

UNIVERSITÄT FÜR BODENKULTUR

Department für Integrative Biologie und Biodiversitätsforschung

Institut für Zoologie

**Optimierung einer Methode zur Standortsdifferenzierung von
Böden mittels Catabolic Response Profiling**

Diplomarbeit

Eingereicht bei: ao.Univ.Prof. Mag. Dr. Alexander Bruckner

Eingereicht von: Thomas Peham

Wien im Oktober 2009

meiner familie

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Abstract	2
1 Einleitung	3
2 Material und Methoden	5
2.1 Standorte.....	5
2.2 Probenahme.....	11
2.3 Bodenanalyse.....	11
2.4 Substrate.....	12
2.5 Messung.....	14
2.6 Datenbearbeitung.....	15
2.7 Statistik.....	17
3 Ergebnisse	19
3.1 Eigenschaften der Standorte.....	19
3.2 Konzentrationsoptimierung.....	21
3.3 Substratvergleich.....	25
4 Diskussion	35
4.1 Methodenkritik.....	35
4.2 Konzentrationsoptimierung.....	37
4.3 Substratvergleich.....	39
Danksagung	41
Literaturverzeichnis	42
Tabellenverzeichnis	46
Abbildungsverzeichnis	47

Zusammenfassung

Die vorliegende Diplomarbeit beschreibt eine Methode zur Differenzierung von Landnutzungssystemen und Bewirtschaftungsweisen anhand der funktionalen Diversität von Bodenmikroorganismen.

Das Ziel war es, eine billige, einfache und schnelle Methode für den Vergleich einer großen Zahl an Standorten zu entwickeln. Dafür wurden mit OxiTop®-Messgeräten die Atmungsantworten auf Substratbeigaben zu Bodenproben von Wäldern, Wiesen und Feldern gemessen und catabolic response profiles (CRP) erstellt.

Zuerst wurde für 43 Substrate die am besten differenzierende Konzentration mit dem Variationskoeffizienten errechnet. Bei vielen Substraten lieferte die höchste eingesetzte Konzentration das beste Ergebnis. Anschließend wurden die Substrate auf ihre multivariate Eignung zur Differenzierung der Landnutzungssysteme getestet. Schon die ersten beiden Achsen der Hauptkomponentenanalyse erklärten mehr als 80 % der Variabilität des Datensatzes und die Landnutzungssysteme konnten hoch signifikant getrennt werden.

Eine distanzbasierte Redundanzanalyse ergab, dass die Anzahl der zu messenden Substrate auf vier reduziert werden kann, ohne bedeutend an Differenzierungsleistung zu verlieren. Diese Substrate waren Threonin, Malonsäure, Chinasäure, und Pantothenensäure.

Schlagwörter: Catabolic Response Profile, sole-carbon-source, OxiTop, Wurzelexsudate, Substratnutzung, community level physiological profile, funktionale Diversität, Bodenmikroorganismen

Abstract

This diploma thesis describes a method to differentiate between various land uses and cultivation practices by measurement of the functional diversity of soil microorganisms. The aim was to adapt a cheap, simple and fast method for the comparison of a large number of sites. Therefore catabolic response profiles were generated after substrate amendment measured with OxiTop® devices. Samples of forest, pasture and field soils were analysed. The most differentiating concentration level of 43 substrates was assessed by using the coefficient of variation. For most substrates, the highest applied concentration achieved the best result. Further, the substrates were tested at the optimized concentration on all sites for their multivariate ability to discriminate land use types. The first two axes of a PCA explained more than 80 % of the variability in the data set and it was easily possible to significantly distinguish them. A distance based redundancy analysis revealed that the number of measured substrates could be reduced to four without significant loss of discriminating power. These were threonine, malonic acid, quinic acid and pantothenic acid.

Keywords: catabolic response profile, sole-carbon-source, OxiTop, root exudates, substrate use, community level physiological profile, functional diversity, soil microorganisms

1 Einleitung

Die Bestimmung der Aktivität von Bodenmikroorganismen ist eines der Hauptverfahren zur Bestimmung der Bodenqualität. Die dafür in den bodenökologischen Labors verwendeten Methoden sind Routineverfahren (Benedetti and Dilly, 2006), können aber dennoch in punkto Kosten, Einfachheit und Effizienz optimiert werden.

Notwendig ist die Weiterentwicklung dieser Methoden, um die Durchführung von großflächigen Langzeit-Monitoring-Programmen der Bodenqualität und/oder des Zustands der Biodiversität zu erleichtern. Gerade die Aufnahme von biologischen Methoden, die im Vergleich zu den einfachen chemisch-physikalischen (z.B.: pH-Wert, Leitfähigkeit) wesentlich aufwändiger sind, ist dabei entscheidend. Das liegt daran, dass Mikroorganismen Schlüsselfunktionen in der Dekomposition und im Nährstoffkreislauf erfüllen, prompt auf Veränderungen der Umwelt reagieren und die Gesamtheit aller, den Nährstoffkreislauf regulierenden Faktoren zum Ausdruck bringen (Benedetti und Dilly, 2006).

Garland und Mills (1991) konnten nachweisen, dass die Erfüllung dieser vielfältigen Aufgaben nicht direkt mit der taxonomischen Vielfalt eines Standortes verknüpft ist, sondern vielmehr eine hohe funktionale Vielfalt (= funktionale Diversität) verlangt. Diese funktionale Diversität wird sowohl von der genetischen Vielfalt, als auch von der physiologischen Aktivität der Organismen eines Standortes bestimmt. So kann es zum Beispiel vorkommen, dass zwei unterschiedliche Standorte die gleiche funktionale Diversität haben, obwohl sich die Zusammensetzung der Organismengemeinschaften unterscheidet. Oder, dass Veränderungen der Standortbedingungen durch modifizierte Bewirtschaftungsformen die funktionale Leistung der Mikroben beeinflussen, obwohl die Zusammensetzung der Organismengemeinschaft gleich bleibt (Degens und Harris, 1997; Degens 1998a, Degens 1998b).

Eine Methode zur Bewertung der funktionalen Diversität von Böden misst die Reaktion der Stoffwechsellistung der Mikroben auf die Applikation einer Vielzahl von Substraten, einfachen organischen Substanzen aus den Stoffgruppen der Aminosäuren, Amine, Kohlenhydrate und Carboxylsäuren. Aus diesen Einzelantworten entsteht ein so genanntes metabolisches Antwort-Profil (catabolic response profile, CRP), welches multivariat zur Unterscheidung der funktionalen Diversität herangezogen wird.

Für eine Vorauswahl der Substrate in der vorliegenden Arbeit wurde auf die Ergebnisse früherer Untersuchungen zur Unterscheidung von Standorten zurückgegriffen. Degens und Harris (1997) trafen ihre Auswahl nach Stärke und Variabilität der Atmungsantworten. Des Weiteren zeigten Campbell et al. (1997), dass es effizienter und kostengünstiger ist, die Anzahl der Substrate zu reduzieren, dafür aber ökologisch bedeutende, zum Beispiel die der Rhizosphäre, zu verwenden. Neben der Findung eines geeigneten Subsets an Substraten ist daher auch die Bewertung der darin vorkommenden Wurzelexsudate ein Ziel der vorliegenden Studie.

Die Angaben optimaler Substratkonzentrationen unterscheiden sich je nach Autor (Degens und Harris, 1997; Campbell et al., 2003). Lalor et al. (2007) zeigten, dass diese Unterschiede auch die Sensitivität der Methoden hinsichtlich der Differenzierung von Standorten beeinflussen. Deshalb werden in der vorliegenden Untersuchung fünf verschiedene Konzentrationsstufen getestet, die drei Größenordnungen umfassen, um die beste Konzentration für diese Methode herauszufinden.

Das Ziel dieser Untersuchung ist es, eine in ihrer Anwendung einfache, billige und verlässliche Methode für die Differenzierung von Standorten zu entwickeln. Dabei gilt es, ein möglichst kleines Subset an Substraten mit hohem Aussagegehalt zu finden, sowie die Zuordnung der Substrate zu den Wurzelexsudaten zu klären und die geeignetsten Konzentrationen zu identifizieren.

2 Material und Methoden

2.1 Standorte

Alle untersuchten Standorte befanden sich in Niederösterreich, das klimatisch zur warmgemäßigten, humiden Region mit warmen Sommern in Zentraleuropa zählt (Kottek et al., 2006). Fünf Standorte der drei Landnutzungstypen Acker, Wiese und Wald wurden so gewählt, dass sie ein möglichst breites Spektrum ostösterreichischer Standortsbedingungen abdecken. Die Waldproben wurden in Material der Humusaufgabe und des Mineralbodens geteilt. Es ergaben sich somit 20 Standortproben.

Vier der beprobten Wälder sind in das Netz der Österreichischen Naturwaldereservate aufgenommen und wurden von Hackl et al. (2004) analysiert und beschrieben. Jeder dieser Standorte repräsentiert eine typische Waldgesellschaft seines Wuchsbezirks. Der fünfte Waldstandort wurde aufgrund seines außergewöhnlichen Bodentyps ausgewählt. Es ist der einzige beschriebene Vertreter eines Andosols in Österreich (Delvaux et al., 2004).

Äcker mit genauen Aufzeichnungen über die in den letzten Jahren durchgeführten Bewirtschaftungsmaßnahmen wurden an der landwirtschaftlichen Fachschule und der Saatzuchtanstalt Edelhof vorgefunden. Sie repräsentieren ein weites Spektrum an gängigen biologischen und konventionellen Bewirtschaftungsmaßnahmen, mit dem Anbau von Marktfrüchten, sowie Feldfutter und einer Kurzumtriebsplantage mit Weiden.

Eine aktuelle Klassifikation der Wiesen im Zentralraum des Waldviertels mit der Beschreibung der Pflanzengesellschaften und der wichtigsten Bodenparameter wurde von Lichtenecker et al., (2003a, 2003b) durchgeführt. Auf dieser Basis wurden fünf, die Vielfalt an Standorten repräsentierende Wiesen ausgewählt, die von einem Davallseggenried über ein intensiv genutztes Wirtschaftsgrünland bis hin zum Trockenrasen reichten.

Standortbilder sind in den Abbildungen 1-4 dargestellt. Eine genaue Beschreibung aller Standorte erfolgt in der Tabelle 1.

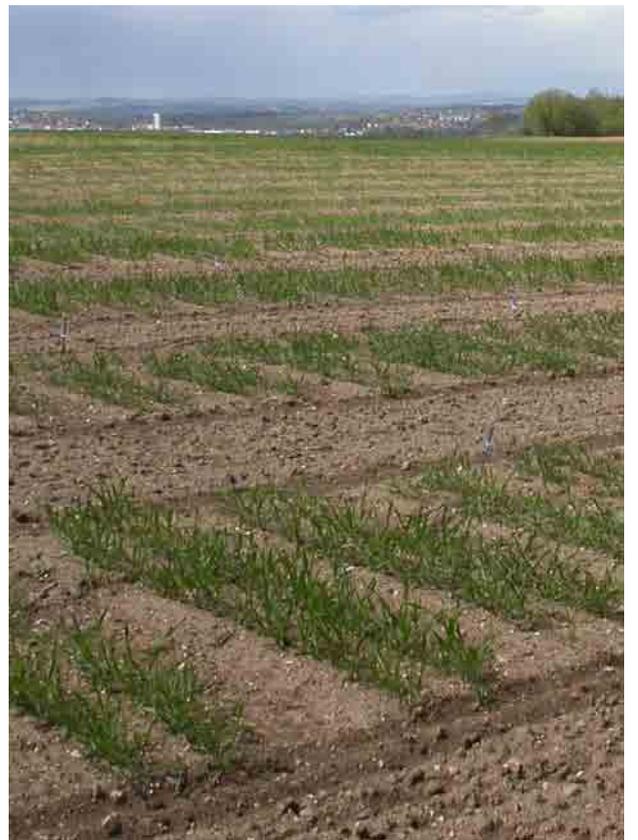
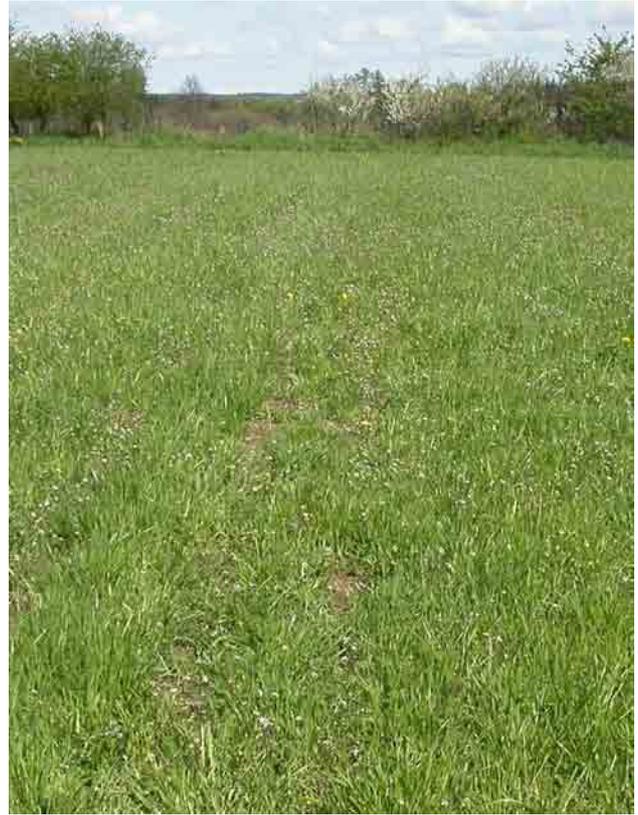


Abbildung 1: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links oben: Feld 1, rechts oben: Feld 2, links unten: Feld 3, rechts unten: Feld 4



