

# **Untersuchungen zur Ursache und Behebung der Bodenmüdigkeit in Rebschulen**

Inaugural Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde des Fachbereichs Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Dirk Kaließ**

Berlin, Juli 2008

1. Gutachter: Prof. Dr. RUDOLF K. ACHAZI

2. Gutachter: Prof. Dr. RUPERT MUTZEL

Disputation am 10.09.2008

## Inhalt

Anhangsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	XI
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Definition und Charakterisierung der Bodenmüdigkeit</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Ursachen der Bodenmüdigkeit</b>	<b>2</b>
1.2.1 Allgemeine und unspezifische Ursachen	2
1.2.2 Chemische und biologische Ursachen	3
1.2.2.1 <i>Toxintheorie</i>	3
1.2.2.2 <i>Mikroorganismentheorie</i>	4
1.2.2.3 <i>Wirkungen von Mikroorganismen und Toxinen bei der Weinrebe</i>	5
<b>1.3 Maßnahmen zur Vermeidung der Bodenmüdigkeit</b>	<b>8</b>
1.3.1 Physikalische und chemische Maßnahmen	8
1.3.2 Biologische Maßnahmen	9
<b>1.4 Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit</b>	<b>18</b>
<b>1.5 Zielsetzung</b>	<b>19</b>
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>21</b>
<b>2.1 Chemikalien und Enzyme</b>	<b>21</b>
<b>2.2 Nährmedien und Puffer</b>	<b>22</b>
2.2.1 Nährmedien	22
2.2.2 Puffer	23
<b>2.3 Biologisches Material</b>	<b>24</b>
2.3.1 Pflanzenmaterial	24
2.3.2 Herkunft und Charakterisierung der Versuchsböden	24
2.3.3 Eingesetzte Inokula	25

<b>2.4 Durchführung der Pflanzversuche</b>	<b>27</b>
2.4.1 Beschreibung der Versuchsanordnung	27
2.4.2 Pflanzung der Rebenstecklinge	28
2.4.3 Inokulumapplikation	29
2.4.4 Versuchsbedingungen und Pflanzenpflege	29
2.4.5 Pflanzenwachstum und Biomassebestimmung	30
2.4.3.1 <i>Messung des Triblängenwachstum</i>	30
2.4.3.2 <i>Bestimmung der Trockensubstanzproduktion</i>	30
<b>2.5 Durchführung der Mineralstoffanalysen</b>	<b>31</b>
2.5.1 Mikro- und Makronährstoffe in den Weinreben	31
2.5.2 Mikro- und Makronährstoffe in den Versuchsböden	31
2.5.2.1 <i>Gesamtgehalte der Nährelemente im Boden</i>	31
2.5.2.2 <i>Pflanzenverfügbare Gehalte an Nährelementen im Boden</i>	32
<b>2.6 Mikrobiologische Untersuchungsmethoden</b>	<b>32</b>
2.6.1 Quantitative Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades der Rebwurzeln	32
2.6.1.1 <i>Probenahme</i>	32
2.6.1.2 <i>Anfärben der arbuskulären Mykorrhizapilze</i>	32
2.6.1.3 <i>Bestimmung des AM-Infektionsgrades</i>	33
2.6.2 Qualitativer und quantitativer Nachweis ausgewählter Bakteriengruppen in Wurzel- und Bodenproben	33
2.6.2.1 <i>Probenahme</i>	33
2.6.2.2 <i>Gewinnung und Lagerung von Boden- und Wurzelextrakten</i>	34
2.6.2.3 <i>Herstellung selektiver Nährböden</i>	34
2.6.2.4 <i>Kultivierung und Differenzierung der Bakteriengruppen</i>	35
<b>2.7 Enzymatische Untersuchungsmethoden</b>	<b>35</b>
2.7.1 Bestimmung der mikrobiellen Dehydrogenase-Aktivität (DHA) in den Versuchsböden	35
2.7.1.1 <i>Probenahme</i>	36
2.7.1.2 <i>Extraktion der Dehydrogenase und Messung der DHA</i>	36
2.7.1.3 <i>Berechnung der Messergebnisse</i>	37
2.7.2 Messung der Peroxidase-Aktivität in den Weinreben	37
2.7.2.1 <i>Probenahme und Lagerung des Pflanzenmaterials</i>	37

2.7.2.2	Extraktion der Peroxidase (POD) aus Wurzeln und Blätter	37
2.7.2.3	Photometrische Bestimmung der POD-Aktivität	38
2.7.3	Messung der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Weinreben	38
2.7.3.1	Probenahme und Lagerung des Pflanzenmaterials	39
2.7.3.2	Extraktion der Polyphenoloxidase (PPO) aus Wurzeln und Blätter	39
2.7.3.3	Photometrische Bestimmung der PPO-Aktivität	39
<b>2.8</b>	<b>Statistische Methoden</b>	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>41</b>
<b>3.1</b>	<b>Trockensubstanzproduktion, Triblängenwachstum und Anwuchsrate von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB</b>	<b>41</b>
3.1.1	Trockensubstanzproduktion	41
3.1.2	Triblängenwachstum	47
3.1.3	Anwuchsrate der Holzstecklinge	52
<b>3.2</b>	<b>Mikro- und Makronährstoffgehalte in den Rebpflanzen und den Versuchsböden</b>	<b>54</b>
3.2.1	Mineralstoffgehalte in den Rebpflanzen	54
3.2.2	Pflanzenverfügbare Mineralstoffgehalte in den Versuchsböden	59
<b>3.3</b>	<b>AM-Infektionsgrad der Wurzeln von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB</b>	<b>63</b>
<b>3.4</b>	<b>Anzahl und Verteilung der „Colony Forming Units“ ausgewählter <i>Pseudomonas</i>-Gruppen in Wurzel- und Bodenproben</b>	<b>67</b>
3.4.1	Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFUs) ausgewählter <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in der Rhizosphäre und der Rhizoplane von Rebwurzeln	67
3.4.2	Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFUs) ausgewählter <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in wurzelfernen Boden nach Anzucht von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB	72
3.4.3	Einfluss der Inokulationen mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die prozentualen Anteile der „Colony Forming Units“ von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen innerhalb der Behandlungen	76
3.4.4	Bestimmung des Boden-Wurzel-Verhältnisses der „Colony Forming Units“ von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen	81

<b>3.5</b>	<b>Mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in den Versuchsböden</b>	<b>83</b>
<b>3.6</b>	<b>Enzymaktivitäten in den Rebpflanzen</b>	<b>89</b>
3.6.1	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen	89
3.6.2	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Polyphenoloxidaseaktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen	92
<b>3.7</b>	<b>Zusammenfassung ausgewählter Ergebnisse</b>	<b>96</b>
<b>3.8</b>	<b>Korrelationsanalytische Betrachtung der Versuchsergebnisse</b>	<b>101</b>
3.8.1	Korrelationen zwischen Trockensubstanzproduktion der Rebpflanzen und Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen	101
3.8.2	Korrelationen zwischen Trockensubstanzproduktion und Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen	104
3.8.3	Korrelationen zwischen Trockensubstanzproduktion und Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen	105
3.8.4	Korrelationen zwischen der Peroxidase-Aktivität in den Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in den Wurzelproben	106
3.8.5	Korrelationen zwischen der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in Wurzelproben	108
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>110</b>
4.1	<b>Biomasseproduktion und Wachstum der Rebpflanzen</b>	<b>110</b>
4.2	<b>Mikro- und Makronährstoffgehalte der Rebpflanzen und Versuchsböden</b>	<b>113</b>
4.3	<b>Populationsdichte und Verteilung von Pseudomonaden an Rebwurzeln und in den Versuchsböden</b>	<b>116</b>
4.4	<b>Enzymaktivitäten in den Rebpflanzen</b>	<b>122</b>
4.5	<b>Statistische Prüfung auf biologische Zusammenhänge</b>	<b>125</b>

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung / Summary</b>	<b>127</b>
<b>6</b>	<b>Ausblick</b>	<b>136</b>
<b>7</b>	<b>Literatur</b>	<b>138</b>
	<b>Anhang</b>	<b>159</b>

## Anhangsverzeichnis

<b>Anhang Ergebnisse</b>	<b>160</b>
Tab. A1: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „rebmüdem“ Boden	160
Tab. A2: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „rebmüdem“ Boden	161
Tab. A3: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „nicht-rebmüdem“ Boden	162
Tab. A4: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „nicht-rebmüdem“ Boden	163
Tab. A5: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Mikronährstoffen in „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpflanzen der Unterlagssorte 5BB	164
Tab. A6: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Makronährstoffen in „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpflanzen der Unterlagssorte 5BB	165
Tab. A7: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 2. und 3. Vegetationsversuch nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden	166
Tab. A8: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden des 2. und 3. Vegetationsversuchs nach 10 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB	167
Tab. A9: Boden-Wurzel-Verhältnis der CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen auf „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB	168
<b>Danksagung</b>	<b>170</b>



## Abkürzungsverzeichnis

AM	arbuskuläre Mykorrhiza
AMP	arbuskulärer Mykorrhizapilz
ANOVA	One Way Analysis Of Variance
bzw.	beziehungsweise
Ca	Calcium
CFU	Colony Forming Unit
Cu	Kupfer
d	Tag
dest.	destilliert
DHA	Dehydrogenaseaktivität
DRB	Deleterious Rhizobacteria
DTPA	Diäthylentriaminpentaessigsäure
E	Extinktion
Fe	Eisen
FS	Frischsubstanz
h	Stunde
INF	Iodonitrotetrazoliumformazan
INT	2-p-Iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-tetrazolium-chlorid
ISR	Induced Systemic Resistance
K	Kalium
konz.	konzentriert
$\lambda$	Wellenlänge
Lsg.	Lösung
LW	Leitungswasser
M	Molar
Mg	Magnesium
min	Minute
Mn	Mangan

n	Anzahl der Wiederholungen
n. b.	nicht bestimmt
o. g.	oben genannt
P	Phosphor
p. a.	per analysis
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
POD	Peroxidaseaktivität
PPO	Polyphenoloxidaseaktivität
pv.	pathovar
r	Korrelationskoeffizient
RT	Raumtemperatur
SAR	Systemic Acquired Resistance
SARD	Specific Apple Replant Disease
SD	Standardabweichung
SNK	Student-Newman-Keuls-Test
s. o.	siehe oben
TS	Trockensubstanz
u. a.	unter anderem
U x min <sup>-1</sup>	Umdrehungen pro Minute
Veg.	Vegetation
v/v	Volumenprozent
w/w	Massenprozent
z. B.	zum Beispiel
Zn	Zink

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch auf „rebmüdem“ Boden	48
Abb. 2:	Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch auf „rebmüdem“ Boden	48
Abb. 3:	Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch auf „rebmüdem“ Boden	49
Abb. 4:	Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch auf „nicht-rebmüdem“ Boden	50
Abb. 5:	Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch auf „nicht-rebmüdem“ Boden	51
Abb. 6:	Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch auf „nicht-rebmüdem“ Boden	51
Abb. 7:	AM -Infektionsgrad von Reb­wurzeln der Unterlagssorte 5BB in „rebmüdem“ Boden nach 10-wöchiger Vegetationsdauer; prozentualer Anteil an der Wurzellänge; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	64
Abb. 8:	AM -Infektionsgrad von Reb­wurzeln der Unterlagssorte 5BB in „rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Vegetationsdauer; prozentualer Anteil an der Wurzellänge; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	65
Abb. 9:	AM -Infektionsgrad von Reb­wurzeln der Unterlagssorte 5BB in „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Vegetationsdauer; prozentualer Anteil an der Wurzellänge; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	66
Abb. 10:	CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	68
Abb. 11:	CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	69
Abb. 12:	CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	69
Abb. 13:	CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden im 1. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	73
Abb. 14:	CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test, $p \leq 0,05$ )	73

- Abb. 15: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ ) 74
- Abb. 16: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 1. Vegetationsversuch während der 16-wöchigen Versuchsdauer 84
- Abb. 17: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch während der 16-wöchigen Versuchsdauer 84
- Abb. 18: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 1. Vegetationsversuch nach 4 Wochen Wachstumsdauer; „unbeh.“: Ausgangsboden ohne Bewuchs; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ ) 85
- Abb. 19: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch nach 4 Wochen Wachstumsdauer; „unbeh.“: Ausgangsboden ohne Bewuchs; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ ) 86

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Chemische und physikalische Eigenschaften der Versuchsböden	25
Tab. 2:	Nährstoffgehalte der Versuchsböden	25
Tab. 3:	Stoffwechselphysiologische Eigenschaften von <i>P. fluorescens</i> RA56	26
Tab. 4:	Versuchsanordnung des ersten Vegetationsversuchs	27
Tab. 5:	Versuchsanordnung des zweiten bzw. dritten Vegetationsversuchs	28
Tab. 6:	Schema der Bodenprobeentnahmen für die DHA – Bestimmungen	36
Tab. 7:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 2. Vegetationsversuch	42
Tab. 8:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 3. Vegetationsversuch	42
Tab. 9:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 1. Vegetationsversuch	43
Tab. 10:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 2. Vegetationsversuch	44
Tab. 11:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 3. Vegetationsversuch	44
Tab. 12:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“: 1. Vegetationsversuch	45
Tab. 13:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“: 2. Vegetationsversuch	46
Tab. 14:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“: 3. Vegetationsversuch	46
Tab. 15:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf das Triblängenwachstum der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden	49
Tab. 16:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf das Triblängenwachstum der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden	52
Tab. 17:	Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Anwuchsrate der Holzstecklinge (Unterlagssorte 5BB) auf „rebmüdem“ Boden	53

Tab. 18: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Anwuchsrate der Holzstecklinge (Unterlagssorte 5BB) auf „nicht-rebmüdem“ Boden	53
Tab. 19: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Blättern von Rebpfanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „rebmüdem“ Boden	55
Tab. 20: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Blättern von Rebpfanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „rebmüdem“ Boden	56
Tab. 21: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Blättern von Rebpfanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „nicht-rebmüdem“ Boden	57
Tab. 22: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Blättern von Rebpfanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „nicht-rebmüdem“ Boden	58
Tab. 23: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Mikronährstoffen in „rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpfanzen der Unterlagssorte 5BB	60
Tab. 24: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Makronährstoffen in „rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpfanzen der Unterlagssorte 5BB	61
Tab. 25: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden	70
Tab. 26: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden	71
Tab. 27: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden	71
Tab. 28: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen im wurzelfernen „nicht-rebmüdem“ Boden im 1. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB	75
Tab. 29: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen im wurzelfernen „nicht-rebmüdem“ Boden im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB	75
Tab. 30: CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen im wurzelfernen „nicht-rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB	76
Tab. 31: Prozentuale Anteile der „Colony Forming Units“ von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Rebwurzeln nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB auf „rebmüdem“ Boden	77
Tab. 32: Prozentuale Anteile der „Colony Forming Units“ von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in wurzelfernen „rebmüden“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB	78
Tab. 33: Prozentuale Anteile der „Colony Forming Units“ von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen an Rebwurzeln nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB auf „nicht-rebmüdem“ Boden	79

Tab. 34: Prozentuale Anteile der Colony Forming Units von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in wurzelfernen „nicht-rebmüden“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB	80
Tab. 35: Boden-Wurzel-Verhältnis der CFUs von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen auf „rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB	82
Tab. 36: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB	87
Tab. 37: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB	88
Tab. 38: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden	90
Tab. 39: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden	91
Tab. 40: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden	92
Tab. 41: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Polyphenoloxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden	93
Tab. 42: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Polyphenoloxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden	94
Tab. 43: Einfluss der Inokulation mit <i>P. fluorescens</i> RA56 und <i>G. intraradices</i> (AM) auf die Polyphenoloxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden	95
Tab. 44: Prozentuale Änderung der Biomasse, der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFUs) und der Enzymaktivitäten in den Weinreben im Vergleich zur Kontrolle nach 10 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen (5BB) auf „müdem“ Boden (10-Wochen-Versuch)	97
Tab. 45: Prozentuale Änderung der Biomasse, der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFUs) und der Enzymaktivitäten in den Weinreben im Vergleich zur Kontrolle nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen (5BB) auf „müdem“ Boden	98
Tab. 46: Prozentuale Änderung der Biomasse, der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFUs) und der Enzymaktivitäten in den Weinreben im Vergleich zur Kontrolle nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen (5BB) auf „nicht-müdem“ Boden	100
Tab. 47: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen der Rebpfanzen der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ Boden und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in Wurzel- und Bodenproben	102

Tab. 48: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen der Rebpflanzen der 1., 2. und 3. Vegetationsversuche nach 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ Boden und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in Wurzel- und Bodenproben	102
Tab. 49: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen der Rebpflanzen der 1., 2. und 3. Vegetationsversuche nach 16 Wochen Wachstumsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in Wurzel- und Bodenproben	103
Tab. 50: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen (TS) und der Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden	105
Tab. 51: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen (TS) und der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden	106
Tab. 52: Korrelationen zwischen der Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in Wurzelproben der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden	107
Tab. 53: Korrelationen zwischen der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von <i>Pseudomonas</i> -Gruppen in Wurzelproben der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden	109





## 1 Einleitung

Die Erzeugung von Rebenpflanzgut erfolgt vegetativ durch Stecklingsvermehrung. Hierbei werden die Edelreißer zum Schutz vor der wurzelparasitierenden Reblaus (*Phylloxera vastatrix*, Planch) auf widerstandsfähige Unterlagen gepfropft. Die Produktion der Pfropfreben wird in Rebschulen durchgeführt. Auf diesen speziellen Ackerflächen wird das Rebenpflanzgut von April / Mai bis zum Laubfall und Abschluss der Holzreife im Oktober / November kultiviert.

### 1.1 Definition und Charakterisierung der Bodenmüdigkeit

Bodenmüdigkeit ist der durch wiederholten Anbau eintretende Verlust der Eignung eines Bodens, einer bestimmten oder ähnlich wirkenden Pflanzenart als Substrat zu dienen, dessen Ursache nicht bekannt, aber pflanzenspezifisch ist (KLAUS, 1939). Bei Äpfeln, Weinreben, Pfirsichen und vielen anderen Kulturpflanzen führt ein artgleicher Nachbau zu verringerten Wuchs- und Ertragsleistungen sowie zu einer Anreicherung von phytopathogenen Mikroorganismen im Boden (HINE, 1961; DEAL ET AL., 1972; TRAQUAIR, 1984a; MAZZOLA, 1998). Diese, auch als Selbstunverträglichkeit bezeichnete Erscheinung, kann durch eine Fülle unterschiedlicher Faktoren verursacht werden. Das Phänomen der Bodenmüdigkeit kann von Fall zu Fall durch ein unterschiedliches Erscheinungsbild gekennzeichnet sein. Hierzu gehören stark reduziertes Sprosswachstum mit bis zu völligem Einstellen des Längenwachstums und Rosettenstadiumbildung bei einjährigen Sämlingen, deutlich reduziertes Wurzelwachstum und borstiges, stark verbräuntes Aussehen der Faserwurzeln (BRINKER & CREASY, 1988). Als wichtigstes Merkmal der Bodenmüdigkeit ist deren Persistenz zu nennen. Die Bodenmüdigkeit kann über viele Jahre in ihrer Wirkung im Boden erhalten bleiben. So haben OTTO & WINKLER (1989) Bodenmüdigkeitserscheinungen nach einer nachgewiesenen Anbaupause für Äpfel von dreißig Jahren festgestellt.

In Rebschulen führt die drei- bis viermalige Nutzung einer Fläche in Abhängigkeit vom Bodencharakter im artgleichen Nachbau zu Wachstumsdepressionen der Rebpflanzen. Auch hier ist eine jahrelang anhaltende Persistenz der Rebenmüdigkeit in den betroffenen Böden zu beobachten. Die Bodenmüdigkeit ist streng auf die

Fläche begrenzt, auf der ein art- oder gattungsgleicher Anbau erfolgt ist und tritt in der Regel ganzflächig auf. Ein weiterer Aspekt ist die schon im Jahre 1935 von KEMMER (1935) beschriebene Umkehrbarkeit der Bodenmüdigkeit. Danach weisen Gehölze, die von einem müden auf einen nicht-müden Standort verpflanzt werden, nach kurzer Zeit ein völlig normales Wachstum auf. Ist dagegen auch nach einer Anbaupause und Zwischennutzung durch andere Kulturpflanzen die Wiederbepflanzung einer Fläche ohne negative Auswirkungen nicht möglich, liegt ein besonders schwerer Fall von Bodenmüdigkeit vor.

## **1.2 Ursachen der Bodenmüdigkeit**

### **1.2.1 Allgemeine und unspezifische Ursachen**

Über die Ursachen der Bodenmüdigkeit bestanden und bestehen bis heute sehr unterschiedliche Auffassungen. In der Vergangenheit wurden Veränderungen von bodenphysikalischen und bodenchemischen Faktoren und einseitige Beanspruchung des Nährstoffhaushaltes eines Bodens als Auslöser dieses Nachbauproblems diskutiert. Beide können nach heutigem Wissensstand als Ursachen ausgeschlossen werden, da andere Pflanzenarten und -gattungen auf diesen Böden im Gegensatz zum artgleichen Nachbau ein völlig normales Wachstum zeigen. Allerdings erwiesen sich Böden mit einer feinen Textur und einem hohen Anteil an organischer Substanz als besonders anfällig für die Entwicklung von Bodenmüdigkeit (MOSER, 1963).

Bei den Ursachen der Nachbauschäden kann es sich neben vorgenannten Faktoren auch um spezifische oder unspezifische Schaderreger handeln. Im Obstbau, in Rebschulen und in Baumschulen sind vielfach Nachbauschäden bekannt, die z. B. durch eine starke Populationsentwicklung von Nematoden im Boden und allgemeine Begleiterscheinungen im Nachbau in Form einer Anreicherung von Schaderregern ausgelöst werden. Detaillierte Studien zur Bodenmüdigkeit bei Äpfeln in Australien und den USA weisen darauf hin, dass verschiedene bodenbürtige pilzliche Pathogene und pflanzenpathogene Nematoden als Auslöser der Nachbauprobleme in Frage kommen (JAFFEE ET AL., 1982; DULLAHIDE ET AL., 1994; MAZZOLA, 1998). Pflanzen parasitierende Nematoden wurden öfter mit verringerten Wachstum junger Weinreben in Verbindung gebracht (MCKENRY ET AL., 1994). Nematoden wie z.B.

*Pratylenchus penetrans* kommen aber wahrscheinlich als Ursache nicht in Betracht, da sie über einen sehr umfangreichen Wirtspflanzenkreis verfügen und somit zu den unspezifischen Schaderregern im Nachbaufall zu zählen sind. Darüber hinaus führte die Behandlung eines rebmüden Bodens einer Rebschule mit dem zur Nematodenbekämpfung bis 1987 in Europa zugelassenen Präparats „Terabol“ (Methylbromid) nur kurzfristig zu verbessertem Rebenwachstum (WASCHKIES, 1992). Die Wirksamkeit von Methylbromid konnte in vielen Fällen bei der Bekämpfung der Bodenmüdigkeit nachgewiesen werden (MAI & ABAWI, 1981). Aufgrund des Verbotes dieser Wirksubstanz wurde nach Alternativen geforscht. Als Ergebnis dieser Forschungen wurde alternativ Methyljodid erfolgreich bei der Bekämpfung der Nachbaukrankheit in Pfirsichkulturen eingesetzt (EAYRE ET AL., 2000). Zur Vermeidung der Schädigung von Rebpflanzen durch Nematoden ist deren Anbau in Deutschland gesetzlich nur auf als Nematoden frei ausgewiesenen Flächen erlaubt.

## 1.2.2 Chemische und biologische Ursachen

### 1.2.2.1 Toxintheorie

PATRICK (1955) beobachtete bei Untersuchungen über die Pfirsichmüdigkeit, dass durch mikrobielle Aktivität Benzaldehyd aus dem Amygdalin der Wurzeln freigesetzt wird und dadurch Wachstumshemmungen hervorgerufen werden können. BÖRNER (1959) stellte bei Apfelsämlingen Wachstumsdepressionen fest. Er vermutete in diesem Zusammenhang das aus den Wurzeln stammende Phlorizin, dessen Abbauprodukt Phloretin und eine weitere phenolische Substanz als Ursache der Depressionen. Weiterführende Untersuchungen von BÖRNER (1965) zeigten aber, dass die erreichbaren Konzentrationen dieser toxischen Verbindungen nicht ausreichen, um die entsprechenden Wirkungen zu erzielen. Weiterhin spricht gegen die Toxintheorie, dass die allermeisten biologisch-synthetisierten toxischen Substanzen nicht über eine ausreichende Persistenz gegen mikrobielle Abbauaktivitäten im Boden verfügen. Zudem werden nach HARTLEY & WHITEHEAD (1984) freie phenolische Säuren im Boden an amorphe Hydroxide und Tonminerale sorbiert und zu Huminstoffen polymerisiert. Weiterhin wird bezweifelt, dass solche Substanzen eine genügend hohe Spezifität bei der Wirkung auf unterschiedliche Pflanzenarten besitzen. Untersuchungen von HASSAN ET AL. (1989, 1989a, 1989b)

zur Bodenmüdigkeit bei Citrus sowie von RICE (1984) zur Allelopathie schließen aber eine Beteiligung pflanzlicher oder mikrobieller Toxine als Ursache der Bodenmüdigkeit nicht aus. Diese könnten nämlich durch physiologische Veränderungen der Rhizodermis oder Hemmung der assoziativen bzw. symbiotischen Mikroorganismen die Anfälligkeit der Wurzeln gegenüber bodenbürtigen Pathogenen erhöhen.

### 1.2.2.2 Mikroorganismentheorie

Die Mikroorganismentheorie geht von einer Veränderung des mikrobiellen Gleichgewichtes im Boden aus. Durch sie lassen sich die meisten mit der Bodenmüdigkeit verbundenen Erscheinungen am besten in Übereinstimmung bringen. Sowohl die Spezifität als auch die Persistenz können mit den von Mikroorganismen bekannten Eigenschaften ihre Erklärung finden. Betrachtungen zur Effizienz von Maßnahmen zur Beseitigung der Bodenmüdigkeit durch Bodenentseuchung sowie Bodendämpfung in den vergangenen Jahren untermauern diese Theorie, da hierdurch vorrangig neben Nematoden Bakterien betroffen sind (HEIN, 1972), während Fungizide keine Wirkung bei der Bekämpfung der Bodenmüdigkeit zeigen. Andere Autoren folgerten aus den Ergebnissen ihrer Versuche zur Bodenmüdigkeit, dass Mikroorganismen einerseits im Boden angereichert, andererseits aber auch mit den Faserwurzeln der Gehölze vergesellschaftet sein müssen (OTTO, 1972a, 1972b, 1972c, 1973; WINKLER & OTTO, 1972; WESTCOTT III ET AL., 1986). Nach Auffassung dieser Autoren kommen in erster Linie Bakterien aus der Gruppe der Actinomyceten als Ursache der „specific apple replant disease“ in Betracht. Für die Actinomyceten als Ursache für die Bodenmüdigkeit sprechen vor allem ihre Temperaturtoleranz und die Temperatur, bei der die thermische Bekämpfung der Bodenmüdigkeit den größten Erfolg hat. Der Mechanismus, durch den Actinomyceten die Bodenmüdigkeit auslösen, könnte darauf beruhen, dass sie in die Faserwurzeln von Apfelpflanzen eindringen und die Wurzelrinde und das Wurzelgewebe schädigen (OTTO, 1973; OTTO & WINKLER, 1977; und WESTCOTT III ET AL., 1986). Eine fortschreitende Vermehrung dieser Mikroorganismen führt zur Zerstörung der Wurzelrinde und die Faserwurzeln sterben ab. Nach neueren Erkenntnissen ist die Infektion der Faserwurzeln durch die wurzelpathogenen Actinomyceten auf die erste und entscheidende Wachstumsphase

der Apfelgehölze begrenzt (OTTO & WINKLER, 1993). OTTO ET AL. (1993) konnten in den Faserwurzeln höhere Infektionsraten feststellen, wenn die terminalen Vegetationspunkte aktiv und ein deutlicher Zuwachs der Neutrieblängen erfolgte. Dagegen ging bei einer Stagnation des Triebwachstums der Infektionsgrad zurück. Weiterführende Untersuchungen von OTTO ET AL. (1994) mit Phytohormonen zeigten, dass Auxin und Cytokinin den Befall förderten und Gibbelerine im Vergleich zu Kontrollpflanzen keinen Effekt auf die Infektion ausübten. Der Wirkmechanismus der Infektion durch wurzelpathogene Actinomyceten kann also durch erhöhte Syntheseraten von Phytohormonen in den terminalen Vegetationspunkten und deren Transport in die Wurzeln mit anschließender Exsudation dieser Substanzen in den Boden erklärt werden. Dort fungieren die Phytohormone direkt oder indirekt als Signalstoffe für die Aktivierung von Dauerformen der Actinomyceten und leiten somit die Infektion der Faserwurzeln ein.

