphere. *FEMS microbiology ecology* 62 (3), 268–279.
- Richter, A.; Kern, T.; Wolf, S.; Struck, U.; Ruess, L. (2019):** Trophic and non-trophic interactions in binary links affect carbon flow in the soil micro-food web. *Soil Biology and Biochemistry* 135, 239–247.
- Rønn, R.; McCaig, A. E.; Griffiths, B. S.; Prosser, J. I. (2002):** Impact of protozoan grazing on bacterial community structure in soil microcosms. *Applied and environmental microbiology* 68 (12), 6094–6105.
- Roscher, C.; Schumacher, J.; Baade, J.; Wilcke, W.; Gleixner, G.; Weisser, W. W. et al. (2004):** The role of biodiversity for element cycling and trophic interactions. An experimental approach in a grassland community. *Basic and Applied Ecology* 5 (2), 107–121.
- Rosenberg, K.; Bertaux, J.; Krome, K.; Hartmann, A.; Scheu, S.; Bonkowski, M. (2009):** Soil amoebae rapidly change bacterial community composition in the rhizosphere of *Arabidopsis thaliana*. *The ISME journal* 3 (6), 675–684.
- Schmidt, M. W. I.; Torn, M. S.; Abiven, S.; Dittmar, T.; Guggenberger, G.; Janssens, I. A. et al. (2011):** Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478 (7367), 49–56.
- Singh, B. K.; Millard, P.; Whiteley, A. S.; Murrell, J. Colin (2004):** Unravelling rhizosphere-microbial interactions. Opportunities and limitations. *Trends in microbiology* 12 (8), 386–393.
- Smith, S. E.; Read, D. J. (2008):** Mycorrhizal symbiosis. 3rd ed. Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press.
- Steinbeiss, S.; Beßler, H.; Engels, C.; Temperton V. M.; Buchmann, N.; Roscher, C. et al. (2008):** Plant diversity positively affects short-term soil carbon storage in experimental grasslands. *Global Change Biology* 14 (12), 2937–2949.
- Sundin, P.; Valeur, A.; Olsson, S.; Odham, G. (1990):** Interactions between bacteria-feeding nematodes and bacteria in the rape rhizosphere. Effects on root exudation and distribution of bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 73 (1), 13–22.
- Tordoff, G. M.; Chamberlain, P. M.; Crowther, T. W.; Black, H. I. J.; Hefin Jones, T.; Stott, A.; Boddy, L. (2011):** Invertebrate grazing affects nitrogen partitioning in the saprotrophic fungus *Phanerochaete velutina*. *Soil Biology and Biochemistry* 43 (11), 2338–2346.
- Tornberg, K.; Olsson, S. (2002):** Detection of hydroxyl radicals produced by wood-decomposing fungi. *FEMS microbiology ecology* 40 (1), 13–20.
- Traunspurger, W.; Bergtold, M.; Goedkoop, W. (1997):** The effects of nematodes on bacterial activity and abundance in a freshwater sediment. *Oecologia* 112 (1), 118–122.
- Treonis, A. M.; Ostle, N. J.; Stott, A. W.; Primrose, R.; Grayston, S. J.; Ineson, P. (2004):** Identification of groups of metabolically-active rhizosphere microorganisms by stable isotope probing of PLFAs. *Soil Biology and Biochemistry* 36 (3), 533–537.

- Wall, D. H.; Moore, J. C. (1999):** Interactions Underground. *BioScience* 49 (2), 109-117.
- Wheatley, R. E. (2002):** The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. *Antonie van Leeuwenhoek* 81 (1-4), 357–364.
- Whipps, J. M. (2001):** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental botany* 52 (Spec Issue), 487–511.
- Willers, C.; van Jansen Rensburg, P. J.; Claassens, S. (2015):** Phospholipid fatty acid profiling of microbial communities--a review of interpretations and recent applications. *Journal of applied microbiology* 119 (5), 1207–1218.
- Yao, H.; Chapman, S. J.; Thornton, B.; Paterson, E. (2015):** 13C PLFAs. A key to open the soil microbial black box? *Plant Soil* 392 (1-2), 3–15.
- Zelles, L., (1997):** Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere* 35, 275-294.
- Zelles, L., (1999):** Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology Fertility Soils* 29, 111-129.
- Zwart, K. B.; Darbyshire, J. F. (1992):** Growth and nitrogenous excretion of a common soil flagellate *Spumella* sp.-a laboratory experiment. *Journal of Soil Science* 43 (1), 145–157.

VIII Danksagung

An dieser Stelle möchte ich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung meiner Masterarbeit unterstützt haben.