Abbildung 2: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links oben: Feld 5, rechts oben: Wiese 1, links unten: Wiese 2, rechts unten: Wiese 3

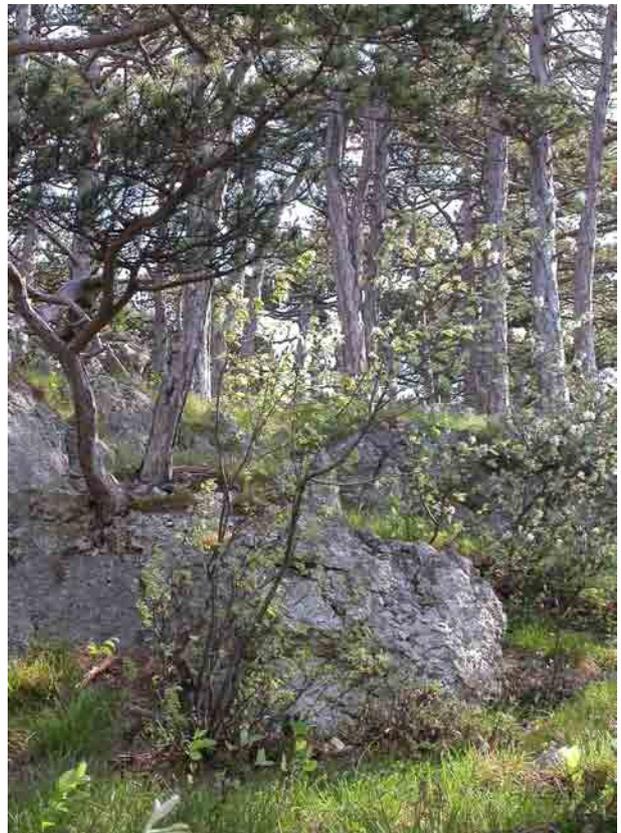


Abbildung 3: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links oben: Wiese 4, rechts oben: Wiese 5, links unten: Wald 2, rechts unten: Wald 3

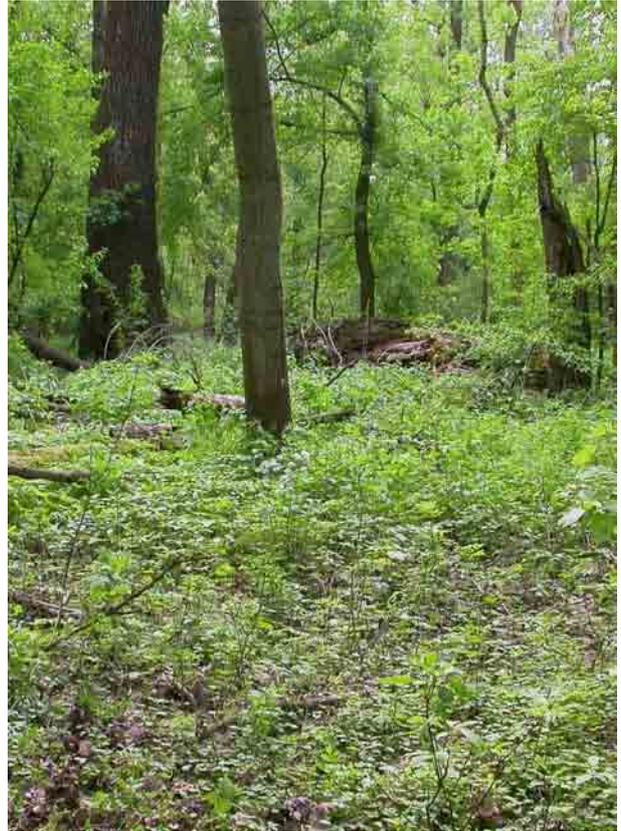


Abbildung 4: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links: Wald 4, rechts: Wald 5

Tabelle 1: Standort- und Bodeneigenschaften einer Untersuchung zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. Bodentyp des Waldes 1 nach Delvaux et al. (2004), Bodentypen und Pflanzengesellschaften der Wälder 2 bis 5 nach Hackl et al. (2004), und der Wiesen nach Lichtenecker et al. (2003a, 2003b), Bodentypen der Äcker nach der Österreichischen Bodenkarte 1:25.000, BI 19-4N, die Kulturen nach unveröffentlichten Aufzeichnungen, Bodentypen in der Klassifikation der World Reference Base for Soil Resources (WRB), alle anderen Werte sind eigene Messungen, n.d. – unter der Nachweisgrenze. Field: Feld, Grass: Wiese, ForMin: Wald Mineralboden, ForHum: Wald Humusauflage

Standort	geographische Position	pH (CaCl ₂)	Leitf. [μ S cm ⁻¹]	C _{org} [mg g ⁻¹]	Total N [mg g ⁻¹]	C/N ratio	Cl ⁻ [mg g ⁻¹]	NO ₂ ⁻ [mg g ⁻¹]	NO ₃ ⁻ [mg g ⁻¹]	PO ₄ ³⁻ [mg g ⁻¹]	SO ₄ ²⁻ [mg g ⁻¹]	Bodentyp (WRB)	Pflanzengesellschaft / Kultur
forest humus 1	48°23'N 15°03'E	3,0	56	362,9	14,6	24,9	31,0	n.d.	18,3	121,1	36,7	Andosol-Cambisol	Culto-Piceetum
forest humus 2	48°32'N 15°33'E	4,1	90	288,7	12,8	22,5	36,9	n.d.	6,5	211,2	47,0	Cambisol	Luzulo-Fagenion
forest humus 3	47°59'N 16°10'E	6,1	173	352,7	13,8	25,5	14,8	10,2	26,6	n.d.	19,0	Leptosol	Euphorbio saxatilis-Pinetum nigrae
forest humus 4	47°58'N 16°41'E	6,3	232	157,2	10,9	14,5	46,3	7,5	23,7	32,1	62,9	Planosol	Carpinion
forest humus 5	48°00'N 16°42'E	6,9	289	123,0	9,0	13,7	55,9	5,3	30,1	9,1	277,3	Fluvisol	Pruno-Fraxinetum
forest mineral 1	48°23'N 15°03'E	3,2	62	121,6	6,1	20,0	11,1	n.d.	4,6	n.d.	26,0	Andosol-Cambisol	Culto-Piceetum
forest mineral 2	48°32'N 15°33'E	3,3	97	195,3	10,4	18,7	27,9	n.d.	2,9	93,0	52,8	Cambisol	Luzulo-Fagenion
forest mineral 3	47°59'N 16°10'E	6,6	321	259,9	12,4	21,0	13,9	9,8	20,1	n.d.	25,8	Leptosol	Euphorbio saxatilis-Pinetum nigrae
forest mineral 4	47°58'N 16°41'E	6,1	108	73,1	6,5	11,3	11,3	6,0	24,8	3,7	24,1	Planosol	Carpinion
forest mineral 5	48°00'N 16°42'E	7,0	203	56,3	4,2	13,3	8,8	11,4	59,9	2,4	36,8	Fluvisol	Pruno-Fraxinetum
grass 1	48°23'N 15°18'E	6,7	169	56,3	4,5	12,5	7,0	9,8	22,6	0,9	13,9	Cambisol	Arrhenaterion - poetosum trivialis
grass 2	48°24'N 15°17'E	5,1	211	39,3	3,9	10,1	281,3	n.d.	18,1	4,1	85,8	Cambisol	Phyteumo Triseton
grass 3	48°24'N 15°17'E	5,9	78	117,6	9,1	12,9	28,8	1,6	16,0	n.d.	65,8	Cambisol	Caricion davallianae
grass 4	48°24'N 15°17'E	5,3	25	34,5	3,1	11,1	2,5	0,3	13,0	n.d.	6,7	Cambisol	Pasture without characteristic species
grass 5	48°25'N 15°19'E	6,1	64	48,9	3,6	13,4	4,7	6,9	14,1	n.d.	8,5	Leptosol	Kolerio-phleetaio phleoides
field 1	48°36'N 15°12'E	5,9	69	15,9	1,9	8,6	1,9	n.d.	94,9	27,1	5,9	Gleysol	Hafer
field 2	48°36'N 15°13'E	5,6	31	30,9	2,7	11,6	2,6	0,5	13,4	4,7	4,9	Gleysol	Feldfutter - biologisch Kurzumtriebsplantage mit Weiden - biologisch
field 3	48°36'N 15°13'E	6,4	78	28,2	2,8	10,1	2,4	1,6	35,4	13,4	7,3	Cambisol	
field 4	48°36'N 15°13'E	5,4	86	23,3	2,5	9,3	1,6	0,3	186,5	19,7	6,8	Cambisol	Weizen
field 5	48°36'N 15°13'E	4,7	65	19,5	1,8	10,9	1,8	0,2	126,8	5,0	7,9	Cambisol	Weizen

2.2 Probenahme

Zwischen 16. April und 3. Mai 2008 wurden an 5 repräsentativen 1 m²-Flächen jedes Standorts Proben von den obersten 5 cm mit einer Handschaufel entnommen. Davon wurden Mischproben hergestellt, gekühlt und unverzüglich ins Labor transportiert. Dort wurden sie bis zur weiteren Behandlung in einem Kühlraum bei 2-4 °C, jedoch nie länger als eine Woche, gelagert.

2.3 Bodenanalyse

Außer der Wiese3 wurden alle Böden feldfeucht gesiebt. Der Boden der Wiese3 musste zuvor fünf Tage lang luftgetrocknet werden. Die Mineralbodenproben wurden bei 2 mm, die Humusaufgaben bei 4 mm Maschenweite gesiebt. Die Lagerung erfolgte in Polyethylensäcken zu je 100 g bei -17 °C.

pH-Wert, Gesamtkohlenstoff, anorganischer Kohlenstoff, elektrische Leitfähigkeit, Nitrat-, Nitrit-, Chlorid-, Phosphat-, Sulfat- und Gesamtstickstoffgehalt wurden nach den gültigen Normvorschriften (Ö-Norm L1062, L1080, L1082, L1083, L1084, L1085, L1092, L1099 und EN ISO 10304) bestimmt. Weiters wurden das C/N-Verhältnis und der organische Kohlenstoff berechnet und die Wasserkapazität nach (1993a) gemessen.

Es wurden zwei Untersuchungen durchgeführt. In der ersten wurde die am besten zwischen Standorten differenzierende Konzentration jedes Substrates ermittelt, und zwar mit 43 Substraten an je zwei Standorten pro Landnutzungssystem (Acker, Wiese, Wald Mineralboden und Wald Humusaufgabe). In der zweiten Untersuchung wurde getestet, wie viele und welche Substrate für die Differenzierung der Standorte mindestens notwendig sind. Dies wurde mit allen 44 Substraten an allen Standorten durchgeführt.

Die Messungen erfolgten mit dem OxiTop[®]-C-System (OxiTop[®]-C Messköpfe und OxiTop[®] OC110 Controller, WTW, Weilheim, Deutschland, Abbildung 5). Es handelt sich dabei um ein

Respirometer, das Druckveränderungen in einem gasdichten Gefäß aufzeichnet. Der Druckabfall wird durch den O₂-Verbrauch der Bodenatmung der Probe und durch die Absorption des dabei produzierten CO₂ in 1 M NaOH bewirkt. Diese Methode wurde für die Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB) limnischer Lebensräume entwickelt und erprobt.

Vor jeder Messung wurden die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut, der Wassergehalt auf 50 % der maximalen Wasserkapazität eingestellt (Öhlinger, 1993b) und eine Woche bei 24 °C vorinkubiert.

2.4 Substrate

Das für diese Untersuchung verwendete Set von 44 Substraten (Tabelle 2) war eine Kombination der von Degens und Harris (1997) und Meyers et al. (2001) verwendeten Substrate. Alanin-Glycin wurde aufgrund der hohen Kosten von der Konzentrationsoptimierung ausgeschlossen. Essigsäure, Propionsäure und Gluconsäure sind bei Raumtemperatur flüssig und wurden durch Natrium-Salze der jeweiligen Säure ersetzt. Nicht pulverförmige Substrate z.B. Saccharose wurden vor der Messung gemahlen.

43 Substrate wurden in fünf Konzentrationsstufen appliziert. Stufe 1 entsprach der für die Substrat-induzierte Respiration beschriebenen optimalen Konzentration von Glucose (Beck et al., 1993). Der theoretische Sauerstoffbedarf (ThOD) wurde verwendet, um äquivalente Mengen der anderen Substrate zu bestimmen (Europäische Kommission, 2002).

Ausgehend von Stufe 1, wurden zwei höhere (12,5-fach und 25-fach) sowie zwei niedrigere (1/12,5 und 1/25) Konzentrationen getestet.

Tabelle 2: Auflistung der zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP verwendeten Substrate und ihrer Abkürzungen.