Bei der Kirsche wird nach SEWELL & WILSON (1975) die Bodenmüdigkeit durch den phytopathogenen Pilz *Thielaviopsis basicola* verursacht. Allerdings muss noch der endgültige Beweis erbracht werden, dass der Anbau von Kirsche nach Kirsche in Abwesenheit von *T. basicola* auch ohne vermindertes Wachstum erfolgen kann. Als Ursache für die Bodenmüdigkeit bei Apfel schließen die Autoren o. g. Pilz aus. Andere Autoren vermuteten in phytopathogenen Pilzen wie *Pythium* und *Phytophthora* die Ursache für die Nachbauprobleme bei Obstgehölzen (SEWELL, 1981; TRAQUAIR, 1984). Eine Reihe anderer Pilze einschließlich *Mortierealla* sp., *Torulomyces lagena* und *Trichoderma hamatum* (UTKHEDE et al., 1992) sollen ebenfalls an der Schädigung von Apfelpflanzen beteiligt sein. Die Behandlung von apfelmüdem Boden mit den Fungiziden Captan und Mancozeb gegen die SARD soll nach SLYKHUIS & LI (1985) genauso effektiv sein wie die Bodenentseuchung mit Methylbromid.

#### 1.2.2.3 Wirkungen von Mikroorganismen und Toxinen bei der Weinrebe

Im Falle der Bodenmüdigkeit bei Weinreben wurden phytopathogene Pilze wie *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. und *Roesleria* spp. als Verursacher dieser Nachbaukrankheit vermutet (DEAL ET AL., 1972). Außerdem stellten CHIARAPPA (1959) und MARAIS (1979, 1980) fest, dass Oomyceten aus den Gattungen *Phytophthora*

und *Pythium* das Wurzelsystem junger Weinpflanzen in Rebschulen stark schädigen können. Andererseits konnte WASCHKIES (1992) in Rebschulen, die von Bodenmüdigkeit betroffen waren, eine signifikant erhöhte Populationsdichte von fluoreszierenden Pseudomonaden auf der Rhizoplane von jungen Weinreben nachweisen als in Rebschulen mit nicht-rebmüdem Boden. In rebmüden Boden beobachtete diese Autorin an drei Wochen alten Rebwurzeln eine zehnfach höhere Lebendkeimzahl dieser Bakterien. OLSON & BURR (1983) fanden in rebmüdem Rhizosphärenboden ebenfalls eine erhöhte Anzahl von fluoreszierenden Pseudomonaden und Actinomyceten im Vergleich zu Pflanzen auf gesundem Boden. Diese Autoren gehen von einem generellen Anstieg der Populationsdichte von fluoreszierenden Pseudomonaden an den Wurzeln bei vorhandener Bodenmüdigkeit bzw. enger Fruchtfolge aus. Dieses Phänomen wurde bei verschiedenen juvenilen Pflanzen beobachtet. CATSKA ET AL. (1982) stellten in ihren Untersuchungen fest, dass diese Bakteriengruppe an den Wurzeln von jungen Apfelsämlingen zahlreich vertreten ist, ihre Anzahl aber mit zunehmendem Alter der Pflanzen abnimmt. Diesen Effekt konnten auch GARDNER ET AL. (1984) an Citruswurzeln und ELSHERIF (1988) bei Weizen nachweisen. Sie führen diese Beobachtungen auf eine erhöhte Wurzelexsudation der juvenilen Pflanzen zurück.

Phytohormone wie Auxin, Cytokinin und Gibbelerin sind Wachstums promotoren und werden ebenso wie phytotoxische Substanzen von Bakterien in der Rhizosphäre produziert. BROWN (1972) konnte Wachstumsdepressionen durch die von Mikroorganismen produzierten Hemmstoffe an jungen Erbsenkeimlingen nachweisen. Als Beispiel wird hier das Kinetin (ein Cytokinin) genannt, ein toxischer Metabolit, der durch negative Effekte auf die Ribonucleinsäure und/oder die Proteinsynthese Chlorosen an den Pflanzen verursacht. In der Mikroflora der Erbsenkeimlinge war *Pseudomonas sp.* stark vertreten. Auf den Wurzeln älterer Pflanzen herrschten dagegen die Bakteriengruppen, die wachstumsfördernde Phytohormone wie z. B. Indolessigsäure sezernieren, vor. WITTENMAYER & SZABO (2000) fanden im Gegensatz dazu, dass die verschiedenen Phytohormone und Wachstumsregler keinen direkten oder indirekten Einfluss auf die Zusammensetzung von Wurzelauausscheidungen wie z. B. Phytohormone, organische Säuren, Kohlenhydrate und Aminosäuren / Amide nach Blattbehandlung hatten. Sie konnten zwischen Kirsch- und Apfelpflanzen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der

Abscheidung der geprüften Wirkstoffe feststellen. Nur bei einer Applikation von Auxin und Abscisinsäure kam es zu einer verstärkten Abgabe von Zuckeralkoholen wie Mannitol und Sorbitol. Diese Kohlenhydrate dienen Actinomyceten als Kohlenstoffquelle und üben somit einen positiven Effekt auf die Wachstumsbedingungen dieser Mikroorganismen aus.

Die Förderung oder Hemmung des Pflanzenwachstums ist keine *Pseudomonas spp.* spezifische Eigenschaft, sondern kann als Ergebnis der Mikroorganismus-Pflanze-Wechselwirkung betrachtet werden. In diesem Zusammenhang ist davon auszugehen, dass bei fortlaufender Nutzung eines Bodens mit derselben Pflanzenart eine Selektion von rebenspezifischen Bakterienstämmen im Boden erfolgt, die dann zu Wachstumsdepressionen führt (Waschkies 1992). Die Autorin geht von einer Änderung der Artzusammensetzung der fluoreszierenden Pseudomonaden in rebemüdem Boden aus und deutet die höheren Populationsdichten auf den Rebwurzeln als eine überproportionale Zunahme einer oder mehrerer Arten von fluoreszierenden Pseudomonaden.

Die vorliegenden Erkenntnisse legen den Verdacht nahe, dass die so genannte Bodenmüdigkeit auf mikrobiologische Ursachen zurückzuführen ist. Wenn Mikroorganismen als Verursacher eines Nachbauproblems identifiziert werden, dann ist die Ursache als spezifisch zu bezeichnen. SAVORY (1966) führte deshalb für die Bodenmüdigkeit bei Obstgehölzen den Begriff „specific replant disease“ ein („specific apple replant disease“, „specific peach replant disease“ usw.). Sind derartige die Bodenmüdigkeit auslösende Faktoren oder Schaderreger bekannt, können die Auswirkungen nicht mehr dem Begriff der „Bodenmüdigkeit“ zugeordnet werden sondern müssen als spezifische Nachbaukrankheit bezeichnet werden.



### 1.3 Maßnahmen zur Vermeidung der Bodenmüdigkeit

Die Maßnahmen zur Vermeidung von Schäden durch die Bodenmüdigkeit lassen sich in vier Gruppen einteilen: Landwechsel, Obstartenwechsel, Bodendesinfektion bzw. Bodenentseuchung und biologische Maßnahmen (z. B. Antagonisten).

#### 1.3.1 Physikalische und chemische Maßnahmen

Der sicherste Weg zur Vermeidung der Bodenmüdigkeit ist der Landwechsel. Dieser ist aber in der Regel aus wirtschaftlichen Gründen nicht vertretbar, da jungfräuliches Land erst erworben bzw. gepachtet werden muss oder dadurch die Entfernungen zum Betrieb zu groß werden. Auch kann ein Mangel an geeigneten Standorten mit speziellen Bodeneigenschaften und Klimabedingungen für die betroffenen Obstarten wie z. B. Wein herrschen.

Ein Obstartenwechsel ist nur bedingt umsetzbar. So nimmt die Apfelkultur im Obstartenverhältnis im Allgemeinen den größten Flächenanteil ein oder andere Obstkulturen dominieren aus ökologischen Gründen. Darüber hinaus sind bei einer Obstartenfolge Nachbauschäden nicht auszuschließen. OTTO ET AL. (1994) konnten wurzelpathogene Actinomyceten in den Faserwurzeln von Birne und Eberesche nachweisen, die auf einem apfelmüden Boden gewachsen waren. Diese Ergebnisse werden durch den Nachweis von wurzelpathogenen Actinomyceten in den Faserwurzeln verschiedener Ziergehölze aus der Familie der Rosaceen gestützt (OTTO & WINKLER, 1995).

Ein häufig eingesetztes Mittel zur Bekämpfung der Bodenmüdigkeit stellt die Bodendesinfektion bzw. Bodenentseuchung dar. Hierzu zählen teilweise sehr radikal wirkende Maßnahmen, die die notwendige Spezifität in Hinblick auf die Ursachen der Bodenmüdigkeit vermissen lassen. Als erstes sei hier die Dämpfung zu nennen, welche geeignet ist, Mikroorganismen mit verschiedenen Temperatursensibilitäten selektiv zu reduzieren (BAKER & ROISTACHER, 1957). Diese Methode lässt sich jedoch aus wirtschaftlichen Gründen nur sehr kleinflächig anwenden. Größere Bedeutung kann dem Einsatz von chemischen Bodenentseuchungsmitteln eingeräumt werden wie der Applikation von Schwefelkohlenstoff, Methylbromid, Methyliodid, Formalin und Chlorpikrin. Diese Substanzen zeigen ähnlich wie die Bodendämpfung eine

ausreichend gute Wirkung. Die Wirkung hält allerdings nur ein Jahr vor und erfordert eine wiederholte Behandlung im nächsten Jahr. Zusätzlich zeichnen sich diese Substanzen durch eine extrem hohe Toxizität mit einem entsprechenden Gefährdungspotential für Mensch und Umwelt aus (SEWELL & WHITE, 1979; WEBSTER, 1984; EAYRE ET AL., 2000; RAUPACH & KLOPPER, 2000; DUNIWAY, 2002; MARTIN, 2003).

OTTO & WINKLER (1982) konnten durch eine klare Trennung der Ursachen der Bodenmüdigkeit von anderen unspezifischen Nachbauschäden eine erfolgreiche Behebung der Bodenmüdigkeit mit dem Wirkstoff Dazomet (3,5-Dimethyl-1,3,5-thiadiazin-2-thion) erzielen. Mittlerweile ist auch dieses Mittel mit dem Handelsnamen Basamid<sup>®</sup> genauso wie die o. g. Mittel in Europa nicht mehr für den Obstbau zugelassen. Basamid<sup>®</sup> darf nur in Baumschulen noch verwendet werden. Die Ergebnisse zahlreicher Feldversuche zeigen, dass die Bodenentseuchung zu ähnlichen Wuchs- und Ertragsleistungen der Obstgehölze wie auf Vergleichsflächen mit Erstanbau führt, aber aufgrund ihrer Nebenwirkungen sowie in Hinblick auf den ungestörten Ablauf bodenbiologischer Prozesse als sehr problematisch einzustufen ist.

### 1.3.2 Biologische Maßnahmen

Aufgrund der vorliegenden Erkenntnisse gewinnt die Entwicklung biologischer Maßnahmen zur Bekämpfung der Bodenmüdigkeit immer mehr an Bedeutung. Dabei werden ausgewählte Mikroorganismen als Antagonisten gegenüber den Verursachern der Bodenmüdigkeit eingesetzt. Diese Mikroorganismen gehen mit Pflanzen Endosymbiosen ein.

Endosymbiosen nehmen eine wichtige Rolle in der Landwirtschaft und in natürlichen Ökosystemen ein. Die meist verbreiteten endosymbiotischen Interaktionen werden zwischen Pflanzen und Pilzen ausgebildet. Hierzu zählen genauso parasitische Wechselbeziehungen wie mutualistische Symbiosen, die sich zwischen den Pflanzenwurzeln und arbuskulären Mykorrhizapilzen etablieren (GARCIA-GARRIDO & OCAMPO, 2002). Arbuskuläre Mykorrhizapilze gehören systematisch zu den *Glomeromycota* und sind typischer Weise mit der Mehrzahl terrestrischen Gefäßpflanzen assoziiert. Sie assoziieren bevorzugt mit Angiospermen. Die Ursache

für die erfolgreiche Etablierung dieser mutualistischen Assoziation beruht auf der Strategie, den Ernährungsstatus beider Partner zu fördern. Dabei erhalten die arbuskulären Mykorrhizapilze von den Wirtspflanzen organische Kohlenstoffverbindungen, während die Pflanzen in der Symbiose von einer erhöhten Nährstoffaufnahme, vornehmlich Phosphorverbindungen, profitieren. Außerdem wird bei mykorrhizierten Pflanzen eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischen Stress sowie die Ausbildung von Resistenzen gegen Phytopathogene beobachtet (SMITH & READ, 1997). Mykorrhizifizierte Pflanzen transferieren mehr Assimilate in die Wurzeln als nicht-mykorrhizifizierte, was mit dem Kohlenstoffbedarf des Pilzes für sein Wachstum und die Respiration erklärt werden könnte (KUCEY & PAUL, 1982; WANG ET AL., 1989; EISSENSTAT ET AL., 1993). Die Besiedlung der Wurzeln mit arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMP) führt nach GRAHAM ET AL. (1981), DIXON ET AL. (1989) und MARSCHNER ET AL. (1997) zu einer Abnahme der Wurzelexsudation. Dagegen konnten AZAIZEH ET AL. (1995) keinen Effekt auf die Exsudation feststellen. Außerdem kann die Besiedlung mit AMP die Zusammensetzung der Wurzelexsudate (MARSCHNER ET AL., 1997) und den Metabolismus der organischen Kohlenstoffverbindungen in der Wurzel beeinflussen (BUWALDA & GOH, 1982; SHACHAR-HILL ET AL., 1995). Diese Veränderungen könnten durch die pilzliche Kohlenstoffaufnahme oder den Effekt der Mykorrhizifizierung auf die Physiologie der Wirtspflanze bedingt sein. MARSCHNER & TIMONEN (2005) vermuten darüber hinaus eine Ausscheidung von Exsudaten durch die AMP selbst, die dadurch einen selektiven Einfluss auf die Mikroorganismen in der Rhizosphäre ausüben. Diese pilzlichen Exsudate sind jedoch noch wenig erforscht. Es existieren Untersuchungen über Verbindungen wie z. B. Glomalin, welches die Bodenaggregation erhöht (RILLIG ET AL., 2002). Glomalin ist ein klebriges Glykoprotein, das aus Hyphen und Sporen der arbuskulären Mykorrhizapilze im Boden und in den Wurzeln produziert wird. Es durchdringt das gesamte Erdreich und verklebt organisches Material sowie Sand- und Lehmartikel zu krümelgroßen Klumpen. Es bilden sich so unter der Bodenoberfläche Hohlräume, die es Wasser, Sauerstoff und Pflanzenwurzeln ermöglichen, den Boden besser zu durchdringen. Glomalin könnte positive Auswirkungen auf die mikrobielle Populationsdichte haben, da Mikroorganismen bevorzugt in Bodenaggregaten vorzufinden sind (ANDRADE ET AL., 1998).

Die vorgenannten Untersuchungen zur Wirkung arbuskulärer Mykorrhizapilze (AMP) auf die Wirtspflanzen, die Zusammensetzung der mikrobiellen Gesellschaft im Boden und der Rhizosphäre legen unter der Annahme, dass die Bodenmüdigkeit bei Weinreben durch Mikroorganismen verursacht wird, eine Anwendung von AMP zur Behebung der Rebenmüdigkeit nahe. Bisher liegen dies bezüglich folgende Untersuchungen vor: WASCHKIES (1992) konnte eine signifikante Abschwächung der Rebenmüdigkeit durch die Inokulation mit dem Endomykorrhizapilz *Glomus mosseae* erreichen. Dabei nahmen die Gesamtblattfläche und das Trockengewicht der Rebpfanzen um mehr als das Doppelte zu und die Keimzahlen von fluoreszierenden Pseudomonaden wurden durch die Mykorrhifizierung der Weinwurzeln reduziert. Ihre Untersuchungen legen qualitative Unterschiede in der Artenzusammensetzung dieser Pseudomonaden auf den Wurzeln zwischen rebmüdem und Kontrollboden nahe. Weiterführende Untersuchungen von WEINMANN (2000) bestätigten die positive Wirkung von AM-Isolaten wie *Glomus intraradices* auf das Wachstum junger Reben, wobei eine einmalige Mykorrhiza-Anwendung im Falle sehr stark ausgeprägter Rebenmüdigkeit nicht ausreichend war.

Aufgrund ihrer Wirkung auf das Pflanzenwachstum werden zwei Gruppen von Bakterien unterschieden, die Gruppe der „Plant Growth Promoting Rhizobacteria“ (PGPR) und der „Deleterious Rhizobacteria“ (DRB). Nach SCHROTH & HANCOCK (1982) sind die meisten Pflanzenwachstum fördernden Rhizobakterien (PGPR) den Gruppen von *P. fluorescens* und *P. putida* zu zuordnen, wobei aber in der *P. fluorescens* homologen Gruppe auch zahlreiche Phytopathogene vertreten sind (SCHROTH ET AL., 1981). Zu den pflanzenschädigenden Rhizobakterien (DRB) (SUSLOW & SCHROTH, 1982) gehört u. a. die umfangreiche Gruppe der *P. syringae* mit zahlreichen Pathovaren. Durch die Anwendung von „Plant Growth Promoting Rhizobacteria“ (PGPR) können ebenfalls positive Effekte auf das Pflanzenwachstum in müdem Boden erzielt werden. PGPR sind Rhizobakterien aus der Gruppe der *Pseudomonaden*, *Bacillus* und *Actinomyceten* (*Streptomyces* spp.). Fluoreszierende Pseudomonaden wie z. B. *P. fluorescens*, *P. putida* und *P. syringae* können unterschiedliche Wirkungen auf das Pflanzenwachstum und die Pflanzengesundheit ausüben.

*P. syringae* ist dafür bekannt, eine Vielzahl von Krankheitssymptomen bei Pflanzen zu induzieren. Hierzu zählen Fäulnisercheinungen (blight), Fleckenkrankheiten (leaf spots) und pflanzliche Krebserkrankungen (galls). Diese Spezies mit ihren zahlreichen Pathovaren und großen Wirtspflanzenspektrum produziert verschiedene Phytotoxine. Zu den bekanntesten Phytotoxinen von *P. syringae* zählen Coronatin, Syringomycin, Syringopeptin, Tabtoxin und Phaseolotoxin, welche jeweils signifikant zu der bakteriellen Virulenz in den Pflanzen beitragen. Coronatin zeigt strukturelle Ähnlichkeiten mit dem Phytohormon Methyljasmonat, ein von Pflanzen, die biologischen Stress unterliegen, synthetisiertes Hormon. Dieses Phytotoxin ist in der Lage, in den Pflanzen Chlorosen zu erzeugen. Syringomycin und Syringopeptin tragen zur Porenbildung in den Plasmamembranen bei, durch die es zu einem Elektrolytverlust der pflanzlichen Zelle kommt. Tabtoxin und Phaseolotoxin besitzen eine stark antimikrobielle Wirkung und zeichnen sich durch die Inhibition der Enzyme Glutaminsynthetase und Ornithincarbamoyltransferase aus (BENDER ET AL., 1999).

WEINMANN (2000) und KALIESS (2003) konnten in Versuchen zur Behebung der Bodenmüdigkeit in Rebschulböden durch die Inokulation eines *Pseudomonas fluorescens*-Stammes ein deutlich besseres Wurzel- und Sprosswachstum der jungen Weinpflanzen im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle feststellen. Sie konnten in ihren Untersuchungen zeigen, dass durch die Behandlung der Rebpflanzen mit dem PGPR *Pseudomonas fluorescens* RA56 sowie mit dem Mykorrhizapilz *Glomus intraradices* signifikante Steigerungen des Biomasseertrags und Triebblängenwachstums erzielt wurden, die an die Wachstumsraten im nicht-rebmüden Kontrollboden heranreichten. Durch das Bakterieninokulat wurde das Pflanzenwachstum der jungen Reben am deutlichsten gefördert.

Für Apfelpflanzen konnte MAZZOLA (1999) die Wirksamkeit des Stammes *Pseudomonas putida* 2C8 gegen phytopathogene Pilze wie z.B. *Rhizoctonia spp.* und *Pythium spp.* nachweisen. Beide pilzlichen Mikroorganismen stehen in Verdacht, die Apfelmüdigkeit (SARD) zu verursachen. Die Applikation des Bakterienpräparates führte zu verbessertem Sprosswachstum sowie zu Erhöhungen der Wurzel- und Sprossgewichte bei Apfelpflanzen auf apfelmüdem Boden. MAZZOLA ET AL. (1995) wiesen die antagonistische Wirkung von *P. putida* 2C8 gegenüber diesen phytopathogenen Pilzen nur in vitro-Versuchen nach. Daher bleibt die Frage offen,

ob die o. g. Pilze die primäre Ursache für die SARD (Specific Apple Replant Disease) darstellen oder nur als Pathogene einer Sekundärinfektion zu betrachten sind.

In anderen Versuchen mit Apfelsämlingen erwies sich das Rhizobakterium *Bazillus subtilis* als wirksames biologisches Agens gegenüber der SARD. So erreichte UTKHEDE (1992) durch die Inokulation dieses Bakterienstammes über Jahre eine Verbesserung des Wachstums und eine Steigerung des Fruchtertrages von Apfelbäumen auf apfelmüdem Boden. Im Gemüseanbau konnten die negativen Auswirkungen des Nachbaus von Spargel auf Spargel durch die Applikation von *Bazillus subtilis* FZB24 vermindert werden (LORD, 2003). Der Autor sieht den phytopathogenen Pilz *Fusarium oxysporum* als Hauptursache der Spargelmüdigkeit. Er begründet dies mit der Beobachtung, dass bei Inokulation des Pflanzsubstrates mit *Fusarium oxysporum* durch die Bakterisierung mit diesem Antagonisten eine deutliche Kompensation der Reduktion des Spross- und Wurzelwachstums in Relation zur infizierten Kontrolle erzielt werden konnte.

Die vorgenannten Beispiele zur Behebung der Bodenmüdigkeit bei verschiedenen Kulturpflanzen belegen zweierlei. Erstens, dass dieses Phänomen auf phytopathogene Mikroorganismen als mögliche Verursacher zurück zu führen ist und zweitens, dass PGPR für die Behebung dieser speziellen Nachbauprobleme geeignet sind. PGPR sind dafür bekannt, Resistenzen in Pflanzen gegenüber pilzlichen, bakteriellen und viralen Krankheiten sowie gegenüber Insekten- und Nematodenschädlingen zu induzieren (LIU ET AL., 1995a, 1995b; MAURHOFER ET AL., 1998). Diese Rhizobakterien verfügen über verschiedene Mechanismen der Unterdrückung von Pflanzenpathogenen. Dazu zählen (1) die Konkurrenz um Nährstoffe und Lebensraum (ELAD & BAKER, 1985; ELAD & CHET, 1987), (2) die Antibiose durch die Biogenese von Antibiotika wie Pyrrolnitrin, Pyocyanin und 2,4-Diacetyl-Phloroglucinol (PIERSON & THOMASHOW, 1992) sowie (3) die Produktion von Siderophoren. Siderophore sind fluoreszierende gelb-grüne Pigmente, die bevorzugt von Pseudomonaden synthetisiert werden. Zu den Siderophoren zählt z. B. Pseudobactin, das zu einer limitierten Verfügbarkeit von Eisen beiträgt, welches für das Wachstum der Pathogene essentiell ist (KLOEPPER ET AL., 1992; LEMANCEAU ET AL., 1993). Weitere wichtige Mechanismen umfassen die Ausscheidung von Blausäure, der Abbau von Toxinen, die von Pathogenen synthetisiert werden (DUFFY & DEFAGO, 1999) sowie die Produktion von lytischen Enzymen. Zu diesen zählen

Chitinasen und  $\beta$ -1,3-Glucanasen, welche in der Lage sind, das in den pilzlichen Zellwänden befindliche Chitin und Glucan abzubauen (POTGIETER & ALEXANDER, 1966; LIM ET AL., 1991; FRIDLENDER ET AL., 1993). ABDI BAGHI (1997) konnte die antagonistischen Effekte des PGPR *Pseudomonas fluorescens* RA56 gegenüber *Fusarium* sp. in vitro Versuchen belegen. Die Entwicklung und das Wachstum des phytopathogenen Pilzes wurden durch dieses Rhizobakterium stark gehemmt und zum Teil völlig unterbunden.

In den letzten Jahren sind diverse wissenschaftliche Studien veröffentlicht worden, in denen zur Vermeidung von bakteriellen Krankheiten eine Behandlung von Pflanzensamen und -wurzeln mit Rhizobakterien durchgeführt wurde. Ein Beispiel ist die Applikation von nicht-pathogenen *Streptomyces*-Stämmen gegen Kartoffelschorf (NEENO-ECKWALL & SCHOTTEL, 1999; RYAN & KINKEL, 1997). Als Ursache für die positive Wirkung vermuten die Autoren in diesem Falle entweder eine Antibiose, Konkurrenz um den Besiedlungsraum auf der Wurzel oder die unmittelbare Nährstoffkonkurrenz in der Rhizosphäre. Dagegen sind CRONIN ET AL. (1997) der Ansicht, dass die Unterdrückung der Kartoffelnassfäule, verursacht durch *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall), mit dem biologischen Agens *Pseudomonas fluorescens* Migula F113 auf die Produktion der antibiotischen Substanz 2,4-Diacetylphloroglucinol (DAPD) zurück zu führen ist. So liegen zwar Hinweise vor, dass die Produktion von Siderophoren durch *Pseudomonas fluorescens* F113 unter Eisen limitierten Bedingungen eine Rolle in der biologischen Kontrolle der Kartoffelnassfäule spielen kann, die Autoren schreiben aber der DAPD eine bedeutendere Funktion zu.

Auch bei der Bekämpfung der Wurzelkropfkrankheit verschiedener dikotyledonen Pflanzen wie z. B. Weinreben und Himbeeren, die durch *Agrobacterium tumefaciens* verursacht wird, kommen diverse *Pseudomonas*-Spezies erfolgreich zum Einsatz (KHMEL ET AL., 1998). Obwohl CRONIN ET AL. (1997) der mikrobiellen Konkurrenz um Eisen in der Rhizosphäre eine untergeordnete Rolle zu weisen, bewerten andere Autoren diese Konkurrenzsituation als entscheidend bei der biologischen Inaktivierung von Phytopathogenen im Wurzelraum.

Die Bedeutung des Siderophors Pyoverdin bei der Repression von pilzlichen Phytopathogenen aus den Gattungen *Pythium* und *Fusarium* konnte in Versuchen

mit Nelken eindeutig demonstriert werden. In diesen Untersuchungen wurde die Wirkung von aufgereinigtem Pyoverdin mit einem synthetischen Fe-Chelator verglichen und Pyoverdin-Mangelmутanten als Kontrolle verwendet (DUIJFF ET AL., 1993; LOPER & BUYER, 1991). Neben Pyoverdin scheiden Pseudomonaden auch andere Siderophore für die Fe-Akquirierung wie z. B. Pyochelin aus sowie dessen biochemische Vorstufe Salizylsäure. Diese Substanzen werden z. B. auch von dem PGPR *Pseudomonas aeruginosa* Migula 7NSK2 synthetisiert und stehen im Verdacht, Tomatenpflanzen vor dem phytopathogenen Pilz *Pythium* zu schützen, welcher die Umfallkrankheit (damping-off) verursacht (BUYSENS ET AL., 1996). Trotz des Nachweises, dass Siderophore in diesen Untersuchungen gefunden wurden, müssen diese aufgrund der komplexen Dynamik in der Rhizosphäre in Bezug auf die Fe-Akquirierung nicht unbedingt an der Krankheitskontrolle beteiligt sein. So könnte es sein, dass einige Siderophore nur von den sie produzierenden Bakterien verwendet werden, wogegen andere von einer Vielzahl Bakterien genutzt werden (LOPER & HENKELS, 1999; ONGENA ET AL., 2000). Außerdem beeinflussen verschiedenste Umweltbedingungen die Quantität der produzierten Siderophore (DUFFY & DEFAGO, 1999). Bei der Beurteilung der Rolle dieser bakteriell erzeugten Substanzen in der Krankheitsabwehr kommt erschwerend hinzu, dass Pyoverdin und Salizylsäure von verschiedenen Autoren neben der Konkurrenz um Eisen in der Rhizosphäre eine Funktion als Elicitor bei der „Induced Systemic Resistance“ (ISR) gegenüber Phytopathogenen zu geschrieben wird (BLEE ET AL., 2004; DUFFY & DEFAGO, 1999; HAMMERSCHMIDT, 2001; KLESSIG & MALAMY, 1994; MAURHOFER ET AL., 1994; SIDDIQUI & SHAUKAT, 2003). Elicitoren sind Substanzen, die von meist pathogenen Organismen während der Infektion an den Wirt abgegeben werden, der daraufhin Abwehrstoffe (z. B. Phytoalexine) bildet oder in anderer Weise biochemische Stoffwechselwege in der Pflanze verändern. Elicitoren besitzen damit eine Signalfunktion.