Ein großer Dank gilt meinen beiden Betreuern Herrn apl. Prof. Dr. Gerd Gleixner und Herrn Dr. Markus Lange für die Bereitstellung des interessanten Themas und die Möglichkeit meine Masterarbeit in ihrer Arbeitsgruppe anfertigen zu dürfen.

Herrn apl. Prof. Gleixner möchte ich speziell für seine fortwährende Unterstützung mit hilfreichen Anregungen, Ideen und fachlichen Hintergründen danken.

Die engagierte Betreuung während des gesamten Projektes, die Korrektur meiner Masterarbeit und die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten von Herrn Dr. Markus Lange lieferten einen großen Beitrag zum Gelingen der Arbeit.

Des Weiteren danke ich der Arbeitsgruppe von Prof. Liliane Rueß und im Besonderen Herrn Andreas Richter für die Bereitstellung und die Hilfe bei der Anzucht der Nematodenkulturen sowie der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Nico Eisenhauer für die Bereitstellung des Extraktionsequipments der Nematoden aus den Bodenproben.

Ein großer Dank geht außerdem an Frau Agnes Fastnacht für ihre Hilfe bei der Auswahl und Anzucht der Pflanzen sowie der Unterstützung durch nützliches Equipment für die Nematodenextraktion aus den Agarplatten.

Ich bedanke mich weiterhin bei Herrn Karl Kübler für das Equipment und das technische *Know-how* bei der Durchführung des *Pulse-Label* Experiments.

Herr Ole Gleixner hat mich im Rahmen seines Praktikums sehr bei allen anstehenden Arbeiten in dieser Zeit unterstützt deswegen möchte ich mich auch bei ihm bedanken.

Frau Iris Kuhlmann danke ich für die Möglichkeit ihr Mikroskop zum Auszählen der Nematoden zu benutzen.

Zudem bedanke ich mich bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Molekulare Biogeochemie am MPI für Biogeochemie für viele hilfreiche Tipps.

Dabei möchte ich besonders Frau Maria Wittwer für die Einweisung in die Lipidfettsäureextraktion, ihre Hilfe bei allen wichtigen oder auch weniger wichtigen Fragen im Laboralltag und viele lustige Momente bedanken sowie bei Herrn Steffen Rühlow für die Unterstützung bei der Messung am GC-IRMS.

Bei Georg Dittmann und Sarah Gogesch bedanke ich mich für die fröhliche Arbeitsatmosphäre und viele hilfreiche Kommentare.

Meinem Freund, Dr. Marcel Noßmann, danke ich für die Korrektur meiner Arbeit und seine Unterstützung.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern dafür danken, dass sie mir das Studium überhaupt erst ermöglicht haben.

IX Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die Arbeit selbstständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Alle Zitate und gedankliche Übernahmen sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Jena, den 21.01.2020