<u>Stoffgruppe</u>	<u>Substrat</u>	<u>Abkürzung</u>
Aminosäuren	L-Arginin	Arg
	L-Histidin	His
	L-Lysin	Lys
	L-Ornithin	Orn
	L-Glutaminsäure	Glu
	L-Asparaginsäure	Asp
	L-Alanin	Ala
	L-Alanyl-Glycin	Agl
	Hydroxy L-Prolin	Hyp
	L-Leucin	Leu
	L-Asparagin anhydrous	Asn
	L-Serin	Ser
	L-Threonin	Thr
	γ -Aminobuttersäure	Gaba
	L-Phenylalanin	Phe
Amine	L-Glutamin	Gle
	D-Glucosamin hydrochlorid	Gln
Kohlenhydrate	L-Arabinose	Ara
	D-Fructose	Fru
	D-Galactose	Gal
	D-Glucose	Glc
	D-Mannose	Man
	L-Rhamnose	Rha
	Maltose Monohydrat	Mal
	D-Saccharose	Suc
	Raffinose Pentahydrat	Raf
Carboxylsäuren	Natriumacetat anhydrous	Soat
	Natriumpropionat	Sopi
	Bernsteinsäure	Sua
	Malonsäure	Mla
	Natriumgluconat	Sogo
	DL-Äpfelsäure	Maa
	L-Weinsäure	Tar
	Zitronensäure	Caa
	Hydroxyisobuttersäure	Hib
	α -Ketobuttersäure	Kba
	Laevulinsäure	Lev
	α -Ketoglutarsäure	Kga
	Fumarsäure	Fua
	Chinasäure	Qua
	L-Ascorbinsäure	Asc
	Pantothensäure	Poa
Harnsäure	Ura	
Urocansäure	Uca	

2.5 Messung

Nach der Vorinkubation wurden gasdichte Gefäße (250 mL Einmachgläser) mit 10 g Boden befüllt und dieser mit dem jeweiligen Substrat vermengt. Um hohe Wiegegenauigkeit zu gewährleisten, wurden die Substrate bei den Konzentrationsstufen 1/25 und 1/12,5 als Mischung Substrat:Talk = 1:100 und bei der Konzentrationsstufe 1 als Mischung 1:10 mit Talk beigelegt. In jedes Einmachglas wurde ein Becherglas mit 10 ml 1 M NaOH als CO₂-Absorber beigelegt. In jedes Einmachglas wurde ein Becherglas mit 10 ml 1 M NaOH als CO₂-Absorber gestellt. Ein Gummiring und ein OxiTop[®]-C-Messkopf (Abbildung 5) verschlossen die Einmachgläser luftdicht. Für die Messung wurden die Gläser über 24 Stunden in einem Klimaschrank bei 24±1 °C aufbewahrt. Der Druck in den Gläsern wurde alle 4 Minuten automatisch registriert. Die Daten wurden mit einer Fernbedienung (Abbildung 5) von den Messköpfen abgelesen und mit dem Programm Achat OC 2.03 digital in den Computer eingelesen.

Zusätzlich zu den mit Substrat induzierten Messungen wurde von jedem Standort auch die Basalatmung gemessen. Für jede Messung wurden zwei Wiederholungen durchgeführt.



Abbildung 5: Das zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP verwendete OxiTop[®]-C System. links: Messeinheit, bestehend aus Messkopf mit Gummiring, Einmachglas und Gefäß mit CO₂-Absorber, rechts: Fernbedienung

2.6 Datenbearbeitung

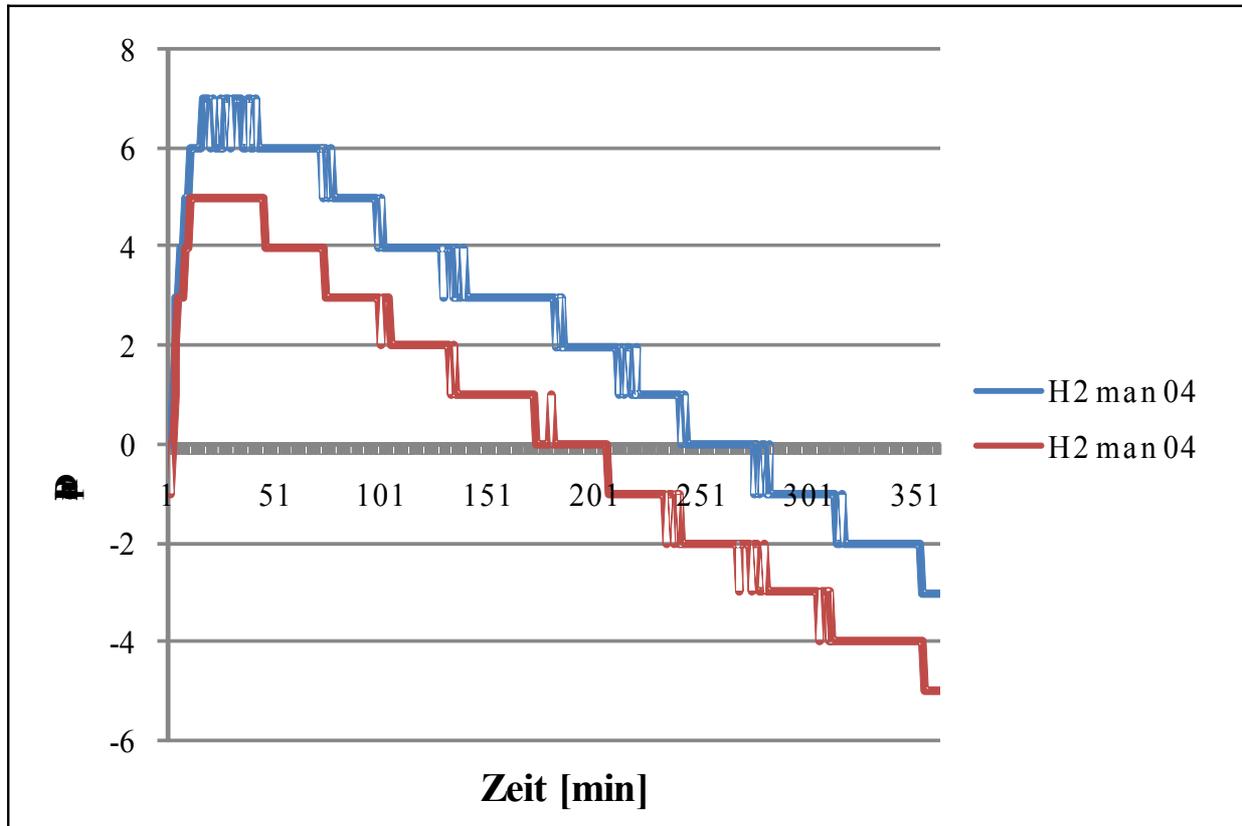


Abbildung 6: Druckverlauf der beiden Messwiederholungen (blau und rot) der Humusaufgabe des Waldes 2 mit dem Substrat Mannose in der Konzentration 1/25 für die Konzentrationsoptimierung und spätere Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP.

Der erste Teil jeder Messkurve zeigte steigenden Druck, was vermutlich auf die Etablierung eines Gas- und Temperaturgleichgewichtes in den Gläsern zurückzuführen ist. Dieser Prozess dauerte etwa 200 Minuten, anschließend fiel der Druck linear ab (Abbildung 6). Mit Windows Excel wurde für jede Messkurve die Dauer dieser Etablierungsphase graphisch bestimmt, der nichtlineare Kurvenabschnitt gelöscht und die Steigung der verbleibenden Geraden berechnet. Da diese immer negativ waren, wurde zur Vereinfachung der Interpretation der Absolutwert der Steigungen weiter verwendet. Die Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Wiederholungen wurde mittels Berechnung des Korrelationskoeffizienten überprüft. Weiters wurde die Linearität der Messkurven mit dem Pearson-Korrelationsindex kontrolliert (mit

Faktor Zeit als unabhängige Variable). Bei Unterschreiten des Wertes von 0,9 einer dieser beiden Koeffizienten wurden weitere Messungen durchgeführt, um die Richtigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Einige Messkurven waren biphasisch: auf eine wenige Stunden dauernde lineare Phase folgte weitere, verstärkte Atmung mit schnellerem Absinken des Druckes (Abbildung 7). Dies ist auf Vermehrung der Mikroorganismenpopulation zurückzuführen (Pennanen et al., 2004) und die betreffenden Abschnitte der Messkurven wurden entfernt. Als Ergebnis diente der Mittelwert der Steigungen der beiden Messwiederholungen.

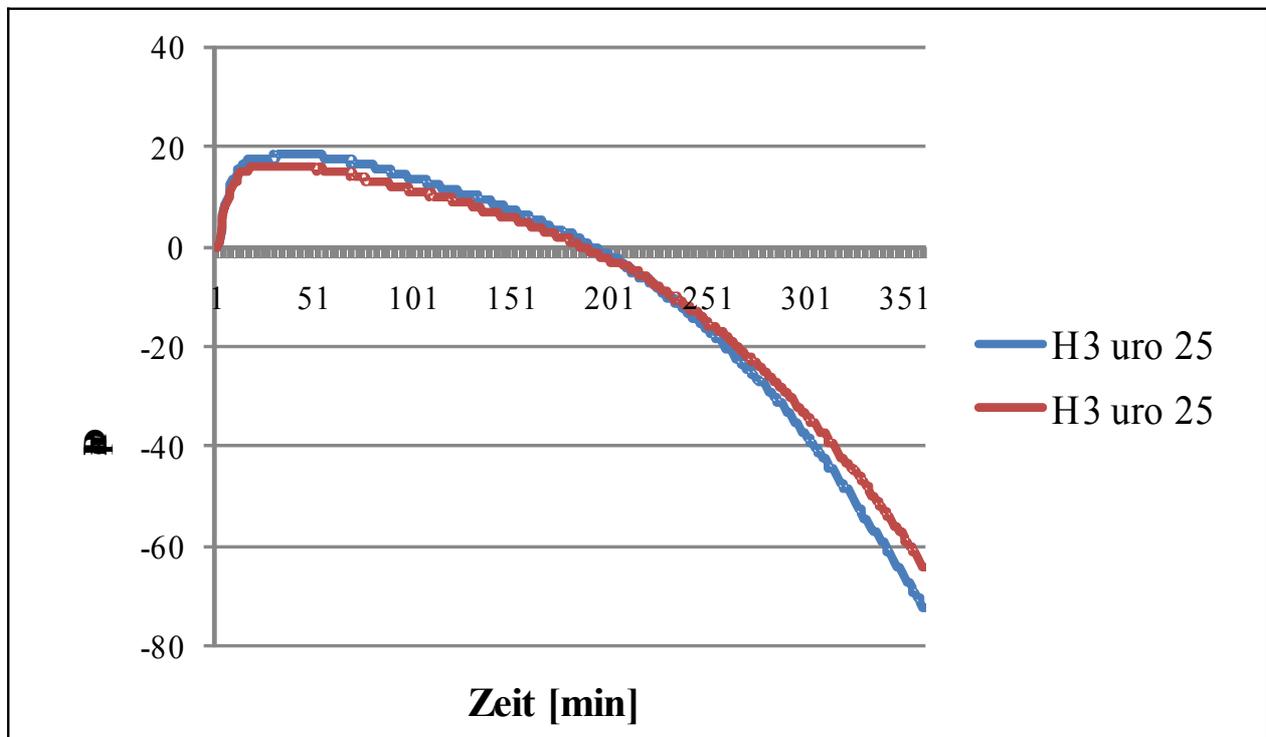


Abbildung 7: Druckverlauf der beiden Messwiederholungen (blau und rot) der Humusaufgabe des Waldes 3 mit dem Substrat Urocansäure bei der Konzentrationsstufe 25 für die Konzentrationsoptimierung und spätere Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP.

2.7 Statistik

Für die Konzentrationsoptimierung wurden aus den Steigungen jeder Konzentrationsstufe der Substrate die Variationskoeffizienten (CV) über alle Standorte berechnet. Der CV wurde als Streuungsmaß gewählt, da er den Vergleich von Daten unabhängig ihres absoluten Wertes erlaubt, er ist definiert als Verhältnis von Standardabweichung zu Mittelwert ($CV = \sigma/\mu$). Die Konzentrationsstufe mit dem jeweils höchsten CV war daher zur Differenzierung der Standorte am besten geeignet. Die auf diese Weise ermittelte beste Konzentration wurde für die folgenden Messungen zum Vergleich der einzelnen Substrate herangezogen.

Um zu testen, ob sich die Standortstypen mit Hilfe eines kleineren Sets von Substraten signifikant unterscheiden lassen, wurde das Programm Primer 6 (Version 6.1.12) und das add-on PERMANOVA+ (Version 1.0.2) verwendet. Die Daten wurden logarithmisch transformiert ($x_i' = \log(x_i+1)$ mit x_i : untransformierte Steigungswerte), um eine symmetrische Verteilung der Werte zu erhalten. Die multivariaten Substratsteigungen der Standorte wurden mit einer Hauptkomponentenanalyse (PCA), sowie mit einer nicht-metrischen multi-dimensionalen Skalierung zum Vergleich ordiniert (NMDS, Ähnlichkeitsmaß: Euklidische Distanz). Um auf signifikante Unterschiede zwischen den multivariaten Substratsets der Standortstypen zu testen, wurde die PERMANOVA-Routine von Primer 6 verwendet. Sie partizioniert die Dissimilaritätsmatrizen der Substratsets der Standorte und ermittelt durch Permutation P -Werte für alle Terme des statistischen Modells. Die Ergebnisse können wie die einer Varianzanalyse (ANOVA) gelesen und interpretiert werden (Anderson et al., 2008).

Für die Ermittlung eines möglichst effizienten Subsets von Substraten (= eine Kombination möglichst weniger Substrate, die möglichst viel der empirischen Variabilität "erklärt") wurde eine distanzbasierte Redundanzanalyse eingesetzt (distance-based redundancy analysis, DistLM; Auswahlprozedur: schrittweise, Auswahlkriterium: AICc, da dieses optimal für kleine

Stichprobenumfänge und viele Prediktorvariablen (= Substrate) ist). DistLM ist eine Routine zur Analyse der Beziehungen zwischen einem multivariaten Datenset und mehreren (meist intervallskalierten) Prediktorvariablen. Analog zur PERMANOVA-Prozedur partizioniert sie die Ähnlichkeitsmatrix des Datensets mithilfe von Permutationen, allerdings nach dem Modell einer multiplen Regression. Die Ergebnisse können dementsprechend wie die einer multiplen Regression gelesen und interpretiert werden (Anderson et al., 2008).