Die induzierte Resistenz wurde erstmals von KLOEPPER ET AL. (1992) als Prozess einer aktiven Resistenz definiert, welche von den physikalischen und chemischen Barrieren der Wirtspflanze abhängig ist und durch abiotische oder biotische Agenzien aktiviert wird. Biologische Agenzien, wie Bakterien, unterscheiden sich in ihrem Vermögen, Resistenz zu induzieren. So sind manche Bakterien nur bei bestimmten Pflanzenarten an der Resistenzausbildung beteiligt und entfalten bei anderen keine



Wirkung. Darüber hinaus bestehen zum Teil erhebliche Unterschiede in der Induzierbarkeit bei den verschiedenen Pflanzenspezies (VAN LOON, 2000). Viele der von Bakterien produzierten Resistenz auslösenden Substanzen konnten in ihrer Gesamtheit noch nicht identifiziert werden. Ausnahmen stellen die Lipopolysaccharide (LEEMAN ET AL., 1995) und Siderophoren (LEEMAN ET AL., 1996; METRAUX ET AL., 1990) dar.

Die o. g. Definition für die induzierte Resistenz schließt sowohl abiotische als auch biotische Faktoren ein. Obwohl die phenotypischen Effekte einer Inokulation mit Bakterien im Wurzelraum Ähnlichkeiten zu Behandlungen mit abiotischen Agenzien oder mit Mikroorganismen aufweisen, welche lokal begrenzte Schäden an den Pflanzen verursachen, sind die biochemischen und mechanistischen Veränderungen in der Pflanze unterschiedlich ausgeprägt. Als Resultat dessen wurden die Begriffe der „Induced Systemic Resistance“ (ISR) für bakteriell induzierte Resistenz und „Systemic Acquired Resistance“ (SAR) für durch z. B. phytopathogene Mikroorganismen induzierte Resistenz von PIETERSE ET AL. (1996) eingeführt. Die Hauptunterschiede zwischen den beiden Resistenzformen sind nach HOFFLAND ET AL. (1995), dass pathogenesis-related (PR) Proteine wie z. B. Chitinasen,  $\beta$ -1,3-Glucanasen und Proteinasen im Allgemeinen nicht an der bakteriell induzierten Resistenz beteiligt sind und Salizylsäure, welche zu den die SAR induzierenden Substanzen gezählt wird, nicht in jedem Fall eine auslösende Wirkung auf die ISR besitzt. Dabei ist diese Induzierung abhängig von den beteiligten Bakterienstämmen und Wirtspflanzen (CHEN ET AL., 1999; DE MEYER ET AL., 1999; PIETERSE ET AL., 1996).

Neben der induzierten systemischen Resistenz in Pflanzen durch nicht-pathogene Mikroorganismen können arbuskuläre Mykorrhizapilze ebenfalls während ihrer Symbiose mit den Wirtspflanzen induzierte systemische Resistenzen hervorrufen. DUMAS-GAUDOT ET AL. (2000) konnten durch die Ausbildung einer arbuskulären Mykorrhiza effektive Reduzierungen von Wurzelkrankheiten, die von bodenbürtigen Pathogenen wie *Fusarium* spp., *Aphanomyces euteiches* und *Phytophthora* spp. verursacht werden, beobachten. Die Mechanismen der durch AM-Pilze ausgelösten ISR können auf eine verbesserte Nährstoffversorgung der Pflanze, morphologische Veränderungen der Wurzeln und Wurzelgewebe, Veränderungen der chemischen Bestandteile im Pflanzengewebe, Reduktion von abiotischen Stress und Änderungen

der mikrobiellen Zusammensetzung in der Mykorrhizosphäre zurückgeführt werden (LINDERMAN, 2000).

Nach MEYER & DEHNE (1986) könnten die physiologischen Modifizierungen der Pflanze durch die AM zu einer erhöhten Toleranz gegenüber Pathogenen führen, aber andererseits auch eine Förderung obligater Pathogene bewirken. GUENOUNE ET AL. (2001) berichten von einer Beeinträchtigung der Abwehrantwort in Luzernewurzeln verursacht durch den AM-Pilz *Glomus intraradices*, welche normalerweise nach Infektion mit *Rhizoctonia solani* ausgelöst wird. Untersuchungen von SHAUL ET AL. (1999) zeigten, dass an den Blättern von mykorrhizifizierten Tabakpflanzen bei Infektion mit *Botrytis cinera* frühzeitige und größere nekrotische Läsionen auftraten. Die Autoren vermuten eine systemische Suppression der Abwehrfähigkeit durch die AM, was zu einer erhöhten Anfälligkeit der Blätter gegenüber diesem phytopathogenen Pilz führen könnte. Während die Mykorrhizifizierung von Pflanzen eine erhöhte Anfälligkeit von Blättern bewirken kann, berichten verschiedene Forschungsarbeiten von einer Induktion der ISR in den Wurzeln. Dieses Phänomen wurde erstmalig an mykorrhizifizierten Erbsenwurzeln beschrieben, die mit dem Wurzelpathogen *Aphanomyces euteiches* infiziert waren (KJOLLER & ROSENDAHL, 1996). Obwohl das Wachstum von *A. euteiches* durch die AM nicht beeinträchtigt wurde, konnten die Autoren keine sichtbaren Symptome durch diese Infektion feststellen. Weiterführende Untersuchungen von SLEZACK ET AL. (2000) zeigten, dass ein biologischer Schutz der Erbsenpflanzen durch *Glomus mosseae* gegenüber *A. euteiches* nur durch eine vollständig etablierte Symbiose und dem Vorhandensein von Arbuskeln gewährleistet wird. CORDIER ET AL. (1998) unterstreichen die Bedeutung der Akkumulation von phenolischen Bestandteilen in der pflanzlichen Zellwand mit einhergehender erhöhter Lignifizierung bei der Interaktion von mykorrhizifizierten Tomatenwurzeln mit dem phytopathogenen Pilz *Phytophthora parasitica*. Die Lignifizierung von Wurzeln stellt einen bedeutenden Mechanismus bei der Resistenzbildung dar und könnte die Ausbreitung von Pathogenen in mykorrhizifizierten Wurzeln erschweren (MORANDI ET AL., 1984).

Neben der Ausbildung von mechanischen Barrieren durch eine verstärkte Einlagerung von Lignin in die Zellwände beobachteten POZO ET AL. (2002) eine durch die Mykorrhiza verursachte systemische Induktion neuer Isoformen der Enzyme Chitinase, Chitosanase, Glucanase und Superoxiddismutase. Die Autoren vermuten,

dass die Induktion dieser Enzyme für die Abschwächung der Krankheitssymptome bei Infektion mit *Phytophthora parasitica* verantwortlich ist. Obwohl verschiedene Bestandteile bei der Auslösung der ISR in mit AMP besiedelten Wurzeln bekannt sind, existieren keine Erkenntnisse, welche Signalstoffe bei der Induktion der ISR in mykorrhizierten Wurzeln beteiligt sind. In diesem Zusammenhang stellen HAUSE ET AL. (2002) die Hypothese auf, nach der das Phytohormon Jasmonsäure als endogene Signalsubstanz bei der Mykorrhiza induzierten ISR fungieren könnte.

#### 1.4 Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit

Das Problem der Bodenmüdigkeit in Rebschulen äußert sich in Wachstumsdepressionen der veredelten Pfropfreben. Oft ist die Rebenmüdigkeit bereits nach drei- bis viermaliger Nutzung einer Fläche als Rebschule festzustellen. Die Rebenmüdigkeit äußert sich in stark reduziertem Spross- und Wurzelwachstum der jungen Rebpflanzen. Diese entsprechen nicht den hohen Anforderungen an solche Pfropfreben, wie sie in der Rebenpflanzgutverordnung gefordert werden. Danach werden nur solche veredelten Pfropfreben für die weitere Vermarktung zugelassen, welche gleichmäßige allseitige Bewurzelung, gutes Sprosswachstum und Holzreife des Edelreises aufweisen (REBENPFLANZGUTVERORDNUNG, 1986). Die Rebveredler sind daher zu ständigem Wechsel der Vermehrungsflächen gezwungen, wodurch die rebschulfähigen Flächen zunehmend knapper werden (WEINMANN, 2000), was die Reben veredelnden Betriebe wirtschaftlich gefährdet. Zur Vermeidung von Nachbauschwierigkeiten ist eine geregelte Fruchtfolge nur selten möglich, da es sich hier um Spezialbetriebe zur Erzeugung von Rebenpflanzgut handelt, die nicht auf den Anbau anderer Kulturpflanzen ausweichen können. Zudem ist die Produktion veredelter Pfropfreben auf bestimmte geographische Gebiete beschränkt, in denen das Klima und die Umweltbedingungen den Rebanbau ermöglichen. In Deutschland wurden laut Bundessortenamt im Jahre 2004 auf 453,57 ha Vermehrungsfläche 28.746.900 Stück Ertrags- und Unterlagsreben mit einem Marktwert von ca. 30 Mio. € produziert (ANONYM, 2006).

Die angeführten Fakten zeigen auf, dass die Erforschung sowohl der Ursachen als auch der Möglichkeiten zur Behebung bzw. Verzögerung der Bodenmüdigkeit in Rebschulen von großer Bedeutung ist. Geeignete Maßnahmen zur Bekämpfung der

Rebenmüdigkeit könnten die Rebenproduktion sichern und deren Wirtschaftlichkeit gewährleisten.

## 1.5 Zielsetzung

Die **erste Zielsetzung** dieser Untersuchung ist, ob durch gezielte Applikationen von phytoeffektiven Mikroorganismen die Rebenmüdigkeit in Rebschulen behoben werden kann. Dazu wurden folgende Parameter untersucht:

1. Einfluss von gezielten Inokulationen mit dem „Plant Growth Promoting Rhizobacterium“ (PGPR) *Pseudomonas fluorescens* RA56 sowie dem wurzelsymbiotischen Mykorrhizapilz *Glomus intraradices* auf (i) die Biomasseproduktion und (ii) das Triebängenwachstum von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB (*Vitis berlandieri* x *riparia*) auf müdem und nicht-müdem Boden.
2. Einfluss der Mikroorganismenapplikationen auf (i) die Qualität des Vermehrungspflanzgutes zum Erntezeitpunkt und (ii) die Anwuchsraten der Holzstecklinge, insbesondere bei vorliegender Rebenmüdigkeit.

Die **zweite Zielsetzung** der Untersuchung bestand darin, die möglichen Ursachen der Rebenmüdigkeit herauszuarbeiten. Es wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Es wurde der Ernährungszustand der jungen Weinpflanzen sowie die Nährstoffverfügbarkeit im Boden untersucht, um zu ermitteln, welchen Einfluss inokulierte Mikroorganismen auf die Nährstoffversorgung der Reben in müdem Bodensubstrat ausüben. Diese Untersuchung diente auch dazu, eine eventuelle Mangelernährung als Ursache auszuschließen.
2. Es wurden die Auswirkungen gezielter Inokulationen auf die mikrobielle Aktivität im Boden sowie die Lebendkeimzahlen der indigenen Mikroorganismenflora im Boden und in der Rhizosphäre der Rebpflanzen untersucht. Aufgrund vorliegender Erkenntnisse wurde besonderes Augenmerk auf die *Pseudomonas*-Gruppen *P. fluorescens*, *P. putida* und *P.*

*syringae* gelegt, da fluoreszierende Pseudomonaden mit ihren zahlreichen phytopathogenen Vertretern im Verdacht stehen, die Bodenmüdigkeit bei Weinreben auszulösen. Mit dieser Untersuchung sollte auch geklärt werden, ob die PGPR und AMP mit ihren antagonistischen Eigenschaften gegenüber Phytopathogenen geeignet sind, ein gesundes Wachstum der Rebpflanzen auf müdem Boden zu gewährleisten.

3. Abschließend wurde überprüft, ob die Mikroorganismenbehandlungen physiologische Veränderungen an den Blatt- und Wurzelorganen der Reben verursachen. Als Indikatoren dienten die Enzymaktivitäten von Peroxidase und Polyphenoloxidase. Diese Veränderungen der enzymatischen Aktivität in den Pflanzenzellen werden als Reaktionen auf eine durch PGPR und arbuskuläre Mykorrhizapilze ausgelöste induzierte Resistenz sowie Abwehrreaktion von Pflanzen gegenüber Phytopathogenen diskutiert.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Chemikalien und Enzyme

Agar-Agar	Merck
Ascorbinsäure	Merck
Benzidin	Sigma–Aldrich
Chitin	Sigma–Aldrich
Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA)	Sigma–Aldrich
EDTA-Na <sub>2</sub>	Merck
Glycerin 87 %	Merck
Iodonitrotetrazolium Formazan (INF)	Sigma–Aldrich
p-Iodonitrotetrazolium Violet (INT)	Sigma–Aldrich
King-Agar B	Merck
D- Mandelat	Merck
Meerrettich - Peroxidase	Merck
Milchsäure	Merck
Natrium-L(+)-glutamat	Merck
di-Natriumtetraborat	Merck
Nystatin	Sigma–Aldrich
Penicillin-G-Natrium	Sigma–Aldrich
Phenolrot	Merck
Polyethylenglykol 20000	Merck
Proteose-Pepton	Merck
Pyrocatechol	Sigma–Aldrich
D-Raffinose-Pentahydrat	Merck
L-Rhamnose	Merck
Stärke, löslich	Merck
Trypanblau	Merck
Tyrosinase	Sigma–Aldrich

Alle anderen Verbrauchskemikalien wurden von der Fa. Merck bezogen.

## 2.2 Nährmedien und Puffer

### 2.2.1 Nährmedien

KING-Agar B (Fa. Merck):

Proteose-Pepton	20,0 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,5 g
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	1,8 g
Agar-Agar	10,0 g
auf 1000 ml bi-dest. H <sub>2</sub> O, pH 7,1	

GSP-Agar: Pseudomonaden-Aeromonaden-Selektivagar nach KIELWEIN (1969):

Natrium-L(+)-glutamat	10,0 g
Stärke, löslich	20,0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,0 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,5 g
Phenolrot	0,36 g
Agar-Agar	12,0 g
Penicillin-G-Natrium (Sigma-Aldrich)	100.000 I.E.
auf 1000 ml bi-dest. H <sub>2</sub> O, pH 7,2	

F-Agar: Modifizierter KING-Agar B für *Pseudomonas fluorescens* Biovare II, III, V:

L-Rhamnose	8,0 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0 g
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	1,8 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,5 g
Agar-Agar	18,0 g
auf 1000 ml bi-dest. H <sub>2</sub> O, pH 7,2	

P-Agar: Modifizierter KING-Agar B für *Pseudomonas putida* Biovare A, B:

D-Mandelat	8,0 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0 g
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	1,8 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,5 g

Agar-Agar	18,0 g
auf 1000 ml bi-dest. H <sub>2</sub> O, pH 7,2	

S-Agar: Modifizierter KING-Agar B für *Pseudomonas syringae* Pathovare:

D-Raffinose-Pentahydrat	8,0 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0 g
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	1,8 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,5 g
Agar-Agar	18,0 g
auf 1000 ml bi-dest. H <sub>2</sub> O, pH 7,2	

Modifizierter Winogradsky-Agar (THIRUP et. al., 2001) für *Streptomyceten*:

Chitin (Sigma - Aldrich, C7170)	10,0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	1,3 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,0 g
NaCl	1,0 g
CaCO <sub>3</sub>	1,0 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,0 g
Agar-Agar	18,0 g
25 mg Nystatin (Sigma - Aldrich) in 10 ml Methanol;	
auf 1000 ml bi-dest. H <sub>2</sub> O, pH 7,0	

### 2.2.2 Puffer

Extraktionspuffer:

Ascorbinsäure	10 mg
EDTA-Na <sub>2</sub>	10 mg
di- Natriumtetraborat	19 mg
NaCl	18 mg
Polyethylenglykol 20000	250 mg
in 5 ml Tris-HCl-Puffer	0,1 M
pH	9,01



Na-Acetat-Puffer (Messpuffer):

Na-Acetat	0,2 M
pH	8,23

## 2.3 Biologisches Material

### 2.3.1 Pflanzenmaterial

In den Gewächshausversuchen wurden Holzstecklinge der Unterlagssorte 5BB (*Vitis berlandieri x riparia*) verwendet. Die Steckhölzer stammten aus einem Rebunterlagenmuttergarten der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau (SLFA) in Neustadt a. d. Weinstrasse, Rheinland-Pfalz, aus einjährigem reifen Rebholz geschnitten und zu Einaugenstecklingen veredelt. Die Holzstecklinge wurden zum Schutz der Knospen vor Austrocknung im oberen Bereich mit blauem neutralem Veredelungswachs überzogen. Die Lagerung der Steckhölzer bis zur Anzucht der Rebenstecklinge in den Gefäßversuchen erfolgte im Kühlraum bei 4 °C.

### 2.3.2 Herkunft und Charakterisierung der Versuchsböden

Die Versuchsböden wurden von der SLFA in Neustadt a. d. Weinstrasse zur Verfügung gestellt. Die Bodenentnahmen erfolgten am Standort Steingeiß in Neustadt-Mußbach, wobei die eine Fläche durch sechsmalige Nutzung als Rebschule als stark „rebmüde“ und die andere Fläche nach nur einmaliger Nutzung als Rebschule im Jahre 1996 als „nicht-müde“ von der SLFA ausgewiesen wurde.

Die Charakterisierung der Versuchsböden wurde in der Biologischen Bundesanstalt Berlin-Dahlem durchgeführt. Hierzu wurden über Korngrößenbestimmung die Bodenarten, die Humusgehalte durch Glühverlust, die pH-Werte (CaCl<sub>2</sub>) sowie die pflanzenverfügbaren (CAT) und gesamten Nährstoffgehalte (Königswasseraufschluss) (siehe Kapitel 2.5.2) der Böden ermittelt. Die Bodeneigenschaften werden in den Tabellen 1 und 2 zusammengefasst.

Tab. 1: Chemische und physikalische Eigenschaften der Versuchsböden

Boden	Humus (%)	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Korngrößenzusammensetzung			Bodenart
			Sand	Schluff	Ton	
„Nicht- müde“	2,24	7,6	44,1	41,2	14,7	schluffig- lehmiger Sand (uIS)
„Müde“	2,21	7,6	40,4	45,4	14,3	schluffig- lehmiger Sand (uIS)

Tab. 2: Nährstoffgehalte der Versuchsböden

Boden	Aufschluss	Ca	P	K	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn
		(mg/100 g Boden)							
„Nicht- müde“	KW <sup>1)</sup>	838,5	56,4	336,1	355,7	1456	2,0	5,2	48,2
	CAT <sup>2)</sup>	n. b.	0,5	7,1	9,3	1,7	0,5	0,4	4,3
„Müde“	KW <sup>1)</sup>	738,8	87,7	399,2	362,1	1726	2,0	5,7	55,9
	CAT <sup>2)</sup>	n. b.	3,0	3,4	8,5	1,9	0,6	0,5	10,2

<sup>1)</sup> Königswasseraufschluss

<sup>2)</sup> CaCl<sub>2</sub>-EDTA - Aufschluss

### 2.3.3 Eingesetzte Inokula

In den Gefäßversuchen wurden ein Bakterienpräparat sowie ein Mykorrhizapräparat verwendet.

Das Bakterienpräparat wurde von der Firma PHYTOBACTER AG, Berlin, zur Verfügung gestellt. Hierbei handelte es sich um ein gefriergetrocknetes Produkt, bestehend aus Zellen eines *Pseudomonas fluorescens*-Stamms mit der Bezeichnung

RA56. *Pseudomonas fluorescens* RA56 zählt zu den so genannten pflanzenassoziativen Bakterien mit Pflanzenwachstum fördernden Eigenschaften. Der Lebensraum von *Pseudomonas fluorescens* RA56 ist bevorzugt die Rhizosphäre und Rhizoplane der Pflanzen. Aufgrund der stoffwechselphysiologischen Fähigkeiten dieses Bakterienstammes werden Nährstoffe im Boden mobilisiert und pflanzenverfügbare sowie antagonistische Wirkung gegenüber bodenbürtigen Schaderregern erzielt (ABDI BAGHI, 1999). Eine Zusammenfassung der wichtigsten stoffwechselphysiologischen Eigenschaften von *Pseudomonas fluorescens* RA56 ist der Tabelle 3 zu entnehmen.

Tab. 3: Stoffwechselphysiologische Eigenschaften von *P. fluorescens* RA56

Hohe Pflanzenaffinität	ja
Bildung von Auxinen und Cytokininen	ja
Phosphat-Mobilisierung	ja
Freisetzung von antibiotikahaltigen Verbindungen	ja
Produktion organischer Säuren z. B. Milch-, Zitronen, Äpfel- und Bernsteinsäure	ja
Freisetzung von Siderophoren	ja
Abbau organischer Verbindungen z. B. PAK, PCB, Benzol und Phenole	ja
Stickstoff-Fixierung	nein

(Quelle: ABDI BAGHI, 1993)

Die in den Gefäßversuchen eingesetzten Mykorrhizapräparate wurden von der Firma MYCOTEC, Hannover, bezogen. Die Inokula setzen sich jeweils aus Sporen, Hyphen und infizierten Wurzelstückchen des Mykorrhizapilzes *Glomus intraradices* Isolat 49 bzw. 510 sowie Blähton zusammen. Die Verwendung dieser *Glomus intraradices*-Isolate in den eigenen Untersuchungen war auf die positiven Ergebnisse

vorangegangener Arbeiten von PETGEN (1998) und WEINMANN (2000) in Hinblick auf die Behebung der Bodenmüdigkeit in Rebschulen zurück zu führen.

## 2.4 Durchführung der Pflanzversuche

Alle Gefäßversuche wurden in Gewächshauskammern der Biologischen Bundesanstalt Berlin-Dahlem (BBA) in den Jahren 2003 und 2004 durchgeführt. Für jeden Vegetationsversuch wurde neuer Boden aus der SFLA in Neustadt a. d. Weinstrasse eingesetzt. Die Böden wurden bis zu ihrer Verwendung in der BBA im Dunkeln bei ca. 10 °C zwischengelagert.

### 2.4.1 Beschreibungen der Versuchsanordnung

Der erste Vegetationsversuch erfolgte im Jahr 2003. Die Holzstecklinge wurden am 3. Juni 2003 gepflanzt. Die Versuchsdauer betrug sechzehn Wochen. In Tabelle 4 wird die Versuchsanordnung des ersten Vegetationsversuchs dargestellt.

Tab. 4: Versuchsanordnung des ersten Vegetationsversuchs

	Gefäßwiederholungen	
	„Müder“ Boden	„Nicht - müder“ Boden
Vegetationsdauer	16 Wochen	16 Wochen
<u>Versuchsvariante:</u>		
Kontrolle ohne Inokulum	28	28
<i>P. fluorescens</i> RA56	28	28
<i>G. intraradices</i> (AM)	28	28
AM + RA56	28	28

Im Jahr 2004 wurden der zweite und dritte Vegetationsversuch durchgeführt. Im zweiten Versuch wurden die Rebstecklinge am 9. April 2004 und im dritten Versuch am 27. Mai 2004 gepflanzt. Die Vegetationsdauer betrug jeweils sechzehn Wochen, wobei bei den Versuchsgliedern auf „müdem“ Boden nach zehn Wochen Zwischenernten erfolgten. Die Versuchsanordnung für den zweiten bzw. dritten Vegetationsversuch ist der Tabelle 5 zu entnehmen.

Tab. 5: Versuchsanordnung des zweiten bzw. dritten Vegetationsversuchs

	Gefäßwiederholungen		
	„Müder“ Boden		„Nicht - müder“ Boden
Vegetationsdauer	10 Wochen	16 Wochen	16 Wochen
<u>Versuchsvariante:</u>			
Kontrolle ohne Inokulum	16	12	12
<i>P. fluorescens</i> RA56	16	12	12
<i>G. intraradices</i> (AM)	16	12	12
AM + RA56	16	12	12

#### 2.4.2 Pflanzungen der Rebenstecklinge

Die Holzstecklinge wurden vor der Pflanzung in die Versuchsböden eine Woche lang in den Gewächshauskammern in Leitungswasser gestellt, um eine Akklimatisierung des Pflanzmaterials nach der Lagerung im Kühlraum an die Versuchsumgebung zu gewährleisten. Anschließend wurden die Versuchsböden durch ein Bodensieb mit der Maschenweite 5 mm gesiebt und durchmischt. Als Versuchsgefäße kamen Kunststofföpfe (Ø 16 cm) zum Einsatz. Jedes Gefäß wurde mit 1,2 kg Versuchsboden befüllt und ein Holzsteckling ca. 10 cm in das Substrat eingebracht.

Danach wurden die Rebstecklinge mit 100 ml Leitungswasser pro Gefäß angegossen.

### 2.4.3 Inokulumapplikation

Die Inokulumapplikation erfolgte in Abhängigkeit von der jeweiligen Versuchsvariante (Kapitel 2.4.1). Das gefriergetrocknete Bakterienpräparat wurde vor der Inokulation 45 min in Leitungswasser bei Raumtemperatur resuspendiert, um eine Revitalisierung der Bakterien zu gewährleisten. Alle Versuchsvarianten mit Bakterienpräparat wurden mit  $3,0 \times 10^9$  Bakterien pro Gefäß und Holzsteckling beimpft (entspricht 37 ml Bakteriensuspension). Die Bakteriensuspension wurde am unteren Ende des Stecklings in der Wurzelbildungszone in den Boden eingebracht.

Die Mykorrhizapräparate *G. intraradices* Isolat 49 und Isolat 510 wurden vor der Inokulation im Volumenverhältnis 1:1 gemischt. Der Boden erhielt entsprechend den Versuchsvarianten eine AM-Inokulumgabe des Mischpräparats von 5 % des Bodenvolumens pro Gefäß. Die Einbringung des AM-Inokulums erfolgte in der Wurzelbildungszone der Versuchspflanzen.

Die Kontrollvariante ohne Inokulum sowie die Variante mit nur Bakterienpräparat erhielten in Anlehnung an die AM-Inokulationsmethode zusätzlich Blähton (Seramis®), um die Vergleichbarkeit der Versuchsbedingungen zu garantieren.

### 2.4.4 Versuchsbedingungen und Pflanzenpflege

Alle Pflanzversuche fanden in Gewächshauskammern mit automatischer Belüftung und Temperaturregelung statt. Bei Bedarf wurden die Gewächshausdächer mittels elektrischer Rollos schattiert, um einer übermäßigen Erwärmung in den Kammern vorzubeugen.

Während der gesamten Versuchsdauer erfolgte die Bewässerung der Pflanzen auf 70 % der Wasserhaltekapazität des entsprechenden Bodens. Der jeweilige Wasserbedarf wurde gravimetrisch ermittelt. Zur Bestimmung der Wasserhaltekapazität im Boden wurde die Methode von HARTGE (1971) angewandt.

Die Rebpflanzen wurden im Verlauf der Vegetationszeit nach 7 und 13 Wochen (16-Wochen-Versuche) mit 100 ml einer 0,2 %igen Poly-Crescal<sup>®</sup>-Lösung gedüngt. Poly-Crescal<sup>®</sup> ist ein NPK-Dünger mit folgender Zusammensetzung: 14 % N Gesamtstickstoff (3,8 % Nitrat, 10,2 % Ammonium); 10 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 14 % K<sub>2</sub>O, 2 % Gesamtmagnesiumoxid.

#### 2.4.5 Pflanzenwachstum und Biomassebestimmung

##### 2.4.5.1 Messungen des Triblängenwachstums

Während der Vegetationszeit wurde das Sprosswachstum protokolliert. Hierfür wurden die Triblängen der Rebpflanzen 4, 7, 10 bzw. 13 und 16 Wochen nach Versuchsbeginn gemessen.

##### 2.4.5.2 Bestimmungen der Trockensubstanzproduktion

Zum Zeitpunkt der Ernte der Rebpflanzen wurden die Triebe von den Holzstecklingen getrennt und die Blattspalten von den Stängeln separiert. Die Rebwurzeln wurden vorsichtig vom Boden befreit und für die Trockensubstanzbestimmung unter fließendem Wasser gereinigt. Nach der Bestimmung der Frischgewichte von Blättern, Stängeln und Wurzeln der jeweiligen Versuchspflanze wurden die Pflanzenkompartimente 1 d bei 60 °C und anschließend 1 d bei 105 °C im Trockenschrank entwässert. Abschließend wurden die Trockengewichte bestimmt.

## **2.5 Durchführung der Mineralstoffanalysen**

Die Mineralstoffanalysen wurden in der Biologischen Bundesanstalt Berlin-Dahlem durchgeführt. Die Messung der Mikro- und Makronährstoffkonzentrationen in den Pflanzen- und Bodenextrakten erfolgte unter Verwendung geeigneter Chemikalien (Instra<sup>®</sup>, Fa. J. T. BAKER) an einem ICP (Inductively Coupled Plasma) der Fa. PERKIN-ELMER.