Lydia Mielke

X Anhang

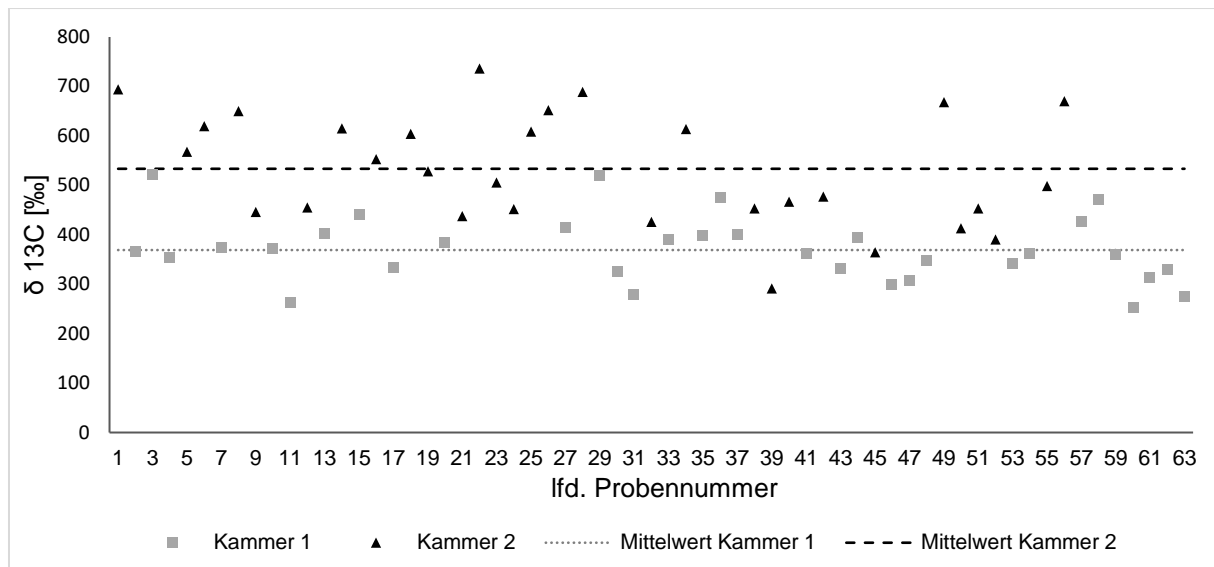


Abbildung A1: Vergleich der ^{13}C -Anreicherung in der oberirdischen Biomasse der Pflanzen nach der Markierung mit $^{13}\text{CO}_2$ zwischen den Kammern.
Die ^{13}C -Anreicherung wird hier ausgedrückt als $\delta^{13}\text{C}$ -Wert gegenüber dem V-PDB Standard (Gleichung 7).

Tabelle A1: Lineares Modell der APE ^{13}C -Werte der mikrobiellen Gruppen in Abhängigkeit zur Bodenfeuchte.

	t-Wert	p-Wert
saprophytische Pilze	0,17	0,868
AM Pilze	1,41	0,174
Bakterien	0,30	0,764
Grampositive Bakterien	0,57	0,573
Actinobakterien	0,51	0,616
Gramnegative Bakterien	0,27	0,790
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)	0,78	0,441

Tabelle A2: Paarweise Varianzanalyse der Konzentrationen der bakteriellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den zugegebenen Nematodendichten derselben Nematodenart. Statistisch signifikante Ergebnisse sind fett markiert.

	F-Wert	p-Wert
Bakterien		
Mykovore Nematoden	47,09	< 0,001
Bakterivore Nematoden	0,02	0,897
Beide Nematodenarten	2,73	0,103
Grampositive Bakterien		
Mykovore Nematoden	20,55	< 0,001
Bakterivore Nematoden	0,12	0,736
Beide Nematodenarten	0,77	0,390
Actinobakterien		
Mykovore Nematoden	8,29	0,018
Bakterivore Nematoden	0,50	0,498
Beide Nematodenarten	1,15	0,312
Gramnegative Bakterien		
Mykovore Nematoden	18,45	< 0,001
Bakterivore Nematoden	< 0,01	0,981
Beide Nematodenarten	0,83	0,372
Gramnegative Bakterien (zyklische Marker)		
Mykovore Nematoden	10,48	0,010
Bakterivore Nematoden	0,03	0,858
Beide Nematodenarten	1,15	0,311

Tabelle A3: Paarweise Varianzanalyse der APE ¹³C-Werte der bakteriellen Gruppen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den zugegebenen Nematodenarten und der Negativkontrolle.
 Statistisch signifikante Ergebnisse sind fett, marginal signifikante kursiv markiert.

	F-Wert	p-Wert
Bakterien		
F : K	8,09	0,005
B : K	6,48	0,012
F+B : K	0,24	0,628
F : B	25,94	< 0,001
F+B : B	9,80	0,002
F+B : F	2,80	0,096
Grampositive Bakterien		
F : K	13,28	< 0,001
B : K	9,23	0,004
F+B : K	0,47	0,497
F : B	44,34	< 0,001
F+B : B	11,32	0,001
F+B : F	3,00	0,089
Actinobakterien		
F : K	1,74	0,207
B : K	0,86	0,369
F+B : K	0,04	0,838
F : B	7,96	0,010
F+B : B	0,58	0,457
F+B : F	3,35	0,082
Gramnegative Bakterien		
F : K	3,98	0,053
B : K	4,03	0,052
F+B : K	0,10	0,749
F : B	15,93	< 0,001
F+B : B	5,95	0,018
F+B : F	1,41	0,240

B bakterivore Nematoden; **F** mykovore Nematoden; **F+B** beide Nematodenarten; **K** Negativkontrolle

Tabelle A4: Paarweise Varianzanalyse der APE ¹³C-Werte der Gruppen der grampositiven und gramnegativen Bakterien hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den zugegebenen Nematodendichten derselben Nematodenart. Statistisch signifikante Ergebnisse sind fett markiert.

	F-Wert	p-Wert
Grampositive Bakterien		
Mykovore Nematoden	8,62	0,007
Bakterivore Nematoden	0,04	0,841
Beide Nematodenarten	4,87	0,037
Actinobakterien		
Mykovore Nematoden	9,51	0,013
Bakterivore Nematoden	0,56	0,472
Beide Nematodenarten	2,27	0,166