Weiters wurden noch die Diversitäts-Indizes „Pielou`s Evenness“ und „Simpson invers“ berechnet. Diese Indizes geben die Evenness-Komponente der Substratdiversität, an. Sie rangieren zwischen den Werten 0.00 (= völlig uneven) und 1.00 (= völlig even).

Für die Differenzierung der Standorte anhand ihrer chemischen Eigenschaften und des Bodentyps wurde wie für die Substrate vorgegangen. Vor der Analyse wurden die Daten logarithmisch transformiert sowie standardisiert und anschließend mittels PCA analysiert.

3 Ergebnisse

3.1 *Eigenschaften der Standorte*

An den chemischen und pflanzensoziologischen Daten der untersuchten Standorte (Tabelle 1) lässt sich deutlich die große Spannweite chemischer Parameter erkennen. Beispielhaft sei hier nur der pH-Wert (CaCl_2) erwähnt, der Werte von 3 in der Humusauflage des Waldes 1 bis zu 7 im Mineralboden des Waldes 5 umfasst.

Trotz dieser Bandbreite sind einige Werte auffällig. Zum Beispiel liegt der Gehalt an organischem Kohlenstoff (C_{org}) im Mineralboden des Waldes 3 im Normalbereich von Humusauflagen, und lässt sich durch die nur ungenaue mögliche Trennung von Humusauflage und Mineralboden während der Probenahme im steilen und mit Felsen durchwachsenen Gelände erklären. Dahingegen ist der hohe C_{org} -Gehalt der Wiese 3 durchaus normal für diesen Standort, da durch den hohen Wassergehalt des Davallseggenriedes der Abbau organischer Substanz behindert wird. Am hohen Chloridgehalt der Wiese 2 sieht man den Effekt einer wenige Tage vor der Probenahme durchgeführten Düngung mit Gülle. Ebenso mit Düngeeffekten sind die beiden erhöhten Nitratwerte der Felder 4 und 5 erklärbar. Ohne Erklärung bleibt der hohe Sulfatgehalt der Humusauflage des Waldes 5, einem Auwald.

In der Ordination der Standortparameter (Abbildung 8) lassen sich die einzelnen Landnutzungssysteme unterschiedlich gut voneinander absetzen. Es scheint, als folge die Differenzierungsfähigkeit der Parameter dem Störungsgrad, mit den Äckern als dem am meisten gestörten Standortstyp und der besten Abgrenzung. Die Wiesen sind bereits weniger deutlich gruppiert und bei den Waldböden lässt sich eine klare Trennung in Humusauflagen und Mineralböden nicht mehr vollziehen, jedoch bilden sich zwei deutlich getrennte Gruppen von Waldstandorten, bei denen jeweils Mineralboden und Humusauflage eng beieinander liegen.

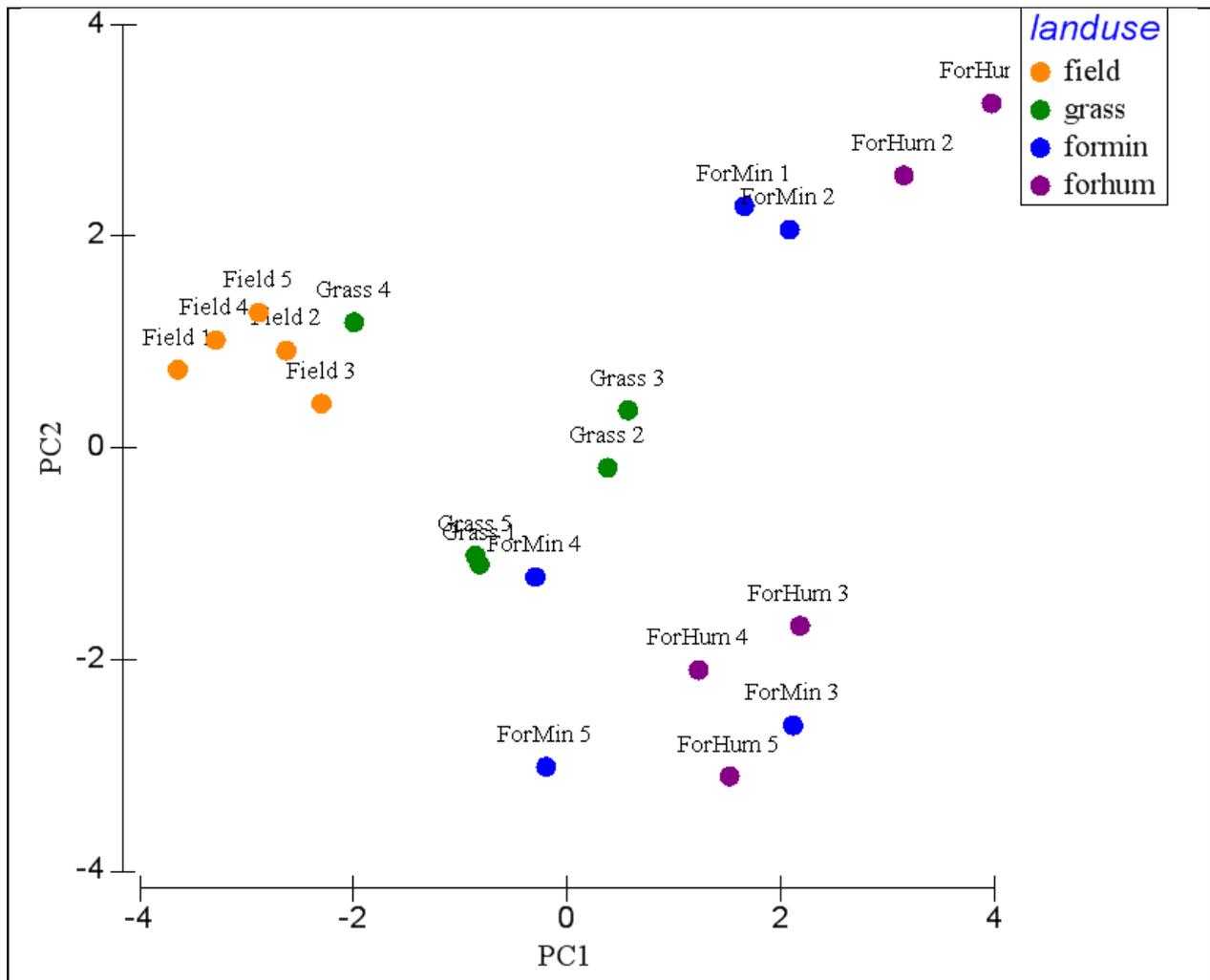


Abbildung 8: Differenzierung der Standorte mittels Hauptkomponentenanalyse anhand der chemischen Bodeneigenschaften und des Bodentyps einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP. Abkürzungen siehe Tabelle 1

3.2 Konzentrationsoptimierung

In Tabelle 3 ist für jedes Substrat die Konzentrationsstufe mit dem höchsten CV angeführt. Tendenziell sind bei höheren Konzentrationen höhere CVs zu erkennen, auch wenn dies nicht in jedem Fall zutrifft (z.B. Raffinose, Abbildung 9, Tabelle 3).

Abgesehen von der Hydroxyisobuttersäure sind die Abstände zwischen den CV-Werten aber gering und spannen sich über 0,8 Einheiten, mit dem Mittelwert knapp unter 1 (Abbildung 9, Abbildung 10). Daran ist abzulesen, dass einerseits die Unterschiede zwischen den Standorten sehr groß sind und andererseits die Höhe der Konzentration für das Erkennen dieser Unterschiede eine geringe Bedeutung hat.

Tabelle 3: Auflistung der zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP verwendeten Substrate mit den optimierten Konzentrationen.

Substratgruppe	Substrat	optimierte und für die Standorts- differenzierung verwendete Konzentration
Aminosäuren	L-Arginin	25
	L-Histidin	25
	L-Lysin	1/25
	L-Ornithin	1/25
	L-Glutaminsäure	25
	L-Asparaginsäure	1/25
	L-Alanin	12,5
	L-Alanyl-Glycin	nicht optimiert, 1
	Hydroxy L-Prolin	25
	L-Leucin	12,5
	L-Asparagin anhydrous	1/25
	L-Serin	1/25
	L-Threonin	25
	γ -Aminobuttersäure	1
	L-Phenylalanin	1
Amine	L-Glutamin	25
	D-Glucosamin hydrochlorid	25
Kohlenhydrate	L-Arabinose	25
	D-Fructose	25
	D-Galactose	1/25
	D-Glucose	25
	D-Mannose	1/25
	L-Rhamnose	1
	Maltose Monohydrat	25
	D-Saccharose	1/25
	Raffinose Pentahydrat	1/25
Carboxylsäuren	Natriumacetat anhydrous	1
	Natriumpropionat	25
	Bernsteinsäure	12,5
	Malonsäure	1/25
	Natriumgluconat	1/25
	DL-Äpfelsäure	25
	L-Weinsäure	1/25
	Zitronensäure	12,5
	Hydroxyisobuttersäure	12,5
	α -Ketobuttersäure	1/25
	Laevulinsäure	1/25
	α -Ketoglutarsäure	1/25
	Fumarsäure	12,5
	Chinasäure	25
	L-Ascorbinsäure	1/25
Pantothenic acid	25	
Harnsäure	1/12,5	
Urocansäure	25	

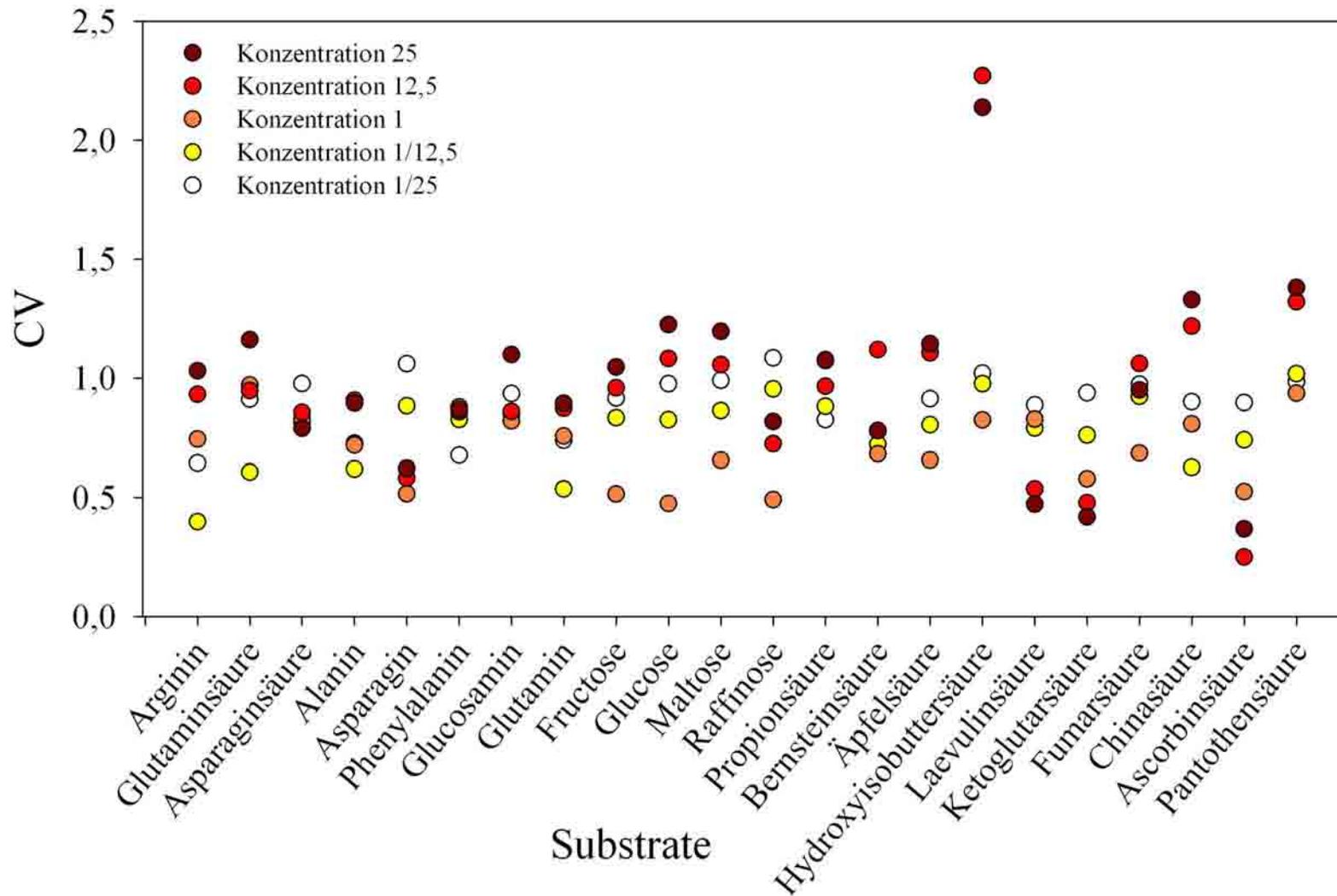


Abbildung 9: Variationskoeffizienten (CV) von 21 Substraten in 5 Konzentrationsstufen zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP.