### **2.5.1 Mikro- und Makronährstoffe in den Weinreben**

Die Bestimmung der Mikro- und Makronährstoffe in den Blättern, Stängeln und Wurzeln der Rebpflanzen erfolgte nach Entwässerung der Proben im Trockenschrank bei 60 °C und 105 °C (DIN 19683, 1973) und deren Pulverisierung mittels einer Kugelachtmühle. Hierzu wurden ca. 400 mg gemahlene Pflanzenmaterial eingewogen und mit 5 ml konz. Salpetersäure aufgenommen. Der Druckaufschluss der Proben wurde mit einem Gerät der Firma LAL bei 20 bis 35 bar und 180 °C durchgeführt. Nach Aufschluss über Nacht wurde das Untersuchungsmaterial mit bi-dest. H<sub>2</sub>O über einen Weißbandfilter in 25 ml -Kolben überspült.

### **2.5.2 Mikro- und Makronährstoffe in den Versuchsböden**

Die Bodenproben für die Mikro- und Makronährstoffanalysen wurden an den Ernteterminen genommen. Die Parallelen einer Variante wurden zu vier Mischproben gepoolt, anschließend gesiebt (Edelstahlsieb, Maschenweite 2 mm) und über mehrere Tage luftgetrocknet.

#### **2.5.2.1 Gesamtgehalte der Nährelemente im Boden**

Die Bestimmung der Gesamtgehalte der Nährelemente erfolgte durch Aufschluss des Bodens mit Königswasser (HCl / HNO<sub>3</sub>, 3:1 v/v). Für den Königswasseraufschluss wurden jeweils 2 g luftgetrockneter Boden in 200 ml Quarzgefäße eingewogen und mit bi-dest. H<sub>2</sub>O heruntergespült. Nach Zugabe von 10 ml Königswasser wurden die Ansätze im Abzug über Nacht stehen gelassen und am nächsten Tag am Rückflusskühler für 2 h bei 140 °C gekocht. Die Proben wurden ein weiteres Mal



heruntergespült, in 50 ml -Kolben ohne Filterpapier überführt und mit bi-dest. H<sub>2</sub>O aufgefüllt. Abschließend erfolgte die Filtration über Weißbandfilter (ohne weiteres Auffüllen der Kolben).

#### 2.5.2.2 Pflanzenverfügbare Gehalte an Nährelementen im Boden

Die Nährelemente, die potentiell pflanzenverfügbar sind und im Bodenwasser frei vorliegen, konnten mit der CAT-Methode (CaCl<sub>2</sub> + DTPA) aufgeschlossen werden. Für den CAT-Bodenaufschluß wurde eine Vorratslösung hergestellt, bestehend aus 14,70 g CaCl<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O und 7,88 g DTPA (Diäthylentriaminpentaessigsäure) in 800 ml 80 °C heißen Wassers gelöst. Diese wurde für den weiteren Gebrauch 1:10 verdünnt. Für die Bodenextraktion wurden 25 g lufttrockener Boden in einer 500 ml Schüttelflasche eingewogen und mit 200 ml Gebrauchslösung (s. o.) überspült. Nach 1 h Schütteln mit einem Überkopf-Schüttler (Firma Gerhardt) folgte das Filtern mit einem Falten-Filter, wobei die ersten 10 bis 20 ml verworfen wurden.

## 2.6 Mikrobiologische Untersuchungsmethoden

### 2.6.1 Quantitative Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades der Rebwurzeln

#### 2.6.1.1 Probenahme

Die Entnahme der Wurzelproben erfolgte an den Ernteterminen. Es wurden aus fünf zufällig ausgewählten Versuchsgefäßen pro Variante je Topf ca. 2 bis 3 g Ernte frische Wurzeln mit einem Durchmesser von 0,5 bis 1,0 mm repräsentativ entnommen, unter fließend Leitungswasser in einem Küchensieb (Maschenweite 1,0 mm) von anhaftenden Boden befreit und einige Tage in verschließbaren Polypropylen-Röhrchen im Kühlraum bei 4 °C aufbewahrt.

#### 2.6.1.2 Anfärben der arbuskulären Mykorrhizapilze

Die Färbung der AM - Mykorrhiza in Rebwurzeln erfolgte nach der Methode von PETGEN (1998) in Anlehnung an KOSKE & GEMMA (1989). Feinwurzeln mit einem Durchmesser von 0,5 bis 1,0 mm wurden zweimal 1 h bei 80 °C in 10 %iger KOH-Lösung im Wasserbad gekocht, bis die KOH-Lösung dunkelrot erschien. Nach

mehrfachem Spülen mit Leitungswasser (LW) wurden die Wurzeln mit frisch angesetzter alkalischer  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung (3 %ig) für 10 min gebleicht. Bei Bedarf wurde die Bleichung wiederholt. Im Anschluss daran wurden die Wurzelproben erneut gründlich mit LW gespült und in 1 %iger HCl über Nacht angesäuert. Danach folgte das Färben der Wurzeln mit 0,05 %igem Trypanblau in Milchsäure (w/w) für 15 min bei 80 °C im Wasserbad. Abschließend wurden die Proben vorsichtig mit LW gespült und mit saurer Glycerin - Lösung (1000 ml ca. 87 %iges Glycerin + 900 ml  $\text{H}_2\text{O}$  + 100 ml konz. HCl) bei RT entfärbt. Die Hyphen, Arbuskeln und Vesikel der Mykorrhizapilze erscheinen nach Abschluss der Färbung dunkelblau.

### 2.6.1.3 Bestimmungen des AM-Infektionsgrades

Die Bestimmung des AM-Infektionsgrades erfolgte mikroskopisch bei 256 -facher (16 x 16) Vergrößerung. Hierzu wurden ca. 1 cm lange gefärbte Rebwurzeln auf dem Objektträger platziert und 150 Bildausschnitte pro Probe auf Mykorrhizifizierung untersucht. Der Infektionsgrad der Wurzeln wurde aus dem Anteil (%) der infizierten Bildausschnitte an der gesamten Anzahl der ausgezählten Bildausschnitte pro Probe berechnet.

## 2.6.2 Qualitativer und quantitativer Nachweis ausgewählter Bakteriengruppen in Wurzel- und Bodenproben

### 2.6.2.1 Probenahme

Die Wurzel- und Bodenprobenahmen für die mikrobiologischen Untersuchungen erfolgten an den Ernteterminen. Es wurden aus jedem Versuchsgefäß einer Variante ca. 2 g frische Feinwurzeln entnommen und zu einer Mischprobe vereinigt. Die Bodenproben wurden unter zu Hilfenahme eines Edelstahlsiebs (Maschenweite 2 mm) von Wurzelstückchen sowie größeren Bodenpartikeln befreit und anschließend durchmischt. Aus jeder Variante wurde eine repräsentative Mischprobe gezogen. Alle Wurzel- und Bodenproben wurden bis zur weiteren Bearbeitung in verschlossenen PE-Fläschchen bei 4 °C im Dunklen gelagert.

### 2.6.2.2 Gewinnung von Boden- und Wurzelextrakten und deren Lagerung

Für die Gewinnung der Bodenextrakte wurden 10 g erntefeuchter Boden in einen 250 ml- Erlenmeyerkolben eingewogen, mit 90 ml steriler 0,89 %iger NaCl-Lösung versetzt und anschließend 60 min bei 20 °C auf einen Schütteltisch (100 U/min) extrahiert.

Die Wurzelextrakte wurden aus frischen Wurzeln gewonnen. Hierzu wurden 1 g Rebwurzeln mit sterilem Quarzsand und 50 ml sterilem Leitungswasser in einem Mörser zerrieben und quantitativ in 200 ml Erlenmeyerkolben überführt. Die Extraktion erfolgte 60 min bei 20 °C auf einen Schütteltisch (100 U/min).

Die Boden- und Wurzelextrakte wurden bis zur weiteren Bearbeitung unter Zugabe von sterilem Glycerin (10 % v/v) in Polypropylen-Röhrchen bei -20 °C aufbewahrt.

Zusätzlich wurde von allen Boden- und Wurzelproben der Feuchtegehalt durch Entwässern bei 105 °C für 24 h im Trockenschrank bestimmt.

### 2.6.2.3 Herstellung selektiver Nährböden

Es wurden selektive Nährmedien für die Kultivierung und Differenzierung ausgewählter *Pseudomonas*-Gruppen und *Streptomyces* verwendet. Für die selektive Anzucht der *Pseudomonas*-Gruppen kam in den Nährmedien (F, P und S-Agar) pro Gruppe nur eine Kohlenstoffquelle zum Einsatz, die von den anderen Gruppen nicht verwertet werden kann (BERGEY'S MANUAL, 1984).

Die Zusammensetzungen der verwendeten Nährmedien sind in Kapitel 2.2 aufgeführt: Alle Nährmedien wurden 20 min bei 121 °C autoklaviert. Penicillin-G-Natrium, Nystatin und D-Raffinose-Pentahydrat wurden mit Spritzenfiltern (Filtropur S 0,2 µm, Sarstedt) steril filtriert in die auf ca. 50 °C abgekühlten Nährmedien zu gegeben, um eine thermische Zersetzung dieser Substanzen zu vermeiden. Die verwendeten Chemikalien ohne Quellenangabe wurden von der Fa. Merck bezogen.

Die Nährmedien wurden in sterile Petrischalen mit Nocken (92 x 16 mm) unter einer Cleanbench gegossen und anschließend bei 4 °C im Kühlraum gelagert.

#### 2.6.2.4 Kultivierung und Differenzierung der Bakteriengruppen

Für die Bestimmung der Lebendkeimzahlen in den Boden- und Wurzelproben wurde aus den Extrakten mit sterilem LW bzw. steriler NaCl-Lsg. (Kapitel 2.6.2.2) für jede Versuchsvariante eine Verdünnungsreihe in 1:10 Verdünnungsschritten hergestellt. Aus drei geeigneten Verdünnungsstufen mit je fünf Wiederholungen wurden 0,1 ml Suspension auf die Nährböden (Kapitel 2.6.2.3) übertragen und mit einem abgeflamten Drigalski-Spatel ausplattiert. Die beimpften Agarplatten wurden bei 28 °C aerob inkubiert, wobei die Inkubationsdauer für KING-Agar B 24 h, für GSP-Agar, F-Agar und P-Agar 48 h, für S-Agar 72 h und für den Streptomyceten-Agar 7 d betrug. Nach der Inkubation wurden die Bakterienkolonien (Colony Forming Units) der auswertbaren Plattenverdünnungen ausgezählt.

Für eine weitergehende Differenzierung der einzelnen *Pseudomonas*-Gruppen wurden die Bakterienkolonien der ausgezählten F-, P- und S-Agarplatten mit einem sterilem Rundfilterpapier (Whatman N° 1) abgenommen und mit den Kolonien nach oben zeigend auf GSP-Agar übertragen. Die Inkubation der Agarplatten erfolgte bei 28 °C für 48 h aerob. Es wurden alle rot-violetten Kolonien gezählt, die nach KIELWEIN (1969, 1971) aufgrund der hoch selektiven Wirkung dieses Nährmediums der Gruppe der *Pseudomonaden* zu zuordnen sind.

Die Zählergebnisse der „Colony Forming Units“ (CFUs) wurden für die Auswertung auf 1 g Trockensubstanz der jeweiligen Boden- bzw. Wurzelprobe bezogen.

## 2.7 Enzymatische Untersuchungsmethoden

### 2.7.1 Bestimmung der mikrobiellen Dehydrogenase-Aktivität (DHA) in den Versuchsböden

Zur Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivitäten im Boden wurde die INT-Methode nach TREVORS (1984) und TREVORS ET. AL. (1982) angewendet. Bei dieser Methode dient die Reduktion von 2-p-Iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-tetrazolium-chlorid (INT) zu Iodonitrotetrazoliumformazan (INF) als Parameter für die mikrobielle Aktivität im Boden. INT (Elektronenakzeptor) wird als Substrat für die Dehydrogenase eingesetzt und INF kolorimetrisch gemessen. Die Anwendung von INT hat mehrere Vorteile. Zum einen wird es schneller als andere Tetrazoliumsalze umgesetzt, zum

anderen wird die INT-Reduktion nur geringfügig von O<sub>2</sub> gehemmt und der Nachweis von INF ist sehr empfindlich (BENEFIELD ET. AL., 1977).

### 2.7.1.1 Probenahme

Die Bodenprobeentnahme erfolgte unter zu Hilfenahme eines Stechzylinders, wobei pro Pflanzgefäß vier Einstiche vorgenommen wurden. In der folgenden Tabelle werden die Probenahmezeitpunkte in den einzelnen Versuchsanordnungen dargestellt.

Tab. 6: Schema der Bodenprobeentnahmen für die DHA - Bestimmungen

Pflanzversuch	Vegetationsdauer in Wochen	Zeitpunkt der Probenahme in Wochen nach Versuchsbeginn	Versuchsboden <sup>1)</sup>
1. Veg.-Versuch	16	0; 4; 7; 10; 13; 16	M + NM
2. Veg.-Versuch	16	16	M + NM
	10	10	M
3. Veg.-Versuch	16	0; 4; 7; 10; 13; 16	M + NM
	10	10	M

<sup>1)</sup> „M“: „Rebmüder“ Boden; „NM“: „Nicht-rebmüder“ Boden

### 2.7.1.2 Extraktion der Dehydrogenase und Messung der DHA

Für die Extraktion der Dehydrogenase und Messung der DHA wurden je Bodenprobe vierfach Bestimmungen vorgenommen. Je 1 g naturfeuchte Bodenprobe wurde in sterile Reagenzgläser eingewogen und mit 0,2 ml steril filtrierter 0,4 %-iger (0,4 g INT in 100 ml dest. H<sub>2</sub>O) INT-Lösung versetzt. Den Kontrollansätzen wurden nur 0,2 ml steriles dest. Wasser zugesetzt. Anschließend wurde den Ansätzen steriles Wasser zugegeben, bis eine 100 %-ige Wasserhaltekapazität des Bodens erreicht war. Zuvor wurde die Wasserhaltekapazität jeder einzelnen Bodenprobe bestimmt. Die Reagenzgläser wurden verschlossen und bei 20 °C für 24 h inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Reagenzgläser geöffnet, je 10 ml Methanol hinzu pipettiert, 1 Minute gut geschüttelt und die Bodensuspension über Filterpapier (Whatman N° 5)

abfiltriert. Die Extinktion (rot) wurde photometrisch (Uvikon 930, Kontron Instruments) bei 485 nm gegen Methanol gemessen.

Für die Berechnung der Ergebnisse wurde eine Eichkurve mit INF-Standard-Lösung (60 µg/ml Methanol) im Doppelansatz hergestellt. Die einzelnen Eichpunkte entsprachen folgenden Konzentrationen:

0 – 3 – 6 – 12 – 18 – 24 – 36 – 42 – 54 – 60 µg/ml.

### 2.7.1.3 Berechnung der Messergebnisse

Die Extinktion des Blindwertes wurde von der Extinktion des Vollansatzes abgezogen. Aus der Eichkurve wurden die µg INF/ml abgelesen und die Dehydrogenaseaktivität nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Dehydrogenaseaktivität (µg INF/g TS)} = (\text{µg INF/ml} \times 10) / \text{TS}$$

TS = Trockensubstanz von 1 g naturfeuchtem Boden

### 2.7.2 Messung der Peroxidase-Aktivität in den Weinreben

Die Bestimmung der Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen erfolgte im zweiten und dritten Vegetationsversuch nach zehn bzw. sechzehn Wochen Vegetationsdauer.

#### 2.7.2.1 Probenahme und Lagerung des Pflanzenmaterials

Das frisch geerntete Blattmaterial ohne Blattstiele und die gewaschenen Wurzeln wurden in Gefrierbeuteln bei 4 °C zwischengelagert und anschließend bis zur weiteren Bearbeitung bei -80 °C aufbewahrt.

#### 2.7.2.2 Extraktion der Peroxidase (POD) aus Wurzeln und Blättern

Die Extraktion der POD erfolgte in Anlehnung an die Methode von SCHÄFER (1970). Je 1 g Pflanzenmaterial wurden in flüssigem Stickstoff im Mörser zerkleinert und mit 5 ml Extraktionspuffer (pH 9,01) quantitativ in Zentrifugenröhrchen überführt.

Zusammensetzung des Extraktionspuffers (5 ml):

10 mg Ascorbinsäure; 10 mg EDTA-Na<sub>2</sub>; 19 mg di-Natriumtetraborat; 18 mg NaCl; 250 mg Polyethylenglykol 20000; 5 ml 0,1 M Tris-Puffer.

Im Anschluss wurden die Pflanzenproben auf Eis 90 Sekunden mit einem Ultratorax homogenisiert, um den Aufschluss der Pflanzenzellen sicherzustellen. Die Pflanzenextrakte wurden bei 10000 g und 4 °C für 20 min zentrifugiert und der Überstand für die Aktivitätsmessung der POD abgenommen.

### 2.7.2.3 Photometrische Bestimmung der POD-Aktivität

Die photometrische Bestimmung der POD-Aktivität wurde in Anlehnung an die Methode von FRIC & FUCHS (1970) durchgeführt. Als Substrat für die Enzymreaktion wurde eine Benzidin-Lösung nach SCHRAUWEN (1966) mit folgender Zusammensetzung verwendet: 50 mg Benzidin in 25 ml 10 %-iger Essigsäure p. a.. Das Gemisch ergab bei Erwärmen auf ca. 40 °C im Wasserbad eine klare Lösung.

Für die Messung der Enzymaktivität wurden 2,35 ml Messpuffer (0,2 M Na-Acetat-Lsg., pH 8,23), 0,25 ml Benzidin-Lösung und 0,3 ml Probe (Extraktionsüberstand) in Küvetten (Fa. Sarstedt) vorgelegt. Der Start der Enzymreaktion erfolgte durch die Zugabe von 0,1 ml frisch angesetzter 0,12 %-iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Der Substratumsatz durch die Peroxidase wurde als Änderung der Extinktion pro Zeiteinheit ( $\Delta E/\text{min}$ ) photometrisch (Uvikon 930, Kontron Instruments) bei 510 nm gemessen. Das Messintervall umfasste eine Minute bis drei Minuten nach Beginn der Enzymreaktion, da in diesem Bereich eine lineare Zunahme der Extinktionswerte gewährleistet war.

Die Ergebnisse wurden als Units pro Minute und g Frischsubstanz berechnet. Als Standard wurde Meerrettich-Peroxidase (Merck) verwendet. Die Aktivität ist als Umsatz von Guajakol mit ca. 170 Units/mg bei pH 7,0 und 25 °C definiert.

### 2.7.3 Messung der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Weinreben

Die Bestimmung der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen erfolgte im zweiten und dritten Vegetationsversuch nach zehn bzw. sechzehn Wochen Vegetationsdauer.

### 2.7.3.1 Probenahme und Lagerung des Pflanzenmaterials

Das frisch geerntete Blattmaterial ohne Blattstiele und die gewaschenen Wurzeln wurden in Gefrierbeuteln bei 4 °C zwischengelagert und anschließend bis zur weiteren Bearbeitung bei – 80 °C aufbewahrt.

### 2.7.3.2 Extraktion der Polyphenoloxidase (PPO) aus Wurzeln und Blättern

Die Durchführung der Polyphenoloxidase-Extraktion aus dem Pflanzenmaterial erfolgte nach der Arbeitsvorschrift zur Extraktion der Peroxidase (Kap. 2.7.2.2).

### 2.7.3.3 Photometrische Bestimmung der PPO-Aktivität

Für die photometrische Bestimmung der Polyphenoloxidase-Aktivität wurde eine modifizierte Methode nach CHEN ET. AL. (2000) angewendet. Als Substrat für die Enzymreaktion wurde 0,2 M Pyrocatechol (Sigma-Aldrich) eingesetzt. In Küvetten (Sarstedt) wurden 2,7 ml Na-Acetat-Puffer (pH 8,23) und 0,3 ml Probe (Extraktionsüberstand) vorgelegt. Nach Zugabe von 0,3 ml Pyrocatechol (0,2 M) erfolgte die photometrische Messung der Absorptionsänderung ( $\Delta E/\text{min}$ ) bei 420 nm für drei Minuten (Photometer: Uvikon 930, Kontron Instruments).

Die Ergebnisse wurden als Units pro Minute und g Frischsubstanz berechnet. Als Standard wurde Tyrosinase (Sigma-Aldrich) verwendet. Eine Unit ist als Änderung der Absorption ( $\lambda$  280 nm) von 0,001 pro Minute bei pH 6,5 und 25 °C in 3 ml Reaktionsansatz definiert. Für die Aktivität werden 2130 Units/mg angegeben.

## 2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Verrechnung der Daten erfolgte mit Hilfe der ANOVA (One Way Analysis Of Variance). Nach Prüfung der Daten auf Normalverteilung ( $p < 0,05$ ) und Varianz ( $p < 0,05$ ) wurde die Signifikanzprüfung entweder mit dem Student-Newman-Keuls Test (SNK) für den Paarweisen Vergleich aller möglichen Paare von Behandlungen oder dem Dunnett`s Test für einen multiplen Vergleich gegen eine Kontrollgruppe durchgeführt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha$  betrug bei beiden Tests 0,05. Für die Überprüfung auf lineare Zusammenhänge zwischen Ergebnissen verschiedener Untersuchungsparameter wurden Korrelationsanalysen durchgeführt



und der Pearsonsche Maßkorrelationskoeffizient  $r$  als Maßzahl für die Stärke eines Zusammenhanges berechnet. Alle statistischen Berechnungen wurden mit der Statistik-Software SigmaStat™ 3.0 (Jandel Scientific) durchgeführt.

Zur Kennzeichnung von gesicherten Unterschieden zwischen den Mittelwerten wurden die Grenzdifferenzen und Buchstaben angegeben, wobei Werte ohne gemeinsamen Buchstaben sich signifikant unterscheiden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Trockensubstanzproduktion, Trieb­längenwachstum und Anwuchsrate von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB

Die Prüfungen zur Wirksamkeit von Inokulationen mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 und dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* (AM) auf die Biomasseproduktion und Anwuchsrate von Rebstecklingen der Unterlagssorte 5BB auf „rebmüdem“ Boden erfolgten in drei Vegetationsversuchen nach zehn bzw. sechzehn Wochen Wachstumsdauer. Die Untersuchungen dieser Versuchsparemeter sollten darüber Aufschluss geben, ob eine Behebung der Bodenmüdigkeit in Weinrebschulen durch gezielte Inokulationen von Mikroorganismen zu erzielen sei. Zusätzlich dazu wurden die Wachstumsparameter der Stecklinge auf „nicht-rebmüdem“ Boden nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer bestimmt.

##### 3.1.1 Trockensubstanzproduktion

###### **Rebmüder Boden:**

Nach zehn Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden konnten bei den Rebpflanzen in Bezug auf das Wachstum keine signifikanten Unterschiede durch die Behandlungen gegenüber den Kontrollpflanzen festgestellt werden (Tab. 7 und 8). Nur im dritten Vegetationsversuch wurde die Wurzelbiomasse durch die Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 um 41,3 % signifikant verringert (Tab. 8).

Tabelle 7: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 2. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 16; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
	g Trockenmasse / Pflanze			
Kontrolle	1,29 ± 0,56 a	0,46 ± 0,38 a	1,75 ± 0,93 a	0,64 ± 0,29 a
RA56	1,62 ± 0,66 a	0,65 ± 0,33 a	2,27 ± 0,98 a	0,68 ± 0,20 a
AM	1,50 ± 0,54 a	0,69 ± 0,31 a	2,18 ± 0,85 a	0,90 ± 0,36 a
AM + RA56	1,35 ± 0,59 a	0,54 ± 0,35 a	1,89 ± 0,92 a	0,76 ± 0,28 a

Tabelle 8: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 3. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 16; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
	g Trockenmasse / Pflanze			
Kontrolle	1,29 ± 0,42 a	0,50 ± 0,19 a	1,79 ± 0,61 a	0,75 ± 0,18 a
RA56	1,20 ± 0,26 a	0,45 ± 0,17 a	1,65 ± 0,42 a	0,44 ± 0,15 b
AM	1,10 ± 0,53 a	0,37 ± 0,21 a	1,47 ± 0,74 a	0,52 ± 0,28 a
AM + RA56	1,13 ± 0,49 a	0,37 ± 0,17 a	1,50 ± 0,66 a	0,73 ± 0,29 a

Die Einzelinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 bewirkten bei den Versuchspflanzen auf „rebmüdem“ Boden nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer signifikante Zunahmen der Blattbiomassen (1. Veg.: +83,2 %, 2. Veg.: +26,4 %, 3. Veg.: +31,5 %) und der Stängelbiomassen (1. Veg.: +106,7 %, 2. Veg.: +60,3 %, 3. Veg.: +59,6 %) gegenüber den Kontrollpflanzen (Tab. 9, 10 und 11). Auch die Einzelbehandlungen mit *G. intraradices* erhöhten die Trockensubstanzproduktion der

Reben, wobei die Blattbiomasse im ersten und dritten Vegetationsversuch (+53,4 bzw. +45,8 %) und die Biomassen der Stängel in der zweiten Vegetation um 42,3 % sowie im dritten Versuch um 62,9 % signifikant erhöht wurden. Kombinierte Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* führten ebenfalls zu einer signifikanten Zunahme der Biomasse von Blättern und Stängeln gegenüber den Kontrollpflanzen, allerdings waren diese Ergebnisse nur im zweiten Vegetationsversuch (Tab. 10) für die Blätter (+32,3 %) und die Stängel (+44,9 %) sowie die Blattbiomasse (+22,2 %) im dritten Pflanzversuch (Tab. 11) statistisch abgesichert. Das Wurzelwachstum konnte durch die Inokulationen mit Mikroorganismen nur tendenziell gesteigert werden. Nur die Einzelbehandlung mit dem Mykorrhizapilz bewirkte im ersten und dritten Vegetationsversuch (+117,5 bzw. +46,8 %) eine signifikante Verbesserung des Wurzelwachstums in Relation zur Kontrolle (Tab.11).

Tabelle 9: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ Boden: 1. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 28; Dunnett - Test, p ≤ 0,05)

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
g Trockenmasse / Pflanze				
Kontrolle	1,61 ± 0,91 a	1,20 ± 0,93 a	2,80 ± 1,83 a	0,40 ± 0,38 a
RA56	2,95 ± 1,06 b	2,48 ± 1,09 b	5,43 ± 2,13 b	1,04 ± 0,55 b
AM	2,47 ± 0,97 b	1,90 ± 0,97 a	4,37 ± 1,93 b	0,87 ± 0,55 b
AM + RA56	2,15 ± 1,27 a	1,55 ± 1,21 a	3,70 ± 2,46 a	0,83 ± 0,64 a

Tabelle 10: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 2. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
g Trockenmasse / Pflanze				
Kontrolle	2,01 ± 0,37 a	0,78 ± 0,22 a	2,79 ± 0,57 a	1,44 ± 0,39 a
RA56	2,54 ± 0,32 b	1,25 ± 0,23 b	3,78 ± 0,51 b	1,66 ± 0,34 a
AM	2,33 ± 0,38 a	1,11 ± 0,27 b	3,44 ± 0,62 a	1,71 ± 0,62 a
AM + RA56	2,66 ± 0,60 b	1,13 ± 0,26 b	3,79 ± 0,84 b	1,91 ± 0,46 a

Tabelle 11: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden: 3. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
g Trockenmasse / Pflanze				
Kontrolle	2,03 ± 0,51 a	0,89 ± 0,28 a	2,92 ± 0,78 a	1,86 ± 0,80 a
RA56	2,67 ± 0,27 b	1,42 ± 0,29 b	4,09 ± 0,52 b	2,00 ± 0,53 a
AM	2,96 ± 0,41 b	1,45 ± 0,32 b	4,41 ± 0,69 b	2,73 ± 0,86 b
AM + RA56	2,48 ± 0,47 b	1,08 ± 0,21 a	3,56 ± 0,65 a	2,14 ± 0,72 a

### Nicht-rebmüder Boden:

In den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden führten die Einzelinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 in allen drei Vegetationsversuchen nach sechzehn Wochen Wachstumsdauer zu signifikanten bzw. tendenziellen Steigerungen der Biomasseproduktionen im Vergleich zur den Kontrollpflanzen (Tab. 12, 13 und 14). So konnte festgestellt werden, dass die Biomassen der Blätter um 57,4 % (1.

Versuch), 2,3 % (2. Versuch) bzw. 25,1 % (3. Versuch) und die Stängelbiomassen um 85,6 % (1. Versuch), 9,6 % (2. Versuch) sowie im dritten Versuch um 45,6 % erhöht wurden.

Dagegen erbrachte die Behandlung mit *G. intraradices* keine reproduzierbaren Ergebnisse. Einerseits konnten im ersten und dritten Vegetationsversuch (Tab. 12 und 14) zum Teil signifikante Erhöhungen der Blattbiomasse (1.Veg.: +40,8 %, 3.Veg.: +15,5 %) und der Stängeltrockensubstanz (1.Veg.: +56,9 %) beobachtet werden, andererseits nahm die Biomasseproduktion im zweiten Vegetationsversuch (Tab. 13) um 15,1 % (Blätter) bzw. 21,7 % (Stängel) signifikant im Vergleich zu den Rebpflanzen ohne Inokulation ab.