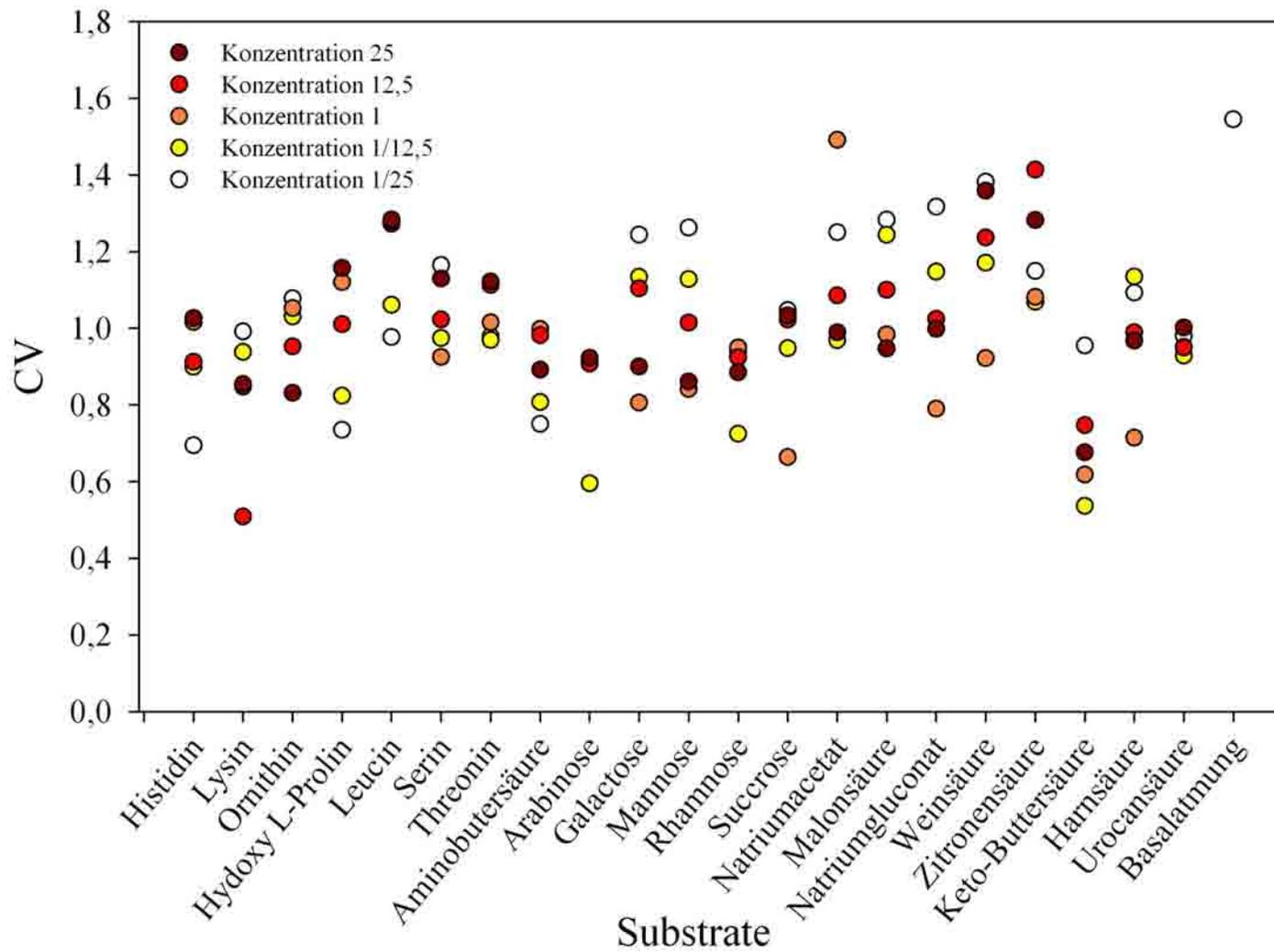


Abbildung 10: CVs von 22 weiteren Substraten in 5 Konzentrationsstufen zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP.

3.3 Substratvergleich

In Tabelle 4 wird die Praktikabilität der für die Standortdifferenzierung eingesetzten Substrate anhand der Faktoren Preis, Anzahl der benötigten Nachmessungen und Geradlinigkeit der Messkurven bewertet.

Die meisten Substrate kosteten weniger als 1 € g⁻¹ und sind daher auch bei umfassenden Untersuchungen günstig. Bei teureren Substraten gilt es abzuwägen, in welchem Verhältnis der Preis des Substrates zur möglicherweise gesteigerten Differenzierungsfähigkeit von Standorten steht.

Nur wenige Substrate benötigen übermäßig viele Nachmessungen. Auch hier ist es der Ersatz dieser Substrate zu bedenken.

Tritt Zweiphasigkeit nur bei einzelnen Messungen auf, ist der Mehraufwand für das individuelle Zuschneiden der Messkurven für Substrate mit hoher Differenzierungsleistung sicher gerechtfertigt. Falls Zweiphasigkeit nur in einer bestimmten Konzentrationsstufe auftritt (meist ist dies die höchste Konzentrationsstufe) und genau diese Konzentrationsstufe zur Standortdifferenzierung herangezogen werden soll, gilt es ebenfalls den Ersatz abzuwägen.

Hinsichtlich der Praktikabilität, sind die Substrate D-Glucosamin hydrochlorid und Pantothenensäure, sowie die Basalatmung besonders zu empfehlen, da sie exakt lineare Kurvenverläufe ergeben.

Tabelle 4: Praktikabilität der zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP verwendeten Substrate, bewertet nach den Kriterien Preis, Anzahl der nötigen Nachmessungen aufgrund schlecht korrelierende Messwiederholungen und Geradlinigkeit der Messkurven, denn biphasische Kurven verlangen individuellen Zuschnitt jeder einzelnen Kurve.

Substrate	Preis [€ g ⁻¹] der Substrate > 1 € g ⁻¹	Messwiederholungen korrelierten oft (> 1 von 10) nicht	biphasische Kurven bei einzelnen Konzentrationen	biphasische Kurven bei einzelnen Messungen	Sonstiges
L-Arginin			+	+	
L-Histidin			+	+	
L-Lysin			+		
L-Ornithin				+	
L-Glutaminsäure			+	+	
L-Asparaginsäure			+	+	
L-Alanin			+	+	sehr gute Korrelation der Messwiederholungen
L-alanyl-Glycin	21,60		+		muss bei -20 °C gelagert werden
Hydroxy L-Prolin	2,43			+	
L-Leucin			+		
L-Asparagin anhydrous				+	
L-serine			+		
Threonine				+	
γ-Aminobuttersäure			+	+	
L-Phenylalanine			+	+	
L-Glutamine			+	+	
D-Glucosamin hydrochlorid					sehr lineare Kurven
L-Arabinose	1,45			+	
D-Fructose				+	
D-Galactose		+		+	
D-Glucose			+	+	
D-Mannose	1,30			+	
L-Rhamnose	2,16		+		
Maltose Monohydrat			+	+	
D-Saccharose		+	+	+	große Kristalle, vor der Anwendung ist Mahlen notwendig
Raffinose Pentahydrat	1,36		+	+	
Natriumacetat anhydrous				+	
Natriumpropionat				+	
Bernsteinsäure			+	+	
Malonsäure			+		
Natriumgluconat			+		
DL-Äpfelsäure				+	
L-Weinsäure		+	+		
Zitronensäure			+	+	
Hydroxyisobuttersäure	1,22			+	
α-Ketobuttersäure	3,04		+		große Kristalle, schmelzen bei Raumtemperatur
Laevulinsäure					große Kristalle, schmelzen bei Raumtemperatur; sehr lineare Kurven

α -Ketoglutarinsäure			+	+	
Fumarsäure			+	+	
Chinasäure			+	+	
L-Ascorbinsäure			+		Pulver wird bei Bodenkontakt hart, löst sich aber nach wenigen Minuten auf; sehr gute Korrelation der Messwiederholungen
Pantothensäure					sehr lineare Kurven
Harnsäure			+		sehr gute Korrelation der Messwiederholungen
Urocansäure	4,81	+	+		
Basalatmung					sehr lineare Kurven

Die Diversität-Indizes „Pielou's Evenness“ und „Simpson invers“ ergaben gleichgerichtet eine sehr hohe Evenness der Substrataktivitäten der Standorte (Tabelle 5). Daher wäre eine Differenzierung der Standorte mit diesen Indizes nicht möglich.

Tabelle 5: Zwei Diversitäts-Indizes, welche die Evenness der Substrataktivitäten der Standorte in einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP beschreiben.

Standort	Pielou's Evenness	Simpson invers
Feld 1	0,93	0,96
Feld 2	0,92	0,96
Feld 3	0,92	0,96
Feld 4	0,92	0,96
Feld 5	0,92	0,96
Wiese 1	0,92	0,96
Wiese 2	0,92	0,96
Wiese 3	0,91	0,96
Wiese 4	0,91	0,96
Wiese 5	0,92	0,96
Wald Mineralboden 1	0,85	0,93
Wald Mineralboden 2	0,89	0,95
Wald Mineralboden 3	0,92	0,96
Wald Mineralboden 4	0,93	0,96
Wald Mineralboden 5	0,93	0,96
Wald Humusauflage 1	0,89	0,94
Wald Humusauflage 2	0,91	0,96
Wald Humusauflage 3	0,96	0,97
Wald Humusauflage 4	0,94	0,97
Wald Humusauflage 5	0,95	0,97

Mit der multi-SIR war es dagegen sehr gut möglich, die Standorte hinsichtlich ihrer Landnutzung zu unterscheiden: Bereits die erste Achse der Hauptkomponentenanalyse (PCA) aller 44 Substrate erklärte rund 75 % der Gesamtvariabilität im Datensatz (Tabelle 6).

Tabelle 6: Erklärungsgrad der Achsen einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP. %Variation: Beitrag der Achse zur Gesamtvariation, Cum.%Variation: kumulative Beiträge der Achsen

PCA	Eigenwert	%Variation	Cum.%Variation
1	42,10	74,9	74,9
2	3,11	5,5	80,4
3	2,33	4,1	84,6
4	2,28	4,0	88,6
5	1,43	2,5	91,2
6	1,30	2,3	93,5
7	0,96	1,7	95,2
8	0,78	1,4	96,6

In der graphischen Darstellung der PCA ist eine distinkte Clusterung der einzelnen Nutzungssysteme erkennbar (Abbildung 11). Es gibt nur kleine Überschneidungsbereiche der einzelnen Gruppen, die sich entlang der x-Achse aneinanderreihen und dabei einem Hemerobie-Gradienten folgen. Diese Cluster sind auch in der nicht-metrischen multi-dimensionalen Skalierung (NMDS) erkennbar (Abbildung 12). Bestätigt wurde dies durch die Ergebnisse der permutativen multivariaten Varianzanalyse (PERMANOVA): Sowohl der Overall Test (Tabelle 7) als auch alle paarweisen Einzelvergleiche zwischen den Nutzungstypen waren signifikant (Tabelle 8).

Tabelle 7: Overall-Test (PERMANOVA) zur Differenzierung der Standorte nach ihrem Landnutzungssystem mittels optimiertem CRP, df: Anzahl der Freiheitsgrade, SS: Quadratsumme, MS: Mittlere Quadratsumme, Pseudo-F: Teststatistik, P(perm): Signifikanzniveau, Unique perms: Anzahl der zur Testberechnung verwendeten Permutationen

Variabilitäts- quelle	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
Landnutzung	3	771,96	257,32	13,878	0,0001	9929
Residuen	16	296,66	18,54			
Total	19	1068,62				

Tabelle 8: Paarweise Einzelvergleiche (PERMANOVA) von jeweils zwei Landnutzungen einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP. t: Teststatistik, alle anderen Abkürzungen siehe Tabelle 1 bzw. Tabelle 7

Landnutzung	t	P(perm)	Unique perms
Field, Grass	2,0524	0,015	126
Field, Formin	3,6091	0,008	126
Field, Forhum	5,8437	0,008	126
Grass, Formin	2,1307	0,016	126
Grass, Forhum	4,5248	0,009	126
Formin, Forhum	2,7699	0,007	126

Die mittels distanzbasierter Redundanzanalyse (Auswahlkriterien: marginal, R^2) ermittelte Erklärung der Variabilität durch jedes einzelne Substrat ist in Tabelle 9 dargestellt. Daran ist abzulesen, dass viele Substrate über eine hohe Differenzierungskraft verfügen (von 60 % und mehr) und die Unterschiede in der Differenzierungskraft gering sind. Dies lässt erwarten, dass auch bei Reduktion oder Ersatz von Substraten die Standorte sehr gut differenziert werden können.

Tabelle 9: Anhand distanzbasierter Redundanzanalyse (DistLM) ermittelte Beiträge der einzelnen Substrate zur Erklärung der Variabilität der Standorte einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP. Variable: Substrat, Prop.: Beitrag der Variablen zur Variation. weitere Abkürzungen siehe Tabelle 2 bzw. Tabelle 7

Variable	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.
Log(Arg)	600,33	23,08	0,0001	0,561
Log(His)	740,62	40,64	0,0001	0,693
Log(Lys)	753,14	42,97	0,0001	0,704
Log(Orn)	730,39	38,87	0,0001	0,683
Log(Glu)	693,30	33,25	0,0001	0,648
Log(Asp)	727,64	38,41	0,0001	0,680
Log(Ala)	769,73	46,36	0,0001	0,720
Log(Agl)	727,92	38,46	0,0001	0,681
Log(Hyp)	703,24	34,65	0,0001	0,658
Log(Leu)	660,35	29,12	0,0001	0,617
Log(Asn)	705,66	35,00	0,0001	0,660
Log(Ser)	753,29	43,00	0,0001	0,704
Log(Thr)	760,21	44,37	0,0001	0,711
Log(Gaba)	737,18	40,04	0,0001	0,689
Log(Phe)	784,01	49,59	0,0001	0,733
Log(Gle)	629,76	25,83	0,0001	0,589
Log(Gln)	476,06	14,46	0,0003	0,445
Log(Ara)	744,68	41,38	0,0001	0,696
Log(Fru)	724,08	37,83	0,0001	0,677
Log(Gal)	587,63	21,99	0,0001	0,549
Log(Glc)	307,61	7,28	0,0051	0,287
Log(Man)	629,89	25,84	0,0001	0,589
Log(Rha)	721,93	37,48	0,0001	0,675
Log(Mal)	699,41	34,10	0,0001	0,654
Log(Suc)	523,67	17,30	0,0002	0,490
Log(Raf)	690,90	32,93	0,0001	0,646
Log(Soat)	569,46	20,54	0,0001	0,532
Log(Sopi)	353,53	8,90	0,0013	0,330
Log(Sua)	621,43	25,01	0,0001	0,581
Log(Mla)	645,70	27,48	0,0001	0,604
Log(Sogo)	737,28	40,05	0,0001	0,689
Log(Maa)	493,32	15,44	0,0002	0,461
Log(Tar)	537,59	18,22	0,0001	0,503
Log(Caa)	530,84	17,77	0,0001	0,496
Log(Hib)	416,09	11,48	0,0009	0,389
Log(Kba)	548,39	18,97	0,0001	0,513
Log(Lev)	501,22	15,90	0,0001	0,469
Log(Kga)	704,13	34,77	0,0001	0,658
Log(Fua)	744,72	41,39	0,0001	0,696
Log(Qua)	586,12	21,87	0,0001	0,548
Log(Asc)	703,99	34,75	0,0001	0,658
Log(Poa)	433,07	12,27	0,0004	0,405
Log(Ura)	727,56	38,40	0,0001	0,680
Log(Uca)	716,38	36,61	0,0001	0,670
Log(Bre)	706,00	35,05	0,0001	0,660

Die distanzbasierte Redundanzanalyse DistLM identifizierte ein Subset von vier Substraten, welche 86 % der empirischen und 100 % der Variabilität der Standorte im Modell und der erklärten: Pantothensäure, Malonsäure, Chinasäure und Threonin (Tabelle 10, Tabelle 11, Abbildung 13). Der Plot des Modells ist weitestgehend deckungsgleich mit dem der PCA (vgl. Abbildung 8 mit Abbildung 13); alle Nutzungskluster und auch die Position einzelner Standorte sind identifizierbar.

Von den Substraten des Subsets zählen nur Malonsäure und Threonin zu den Wurzelexsudaten. Chinasäure ist vor allem in Früchten enthalten und Pantothensäure ist ein Vitamin des B-Komplexes und erfüllt wichtige Aufgaben im Stoffwechsel (Auf- und Abbau von Kohlenhydraten, Fetten, Aminosäuren). Es gibt daher keinen Grund, bevorzugt Wurzelexsudate zu verwenden.

Tabelle 10: Stepwise Selection einer distanzbasierten Redundanzanalyse (DistLM) mit dem modifizierten Akaike Information Criterion (AICc) als Auswahlkriterium einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP. Variable: Substrate, die schrittweise in das Modell aufgenommen (+) bzw. wieder aus diesem entfernt (-) wurden, Prop.: Beitrag der Variablen zur Variation, Cumul.: kumulative Beiträge der Variablen, res.df: Rest-Freiheitsgrade, weitere Abkürzungen siehe Tabelle2 bzw. Tabelle 7

Variable	AICc	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.	Cumul.	res.df
+ log (Phe)	57,813	784,01	49,586	0,0001	0,73367	0,7336	18
+ log (Qua)	56,413	53,836	3,966	0,0001	0,05037	0,7840	17
+ log (Poa)	55,645	41,218	34,793	0,0001	0,03857	0,8226	16
+ log (Mla)	55,102	35,611	34,701	0,0003	0,03332	0,8559	15
+ log (Soat)	55,083	29,123	32,667	0,0023	0,02725	0,8832	14
- log (Phe)	54,919	27,724	31,097	0,0012	0,02594	0,8572	15
+ log (Thr)	54,534	31,105	35,861	0,0003	0,02910	0,8863	14
- log (Soat)	54,475	27,754	31,998	0,0009	0,02597	0,8603	15

Tabelle 11: Gegenüberstellung der Anteile der einzelnen Achsen an der Erklärung der Varianz des Modells und der Erklärung der Gesamtvariation einer Studie zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP.

Achse	% erklärter Variation des Modells		% erklärter Variation der Gesamtvariation	
	Einzel	Kumulativ	Einzel	Kumulativ
1	86,51	86,51	74,43	74,43
2	6,03	92,53	5,18	79,62
3	4,36	96,89	3,75	83,37
4	3,11	100,00	2,67	86,04

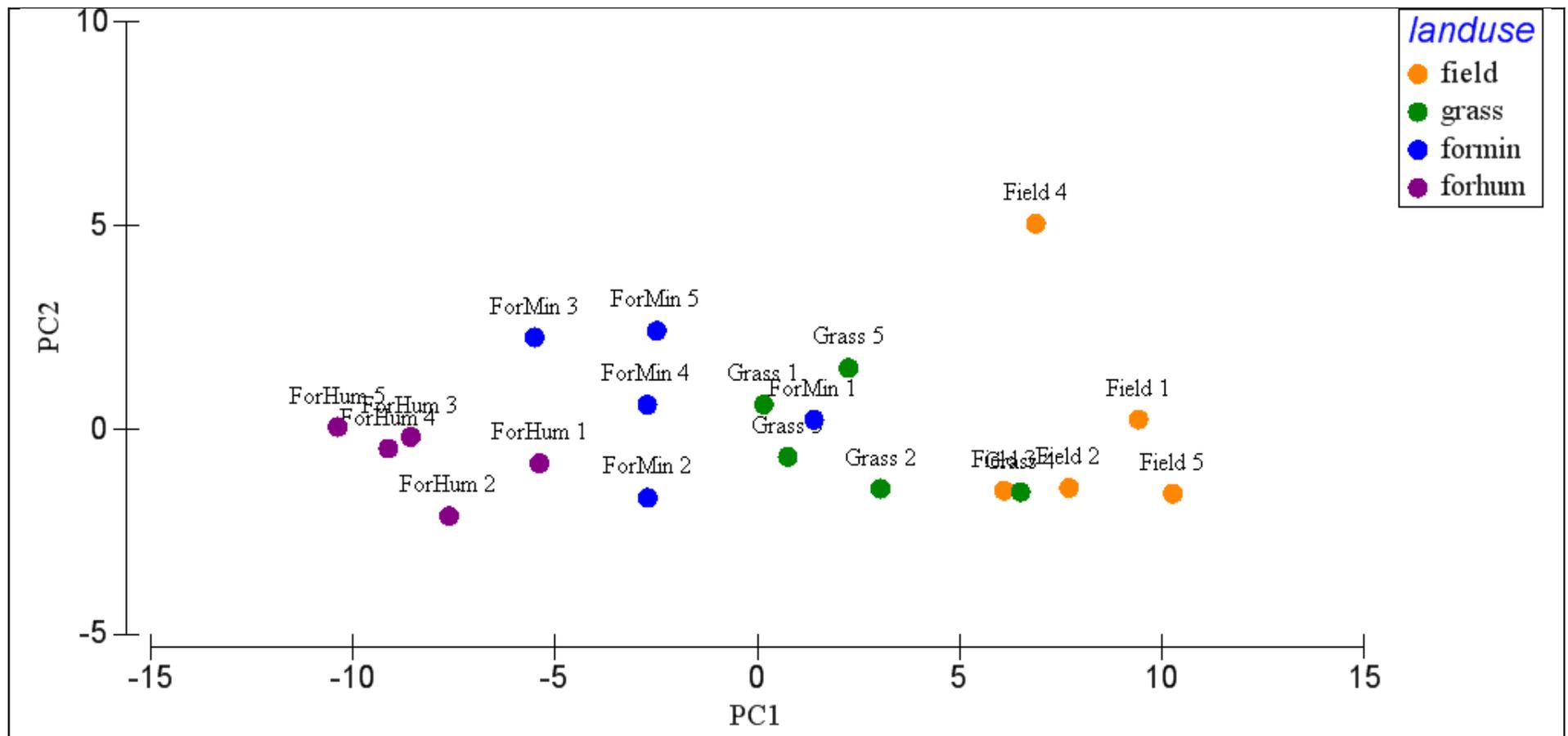


Abbildung 11: Graphische Darstellung einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP anhand der Atmungsantworten auf 44 Substrate. Abkürzungen siehe Tabelle 1

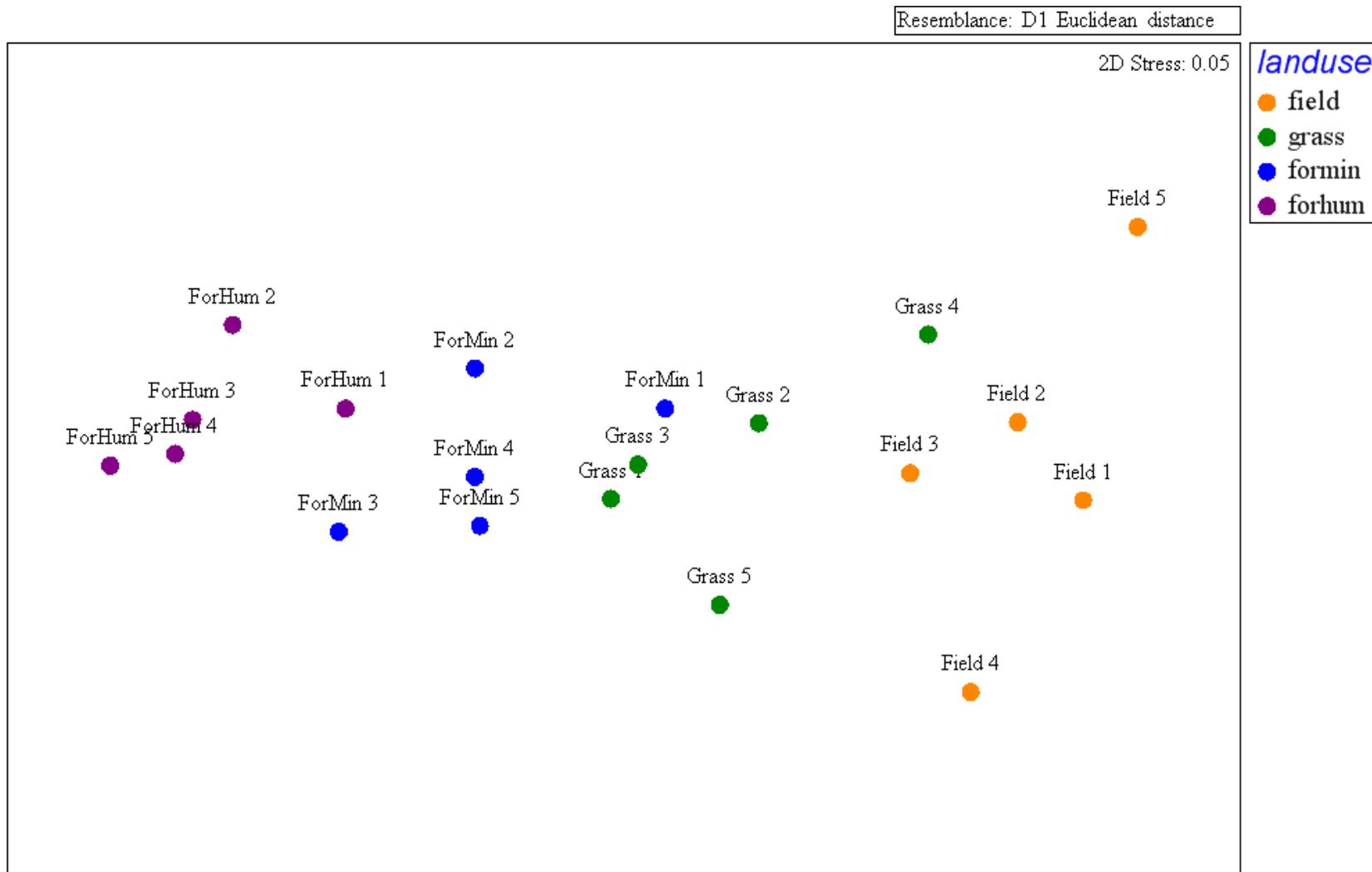


Abbildung 12: Graphische Darstellung der nicht-metrischen multi-dimensionalen Skalierung der Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP anhand der Atmungsantworten auf 44 Substrate. Abkürzungen siehe Tabelle 1