Die kombinierten Behandlungen zeigten bis auf die Erhöhung der Blattbiomasse um 19,1 % im 3. Vegetationsversuch keine statistisch gesicherten Veränderungen im Wachstum gegenüber den Kontrollpflanzen (Tab. 14).

Bei allen Inokulationsvarianten konnten Zunahmen der Wurzelbiomassen im Vergleich zu den Kontrollansätzen in den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden beobachtet werden (Tab. 12, 13 und 14). Diese Ergebnisse waren aber nur im ersten Versuch bei Einzelbehandlung mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 (+43,4 %) statistisch gesichert (Tab. 12).

Tabelle 12: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden: 1. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 28; Dunnett - Test, p ≤ 0,05)

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
	g Trockenmasse / Pflanze			
Kontrolle	2,11 ± 0,91 a	1,53 ± 1,08 a	3,64 ± 2,11 a	0,76 ± 0,61 a
RA56	3,32 ± 1,03 b	2,84 ± 1,14 b	6,16 ± 2,16 b	1,09 ± 0,59 b
AM	2,97 ± 0,83 b	2,40 ± 1,21 b	5,37 ± 1,86 b	0,97 ± 0,53 a
AM + RA56	1,99 ± 1,17 a	1,30 ± 1,13 a	3,30 ± 2,27 a	0,67 ± 0,65 a

Tabelle 13: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden: 2. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
	g Trockenmasse / Pflanze			
Kontrolle	2,58 ± 0,17 a	1,15 ± 0,08 a	3,73 ± 0,18 a	1,87 ± 0,53 a
RA56	2,64 ± 0,20 a	1,26 ± 0,18 a	3,90 ± 0,33 a	2,00 ± 0,29 a
AM	2,19 ± 0,40 b	0,90 ± 0,18 b	3,08 ± 0,57 b	1,98 ± 0,70 a
AM + RA56	2,45 ± 0,26 a	1,02 ± 0,15 a	3,47 ± 0,36 a	1,94 ± 0,37 a

Tabelle 14: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Trockensubstanzproduktion der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden: 3. Vegetationsversuch (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Variante	Blatt	Stängel	Spross	Wurzel
	g Trockenmasse / Pflanze			
Kontrolle	3,03 ± 0,32 a	1,69 ± 0,30 a	4,72 ± 0,58 a	2,86 ± 0,84 a
RA56	3,79 ± 0,37 b	2,46 ± 0,62 b	6,24 ± 0,96 b	3,35 ± 1,13 a
AM	3,50 ± 0,50 b	1,87 ± 0,36 a	5,37 ± 0,82 a	3,26 ± 0,94 a
AM + RA56	3,61 ± 0,29 b	1,89 ± 0,32 a	5,50 ± 0,49 a	3,43 ± 0,49 a

### Zusammenfassung:

Beim Vergleich der Sprossbiomassen der Reben auf „rebmüdem“ und „nicht-rebmüdem“ Boden konnte festgestellt werden, dass Inokulationen mit dem phytoeffektiven Bakterienstamm *P. fluorescens* RA56 und dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* im einzelnen sowie in Kombination das Sprosswachstum der Reben in

„rebmüdem“ Boden auf das Wachstumsniveau der Kontrollpflanzen in „nicht-rebmüdem“ Boden beförderte.

### 3.1.2 Triblängenwachstum

Die Ermittlung des Verlaufs des Triblängenwachstums erfolgte während der Vegetationsperiode nach 4, 7, 10, 13 und 16 Wochen Wachstum der Reben.

#### **Rebmüder Boden:**

Wie der Verlauf des Triblängenwachstums auf „rebmüdem“ Boden zeigte (Abb. 1, 2 und 3), wirkten sich die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* erstmalig nach vier Wochen aus. Die Förderung des Sprosswachstums durch die Einzelinokulationen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen verdeutlichte sich nach sieben Wochen Wachstumsdauer und war am Ende der Vegetationszeit nach sechzehn Wochen am stärksten ausgeprägt, wobei lediglich die alleinige Behandlung mit *P. fluorescens* RA56 in allen drei Vegetationsversuchen zu einer signifikanten Verbesserung des Sprosswachstums führte (Tab. 15). So konnte im ersten Versuch eine Zunahme des Triblängenwachstums um 35,8 %, im zweiten Versuch um 33,2 % und im dritten Versuch um 58,3 % beobachtet werden. Inokulationen mit *G. intraradices* bewirkten im ersten und zweiten Vegetationsversuch tendenziell und nur im dritten Vegetationsversuch eine signifikante Steigerung des Triblängenwachstums um 43,7 %. Die kombinierten Inokulationen erwiesen sich als ungeeignet bei der Verbesserung des Sprosswachstums gegenüber den Kontrollpflanzen.



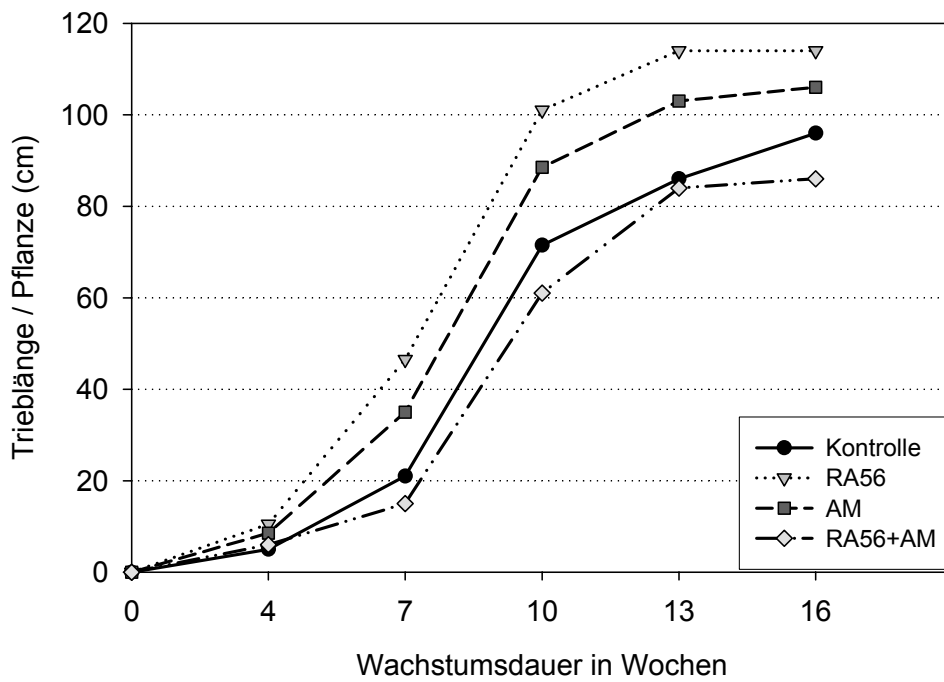


Abbildung 1: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch auf „rebmüdem“ Boden; n = 28

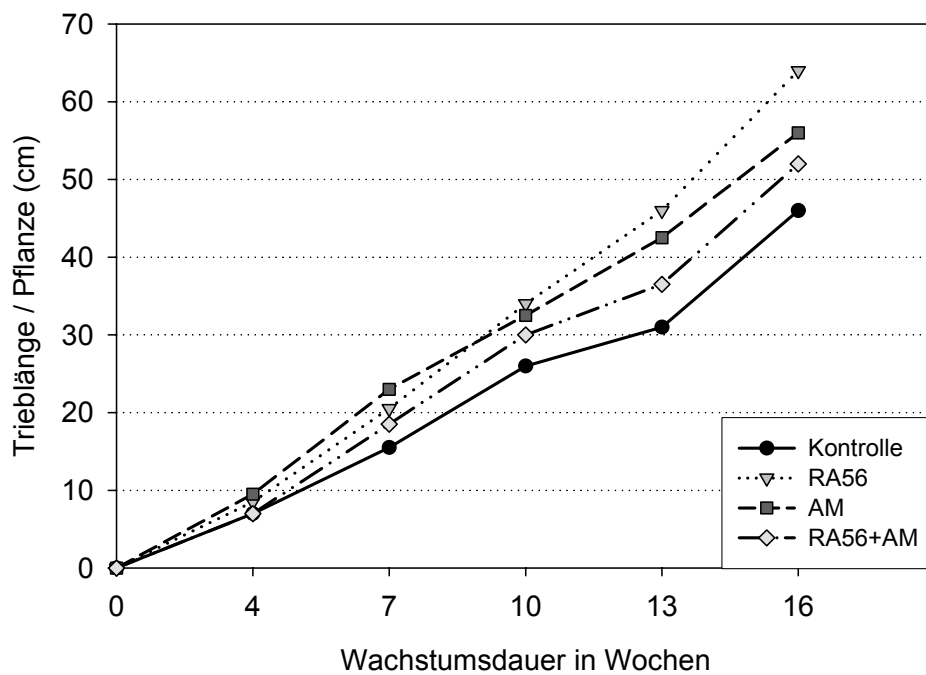


Abbildung 2: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch auf „rebmüdem“ Boden; n = 12

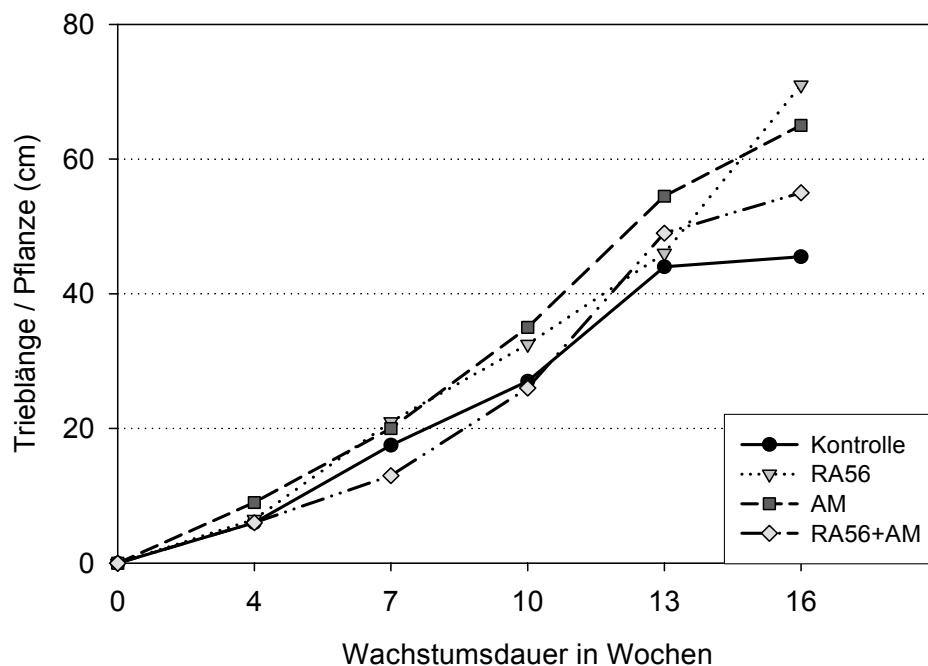


Abbildung 3: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch auf „rebmüdem“ Boden; n = 12

Tabelle 15: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf das Trieb­längenwachstum der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden; (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; Dunnett - Test, p ≤ 0,05)

Behandlung	Trieb­länge [cm] / Pflanze nach 16 Wochen		
	1. Vegetation	2. Vegetation	3. Vegetation
Kontrolle	82,8 ± 33,7 a	48,2 ± 9,6 a	45,1 ± 12,1 a
RA56	112,4 ± 28,8 b	64,2 ± 11,6 b	71,4 ± 12,1 b
AM	94,2 ± 32,2 a	53,5 ± 8,2 a	64,8 ± 9,5 b
AM + RA56	74,7 ± 38,4 a	49,9 ± 12,4 a	51,3 ± 9,7 a

### Nicht-rebmüder Boden:

In den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden konnte im Gegensatz zum „rebmüden“ Boden ein generell besseres Triblängenwachstum der Reben festgestellt werden (Abb. 4, 5 und 6).

Dabei wurde der größte Triblängenzuwachs durch die Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 im Vergleich zur Kontrolle erzielt. Nach sechzehn Wochen Wachstum der Reben war bei dieser Behandlungsvariante das Sprosswachstum (1.Veg.: +55,6 %, 3.Veg.: +20,3 %), außer im 2. Vegetationsversuch, signifikant erhöht. Behandlungen mit dem Mykorrhizapilz erbrachten widersprüchliche Ergebnisse. Demnach wurde zwar im ersten Pflanzversuch eine signifikante Zunahme der Triblängen der Reben um 52,9 % festgestellt aber im zweiten und dritten Versuch kam es zu einer tendenziellen Abnahme des Triblängenwachstums. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Kombinationsinokulationen zur Abnahme des Triblängenwachstums relativ zur Kontrolle führten und im zweiten Pflanzversuch Signifikanz zeigte (-21,7 %) (Tab. 16).

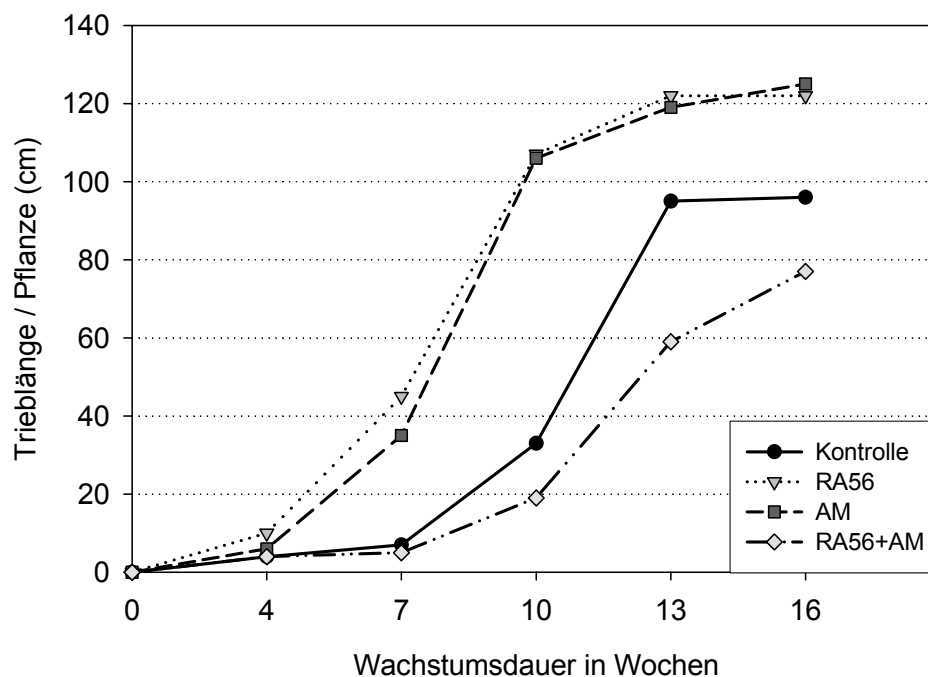


Abbildung 4: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Triblängenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch auf „nicht-rebmüdem“ Boden; n=28

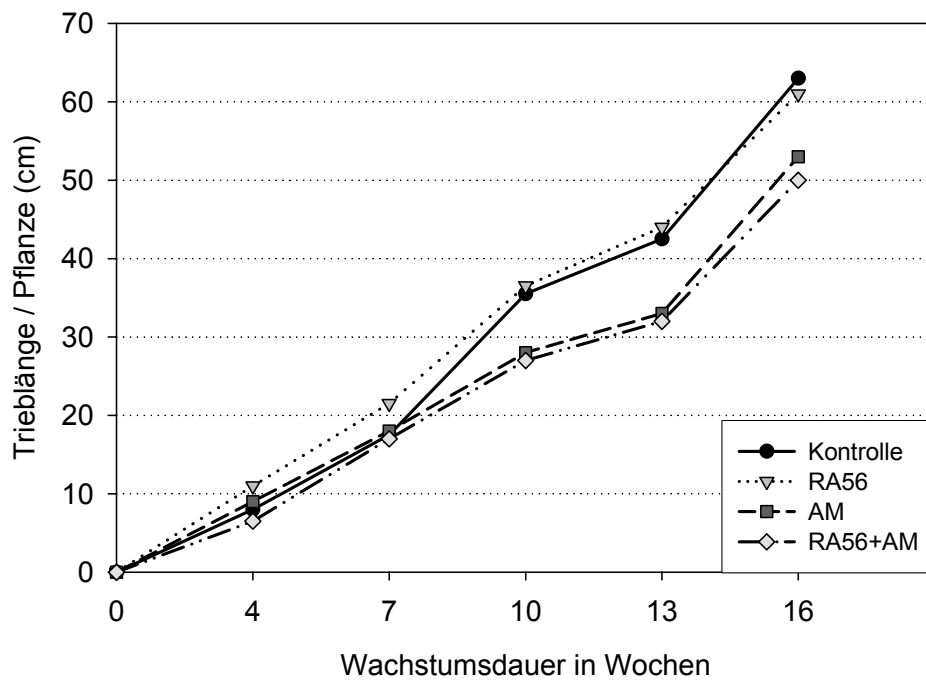


Abbildung 5: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch auf „nicht-rebmüdem“ Boden; n=12

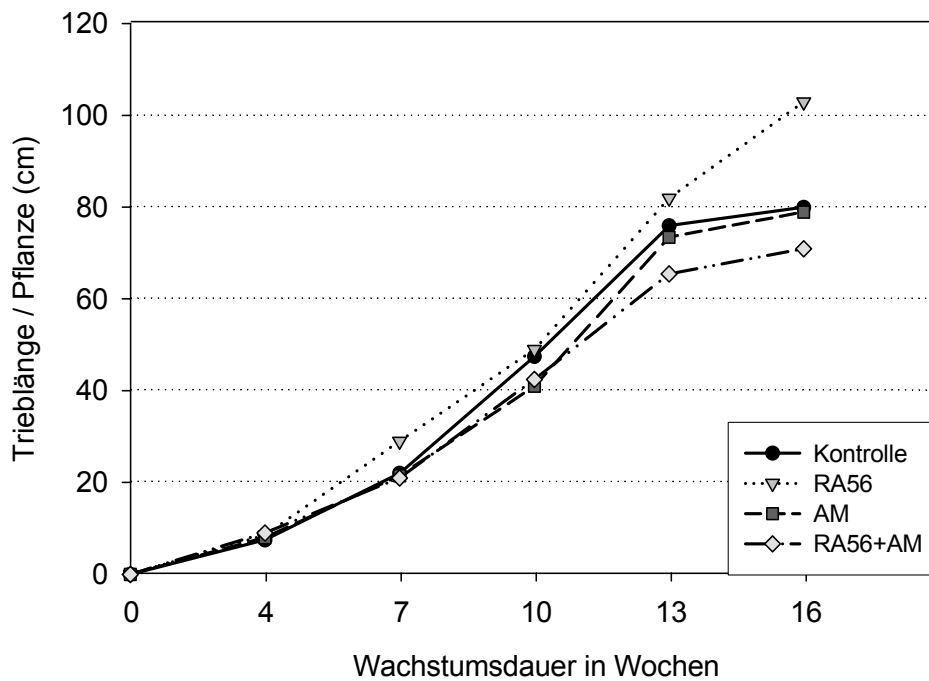


Abbildung 6: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen auf den Verlauf des Trieb­längenwachstums der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch auf „nicht-rebmüdem“ Boden; n=12

Tabelle 16: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf das Trieb­längenwachstum der Holzstecklinge nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden;  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; Dunnett - Test, p ≤ 0,05)

	Trieb­länge [cm] / Pflanze nach 16 Wochen		
	1. Vegetation	2. Vegetation	3. Vegetation
Kontrolle	78,9 ± 43,7 a	62,7 ± 5,9 a	81,1 ± 13,7 a
RA56	122,8 ± 18,1 b	63,9 ± 14,0 a	97,6 ± 24,4 b
AM	120,6 ± 23,1 b	49,9 ± 10,7 a	73,7 ± 18,6 a
AM + RA56	69,6 ± 35,9 a	49,1 ± 8,2 b	68,6 ± 11,9 a

### Zusammenfassung:

Abschließend kann festgestellt werden, dass die Einzelinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 bei den Reben auf „müdem“ Boden zu einer Steigerung des Sprosswachstums führten, welches vergleichbar den auf „nicht-müden“ Boden wachsenden Kontrollpflanzen war.

### 3.1.3 Anwuchsrate der Holzstecklinge

Im Folgenden wurde die Ausfallrate bzw. Anwuchsrate der Holzstecklinge (Unterlagssorte 5BB) auf „rebmüdem“ und „nicht-rebmüdem“ Boden in den drei Vegetationsversuchen ermittelt. Hierzu wurden die angewachsenen Stecklinge prozentual in Verhältnis zur Anzahl der gepflanzten Stecklinge gesetzt und daraus die Anwuchsrate in [%] berechnet.

Aus Tabelle 17 wird ersichtlich, dass die besten Anwuchsraten bei den Rebstecklingen auf „müdem“ Boden durch die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 (1.Veg.: 96,4 %, 2.Veg.: 78,6 %, 3.Veg.: 78,8 %) bzw. *G. intraradices* (1.Veg.: 92,9 %, 2.Veg.: 82,1 %, 3.Veg.: 82,1 %) erreicht wurden. Zusätzlich konnte bei diesen Behandlungsvarianten in allen drei Vegetationsversuchen eine hohe Konstanz der

Anzahl der angewachsenen Holzstecklinge im Vergleich zur Kontrolle und Kombinationsinokulation beobachtet werden.

Tabelle 17: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Anwuchsrate der Holzstecklinge (Unterlagssorte 5BB) auf „**rebmüdem**“ Boden

	Anwuchsrate [%]		
	1. Vegetation	2. Vegetation	3. Vegetation
Kontrolle	85,7	50,0	67,9
RA56	96,4	78,6	78,6
AM	92,9	82,1	82,1
AM + RA56	82,1	60,7	75,0

Die Anwuchsraten der Holzstecklinge auf „nicht-rebmüdem“ Boden konnten durch Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* im einzelnen und in Kombination ebenfalls gegenüber den Kontrollansätzen verbessert werden, wobei die besten Anwuchsraten durch phytoeffektiven Bakterien mit 92,9 % im ersten, mit 83,3 % im zweiten und mit 91,7 % im dritten Vegetationsversuch erzielt wurden (Tab. 18).

Tabelle 18: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Anwuchsrate der Holzstecklinge (Unterlagssorte 5BB) auf „**nicht-rebmüdem**“ Boden

	Anwuchsrate [%]		
	1. Vegetation	2. Vegetation	3. Vegetation
Kontrolle	67,9	50,0	83,3
RA56	92,9	83,3	91,7
AM	89,3	75,0	100
AM + RA56	71,4	91,7	83,3

### 3.2 Mikro- und Makronährstoffgehalte in den Rebpflanzen und den Versuchsböden

Im folgenden Teil wird der Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Mikro- und Makronährstoffgehalte in den Blättern und Wurzeln nach 16-wöchiger Bepflanzung auf „rebmüdem“ und „nicht-rebmüdem“ Boden sowie auf die Pflanzenverfügbarkeit der Mikro- und Makronährstoffe in den Versuchsböden vorgestellt. Die Bestimmungen der Nährstoffgehalte in den Pflanzenkompartimenten erfolgten nach dem Druckaufschlussverfahren (siehe Kapitel 2.5.1). Die Gehalte an pflanzenverfügbaren Nährelementen im Boden wurden nach der CAT-Methode bestimmt; wobei die Ca-Gehalte aus methodischen Gründen nicht gemessen werden konnten (siehe Kapitel 2.5.2.2).

Die Ergebnisse über die Wirkung der phytoeffektiven Rhizobakterien und der AM auf die Mikro- und Makronährstoffgehalte in den Rebwurzeln sind im Anhang aufgelistet (siehe Tab. A1, A2, A3 und A4).

#### 3.2.1 Mineralstoffgehalte in den Rebpflanzen

##### **Rebmüder Boden:**

Die Behandlungen der Reben mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* auf „müdem“ Boden führte zu einer Erniedrigung der Cu-, Fe-, Mn-, Zn-, und Mg-Gehalte in den Blättern im Vergleich zur Kontrolle, die aber nur teilweise statistisch abgesichert werden konnte (Tab. 19 und 20). So wurden die Cu-Gehalte durch die Dualinokulationen im ersten und dritten Versuch um 25,0 % bzw. 16,7 % signifikant erniedrigt. Die Fe-Gehalte wurden durch die Einzelinokulation mit *P. fluorescens* RA56 um 18,7 % (1.Veg.) und 24,0 % (3.Veg.), durch die Dualinokulation um 32,9 % (1.Veg.) und 24,8 % (3.Veg.) sowie durch die Einzelbehandlung mit *G. intraradices* im ersten Versuch um 22,7 % verringert. Bei den Mn-Gehalten konnte nur im ersten Pflanzversuch eine statistisch gesicherte Abnahme in den Blättern bei Behandlungen mit dem Mykorrhizapilz beobachtet werden (AM: -16,4 %, AM+RA56: -24,0 %). Hinsichtlich der Gehalte an Zn führten alle Inokulationsvarianten im ersten Versuch (RA56: -57,3 %, AM: -64,7 %, AM+RA56: -68,3 %) und im dritten Versuch (RA56: -20,9 %, AM: -30,0 %, AM+RA56: -29,6 %) zu signifikanten Verringerungen in den Blättern. Dagegen war im zweiten Pflanzversuch ein signifikanter Unterschied zur

Kontrolle nur bei der Einzelinokulation mit AM (-24,2 %) vorhanden (Tab. 19). Signifikante Reduzierungen der Mg-Gehalte konnten im ersten Vegetationsversuch bei der Dualbehandlung (-20,0 %) und im dritten Versuch bei den Einzelinokulationen mit *G. intraradices* (-16,1 %) oder *P. fluorescens* RA56 (-16,1 %) festgestellt werden. Die Gehalte an Ca, K und P in den Rebblättern wurden durch die Zugabe von Mikroorganismen nicht beeinflusst (Tab. 20).

Die untersuchten Rebwurzeln zeigten durch die Behandlungen keine Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollansätzen in den Mikro- und Makronährstoffgehalten (Tab. A1 und A2).

Tabelle 19: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Blättern von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „rebmüdem“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Cu	Fe	Mn	Zn
		mg / kg TS			
1. Veg.	Kontrolle	7,2 $\pm$ 0,3 a	225 $\pm$ 12,6 a	104 $\pm$ 3,6 a	77,3 $\pm$ 40,2 a
	RA56	6,4 $\pm$ 1,1 a	183 $\pm$ 29,2 b	98 $\pm$ 1,8 a	33,0 $\pm$ 5,9 b
	AM	6,1 $\pm$ 0,5 a	174 $\pm$ 11,4 b	87 $\pm$ 2,9 b	27,3 $\pm$ 1,5 b
	AM + RA56	5,4 $\pm$ 0,5 b	151 $\pm$ 18,1 b	79 $\pm$ 5,5 b	24,5 $\pm$ 3,1 b
2. Veg.	Kontrolle	5,2 $\pm$ 0,2 a	128 $\pm$ 25,4 a	99 $\pm$ 14,9 a	25,6 $\pm$ 4,1 a
	RA56	5,3 $\pm$ 0,5 a	129 $\pm$ 31,1 a	101 $\pm$ 28,3 a	20,6 $\pm$ 2,3 a
	AM	4,7 $\pm$ 0,2 a	109 $\pm$ 12,4 a	93 $\pm$ 8,0 a	19,4 $\pm$ 1,1 b
	AM + RA56	5,0 $\pm$ 0,5 a	104 $\pm$ 22,0 a	81 $\pm$ 11,9 a	23,2 $\pm$ 1,1 a
3. Veg.	Kontrolle	5,4 $\pm$ 0,1 a	129 $\pm$ 13,5 a	121 $\pm$ 22,0 a	23,0 $\pm$ 4,2 a
	RA56	5,1 $\pm$ 0,3 a	98 $\pm$ 11,9 b	115 $\pm$ 16,6 a	18,2 $\pm$ 1,1 b
	AM	4,7 $\pm$ 0,7 a	110 $\pm$ 16,7 a	111 $\pm$ 19,8 a	16,1 $\pm$ 1,5 b
	AM + RA56	4,5 $\pm$ 0,2 b	97 $\pm$ 6,1 b	114 $\pm$ 28,8 a	16,2 $\pm$ 1,1 b



Tabelle 20: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Blättern von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „rebmüdem“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Ca	K	Mg	P
		mg / g TS			
1. Veg.	Kontrolle	23,3 $\pm$ 1,0 a	12,5 $\pm$ 0,5 a	3,0 $\pm$ 0,2 a	1,7 $\pm$ 0,05 a
	RA56	22,9 $\pm$ 0,8 a	13,0 $\pm$ 0,8 a	2,9 $\pm$ 0,1 a	1,7 $\pm$ 0,04 a
	AM	22,0 $\pm$ 1,0 a	12,3 $\pm$ 0,7 a	3,0 $\pm$ 0,1 a	1,8 $\pm$ 0,03 b
	AM + RA56	18,8 $\pm$ 1,0 b	13,4 $\pm$ 0,5 a	2,4 $\pm$ 0,2 b	1,7 $\pm$ 0,04 a
2. Veg.	Kontrolle	20,4 $\pm$ 1,7 a	13,1 $\pm$ 0,6 a	3,1 $\pm$ 0,04 a	1,5 $\pm$ 0,11 a
	RA56	18,6 $\pm$ 1,5 a	12,9 $\pm$ 0,5 a	2,9 $\pm$ 0,2 a	1,4 $\pm$ 0,06 a
	AM	17,5 $\pm$ 0,8 a	12,0 $\pm$ 1,0 a	2,9 $\pm$ 0,2 a	1,3 $\pm$ 0,05 a
	AM + RA56	18,1 $\pm$ 2,0 a	12,7 $\pm$ 1,3 a	2,7 $\pm$ 0,1 a	1,4 $\pm$ 0,07 a
3. Veg.	Kontrolle	21,7 $\pm$ 2,3 a	10,6 $\pm$ 1,7 a	3,1 $\pm$ 0,2 a	1,6 $\pm$ 0,18 a
	RA56	16,9 $\pm$ 4,7 a	10,7 $\pm$ 0,6 a	2,6 $\pm$ 0,07 b	1,7 $\pm$ 0,09 a
	AM	19,1 $\pm$ 1,1 a	9,8 $\pm$ 0,5 a	2,6 $\pm$ 0,2 b	1,5 $\pm$ 0,02 a
	AM + RA56	18,6 $\pm$ 2,3 a	10,4 $\pm$ 0,8 a	2,9 $\pm$ 0,1 a	1,5 $\pm$ 0,05 a

### Nicht-rebmüder Boden:

In den Untersuchungen zu den Gehalten an Mikro- und Makronährstoffen in den Blättern und Wurzeln der Weinreben auf „nicht-müden“ Boden konnten in den drei Vegetationsversuchen keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden, die auf eine tendenzielle oder signifikante Wirkung der Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* im Vergleich zu den Kontrollansätzen schließen lassen (Tab. 21, 22, A3 und A4).

Tabelle 21: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Blättern von Rebpfanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „nicht-rebmüdem“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Cu	Fe	Mn	Zn
		mg / kg TS			
1. Veg.	Kontrolle	8,6 $\pm$ 2,6 a	223 $\pm$ 18,5 a	136 $\pm$ 5,9 a	84,3 $\pm$ 27,3 a
	RA56	5,9 $\pm$ 0,7 a	194 $\pm$ 24,6 a	154 $\pm$ 7,6 b	43,3 $\pm$ 18,6 b
	AM	6,5 $\pm$ 0,7 a	202 $\pm$ 2,7 a	138 $\pm$ 10,2 a	34,5 $\pm$ 2,7 b
	AM + RA56	6,8 $\pm$ 0,5 a	156 $\pm$ 19,7 b	114 $\pm$ 5,5 b	26,8 $\pm$ 3,8 b
2. Veg.	Kontrolle	4,4 $\pm$ 0,4 a	118 $\pm$ 31,1 a	126 $\pm$ 10,0 a	19,0 $\pm$ 2,7 a
	RA56	4,0 $\pm$ 0,4 a	95 $\pm$ 14,1 a	132 $\pm$ 14,0 a	15,9 $\pm$ 1,5 a
	AM	5,0 $\pm$ 0,6 a	99 $\pm$ 31,9 a	135 $\pm$ 21,2 a	16,6 $\pm$ 1,8 a
	AM + RA56	5,5 $\pm$ 1,1 a	116 $\pm$ 43,8 a	135 $\pm$ 32,1 a	21,1 $\pm$ 5,9 a
3. Veg.	Kontrolle	4,1 $\pm$ 0,6 a	144 $\pm$ 28,9 a	113 $\pm$ 11,3 a	18,7 $\pm$ 1,7 a
	RA56	3,8 $\pm$ 0,4 a	134 $\pm$ 12,0 a	99 $\pm$ 9,2 a	16,8 $\pm$ 2,0 a
	AM	4,9 $\pm$ 0,9 a	185 $\pm$ 61,1 a	108 $\pm$ 31,1 a	20,1 $\pm$ 2,5 a
	AM + RA56	4,1 $\pm$ 0,3 a	153 $\pm$ 26,7 a	97 $\pm$ 20,6 a	19,0 $\pm$ 1,9 a

Tabelle 22: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Blättern von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „nicht-rebmüdem“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Ca	K	Mg	P
		mg / g TS			
1. Veg.	Kontrolle	18,7 $\pm$ 0,7 a	17,0 $\pm$ 0,8 a	3,1 $\pm$ 0,3 a	2,0 $\pm$ 0,26 a
	RA56	18,5 $\pm$ 1,2 a	17,4 $\pm$ 0,7 a	3,0 $\pm$ 0,1 a	1,8 $\pm$ 0,11 a
	AM	18,9 $\pm$ 0,6 a	16,5 $\pm$ 1,0 a	3,1 $\pm$ 0,1 a	2,0 $\pm$ 0,12 a
	AM + RA56	15,4 $\pm$ 2,3 b	15,0 $\pm$ 1,4 b	2,8 $\pm$ 0,2 a	1,4 $\pm$ 0,18 b
2. Veg.	Kontrolle	14,6 $\pm$ 1,0 a	15,8 $\pm$ 1,4 a	3,0 $\pm$ 0,2 a	1,3 $\pm$ 0,04 a
	RA56	13,8 $\pm$ 0,4 a	14,5 $\pm$ 0,6 a	2,8 $\pm$ 0,1 a	1,3 $\pm$ 0,06 a
	AM	14,6 $\pm$ 1,3 a	13,3 $\pm$ 0,6 b	3,0 $\pm$ 0,1 a	1,6 $\pm$ 0,11 b
	AM + RA56	15,1 $\pm$ 1,9 a	14,3 $\pm$ 0,7 a	3,0 $\pm$ 0,2 a	1,7 $\pm$ 0,17 b
3. Veg.	Kontrolle	15,3 $\pm$ 1,1 a	14,3 $\pm$ 1,7 a	3,0 $\pm$ 0,2 a	1,3 $\pm$ 0,04 a
	RA56	14,5 $\pm$ 0,4 a	12,5 $\pm$ 1,3 a	2,7 $\pm$ 1,0 b	1,4 $\pm$ 0,09 a
	AM	14,7 $\pm$ 1,3 a	13,7 $\pm$ 1,5 a	2,7 $\pm$ 0,2 b	1,6 $\pm$ 0,21 a
	AM + RA56	14,7 $\pm$ 1,0 a	13,6 $\pm$ 1,4 a	2,5 $\pm$ 0,1 b	1,4 $\pm$ 0,18 a

### Zusammenfassung:

Beim Vergleich der Mikro- und Makronährstoffgehalte von auf „müdem“ und „nicht-müdem“ Boden kultivierten Reben konnte festgestellt werden, dass die Anzucht der Weinreben im „müdem“ Substrat zu einer Verringerung der Mn-Gehalte in den Blättern führte (Tab. 19 und 21). Dagegen wurden die Cu- und Zn-Gehalte in den Wurzeln deutlich erhöht (Tab. A1 und A3). Die Gehalte der übrigen Nährstoffe in den Blättern und Wurzeln zeigten keine Unterschiede in Abhängigkeit vom als Pflanzsubstrat verwendeten Versuchsboden.

### 3.2.2 Pflanzenverfügbare Mineralstoffgehalte in den Versuchsböden

#### Rebmüder Boden:

In dem „rebmüdem“ Boden konnte bei den Behandlungsvarianten „RA56“, „AM“ und „AM + RA56“ im Vergleich zur Kontrolle eine Abnahme der pflanzenverfügbaren Cu-, Fe- und Mn-Gehalte in allen Vegetationsversuchen beobachtet werden. Diese Ergebnisse waren bis auf die Cu-Gehalte im zweiten Versuch (RA56: -23,7 %, AM: -23,7 %, AM+RA56: -23,7 %), die Fe-Gehalte im ersten Versuch (AM: -34,2 %, AM+RA56: -40,5 %) und die Mn-Gehalte im dritten Pflanzversuch (AM: -21,9 %, AM+RA56: -22,3 %) statistisch nicht gesichert. Die pflanzenverfügbaren Zn-Gehalte wurden durch die unterschiedlichen Behandlungen mit Mikroorganismen außer im zweiten Versuch (AM: -15,6 %, AM+RA56: -15,6 %) nicht beeinflusst (Tab. 23).

Die K-Gehalte wurden in allen drei Vegetationsversuchen durch die Einzelinokulationen mit *G. intraradices* um 11,4 % (1.Veg.), 18,3 % (2.Veg.) und 10,6 % (3.Veg.) signifikant verringert. Im Gegensatz dazu hatten die Inokulationen keinen Einfluss auf die pflanzenverfügbaren Gehalte der Makronährelemente Mg und P im „rebmüden“ Boden verglichen zu den Kontrollen (Tab. 24).

Tabelle 23: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Mikronährstoffen in „rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpflanzen der Unterlagssorte 5BB  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Cu	Fe	Mn	Zn
		mg / kg TS			
1. Veg.	Kontrolle	4,2 $\pm$ 0,5 a	19,0 $\pm$ 6,2 a	35,5 $\pm$ 1,7 a	6,9 $\pm$ 1,1 a
	RA56	3,8 $\pm$ 0,1 a	13,9 $\pm$ 1,1 a	31,3 $\pm$ 2,2 a	5,8 $\pm$ 0,3 a
	AM	3,7 $\pm$ 0,2 a	12,5 $\pm$ 1,6 b	31,0 $\pm$ 2,2 a	6,2 $\pm$ 0,2 a
	AM + RA56	3,6 $\pm$ 0,1 a	11,3 $\pm$ 0,9 b	30,2 $\pm$ 3,8 a	6,8 $\pm$ 0,2 a
2. Veg.	Kontrolle	3,8 $\pm$ 0,8 a	17,3 $\pm$ 3,6 a	20,3 $\pm$ 2,8 a	8,2 $\pm$ 0,7 a
	RA56	2,9 $\pm$ 0,1 b	23,3 $\pm$ 6,1 a	18,6 $\pm$ 0,9 a	8,3 $\pm$ 0,3 a
	AM	2,9 $\pm$ 0,2 b	12,9 $\pm$ 0,8 a	16,6 $\pm$ 0,7 a	6,9 $\pm$ 0,3 b
	AM + RA56	2,9 $\pm$ 0,1 b	21,2 $\pm$ 6,6 a	16,9 $\pm$ 1,9 a	6,9 $\pm$ 0,1 b
3. Veg.	Kontrolle	3,6 $\pm$ 0,1 a	31,0 $\pm$ 7,9 a	26,9 $\pm$ 0,4 a	7,7 $\pm$ 0,4 a
	RA56	3,5 $\pm$ 0,2 a	29,0 $\pm$ 4,2 a	25,3 $\pm$ 1,1 a	8,0 $\pm$ 0,3 a
	AM	3,5 $\pm$ 0,4 a	20,7 $\pm$ 5,1 a	21,0 $\pm$ 0,8 b	7,7 $\pm$ 0,2 a
	AM + RA56	3,4 $\pm$ 0,2 a	25,2 $\pm$ 5,0 a	20,9 $\pm$ 1,1 b	7,4 $\pm$ 0,4 a

Tabelle 24: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Makronährstoffen in „rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpflanzen der Unterlagssorte 5BB

(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Ca	K	Mg	P
		mg / kg TS			
1. Veg.	Kontrolle	n. b.	61,5 $\pm$ 4,5 a	98 $\pm$ 1,7 a	16,5 $\pm$ 3,0 a
	RA56	n. b.	59,3 $\pm$ 2,6 a	97 $\pm$ 1,7 a	15,1 $\pm$ 1,4 a
	AM	n. b.	54,5 $\pm$ 3,3 b	95 $\pm$ 1,3 a	14,9 $\pm$ 0,7 a
	AM + RA56	n. b.	63,9 $\pm$ 3,7 a	95 $\pm$ 2,0 a	14,4 $\pm$ 1,0 a
2. Veg.	Kontrolle	n. b.	52,5 $\pm$ 5,3 a	100 $\pm$ 2,8 a	13,1 $\pm$ 3,5 a
	RA56	n. b.	48,3 $\pm$ 4,1 a	102 $\pm$ 2,1 a	10,6 $\pm$ 0,6 a
	AM	n. b.	42,9 $\pm$ 2,5 b	100 $\pm$ 2,1 a	8,7 $\pm$ 0,2 b
	AM + RA56	n. b.	45,3 $\pm$ 2,0 b	100 $\pm$ 1,3 a	10,6 $\pm$ 1,3 a
3. Veg.	Kontrolle	n. b.	54,8 $\pm$ 4,5 a	99 $\pm$ 2,8 a	11,2 $\pm$ 1,0 a
	RA56	n. b.	57,5 $\pm$ 2,7 a	98 $\pm$ 1,0 a	11,4 $\pm$ 0,7 a
	AM	n. b.	49,0 $\pm$ 2,2 b	103 $\pm$ 1,5 a	9,9 $\pm$ 0,6 a
	AM + RA56	n. b.	54,7 $\pm$ 2,0 a	101 $\pm$ 1,5 a	10,4 $\pm$ 0,8 a

**Nicht-rebmüder Boden:**

Die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* in den Versuchen auf „nicht-müden“ Boden führten zu keinen Veränderungen der Pflanzenverfügbarkeit der untersuchten Nährelemente (Tab. A5 und A6).

**Zusammenfassung:**

Bei der vergleichenden Betrachtung der Gehalte an pflanzenverfügbaren Nährelementen in „rebmüdem“ und „nicht-rebmüdem“ Boden konnte nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer eine deutliche Abnahme der Pflanzenverfügbarkeit der Nährstoffe (außer: Zn) bei allen Versuchsansätzen mit „müdem“ Boden festgestellt werden. So waren die Gehalte an Cu um das ca. 2- fache, Fe ca. 4- fache, Mn ca. 12- fache, K ca. 3- fache, Mg ca. 1,5- fache und P ca. 3- fache gegenüber dem „nicht-rebmüden“ Boden erniedrigt (Tab. 23, 24, A5 und A6).

### 3.3 AM-Infektionsgrad der Wurzeln von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB

Die Bestimmung des AM-Infektionsgrades erfolgte an ungeschädigten Wurzeln von Holzstecklingen (5BB) nach zehn bzw. sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ und „nicht-rebmüdem“ Boden. Hierfür wurden repräsentative Wurzelproben entnommen (siehe Kapitel 2.6.1). Aus methodischen Gründen konnte keine Unterscheidung zwischen autochthonen und inokulierten AM-Pilzen getroffen werden.

#### Rebmüder Boden:

Nach zehn Wochen Wachstumsdauer der Reben auf „müden“ Boden konnte ein positiver Einfluss der Behandlungen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* auf den Mykorrhiza-Infektionsgrad der Wurzeln beobachtet werden. Der AM-Infektionsgrad wurde durch die Inokulationen im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht (Abb. 7). Während bei den Kontrollpflanzen ein AM-Infektionsgrad der Rebwurzeln von 13,0 % (2. Vegetation) bzw. 13,4 % (3. Vegetation) beobachtet werden konnte, erhöhte sich dieser durch die Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 auf 25,2 % bzw. 27,2 %, durch die Behandlung mit *G. intraradices* auf 32,7 % bzw. 33,9 % und durch die Dualinokulation auf 28,8 % bzw. 32,7 %.



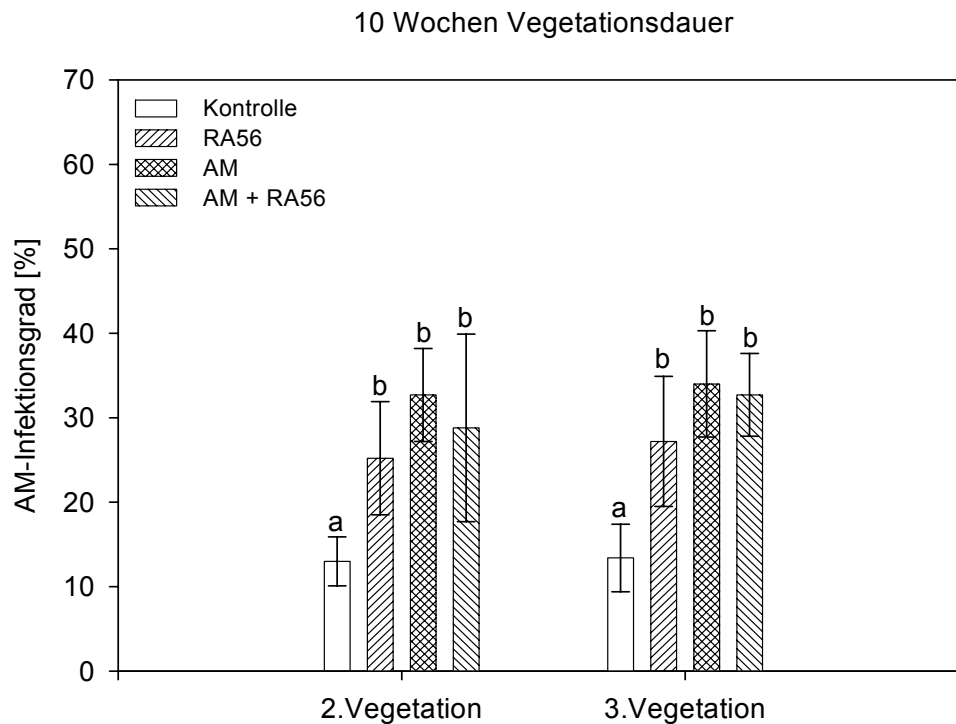


Abbildung 7: AM -Infektionsgrad von Rebwurzeln der Unterlagssorte 5BB in „**rebmüdem**“ Boden nach 10-wöchiger Vegetationsdauer; prozentualer Anteil an der Wurzellänge; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Der mit AM infizierten Anteil der Rebwurzeln nahm bei allen „müden“ Versuchsvarianten bis zur sechzehnten Woche zu, wobei die signifikanten Unterschiede zwischen Kontrollansatz und Behandlungsvarianten erhalten blieben. Der höchste Mykorrhizierungsgrad wurde bei der Einzelinokulation mit *G. intraradices* festgestellt (1.Veg.: 49,3 %, 2.Veg.: 44,1 %, 3.Veg.: 52,9 %). Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 förderten zudem die Infektion der Rebwurzeln mit nativ im „rebmüden“ Boden vorkommenden Mykorrhizapilzen (1.Veg.: 36,7 %, 2.Veg.: 28,3 %, 3.Veg.: 32,1 %). Die Dualbehandlung bewirkte ebenfalls eine Zunahme des AM-Infektionsgrades. So konnte im ersten Versuch ein Mykorrhizierungsgrad von 38,8 %, im Zweiten von 41,4 % und im Dritten von 38,5 % beobachtet werden (Abb. 8).

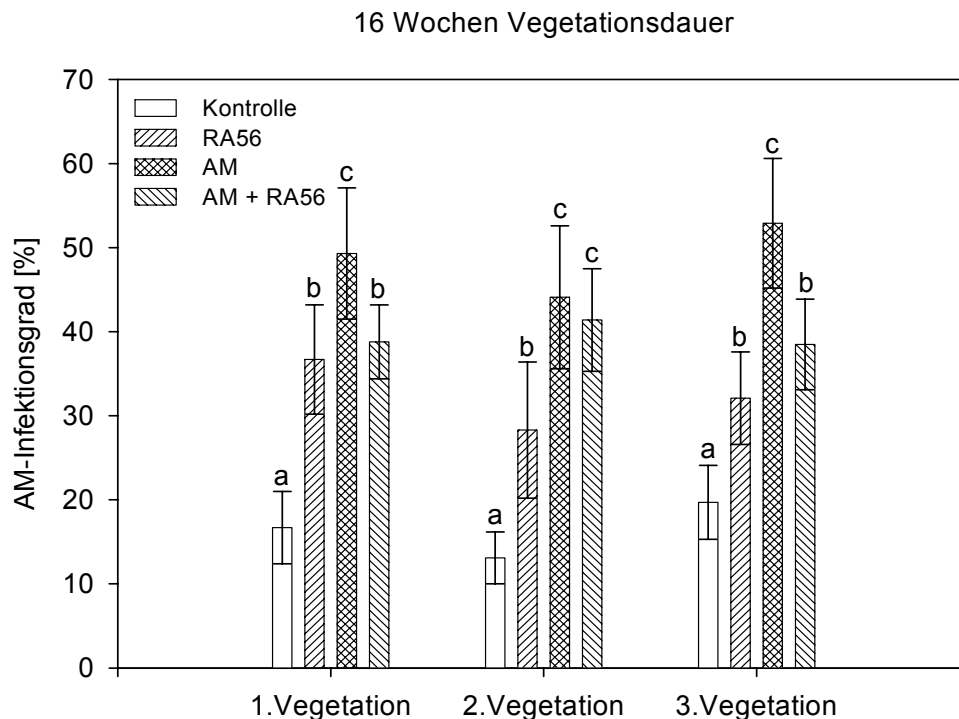


Abbildung 8: AM -Infektionsgrad von Rebwurzeln der Unterlagssorte 5BB in „rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Vegetationsdauer; prozentualer Anteil an der Wurzellänge; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

### Nicht-rebmüder Boden:

Bei den Versuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden wurden durch Inokulationen mit *G. intraradices* die höchsten AM-Infektionsgrade an den Rebwurzeln (1.Veg.: 55,3 %, 2.Veg.: 56,6 %, 3.Veg.: 52,0 %) verglichen mit den anderen Versuchsansätzen beobachtet. Diese Ergebnisse konnten im ersten und zweiten Vegetationsversuch statistisch abgesichert werden. Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 in Einzel- und Dualinokulation bewirkten außer im zweiten Pflanzversuch (AM+RA56: 49,8 %) keine Verbesserung der Mykorrhizierung der Rebwurzeln relativ zur Kontrolle. (Abb. 9).

Der Anteil von autochthonen arbuskulären Mykorrhizapilze an allen in den Rebwurzeln diagnostizierten AM im „nicht-müden“ Boden war gegenüber dem „müden“ Boden deutlich erhöht, was am Mykorrhizierungsgrad der Kontrollpflanzen deutlich wurde.

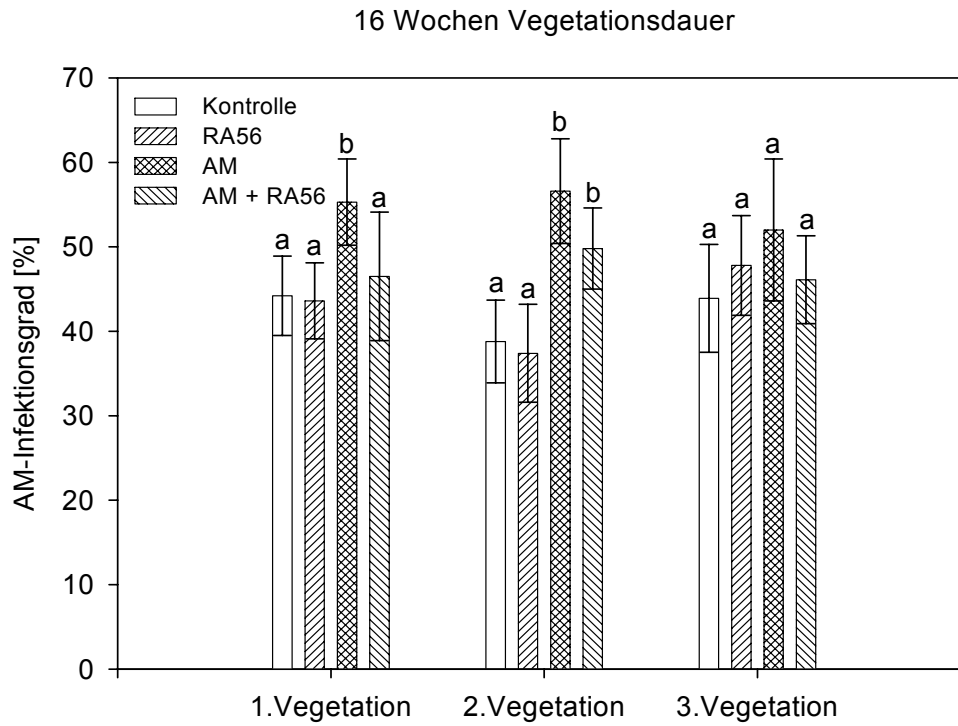


Abbildung 9: AM -Infektionsgrad von Rebwurzeln der Unterlagssorte 5BB in „nicht-rebmüdem“ **Boden** nach 16-wöchiger Vegetationsdauer; prozentualer Anteil an der Wurzellänge; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

### 3.4 Anzahl und Verteilung der „Colony Forming Units“ ausgewählter *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzel- und Bodenproben

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung zum Einfluss von Inokulationen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 und *Glomus intraradices* auf die koloniebildenden Einheiten (CFU) von *P. fluorescens*, *P. putida* und *P. syringae* in der Rhizosphäre bzw. der Rhizoplane von Rebwurzeln und den wurzelfernen Böden vorgestellt. Die Probenahmen erfolgten nach zehn bzw. sechzehn Wochen Wachstum der Reben auf „müdem“ und sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-müdem“ Boden.

#### 3.4.1 Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFUs) ausgewählter *Pseudomonas*-Gruppen in der Rhizosphäre und der Rhizoplane von Rebwurzeln

##### **Rebmüder Boden:**

Nach zehn Wochen Pflanzdauer auf „rebmüdem“ Boden konnte eine Abnahme der koloniebildenden Einheiten von *P. syringae* an den Rebwurzeln um 89,9 % (2.Veg.) und 41,6 % (3.Veg.) durch die Behandlung mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 beobachtet werden. Die Dualinokulationen führten einerseits zu einer Zunahme der Koloniezahlen von *P. fluorescens* um 70,3 % im zweiten Versuch und 55,1 % in der Vegetation, andererseits wurden die Koloniezahlen von *P. putida* (2.Veg.: -52,1 %, 3.Veg.: -98,9 %) im Vergleich zu den Kontrollansätzen erniedrigt. In allen anderen Versuchsteilen konnten nach zehn Wochen Versuchsdauer keine schlüssigen Ergebnisse erzielt werden (siehe Anhang Tab. A7).

Die Bestimmung der CFUs aus der *P. fluorescens*-Gruppe ergab nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer nur teilweise reproduzierbare Ergebnisse beim Vergleich der drei Vegetationsversuche. So führten die Inokulationen bei den Versuchen auf „rebmüdem“ Boden zu einer Reduzierung der CFUs dieser *Pseudomonas*-Gruppe im Vergleich zur Kontrolle; diese waren aber nur in der zweiten (RA56: -91,2 %, AM: -82,1 %, RA56+AM: -79,1 %) und dritten Vegetation (RA56: -41,1 %, AM: -31,6 %, RA56+AM: -29,2 %) statistisch abgesichert. Dagegen konnten die CFUs der *P. putida*-Gruppe in allen Vegetationsversuchen durch Inokulationen signifikant verringert werden. Durch Einzelinokulationen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56

(1.Veg.: -44,9 %, 2.Veg.: -96,5 %, 3.Veg.: -55,1 %) und *Glomus intraradices* (1.Veg.: -37,4 %, 2.Veg.: -88,6 %, 3.Veg.: -35,9 %) konnte eine signifikante Reduzierung der Anzahl der Bakterien aus der *P. syringae*-Gruppe an den Rebwurzeln beobachtet werden (Abb. 10, 11 und 12). Im Gegensatz dazu kam es durch die Dualinokulationen nur im zweiten Pflanzversuch zu einer signifikanten Abnahme um 84,2 % der koloniebildenden Einheiten aus dieser *Pseudomonas*-Gruppe relativ zur Kontrolle (Abb. 11).