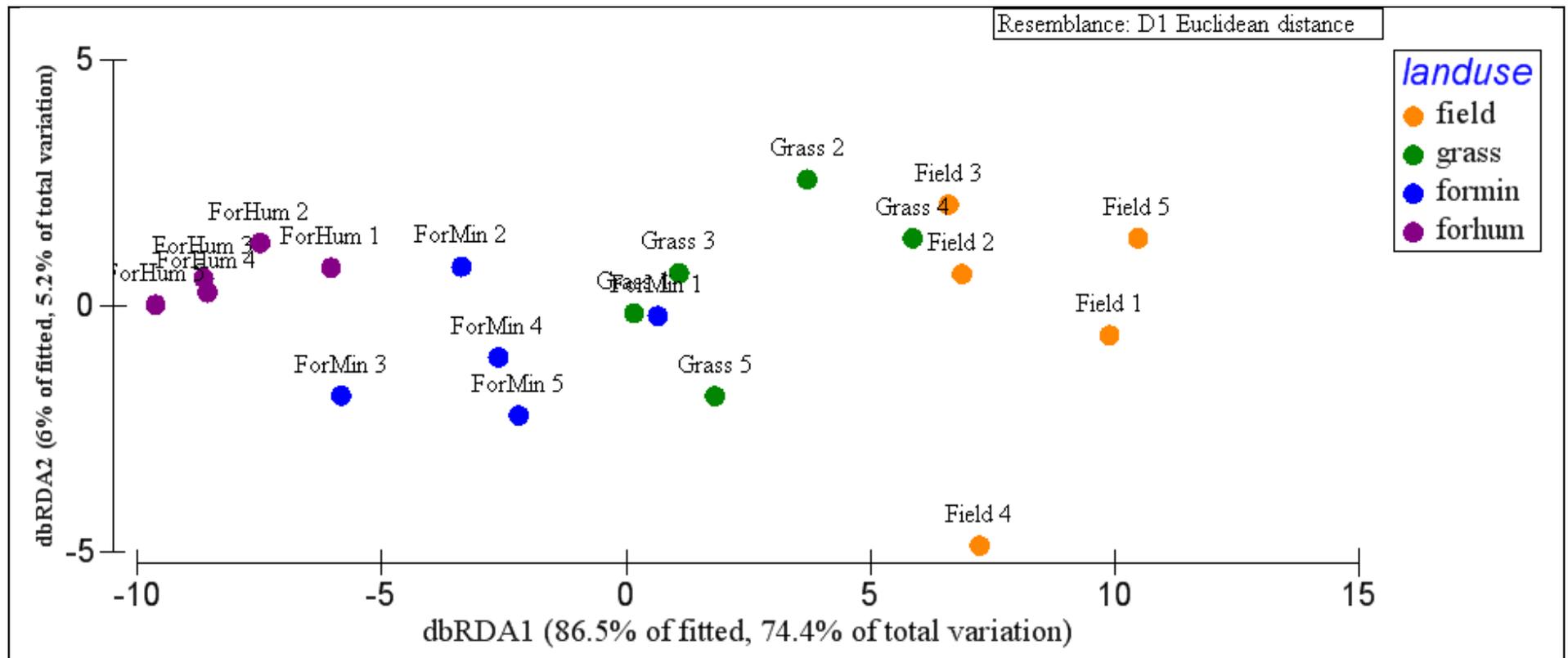


Abbildung 13: Graphische Darstellung einer distanzbasierten Redundanzanalyse (DistLM) mit den Auswahlkriterien stepwise und AICc zur Standortsdifferenzierung mittels optimiertem CRP anhand der Atmungsantworten der Substrate Pantothersäure, Malonsäure, Chinasäure und Threonin. Abkürzungen siehe Tabelle 1

4 Diskussion

4.1 Methodenkritik

Im Jahr 1978 haben Anderson und Domsch die SIR-Methode zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse des Bodens mittels Messung der Atmungsaktivität nach Zugabe eines leicht abbaubaren Substrats (Glucose) beschrieben. Seit damals hat sich diese Methode stark weiterentwickelt. Heute wird versucht, durch Nutzung einer Vielzahl an Substraten ein so genanntes „physiologisches Gemeinschaftsprofil“ (community-level profile, CLPP) zu erstellen und damit Aussagen über die funktionelle Diversität und die Struktur von Mikroorganismengemeinschaften zu treffen. Die drei gängigsten dafür verwendeten Methoden sind Biolog[®] (Garland und Mills, 1991), Multi-SIR (Degens und Harris, 1997) und MicroResp[™] (Campbell et al., 2003). Sie alle werden sehr kontrovers diskutiert (Preston-Meffham et al., 2002; Graham und Haynes, 2005; Ramsey et al., 2006; Chapman et al., 2007; Lalor et al., 2007).

Für Biolog[®] werden Mikrobenpopulationen aus dem Boden extrahiert, kultiviert und erst danach (d.h. im Kulturmedium) werden die Aktivitäten bestimmt. Da die Kultivierbarkeit von Bakterien (Amann et al., 1995; Hugenholtz et al., 1998) und Pilzen (Bridge und Spooner, 2001) als sehr gering eingeschätzt wird, versprechen solche Methoden, die mit intakten Bodenproben arbeiten, ein realistischeres Bild von den Prozessen im Boden zu zeichnen (Konopka et al., 1998), weshalb ihnen für die vorliegende Studie der Vorzug gegeben wurde.

Multi-SIR und MicroResp[™] verwenden intakte Bodenproben. Sie unterscheiden sich in der Konzentration der verwendeten Substrate und im Wassergehalt der Bodenproben. Multi-SIR verwendet signifikant höhere Substratkonzentrationen und misst die Atmungsantwort bei schlammiger Konsistenz der Böden, während MicroResp[™] geringere Substratkonzentrationen verwendet und die Atmungsantwort bei einem Wassergehalt von 60 % der Wasserkapazität

bestimmt wird. Multi-SIR weist gegenüber MicroResp™ deutlich geringere Sensitivität in der Differenzierung von Standorten auf, was vermutlich auf diese methodischen Unterschiede zurückzuführen ist (Lalor et al., 2007).

MicroResp™ selbst erfordert ein modern ausgestattetes Labor (Microplattenequipment evtl. incl. Flüssigszintillationszähler) und gut ausgebildetes Personal sowie kontinuierliche Kalibrierungen, weshalb diese Methode relativ teuer ist. Außerdem werden pro Messung nur 300 µl Boden verwendet; es stellt sich deshalb die Frage, ob so geringe Volumina bodenbiologische Prozesse überhaupt sinnvoll abbilden können. Für MicroResp™ spricht der hier mögliche hohe Grad an Automatisierung: dadurch können in kurzer Zeit viele Proben analysiert werden.

Im Vergleich dazu, hat sich das in dieser Arbeit verwendete Meßsystem als einfach in der Ausstattung der Geräte, einfach in der Handhabung, schnell, verlässlich und günstig herausgestellt. Aufgrund dieser Vorzüge können die Messungen von Laboranten durchgeführt werden, weshalb auch die Personalkosten niedrig bleiben. Mit der Verwendung intakter Bodenproben anstatt von extrahierten und kultivierten Populationen oder der Messung in einer Suspension (Schlamm) kommt man wahrscheinlich viel näher an die Verhältnisse im ungestörten Boden heran. Weiters kommt mit 10 g Boden eine repräsentativere Bodenmenge als bei 300 µl zum Einsatz.

Bestätigt wird dieses Ergebnis auch durch andere Studien, welche das OxiTop®-System zur Bearbeitung bodenökologischer Fragestellungen verwendeten: die Bestimmung der Atmungsrate von Kompost durch Sadaka et al. (2004); die Untersuchung der biologischen Abbaubarkeit von Ölen in einem Waldboden von Vähäoja et al. (2005); die Beurteilung des Wachstums eines Pilzstammes bei Sarocco et al. (2008); die Studie zur biologischen Abbaubarkeit von Herbiziden in Kompost von Taok et al. (2007) und die Untersuchung der

Effekte von Pestiziden auf die Kohlenstoff- und Stickstoffmineralisation von Ackerböden durch Černohlávková et al. (2009).

Einzigster Nachteil dieses Systems ist die lange Messdauer (etwa 24 Stunden bei 24 °C), was die Bewältigung großer Mengen von Bodenproben ebenso wie von vielen Substraten unmöglich macht.

4.2 Konzentrationsoptimierung

Mit dem Variationskoeffizienten (CV) konnte die Fähigkeit der Konzentrationsstufen jedes Substrates zur Differenzierung von Standortstypen gut dargestellt werden. Dass höhere Konzentrationen meist zu höheren CV-Werten führten, lässt sich dadurch erklären, dass dabei das Substrat im Überfluss vorlag und von Böden physiologisch potenterer Standorte (z.B. Wälder) weit besser aufgearbeitet werden konnte, als von weniger aktiven Böden (z.B. Äcker). Es gibt aber auch Hinweise darauf, dass neben den in hohen Konzentrationen beigefügten Substraten weitere Kohlenstoffquellen für die Steigerung der Atmungsleistung genutzt werden. Eine dieser Kohlenstoffquellen könnte im gesteigerten Umsatz der mikrobiellen Biomasse (Dalenberg und Jager, 1989, Wu et al, 1993) und eine andere in der gesteigerten Mineralisierung der toten organischen Substanz (Shen and Bartha, 1996) durch die aktivierten Mikroben liegen.

In den wenigen Fällen, in denen niedrigere Konzentrationen den höchsten CV ergaben, könnte dies an einer leicht toxischen Wirkung des hoch konzentrierten Substrats gelegen haben. Dass auch noch andere Gründe eine Rolle spielen könnten, zeigt sich am Beispiel der Ascorbinsäure. Obwohl jede Erhöhung der Konzentration eine noch stärkere Atmungsantwort hervor, lieferten die geringsten Konzentrationen die höchsten CV-Werte (Abbildung 9).

Eine mögliche Erklärung lieferten Schmidt und Gier (1990), die nachweisen konnten, dass beim Abbau verschiedener Konzentrationen des xenobiotischen Substrats 2, 4-Dinitrophenol

(DNP) unterschiedliche Bakterienstämme aktiv waren. In niedrigen Konzentrationen war dies ein Stamm mit K-Strategie und in höheren einer mit r-Strategie. Auch Griffiths et al. (1999) beschrieben eine Affinität der verschiedenen Mikroorganismen gegenüber einzelner Substrate. Des Weiteren postulierten Buyer et al. (2002), dass auch hohe Konzentrationen leicht abbaubarer Substrate copiotrophe r-Strategen fördere.

Eine dem widersprechende Theorie lieferten De Nobili et al. (2001). Sie beobachteten, dass schon bei Zugabe geringster Konzentrationen von verschiedener Substrate mehr CO₂-produziert wurde, als aus deren Mineralisation entstehen konnte. Dies erklärten sie damit, dass „ruhende Zellen“ Energie einsetzen, um so in „metabolischer Rufbereitschaft“ zu bleiben und gegebenenfalls noch mehr Energie einzusetzen, wenn ein bedeutendes „Nahrungsereignis“ in Aussicht steht. Neue Untersuchungen (Hamer und Marschner, 2004; Hoyle, 2008) zeigten jedoch, dass solche Effekte nicht einheitlich sind und in ihrer Ausprägung zwischen unterschiedlichen Bodentypen und Ökosystemen variieren.

Dass die Konzentrationsstufe 1, welche der Konzentration zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse bei Glucose entspricht (Beck et al., 1993), meist im unteren Drittel lag, könnte darin begründet sein, dass sie sich in einem optimalen Bereich befindet. Dass es für Glucose einen weiten Bereich optimaler Konzentration gibt, bestätigten sowohl West und Sparling (1986) als auch Pennanen et al. (2004) und es ist gut vorstellbar, dass das auch auf andere Substrate zutrifft.

Degens und Harris (1997) empfahlen ebenso wie Stevenson et al. (2004) für Mult-SIR die Verwendung einer einzigen Konzentration für alle Substrate einer Stoffgruppe (z.B. Aminosäuren), was Lalor et al. (2007) bestätigten. Campbell et al. (2003) gaben je nach angewandtem MicroRespTM-Plattenleseverfahren unterschiedliche Empfehlungen. Für das kolorimetrische Leseverfahren wurden zwei verschiedene Konzentrationen angeraten, abhängig von der Wasserlöslichkeit des Substrates, aber unabhängig der Zuordnung zu einer

bestimmten Stoffgruppe. Für das radioaktive Leseverfahren errechneten sie für jedes Substrat eine eigene Konzentration, abhängig vom erwarteten Sauerstoffverbrauch. Lalor et al. (2007) verglichen Muilt-SIR und MicroRespTM und plädierten für die Verwendung von Konzentrationen, die dem Konzentrationsbereich des im Boden gelösten organischen Kohlenstoffs entsprechen oder dem zumindest nahe kommen.

Die vorliegende Studie bestätigt einerseits die Verwendung der, für jedes einzelne Substrat optimierten Konzentration (Tabelle 3). Andererseits ist auch die Anwendung einer einheitlichen Konzentration für alle Substrate denkbar, da die Unterschiede in den CVs zwischen den Konzentrationen gering waren.

Für die Anwendung der hier vorgestellten Methode kommt einerseits die Konzentration 1 in Frage, da sie in einem Optimumsbereich liegt, und andererseits eine Konzentration, die dem gelösten organischen Kohlenstoff von Böden entspricht. In beiden Fällen sind die Kosten für die Substrate gering.

4.3 Substratvergleich

Aus dem Blickwinkel der Praktikabilität betrachtet, sind nur wenige Substrate teuer, verlangen übermäßig viele Nachmessungen aufgrund schlecht korrelierender Messwiederholungen oder erfordern Zuschnitt der Messkurven aufgrund biphasischer Kurvenverläufe (Tabelle 4). Diese Substrate können leicht gegen andere ersetzt werden.

Ein Ersatz bzw. eine Reduktion von Substraten ist dadurch abgesichert, dass es nur geringe Unterschiede in der Differenzierungskraft der einzelnen Substrate gibt (Tabelle 9).

Das durch die distanzbasierte Redundanzanalyse ermittelte Subset an Substraten enthält für den gegebenen Standortumfang nur 4 Substrate und das sind Pantothersäure, Malonsäure, Chinasäure und Threonin (Tabelle 10).

Zwei dieser Substrate, Malonsäure und Chinasäure, finden sich auch in einem von Lalor et al., (2007) mit MicroRespTM bestimmten Subset von acht Substraten zur Unterscheidung des Alters und des Reliefs von Wiederbegrünungen auf einer ehemaligen Bauxitmine.

Ein von Stevenson et al. (2004) mit Muilt-SIR ermitteltes Subset zur Unterscheidung von 20 Wiesen- und 20 Waldstandorten umfasste sechs Substrate und enthielt ebenso Chinasäure.

Wurzelexsudate kommen in allen Subsets vor. In der vorliegenden Studie sind es zwei von vier, bei Lalor et al. (2007) fünf von acht und bei Stevenson et al. (2004) drei von sechs.

Dies bestätigt, dass für Standortdifferenzierungen Wurzelexsudate wichtig sind, aber dass nicht nur diese verwendet werden sollten.

Lolar et al. (2007) nannten als Empfehlung Makromoleküle und Aromaten der Humifikation und Dekomposition.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei allen Grundstückseigentümern, beim Institut für Waldökologie für die Unterstützung bei der Durchführung der chemischen Bodenanalysen und natürlich beim Institut für Zoologie, das mir das Labor inkl. aller Geräte und des gesamten Materials zur Verfügung gestellt hat.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer für die ausgezeichnete Begleitung durch alle Phasen der Erstellung dieser Diplomarbeit.

Literaturverzeichnis

Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.-H., 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*. 59, 143-169.

Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 10, 215-221.

Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008a. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. Primer-E Ltd, Plymouth

Beck, T., Öhlinger, R., Baumgarten, A., 1993. Bestimmung der Biomasse mittels substratinduzierter Respiration (SIR). In: Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin R. (Ed.), *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer-Verlag, Berlin, 2. Auflage, 68-72.

Benedetti, A., Dilly, O., 2006. Introduction. In: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (Ed.), *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. CAB International, Wallingford, 3-14.

Bridge, P., Spooner, B., 2001. Soil fungi: Diversity and detection. *Plant and Soil* 232, 147-154.

Campbell, C.D., Grayston, S.J., Hirst, D.J., 1997. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon soured tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods* 30, 33-41.

Campbell, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S., Potts, J.M., 2003. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied Environmental Microbiology* 69, 3593-3599.

Černohlávková, J., Jarkovský, J., Hofman, J., 2009. Effects of fungicides mancozeb and dinocap on carbon and nitrogen mineralization in soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 80-85.

Chapman, S.J., Campell, C.D., Artz, R.R.E., 2007. Assessing CLPPs using MicroResp™ - A Comparison with Biolog and multi-SIR. *Journal of Soils and Sediments* 7, 406-410.

Dalenberg, J.W., Jager, G., 1989. Priming effect of some organic additions to ¹⁴C-labelled soil. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 443-448.

Degens, B.P., 1998a. Microbial functional diversity can be influenced by the addition of simple organic substrates to soil. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 1981-1988.

Degens, B.P., 1998b. Decreases in microbial functional diversity do not result in corresponding changes in decomposition under different moisture conditions. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 1989-2000

- Degens, B.P., Harris, J.A., 1997. Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 29, 1309-1320.
- De Nobili, M., Contin, M., Mondini, C., Brookes, P.C., 2001. Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 1163-1170.
- Delvaux, B., Strebl, F., Maes, E., Herbillon, A.J., Brahy, V., Gerzabek, M., 2004. An Andosol–Cambisol toposequence on granite in the Austrian Bohemian Massif. *Catena* 56, 31-43.
- Europäische Kommission, 2002. C.4. Determination of 'ready' Biodegradability. Joint Research Center. Institute for Health and Consumer Protection. Annex 5 <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/testing-methods/> Zugriff: 20. Februar 2008
- Garland, J.L., Mills, A.L., 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied Environmental Microbiology* 57, 2351-2359.
- Graham, M.H., Haynes, R.J., 2005. Catabolic diversity of soil microbial communities under sugarcane and other land uses estimated by Biolog and substrate-induced respiration methods. *Applied Soil Ecology* 29, 155-164.
- Griffiths, B.S., Ritz, K., Ebbelwhite, N., Dobson, G., 1999. Soil microbial community structure: Effects of substrate loading rates. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 145-153.
- Hamer, U., Marschner, B., 2005. Priming effects in different soil types induced by fructose, alanine, oxalic acid and catechol additions. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 445-454.
- Hackl, E., Bachmann, G., Zechmeister-Boltenstern, S., 2004. Microbial nitrogen turnover in soils under different types of natural forest. *Forest Ecology and Management* 188, 101-112.
- Hoyle, F.C., Murphy, D.V., Brookes, P.C., 2008. Microbial response to the addition of glucose in low-fertility soils. *Biology and Fertility of Soils* 44, 571-579.
- Hugenholtz, P., Goebel, B.M., Pace, N.R., 1998. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*. 180, 4765-4774.
- Konopka, A., Oliver, L., Turco Jr., R.F., 1998. The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. *Microbial Ecology* 35, 103-115.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift* 15, 259-263.
- Lichtenecker, A., Bassler, G., Karrer, G., 2003a. Klassifikation des Extensivgrünlandes (Feuchtwiesen, Moore, Bürstlingrasen und Halbtrockenrasen) im Zentralraum des Waldviertels. *Wissenschaftliche Mitteilungen Niederösterreichisches Landesmuseum* 15, 7-48.

- Lichtenecker, A., Bassler, G., Karrer, G., 2003b. Klassifikation der Wirtschaftswiesen (Arrhenatheretalia) im Zentralraum des Waldviertels. *Wissenschaftliche Mitteilungen Niederösterreichisches Landesmuseum* 15, 49-84.
- Lalor, B.M., Cookson, W.R., Murphy, D.V., 2007. Comparison of two methods that assess soil community level physiological profiles in a forest ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 454-462.
- Myers, R.T., Zak, D.R., White, D.C., Peacock, A., 2001. Landscape –level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 65, 359-367.
- Öhlinger, R., 1993a. Bestimmung der maximalen Wasserkapazität im Laborversuch. In: Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin R. (Ed.), *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer-Verlag, Berlin, 2. Auflage, 345.
- Öhlinger, R., 1993b. Probenahme. In: Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margesin R. (Ed.), *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer-Verlag, Berlin, 2. Auflage, 8-12.
- Pennanen, T., Caul, S., Daniell, T.J., Griffiths, B.S., Ritz, K., Wheatley R.E., 2004. Community-level responses of metabolically-active soil microorganisms to the quantity and quality of substrate inputs. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 841-848
- Platen, H., Wirtz, A., 1998. *Applikationen zur Analytik Nr.1-3*. Fachhochschule Gießen-Friedberg. Gießen
- Preston-Meffham, J., Boddy, L., Randerson, P.F., 2002. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – A critique. *FEMS Microbiology Ecology* 42, 1-14.
- Ramsey, P.W., Rillig, M.C., Feris, K.P., Holben, W.E., Gannon, J.E., 2006. Choice of methods for soil community analysis: PLFA maximizes power compared to CLPP and PCR-based approaches. *Pedobiologia* 50, 275-280.
- Sadaka, S.S., Richard, T.L., Loecke, T.D., Liebman, M., 2004. Determination of compost respiration rates using pressure sensors. *ASAE Annual International Meeting 2004*, 7625-7638.
- Sarrocco, S., Gambineri, F., Magneschi, L., Valentini, G., Vanacci, G., 2008. Growth evaluation of an antagonistic *Trichoderma virens* isolate by using a BOD OxiTop® respirometric apparatus. *Journal of General and Applied Microbiology* 54, 311-315.
- Schmidt, S.K., Gier, M.J., 1990. Coexisting bacterial populations responsible for multiphasic mineralization kinetics in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 2692-2697.
- Shen, J., Bartha, R., 1996. Priming effect of substrate addition in soil-based biodegradation tests. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 1428-1430.

Stevenson, D.A., Sparling, G.P., Schipper, L.A., Degens, B.P., Duncan, L.C., 2004. Pasture and forest soil microbial communities show distinct patterns in their catabolic respiration responses at a landscape scale. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 49-55.

Taok, M., Cochet, N., Pauss, A., Schoefs, O., 2007. Monitoring of microbial activity in soil using biological oxygen demand measurement and indirect impedancemetry. *European Journal of Soil Biology*, 43, 335-340.

Vähöja, P., Roppola, K., Välimäki, I., Kuokkanen, T., 2005. Studies of biodegradability of certain oils in forest soil as determined by the respirometric BOD OxiTop method. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 85, 1065-1073.

West, A.W., Sparling, G.P., 1986. Modifications to the substrate-induced respiration method to permit measurement of microbial biomass in soils of differing water contents. *Journal of Microbiological Methods* 5, 177-189.

Wu, J., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1993. Formation and destruction of microbial biomass during the decomposition of glucose and ryegrass in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 25, 1435-1441.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Standort- und Bodeneigenschaften einer Untersuchung zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. Bodentyp des Waldes 1 nach Delvaux et al. (2004), Bodentypen und Pflanzengesellschaften der Wälder 2 bis 5 nach Hackl et al. (2004), und der Wiesen nach Lichtenecker et al. (2003a, 2003b), Bodentypen der Äcker nach der Österreichischen Bodenkarte 1:25.000, BI 19-4N, die Kulturen nach unveröffentlichten Aufzeichnungen, Bodentypen in der Klassifikation der World Reference Base for Soil Resources (WRB), alle anderen Werte sind eigene Messungen, n.d. – unter der Nachweisgrenze. Field: Feld, Grass: Wiese, ForMin: Wald Mineralboden, ForHum: Wald Humusaufgabe	10
Tabelle 2: Auflistung der zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP verwendeten Substrate und ihrer Abkürzungen	13
Tabelle 3: Auflistung der zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP verwendeten Substrate mit den optimierten Konzentrationen	22
Tabelle 4: Praktikabilität der zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP verwendeten Substrate, bewertet nach den Kriterien Preis, Anzahl der nötigen Nachmessungen aufgrund schlecht korrelierende Messwiederholungen und Geradlinigkeit der Messkurven, denn biphasische Kurven verlangen individuellen Zuschnitt jeder einzelnen Kurve.	26
Tabelle 5: Zwei Diversitäts-Indizes, welche die Evenness der Substrataktivitäten der Standorte in einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP beschreiben	27
Tabelle 6: Erklärungsgrad der Achsen einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP. %Variation: Beitrag der Achse zur Gesamtvariation, Cum%Variation: kumulative Beiträge der Achsen	28
Tabelle 7: Overall-Test (PERMANOVA) zur Differenzierung der Standorte nach ihrem Landnutzungssystem mittels optimiertem CRP, df: Anzahl der Freiheitsgrade, SS: Quadratsumme, MS: Mittlere Quadratsumme, Pseudo-F: Teststatistik, P(perm): Signifikanzniveau, Unique perms: Anzahl der zur Testberechnung verwendeten Permutationen	28
Tabelle 8: Paarweise Einzelvergleiche (PERMANOVA) von jeweils zwei Landnutzungen einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP. t: Teststatistik, alle anderen Abkürzungen siehe Tabelle 1 bzw. Tabelle 7	29
Tabelle 9: Anhand distanzbasierter Redundanzanalyse (DistLM) ermittelte Beiträge der einzelnen Substrate zur Erklärung der Variabilität der Standorte einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP. Variable: Substrat, Prop.: Beitrag der Variablen zur Variation. weitere Abkürzungen siehe Tabelle 2 bzw. Tabelle 7	30
Tabelle 10: Stepwise Selection einer distanzbasierten Redundanzanalyse (DistLM) mit dem modifizierten Akaike Information Criterion (AICc) als Auswahlkriterium einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP. Variable: Substrate, die schrittweise in das Modell aufgenommen (+) bzw. wieder aus diesem entfernt (-) wurden, Prop.: Beitrag der Variablen zur Variation, Cumul.: kumulative Beiträge der Variablen, res.df: Rest-Freiheitsgrade, weitere Abkürzungen siehe Tabelle 2 bzw. Tabelle 7	31
Tabelle 11: Gegenüberstellung der Anteile der einzelnen Achsen an der Erklärung der Varianz des Modells und der Erklärung der Gesamtvariation einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP	31

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links oben: Feld 1, rechts oben: Feld 2, links unten: Feld 3, rechts unten: Feld 4.....	6
Abbildung 2: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links oben: Feld 5, rechts oben: Wiese 1, links unten: Wiese 2, rechts unten: Wiese 3.....	7
Abbildung 3: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links oben: Wiese 4, rechts oben: Wiese 5, links unten: Wald 2, rechts unten: Wald 3.....	8
Abbildung 4: Standortbilder einer Studie zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP. links: Wald 4, rechts: Wald 5.....	9
Abbildung 5: Das zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP verwendete OxiTop®-C System. links: Messeinheit, bestehend aus Messkopf mit Gummiring, Einmachglas und Gefäß mit CO ₂ -Absorber, rechts: Fernbedienung.....	14
Abbildung 6: Druckverlauf der beiden Messwiederholungen (blau und rot) der Humusaufgabe des Waldes 2 mit dem Substrat Mannose in der Konzentration 1/25 für die Konzentrationsoptimierung und spätere Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP.....	15
Abbildung 7: Druckverlauf der beiden Messwiederholungen (blau und rot) der Humusaufgabe des Waldes 3 mit dem Substrat Urocansäure bei der Konzentrationsstufe 25 für die Konzentrationsoptimierung und spätere Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP.....	16
Abbildung 8: Differenzierung der Standorte mittels Hauptkomponentenanalyse anhand der chemischen Bodeneigenschaften und des Bodentyps einer Studie zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP. Abkürzungen siehe Tabelle 1.....	20
Abbildung 9: Variationskoeffizienten (CV) von 21 Substraten in 5 Konzentrationsstufen zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP.....	23
Abbildung 10: CVs von 22 weiteren Substraten in 5 Konzentrationsstufen zur Differenzierung von Standorten mittels optimiertem CRP.....	24
Abbildung 11: Graphische Darstellung einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP anhand der Atmungsantworten auf 44 Substrate. Abkürzungen siehe Tabelle 1.....	32
Abbildung 12: Graphische Darstellung der nicht-metrischen multi-dimensionalen Skalierung der Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP anhand der Atmungsantworten auf 44 Substrate. Abkürzungen siehe Tabelle 1.....	33
Abbildung 13: Graphische Darstellung einer distanzbasierten Redundanzanalyse (DistLM) mit den Auswahlkriterien stepwise und AICc zur Standortdifferenzierung mittels optimiertem CRP anhand der Atmungsantworten der Substrate Pantothensäure, Malonsäure, Chinasäure und Threonin. Abkürzungen siehe Tabelle 1.....	34