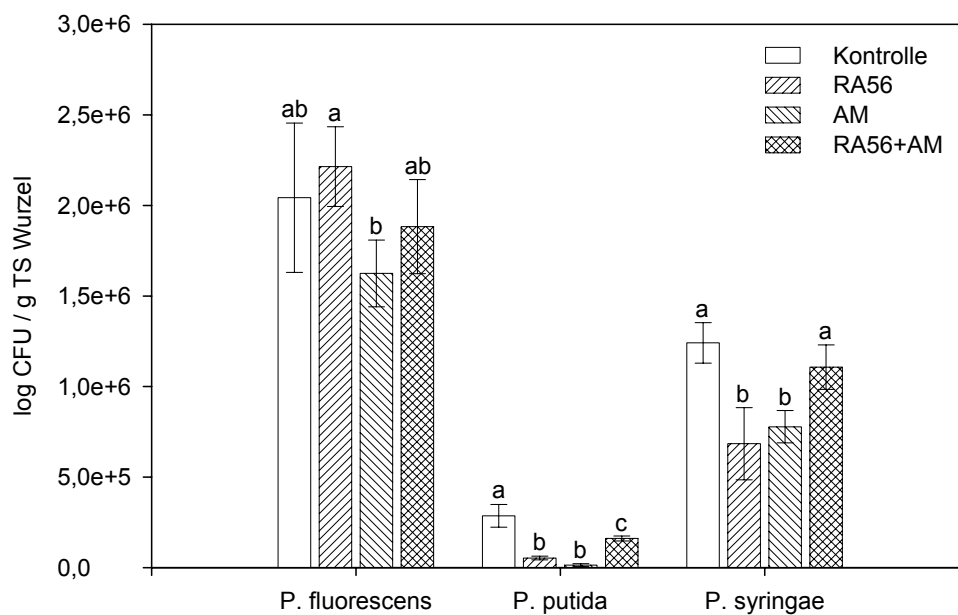


Abb. 10: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 1.Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ **Boden**; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

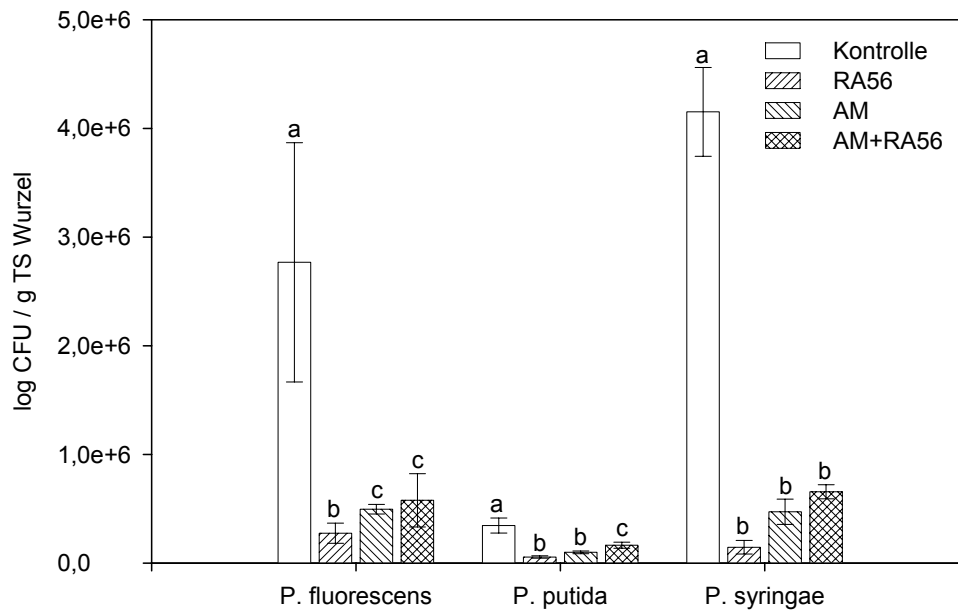


Abb. 11: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ **Boden**; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

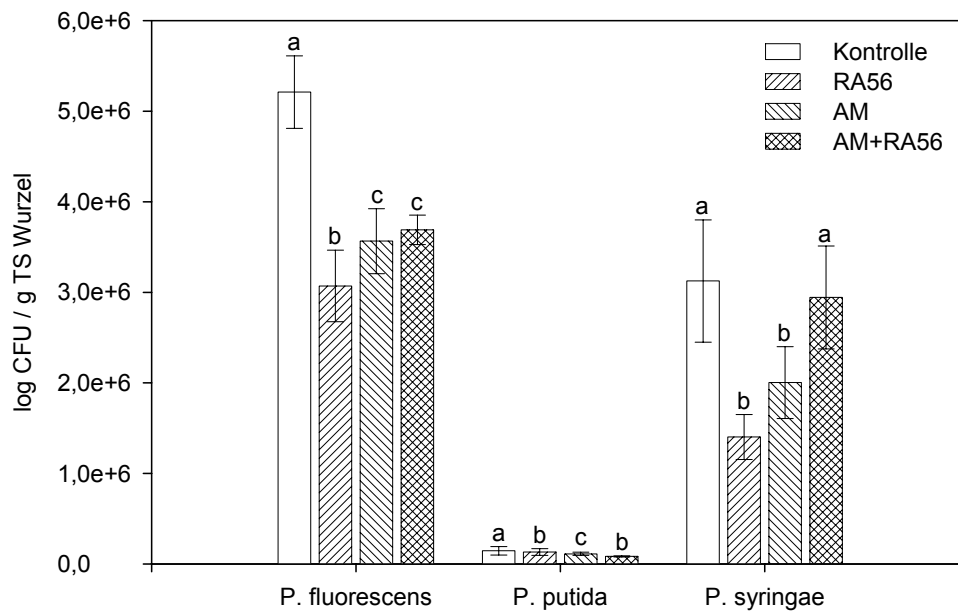


Abb. 12: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ **Boden**; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

**Nicht-rebmüder Boden:**

Widersprüchliche Ergebnisse wurden bei den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden erzielt. Während die Inokulation mit dem Bakterienpräparat RA56 im ersten und zweiten Pflanzversuch eine signifikante Abnahme um 83,1 % bzw. 80,3 % der CFUs der *P. fluorescens*- und der *P. syringae*-Gruppe um 89,4 % bzw. 83,9 % zur Folge hatte (Tab. 25 und 26), konnte in der dritten Vegetation eine Zunahme von *P. fluorescens* um 555 % und von *P. syringae* um 143 % beobachtet werden (Tab. 27). Alleinige Behandlungen mit *G. intraradices* bewirkten bei diesen *Pseudomonas*-Gruppen eine tendenzielle und nur zum Teil statistisch abgesicherte Verringerung der Bakterienzahlen von *P. fluorescens* um 87,3 % im ersten und 71,1 % im zweiten Versuch sowie von *P. syringae* um 90,7 % bzw. 24,5 % (Tab. 25, 26 und 27). Dualinokulationen führten nur im ersten Vegetationsversuch zu signifikant verringerten CFUs aller drei *Pseudomonas*-Gruppen (*P. fluorescens*: -97,9 %, *P. putida*: -98,3 %, *P. syringae*: -75,1 %) im Vergleich zur Kontrolle (Tab. 25). Im zweiten Pflanzversuch wurde durch diese Behandlungsart die Zahl der koloniebildenden Einheiten von *P. putida* um 84,2 % gesenkt aber die von *P. syringae* um 219 % erhöht (Tab. 26).

Tabelle 25: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 1. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**nicht-rebmüdem**“ Boden;  
(unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	CFU x 10 <sup>5</sup> / g TS Wurzel		
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
Kontrolle	627,5 $\pm$ 34,3 a	28,11 $\pm$ 7,84 a	581,7 $\pm$ 96,4 a
RA56	105,9 $\pm$ 17,5 b	0,19 $\pm$ 0,04 b	61,8 $\pm$ 12,1 b
AM	79,6 $\pm$ 35,1 b	0,23 $\pm$ 0,04 b	53,9 $\pm$ 22,3 b
AM + RA56	13,5 $\pm$ 2,0 c	0,48 $\pm$ 0,06 b	144,6 $\pm$ 36,9 c

Tabelle 26: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden;  
(unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	CFU x 10 <sup>5</sup> / g TS Wurzel		
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
Kontrolle	5,2 $\pm$ 1,4 a	1,5 $\pm$ 0,9 a	5,3 $\pm$ 0,1 a
RA56	1,0 $\pm$ 0,1 b	0,7 $\pm$ 0,3 ab	0,9 $\pm$ 0,2 b
AM	1,5 $\pm$ 0,1 c	1,5 $\pm$ 0,3 a	4,0 $\pm$ 1,0 a
AM + RA56	3,6 $\pm$ 1,6 a	0,2 $\pm$ 0,1 b	17,0 $\pm$ 3,7 c

Tabelle 27: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden;  
(unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	CFU x 10 <sup>5</sup> / g TS Wurzel		
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
Kontrolle	1,3 $\pm$ 0,2 a	0,06 $\pm$ 0,01 a	1,2 $\pm$ 0,1 a
RA56	8,4 $\pm$ 2,5 b	0,22 $\pm$ 0,09 b	3,0 $\pm$ 0,8 b
AM	0,7 $\pm$ 0,1 a	0,20 $\pm$ 0,03 b	1,1 $\pm$ 0,2 a
AM + RA56	0,4 $\pm$ 0,01 a	0,18 $\pm$ 0,05 b	0,6 $\pm$ 0,1 a



### 3.4.2 Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFUs) ausgewählter *Pseudomonas*-Gruppen in wurzelfernen Boden nach Anzucht von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB

Zusätzlich zu den mikrobiologischen Untersuchungen zur Besiedlung der Rebwurzeln mit Bakterien aus den in dieser Arbeit betrachteten *Pseudomonas*-Gruppen sollte geprüft werden, welchen Einfluss Inokulationen mit Mikroorganismen auf die Anzahl koloniebildender Einheiten dieser Bakteriengruppen im wurzelfernen Boden ausübten.

#### **Rebmüder Boden:**

Im „rebmüdem“ wurzelfernen Boden konnte nach zehn Wochen Pflanzdauer eine Abnahme der koloniebildenden Einheiten von *P. putida* um 63,2 % (2.Veg.) und 39,7 % (3.Veg.) durch die Behandlung mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 beobachtet werden. Die Dualinokulationen führten zu einer Zunahme der Koloniezahlen von *P. fluorescens* um 292 % im zweiten Versuch und 232 % in der Vegetation. Zusätzlich wurden die Koloniezahlen von *P. putida* (2.Veg.: + 204 %, 3.Veg.: +44,7 %) im Vergleich zu den Kontrollansätzen erhöht. In allen anderen Versuchsteilen konnten nach zehn Wochen Versuchsdauer widersprüchliche Ergebnisse erzielt werden (siehe Anhang Tab. A8).

Nach sechzehn Wochen Versuchsdauer konnte festgestellt werden, dass im ersten Vegetationsversuch die Inokulationen mit dem Bakterienpräparat RA56 zu signifikanten Zunahmen der CFUs von *P. fluorescens* (+34,1 %), *P. putida* (+522 %) und *P. syringae* (+601 %) im „rebmüdem“ Boden führten. Andere Behandlungen zeigten keine Wirkung (Abb. 13). Auch im dritten Versuch konnte eine Steigerung der CFU-Zahlen von *P. fluorescens* um 20,6 % und *P. syringae* um 36,1 % durch die Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 erzielt werden, wobei die Anwendung von *G. intraradices* die stärkste Erhöhung der CFU in der *P. syringae*-Gruppe (+105 %) bewirkte. Dagegen nahm einerseits die Zahl der CFUs in der *P. putida*-Gruppe durch die Einzelinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 (-18,8 %) und durch die Behandlung mit AM um 23,6 % ab und andererseits durch die Dualinokulation um 15,2 % signifikant zu (Abb. 15). Im zweiten Versuch wurden zum einen die koloniebildenden Einheiten von *P. syringae* in den Inokulationsvarianten (RA56: -19,2 %, AM: -39,5 %,

RA56+AM: -34,9 %) und zum anderen die Anzahl von *P. fluorescens* durch die Behandlung mit *G. intraradices* um 49,8 % signifikant erniedrigt. Keine Unterschiede konnten innerhalb der *P. putida*-Gruppe verzeichnet werden (Abb. 14).

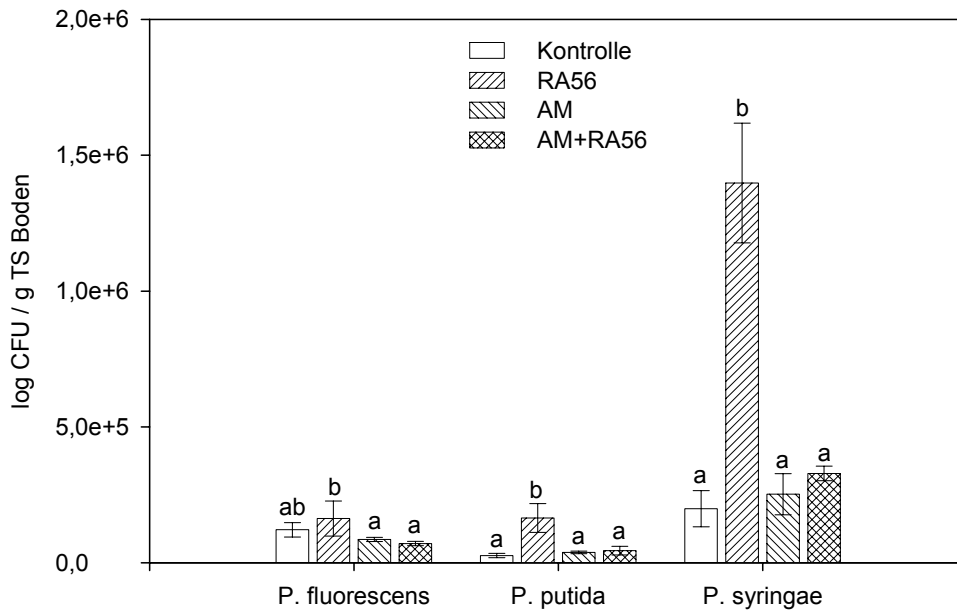


Abb. 13: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden im 1.Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

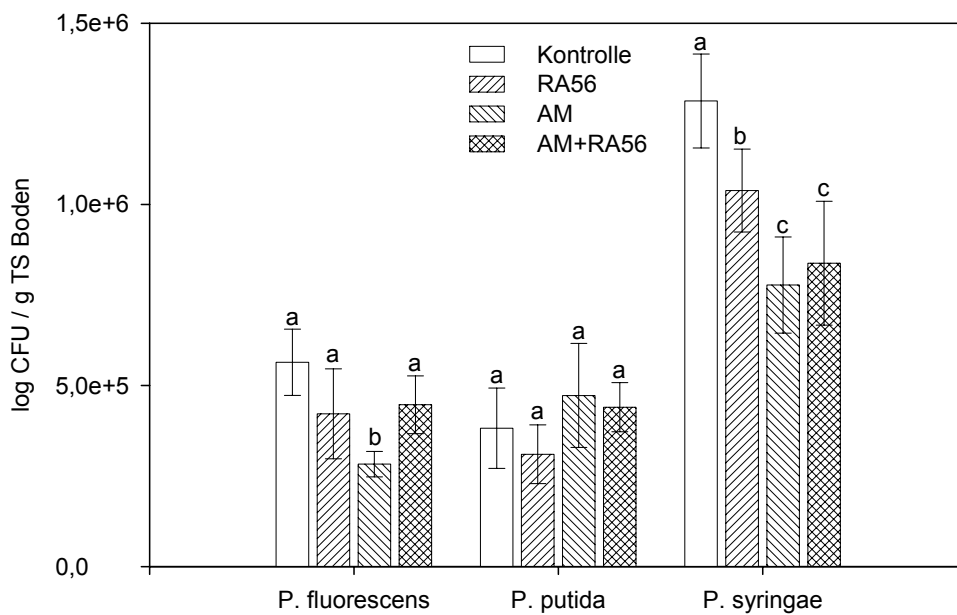


Abb. 14: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden im 2.Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

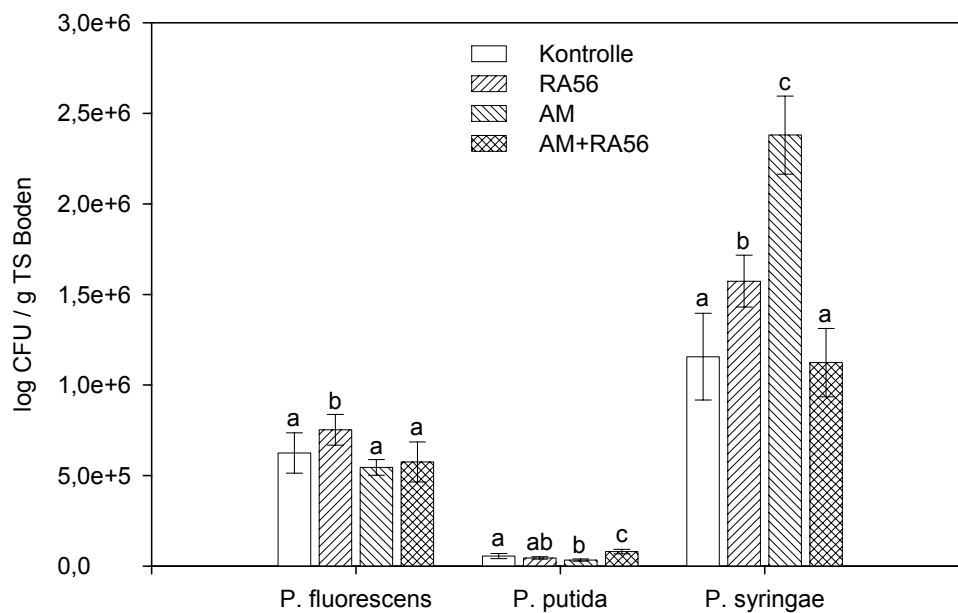


Abb. 15: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

### Nicht-rebmüder Boden:

Die Auswertung der Ergebnisse zur Koloniezahlbestimmung der drei untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „nicht-müden“ Boden nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer ergab, dass im ersten Pflanzversuch die Anzahl der CFUs aller drei *Pseudomonas*-Gruppen durch Einzel- und Dualinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* im Vergleich zur Kontrolle erhöht wurden (Tab. 28). Dabei wurde die größte Zunahme der CFUs bei den Inokulationen beobachtet, die das Bakterienpräparat RA56 enthielten (*P. fluorescens*: +245 %, *P. putida*: +1000 %, *P. syringae*: +721 %). Dagegen führten im zweiten Versuch die Inokulationen mit Mikroorganismen zu einer signifikanten Abnahme der CFUs in den Gruppen von *P. fluorescens* (RA56: -36,8 %, AM: -41,5 %, RA56+AM: -59,0 %) und *P. syringae* (RA56: -22,0 %, AM: -33,0 %, RA56+AM: -45,3 %) (Tab. 29). Auch im dritten Vegetationsversuch konnte eine statistisch abgesicherte Verringerung der Anzahl von CFUs in diesen beiden *Pseudomonas*-Gruppen festgestellt werden, allerdings nur bei den mit *P. fluorescens* RA56 (*P. fluorescens*: -51,0 %, *P. syringae*: -67,6 %) und den mit RA56+AM (*P. fluorescens*: -17,7 %, *P. syringae*: -43,5 %) beimpften Varianten (Tab. 30). Die Anwendung des Mykorrhizapilzes als Einzelinokulat

bewirkte im ersten wie auch im dritten Vegetationsversuch eine Zunahme der CFUs, die bei der *P. syringae*-Gruppe (1.Veg.: +448 %, 2.Veg.: +18,6 %) signifikant war (Tab. 28 und 30).

Tabelle 28: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „nicht-rebmüdem“ **Boden** im 1. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; (unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	CFU x 10 <sup>4</sup> / g TS Boden		
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
Kontrolle	4,0 $\pm$ 0,8 a	4,8 $\pm$ 0,6 a	4,2 $\pm$ 0,7 a
RA56	13,8 $\pm$ 4,2 a	52,8 $\pm$ 11,6 b	34,5 $\pm$ 15,2 b
AM	4,9 $\pm$ 1,1 a	5,7 $\pm$ 0,4 a	23,0 $\pm$ 4,0 c
AM + RA56	23,5 $\pm$ 5,7 b	27,5 $\pm$ 3,5 c	43,7 $\pm$ 4,7 b

Tabelle 29: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „nicht-rebmüdem“ **Boden** im 2. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; (unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	CFU x 10 <sup>4</sup> / g TS Boden		
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
Kontrolle	72,1 $\pm$ 7,1 a	4,2 $\pm$ 0,6 a	214,0 $\pm$ 52,2 a
RA56	45,6 $\pm$ 8,8 b	5,9 $\pm$ 1,1 b	166,9 $\pm$ 16,7 ab
AM	42,2 $\pm$ 10,7 b	4,8 $\pm$ 0,9 abc	143,4 $\pm$ 11,5 b
AM + RA56	29,6 $\pm$ 4,4 c	3,8 $\pm$ 1,1 ac	117,1 $\pm$ 48,1 b

Tabelle 30: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „nicht-rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB; (unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	CFU x 10 <sup>4</sup> / g TS Boden		
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
Kontrolle	231,0 $\pm$ 17,2 a	6,4 $\pm$ 1,0 a	500,6 $\pm$ 58,5 a
RA56	113,1 $\pm$ 52,8 b	6,7 $\pm$ 1,5 a	161,9 $\pm$ 16,8 b
AM	255,7 $\pm$ 94,0 a	7,4 $\pm$ 2,5 a	593,6 $\pm$ 88,1 c
AM + RA56	190,1 $\pm$ 27,0 a	7,4 $\pm$ 1,1 a	282,8 $\pm$ 49,3 d

### 3.4.3 Einfluss der Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die prozentualen Anteile der „Colony Forming Units“ von *Pseudomonas*-Gruppen innerhalb der Behandlungen

In diesem Kapitel wird dargelegt, welchen Einfluss Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf das Verhältnis der CFUs der einzelnen *Pseudomonas*-Gruppen innerhalb einer Behandlungsvariante ausübten. Der prozentuale Anteil jeder *Pseudomonas*-Gruppe bezieht sich auf die Summenzahl der koloniebildenden Einheiten der drei *Pseudomonas*-Gruppen und ist den Spalten der folgenden Tabellen zu entnehmen.

#### Rebmüder Boden:

Aus Tabelle 31 wird ersichtlich, dass die Besiedlung der Rebwurzeln mit *P. fluorescens* nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden im ersten und dritten Pflanzversuch gegenüber den anderen *Pseudomonas*-Gruppen am größten war. Dies konnte bei allen Behandlungsvarianten beobachtet werden. Dagegen wurden im zweiten Versuch bei den Inokulationsvarianten mit *P. fluorescens* RA56 (57 %) und AM (47 %) die höchsten prozentualen Anteile an *P. fluorescens* festgestellt. Die Pseudomonaden aus der *Putida*-Gruppe waren in allen

Versuchsteilen in Relation zu den anderen *Pseudomonas*-Gruppen am geringsten vertreten. Weiterhin konnte in allen drei Vegetationsversuchen gezeigt werden, dass im Vergleich zu den anderen Versuchsvarianten durch die Behandlung mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 zum einen der *P. fluorescens*- Anteil (1.Veg.: 75 %, 2.Veg.: 57 %, 3.Veg.: 67 %) am größten und zum anderen der *P. syringae*-Anteil (1.Veg.: 23 %, 2.Veg.:31 %, 3.Veg.: 30 %) am niedrigsten war.

Tab. 31: Prozentuale Anteile der „Colony Forming Units“ von *Pseudomonas*-Gruppen an Rebwurzeln nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB auf „rebmüdem“ Boden

	Behandlung	Kontrolle	RA56	AM	AM + RA56
Versuch	CFU - Anteile [%]				
1. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	57	75	67	60
	<i>P. putida</i>	8	2	1	5
	<i>P. syringae</i>	35	23	32	35
2. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	38	57	47	41
	<i>P. putida</i>	5	12	9	12
	<i>P. syringae</i>	57	31	44	47
3. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	61	67	63	55
	<i>P. putida</i>	2	3	2	1
	<i>P. syringae</i>	37	30	35	44

Im Gegensatz zu den Rebwurzeln waren im wurzelfernen „rebmüden“ Boden die prozentualen Anteile von *P. syringae* in allen Versuchsteilen im Vergleich zu den anderen *Pseudomonas*-Gruppen deutlich größer (Tab.32). Es konnte eine Änderung der CFU-Verhältnisse zu Gunsten der *P. syringae*-Gruppe beobachtet werden.

Tab. 32: Prozentuale Anteile der „Colony Forming Units“ von *Pseudomonas*-Gruppen in wurzelfernen „rebmüden“ **Boden** nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagsorte 5BB

Versuch	Behandlung	CFU - Anteile [%]			
		Kontrolle	RA56	AM	AM + RA56
1. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	35	9	23	16
	<i>P. putida</i>	8	10	10	10
	<i>P. syringae</i>	57	81	67	74
2. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	25	24	18	26
	<i>P. putida</i>	17	18	31	26
	<i>P. syringae</i>	58	58	51	48
3. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	34	32	18	32
	<i>P. putida</i>	3	2	1	5
	<i>P. syringae</i>	63	66	81	63

### Nicht-rebmüder Boden:

Bei den Versuchsansätzen auf „nicht-müdem“ Boden führten die Einzelinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 zu den geringsten *P. syringae*- Anteilen (1.Veg.: 37 %, 2.Veg.: 34 %, 3.Veg.: 26 %) an den Rebwurzeln verglichen mit der *P. fluorescens*-Gruppe (1.Veg.: 63 %, 2.Veg.: 40 %, 3.Veg.: 72 %), während in den Kontrollgruppen diese Verhältnisse ausgeglichen und durch Dualinokulationen sowie durch die Anwendungen von *G. intraradices*, außer im ersten Versuch, stark zu Gunsten der *P. syringae*-Gruppe verschoben waren (Tab. 33). Im wurzelfernen „nicht-müden“ Boden konnten ähnlich wie bei den Versuchen auf „müdem“ Boden die größten prozentualen Anteile bei der *P. syringae*-Gruppe innerhalb der untersuchten Pseudomonaden festgestellt werden (Tab. 34).

Tab. 33: Prozentuale Anteile der „Colony Forming Units“ von *Pseudomonas*-Gruppen an Rebwurzeln nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagsorte 5BB auf „nicht-rebmüdem“ Boden

	Behandlung	Kontrolle	RA56	AM	AM + RA56
Versuch	CFU - Anteile [%]				
1. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	51	63	60	8
	<i>P. putida</i>	2	< 1	< 1	< 1
	<i>P. syringae</i>	47	37	40	92
2. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	43	40	21	17
	<i>P. putida</i>	13	26	21	1
	<i>P. syringae</i>	44	34	58	82
3. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	50	72	34	34
	<i>P. putida</i>	2	2	10	15
	<i>P. syringae</i>	48	26	56	51



Tab. 34: Prozentuale Anteile der Colony Forming Units von *Pseudomonas*-Gruppen in wurzelfernen „nicht-rebmüden“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB

Versuch	Behandlung	CFU - Anteile [%]			
		Kontrolle	RA56	AM	AM + RA56
1. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	31	14	15	77
	<i>P. putida</i>	37	52	17	9
	<i>P. syringae</i>	32	34	68	14
2. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	25	21	22	20
	<i>P. putida</i>	1	3	2	3
	<i>P. syringae</i>	74	76	76	77
3. Veg.	<i>P. fluorescens</i>	31	40	30	40
	<i>P. putida</i>	1	2	1	2
	<i>P. syringae</i>	68	58	69	58

#### 3.4.4 Bestimmung des Boden-Wurzel-Verhältnisses der „Colony Forming Units“ von *Pseudomonas*-Gruppen

Im Folgenden wurde der Einfluss verschiedener Behandlungen mit Mikroorganismen auf das Verhältnis der CFUs im Boden zu den CFUs an den Rebwurzeln nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer untersucht. Es sollte überprüft werden, ob durch gezielte Inokulationen entweder eine Verdrängung bestimmter Pseudomonaden aus dem Wurzelraum der Reben in den wurzelfernen Boden zu bewirken war oder eine bevorzugte Ansiedlung dieser Bakterien in der Rhizosphäre statt fand. Hierfür wurde das CFU-Verhältnis, dargestellt als Quotient aus den CFUs im Boden und den CFUs in der Rhizosphäre bzw. der Rhizoplane, berechnet.

##### **Rebmüder Boden:**

Aus Tabelle 35 wird ersichtlich, dass in den Versuchen auf „rebmüden“ Boden durch die Einzel- und Dualinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* das Boden-Wurzel-Verhältnis der CFUs aus der *P. syringae*-Gruppe im Vergleich zur Kontrolle in Richtung Boden-CFU verschoben wurde. Dies bedeutet, dass die Koloniezahlen von *P. syringae* an den Rebwurzeln durch die Behandlungen reduziert worden sind und eine Verdrängung dieser Mikroorganismenpopulation in den wurzelfreien oder wurzelfernen Boden stattfand. Dabei wurde durch Einzelinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 der größte Verdrängungseffekt beobachtet (1.Veg.: 2,04, 2.Veg.: 7,11, 3.Veg.: 1,12). Ähnliche Ergebnisse wurden in der Gruppe der *P. putida* erzielt, wobei im dritten Vegetationsversuch nur durch die Dualinokulationen ein höherer CFU-Quotient (0,95) gegenüber dem Kontrollansatz (0,38) festgestellt werden konnte. Innerhalb der *P. fluorescens*-Gruppe waren die CFU-Quotienten bis auf die Bakterienvariante RA56 im zweiten Pflanzversuch (1,53) deutlich  $< 1$ , was auf eine Bevorzugung der Rebwurzeln als Lebensraum durch die *P. fluorescens*-Gruppe hindeutet. Eine Tendenz zur Verdrängung aus dem Wurzelraum in den wurzelfernen Boden, verursacht durch die Behandlung mit Mikroorganismen, konnte auch in dieser Gruppe von Pseudomonaden beobachtet werden.

Tab. 35: Boden-Wurzel-Verhältnis der CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen auf „rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagsorte 5BB

Versuch	Behandlung	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
		CFU Boden / CFU Wurzel		
1. Veg.	Kontrolle	0,06	0,09	0,16
	RA56	0,07	3,11	2,04
	AM	0,05	2,72	0,32
	AM + RA56	0,04	0,28	0,30
2. Veg.	Kontrolle	0,20	1,10	0,31
	RA56	1,53	5,44	7,11
	AM	0,57	4,77	1,65
	AM + RA56	0,77	2,67	1,28
3. Veg.	Kontrolle	0,12	0,38	0,37
	RA56	0,25	0,34	1,12
	AM	0,15	0,30	1,19
	AM + RA56	0,16	0,95	0,38

### Nicht-rebmüder Boden:

In den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden konnten nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer keine Zusammenhänge zwischen den Boden-Wurzel-Verhältnissen der CFUs der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen und den verschiedenen Behandlungen festgestellt werden (siehe Anhang Tab. A9).

### 3.5 Mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität (DHA) in den Versuchsböden

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse zur Untersuchung der mikrobiellen Aktivität in den Versuchsböden vorgestellt. Es sollte geprüft werden, welchen Einfluss die Pflanzung von Holzstecklingen der Rebuterlagssorte 5BB und die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* auf die Aktivität der Mikroorganismen im Boden ausüben. Als Maß für die mikrobielle Aktivität wurde die Dehydrogenase-Aktivität bestimmt (siehe Kapitel 2.7.1).

#### Rebmüder Boden:

In den Abbildungen 16 und 17 werden die Verläufe der Dehydrogenase-Aktivitäten in den „rebmüden“ Böden des ersten und dritten Vegetationsversuches in Abhängigkeit von den jeweiligen Behandlungen und der Vegetationsdauer dargestellt. Es konnte eine Zunahme der mikrobiellen Aktivität vom Zeitpunkt der Pflanzung der Rebenstecklinge bis 4 Wochen nach Versuchsbeginn festgestellt werden, welche zur siebenten Woche hin wieder abnahm, ohne das Ausgangsniveau zu Versuchsbeginn zu erreichen. Von der siebenten bis zur zehnten Woche konnte eine neuerliche Erhöhung der DHA gemessen werden. Ab der zehnten Versuchswoche unterschieden sich die Aktivitätsverläufe der beiden Vegetationsversuche. So nahm die mikrobielle Aktivität im ersten Pflanzversuch zunächst leicht ab und zum Versuchsende hin zu, während sie im dritten Vegetationsversuch von der zehnten bis zur dreizehnten Woche wenig Veränderung zeigte, um dann im weiteren Verlauf bis zur Ernte der Reben wieder abzunehmen.

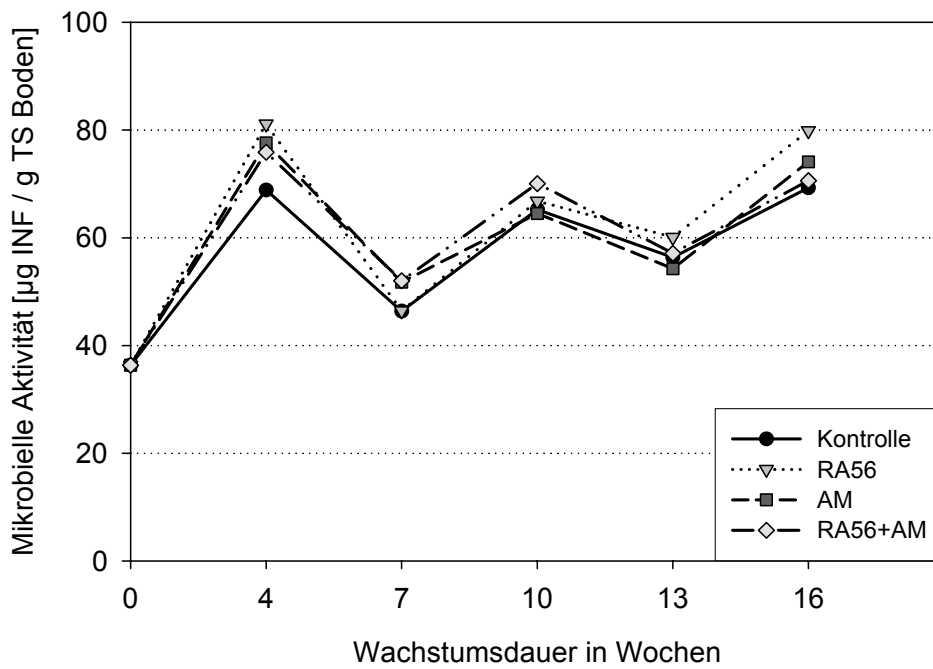


Abbildung 16: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 1. Vegetationsversuch während der 16-wöchigen Versuchsdauer

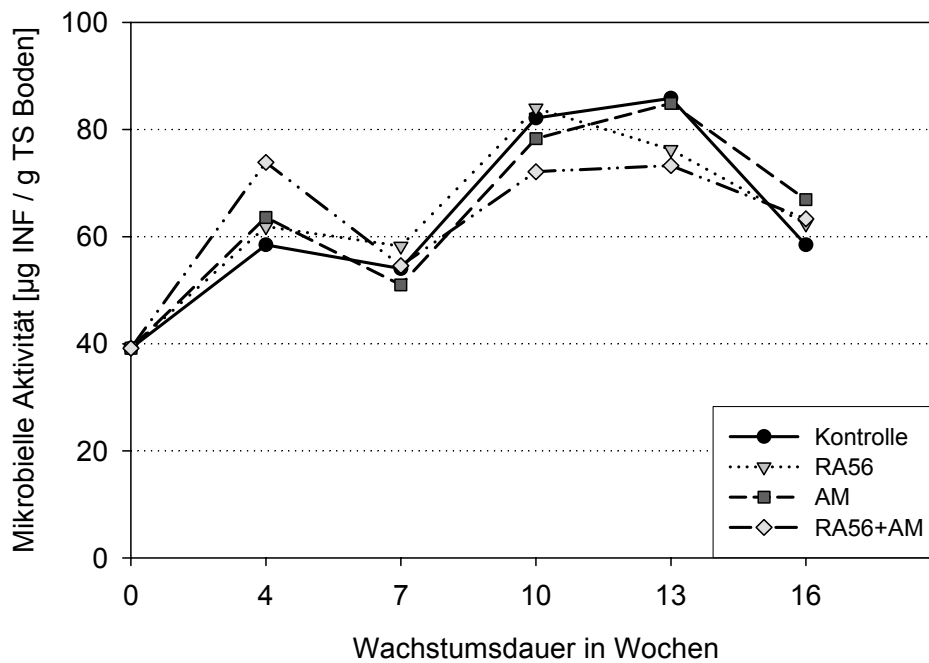


Abbildung 17: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 3. Vegetationsversuch während der 16-wöchigen Versuchsdauer

Die geringfügigen Unterschiede in den Dehydrogenase-Aktivitäten in Abhängigkeit von den Behandlungen der Holzstecklinge waren meist tendenziell, und nur nach vier Wochen Versuchsdauer konnten die Ergebnisse teilweise statistisch abgesichert werden. So bewirkten die Inokulationen im ersten Vegetationsversuch signifikante Erhöhungen der mikrobiellen Aktivitäten (RA56: +17,8 %, AM: +12,7 %, RA56+AM: +10,2 %) im „rebmüden“ Boden im Vergleich zur Kontrolle (Abb. 20), wogegen im dritten Versuch nur die Dualinokulation zu einer signifikanten Zunahme der Aktivität um 26,4 % führte und bei den Einzelinokulationen lediglich eine tendenzielle Steigerung (RA56: +5,8 %, AM: +8,8 %) zu beobachten war (Abb. 19). Zusätzlich werden in den Abbildungen 18 und 19 die mikrobiellen Aktivitäten der unbepflanzten Ausgangsböden dargestellt. Demnach wurden die Aktivitäten durch die Bepflanzung dieser Böden mit Rebstecklingen signifikant erhöht.

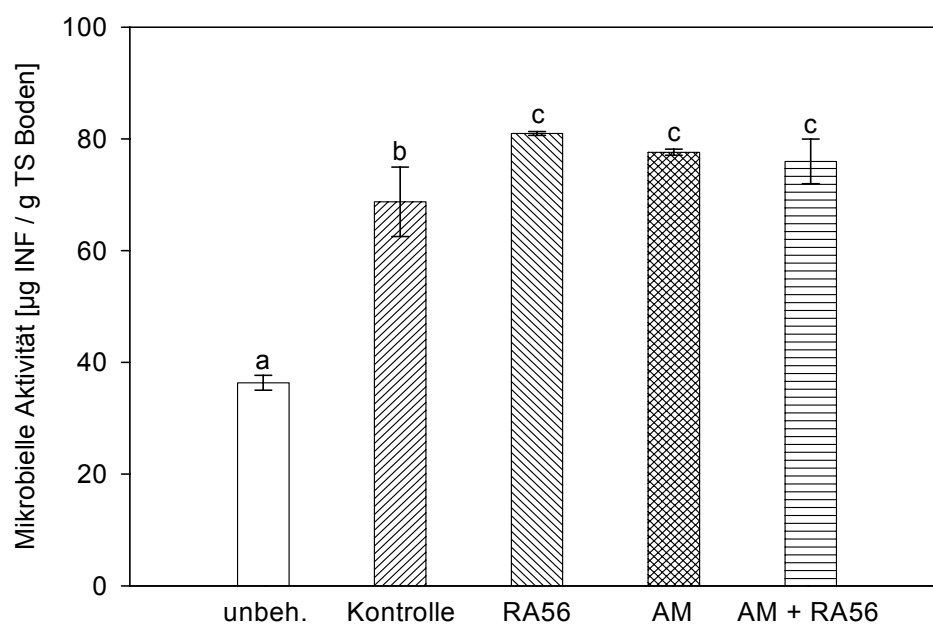


Abbildung 18: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden im 1. Vegetationsversuch nach 4 Wochen Wachstumsdauer; „unbeh.“: Ausgangsboden ohne Bewuchs; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede (SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

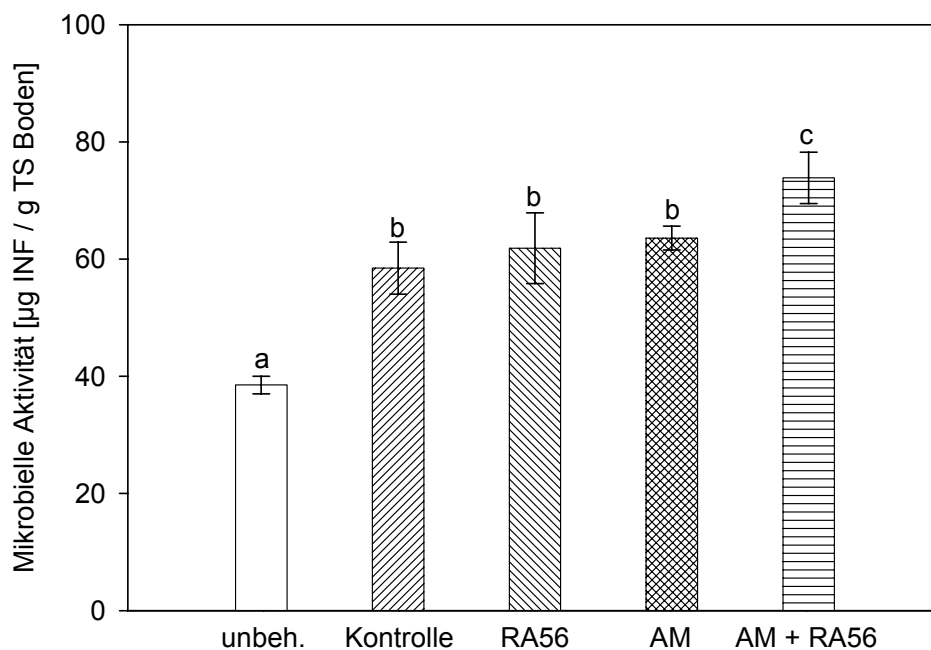


Abbildung 19: Einfluss unterschiedlicher Inokulationen und der Unterlagssorte 5BB auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „**rebmüdem**“ Boden im 3. Vegetationsversuch nach 4 Wochen Wachstumsdauer; „unbeh.“: Ausgangsboden ohne Bewuchs; unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; (SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Zum Zeitpunkt der Ernte der Versuchspflanzen nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden waren die Unterschiede in den mikrobiellen Aktivitäten zwischen den Behandlungsvarianten minimal ausgeprägt. Eine signifikante Abnahme der DHA um 19,9 % konnte nur im ersten Vegetationsversuch bei der AM-Inokulation und eine Zunahme um 13,5 % im zweiten Versuch bei der Dualbehandlung mit AM und dem Bakterienpräparat RA56 festgestellt werden (Tab. 36).

Tabelle 36: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	Mikrobielle Aktivität [ $\mu\text{g INF} / \text{g TS Boden}$ ]		
	1. Vegetation	2. Vegetation	3. Vegetation
Kontrolle	56,4 $\pm$ 1,7 a	62,1 $\pm$ 1,9 a	58,5 $\pm$ 4,7 a
RA56	50,7 $\pm$ 2,8 a	62,4 $\pm$ 2,2 a	62,4 $\pm$ 3,3 a
AM	45,2 $\pm$ 3,8 b	62,3 $\pm$ 3,4 a	66,9 $\pm$ 4,7 a
AM + RA56	52,1 $\pm$ 3,9 a	70,5 $\pm$ 3,7 b	63,3 $\pm$ 5,7 a

#### Nicht-rebmüder Boden:

Die Ergebnisse der DHA-Bestimmungen in den „nicht-rebmüden“ Böden waren nicht reproduzierbar. Deswegen werden nur die mikrobiellen Aktivitäten in den Böden zum Erntezeitpunkt der Reben vorgestellt. Wie der Tabelle 37 zu entnehmen ist, wurde die DHA im ersten und dritten Pflanzversuch durch Inokulationen mit Mikroorganismen in der Tendenz erhöht, wobei die AM-Behandlung im letzten Versuch eine signifikante Steigerung um 18,5 % bewirkte. Dagegen wurden die mikrobiellen Aktivitäten im zweiten Vegetationsversuch bei den Versuchsvarianten mit *P. fluorescens* RA56 in Einzel- und Dualinokulation um 10,9 % (RA56) bzw. 10,4 % (RA56+AM) erniedrigt. Beim Vergleich der mikrobiellen Aktivitäten im „rebmüden“ und „nicht-rebmüden“ Boden konnte festgestellt werden, dass die Aktivitäten im „müden“ Boden unabhängig von der Behandlungsart der Versuchsansätze geringer waren als im „nicht-müden“ Boden.



Tabelle 37: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die mikrobielle Dehydrogenase-Aktivität in „nicht-rebmüdem“ **Boden** nach 16 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	Mikrobielle Aktivität [ $\mu\text{g INF} / \text{g TS Boden}$ ]		
	1. Vegetation	2. Vegetation	3. Vegetation
Kontrolle	75,6 $\pm$ 4,8 a	90,2 $\pm$ 2,9 a	88,3 $\pm$ 6,6 a
RA56	80,0 $\pm$ 5,7 a	80,4 $\pm$ 5,7 b	86,9 $\pm$ 3,3 a
AM	82,4 $\pm$ 9,5 a	84,0 $\pm$ 5,0 ab	104,6 $\pm$ 5,9 b
AM + RA56	92,4 $\pm$ 5,9 a	80,8 $\pm$ 2,1 b	91,3 $\pm$ 3,4 a

### 3.6 Enzymaktivitäten in den Rebpflanzen

Die Enzymaktivitäten der Peroxidase und Polyphenoloxidase wurden in Blatt- und Wurzelproben der Rebpflanzen des zweiten und dritten Vegetationsversuchs auf „rebmüdem“ Boden nach zehn bzw. sechzehn Wochen und auf „nicht-rebmüdem“ Boden nach sechzehn Wochen Versuchsdauer bestimmt. In diesen Untersuchungen sollte geprüft werden, ob und welche Auswirkungen Inokulationen mit dem phytoeffektiven Rhizobakterium *Pseudomonas fluorescens* RA56 und dem symbiotischen Endomykorrhizapilz *Glomus intraradices* auf die Peroxidase- und Polyphenoloxidaseaktivität im pflanzlichen Stoffwechsel der Reben festzustellen waren. Sowohl die Peroxidase- als auch die Polyphenoloxidaseaktivität werden als Indikatoren für Stressreaktionen bei Pflanzen angesehen, welche durch abiotische und biotische Außenfaktoren ausgelöst werden. Demnach dienen die Peroxidasen der Wasserstoffperoxidentgiftung, der Bereitstellung von Wasserstoffperoxid für die Lignifizierung der Zellwände und der Bildung von bakteriziden Substanzen durch Interaktion mit organischen Molekülen wie z. B. Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure. Die Bedeutung der Polyphenoloxidase bei der pflanzlichen Stressantwort wird in der Umsetzung einer Vielzahl von Monophenolen und Diphenolen zu Chinonen in der Pflanzenzelle angesehen. Die so gebildeten ortho-Chinone wirken toxisch gegenüber Phytopathogenen und sind Auslöser lokal begrenzter Nekrosen des Pflanzengewebes.

#### 3.6.1 Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen

##### **Rebmüder Boden:**

Nach zehn Wochen Vegetationsdauer der Weinreben auf „müdem“ Boden konnte beobachtet werden, dass durch die Einzelinokulation mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 in beiden Pflanzversuchen im Vergleich zum Kontrollansatz die Peroxidase-Aktivität in den Rebwurzeln um 35,2 % (2.Veg.) und 42,9 % signifikant erhöht wurde (Tab. 38). Der gleiche Effekt durch diese Art der Behandlung der Stecklinge wurde auch nach sechzehn Wochen Versuchsdauer festgestellt, wobei im zweiten Versuch eine Zunahme der POD-Aktivität um 17,4 % und im Dritten um 54,2

% zu verzeichnen war (Tab. 39). Dagegen wirkten sich die Anwendungen von *G. intraradices* in Einzel- und Dualinokulation unterschiedlich auf die Peroxidase-Aktivitäten in den Wurzeln im zweiten und dritten Versuch nach zehn und sechzehn Wochen aus und führten zu widersprüchlichen Ergebnissen. So wurde zum einen im zweiten Versuch nach zehn Wochen die POD-Aktivität (AM: +22,2 %, RA56+AM: +24,6 %) signifikant gesteigert, aber im Dritten (AM: -13,8 %, RA56+AM: -26,7 %) signifikant erniedrigt. Zum anderen war sie nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer im zweiten Versuch (RA56+AM: -23,2 %) teilweise signifikant verringert und in der dritten Vegetation durch die AM-Inokulation um 16,1 % bzw. die Dualinokulation um 28,0 % signifikant erhöht.

Es konnten keine Auswirkungen durch die Inokulationen mit Mikroorganismen auf die Peroxidase-Aktivitäten in den Weinblättern bei den Versuchsansätzen nach zehn und sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden festgestellt werden (Tab. 38 und 39).

Tabelle 38: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 16; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	POD - Aktivität [ $\text{U} \times \text{min}^{-1} \times \text{g FS}^{-1}$ ] nach 10 Wochen			
	2. Vegetation		3. Vegetation	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Kontrolle	25,0 ± 12,9 a	74,5 ± 8,7 a	14,1 ± 4,7 a	49,9 ± 3,0 a
RA56	29,4 ± 15,1 a	100,7 ± 8,9 b	13,8 ± 6,3 a	71,3 ± 8,0 b
AM	24,0 ± 11,8 a	91,0 ± 10,1 b	11,2 ± 5,2 a	43,0 ± 7,1 ac
AM + RA56	19,6 ± 5,6 a	92,8 ± 9,7 b	16,3 ± 4,6 a	36,6 ± 4,1 c

Tabelle 39: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ Boden

(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	POD - Aktivität [ $\text{U} \times \text{min}^{-1} \times \text{g FS}^{-1}$ ] nach 16 Wochen			
	2. Vegetation		3. Vegetation	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Kontrolle	28,4 ± 6,8 a	51,7 ± 12,2 a	31,9 ± 6,6 a	54,6 ± 4,2 a
RA56	33,6 ± 4,7 a	60,7 ± 3,7 b	29,5 ± 12,0 a	84,2 ± 6,3 b
AM	24,9 ± 4,6 a	43,1 ± 2,6 ac	28,4 ± 8,6 a	63,4 ± 3,6 c
AM + RA56	28,8 ± 6,3 a	39,7 ± 3,1 c	23,6 ± 7,9 a	69,9 ± 3,7 d

#### Nicht-rebmüder Boden:

In den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden bewirkte die Einzelinokulation mit *G. intraradices* in beiden Vegetationsversuchen eine statistisch gesicherte Abnahme der Peroxidase-Aktivität um 27,9 % (1.Veg.) und 23,1 % in den Rebwurzeln. Durch die Dualbehandlung wurde die Enzymaktivität nur im dritten Versuch signifikant um 24,3 % erhöht. Die Peroxidase-Aktivität in den Rebblättern wurde verglichen zur Kontrolle durch die Inokulationen nicht beeinflusst (Tab. 40).

Tabelle 40: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Peroxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „**nicht-rebmüdem**“ Boden

(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	POD - Aktivität [ $\text{U} \times \text{min}^{-1} \times \text{g FS}^{-1}$ ] nach 16 Wochen			
	2. Vegetation		3. Vegetation	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Kontrolle	25,8 ± 4,6 a	53,0 ± 3,2 a	32,8 ± 7,0 a	61,8 ± 10,3 a
RA56	26,5 ± 5,4 a	59,1 ± 4,5 a	36,0 ± 7,6 a	57,8 ± 3,5 ab
AM	32,1 ± 5,3 a	38,2 ± 5,4 b	32,5 ± 4,7 a	47,5 ± 4,5 b
AM + RA56	30,3 ± 11,6 a	56,8 ± 8,5 a	38,7 ± 7,0 a	76,8 ± 11,1 c

### 3.6.2 Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Polyphenoloxidaseaktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen

#### Rebmüder Boden:

Die Ergebnisse der Bestimmung der Polyphenoloxidaseaktivität bei den Pflanzversuchen auf „rebmüdem“ Boden zeigten, dass Einzelinokulationen mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 zu Erhöhungen der PPO-Aktivitäten in den Rebwurzeln nach zehn (2.Veg.: +39,0 %, 3.Veg.: +31,7 %) und sechzehn Wochen Wachstum (2.Veg.: +10,2 %, 3.Veg.: +11,8 %) im Vergleich zur Kontrolle führten (Tab. 41 und 42), welche aber nur im dritten Vegetationsversuch in den zehn Wochen alten Pflanzen (+ 31,7 %) statistisch abgesichert werden konnte (Tab. 41). Im dritten Versuch wurden die PPO-Aktivitäten in den Wurzeln durch die AM-Inokulation und die Dualbehandlung nach zehn Wochen Wachstumsdauer signifikant um 23,4 % bzw. 18,3 % erniedrigt. Dagegen waren im zweiten Versuch keine Unterschiede zwischen den Behandlungsvarianten zu beobachten.

In den Weinblättern wurde nach zehn Wochen eine verringerte PPO-Aktivität bei den Inokulationsvarianten verglichen zur Kontrolle festgestellt. So nahmen die PPO-Aktivitäten bedingt durch die Behandlungen mit dem Bakterienpräparat RA56 um 28,0 % (2.Veg.) und 32,4 % (3.Veg.) ab. Ebenfalls bewirkten die AM-Inokulationen Verringerungen dieser Enzymaktivitäten um 68,0 % im ersten bzw. 50,6 % im zweiten Versuch und die Dualinokulationen Reduktionen um 72,0 % (2.Veg.) bzw. 71,5 % (3.Veg.) Allerdings waren diese Ergebnisse nur bei der Dualinokulation und der AM-Inokulation des zweiten Vegetationsversuches signifikant. (Tab. 41).

Tabelle 41: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Polyphenoloxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 16; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	PPO - Aktivität [ $U \times \text{min}^{-1} \times \text{g FS}^{-1}$ ] nach 10 Wochen			
	2. Vegetation		3. Vegetation	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Kontrolle	0,75 ± 0,37 a	2,05 ± 0,23 a	2,53 ± 1,53 a	3,50 ± 0,39 a
RA56	0,54 ± 0,28 ab	2,85 ± 0,61 a	1,71 ± 0,80 ab	4,61 ± 0,61 b
AM	0,24 ± 0,18 b	2,15 ± 0,52 a	1,25 ± 0,43 ab	2,68 ± 0,10 c
AM + RA56	0,21 ± 0,11 b	2,47 ± 0,58 a	0,72 ± 0,43 b	2,86 ± 0,60 c

Nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer konnten bei allen Inokulationsvarianten signifikante Verringerungen der PPO-Aktivitäten (RA56: -42,3 %, AM: -51,0 %, RA56+AM: -59,7 %) in den Blättern der Weinreben des dritten Versuches beobachtet werden. Dagegen waren im zweiten Pflanzversuch keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollvariante vorhanden (Tab.42).

Tabelle 42: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Polyphenoloxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „rebmüdem“ Boden

(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	PPO - Aktivität [ $\text{U} \times \text{min}^{-1} \times \text{g FS}^{-1}$ ] nach 16 Wochen			
	2. Vegetation		3. Vegetation	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Kontrolle	0,64 ± 0,32 a	3,64 ± 0,79 a	1,49 ± 0,62 a	7,31 ± 1,35 ab
RA56	0,96 ± 0,44 a	4,01 ± 0,69 a	0,86 ± 0,33 b	8,17 ± 1,18 a
AM	0,79 ± 0,31 a	3,60 ± 0,71 a	0,73 ± 0,23 b	6,45 ± 0,78 ab
AM + RA56	1,15 ± 1,03 a	4,97 ± 1,16 a	0,60 ± 0,06 b	5,85 ± 1,03 b

#### Nicht-rebmüder Boden:

Bei den Pflanzversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden war durch die Einzelbehandlung mit dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* eine Abnahme der PPO-Aktivität um 39,7 % (2.Veg.) und 16,5 % (3.Veg.) ausschließlich in den Rebwurzeln zu verzeichnen, die aber nur in der zweiten Vegetation Signifikanz zeigte. Die anderen Behandlungen hatten keinen Einfluss auf die Aktivität der Polyphenoloxidase der Wurzeln. Dagegen verringerten die Einzel- und Dualinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* die PPO-Aktivitäten in den Weinblättern der Reben des zweiten (RA56: -17,1 %, AM: -19,3 %, RA56+AM: -17,1 %) und des dritten Pflanzversuchs (RA56: -17,6 %, AM: -63,2 %, RA56+AM: -55,2 %), jedoch konnten diese Ergebnisse nicht statistisch abgesichert werden (Tab. 43).

Tabelle 43: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Polyphenoloxidase-Aktivität in Blättern und Wurzeln von Rebpfanzen (Unterlagssorte 5BB) nach 16 Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-rebmüdem“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte mit SD, n = 12; SNK-Test,  $p \leq 0,05$ )

Behandlung	PPO - Aktivität [ $\text{U} \times \text{min}^{-1} \times \text{g FS}^{-1}$ ] nach 16 Wochen			
	2. Vegetation		3. Vegetation	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Kontrolle	0,88 ± 0,39 a	1,46 ± 0,23 a	1,25 ± 0,79 a	2,48 ± 0,29 a
RA56	0,73 ± 0,22 a	2,02 ± 0,65 a	1,03 ± 1,23 a	2,33 ± 0,21 a
AM	0,71 ± 0,51 a	0,88 ± 0,20 b	0,46 ± 0,26 a	2,07 ± 0,42 a
AM + RA56	0,73 ± 0,55 a	1,63 ± 0,28 a	0,56 ± 0,32 a	2,77 ± 0,79 a

### Zusammenfassung:

Ein Vergleich der PPO-Aktivitäten in den Pflanzenorganen der auf „müden“ und „nicht-müden“ Boden kultivierten Weinreben nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer zeigte, dass die PPO-Aktivitäten in den Wurzeln der Reben, die auf „müdem“ Boden gepflanzt wurden, zwei- bis dreifach höher waren als in den Wurzeln der Versuchspflanzen auf „nicht-rebmüdem“ Boden. Diese Beobachtung konnte unabhängig von der Art der Behandlung der Reben gemacht werden (Tab. 42 und 43).



### 3.7 Zusammenfassung ausgewählter Ergebnisse

Im Folgenden werden ausgewählte Ergebnisse zur Trockensubstanzproduktion der Weinreben (Kapitel 3.1.1 und 3.1.2), der koloniebildenden Einheiten der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen im Wurzelraum und wurzelfernen Boden (Kapitel 3.4.1 und 3.4.2) sowie die Peroxidase- und Polyphenoloxidase-Aktivitäten in den Rebblättern und -wurzeln (Kapitel 3.6.1 und 3.6.2) zusammengefasst. Die vorgestellten Ergebnisse wurden als relative Abweichungen zu den entsprechenden Werten der Kontrollansätze in [%] ausgedrückt. Die absoluten Werte der Ergebnisse sind den o. g. Kapiteln zu entnehmen.

#### Rebmüder Boden:

In Tabelle 44 werden die Ergebnisse nach zehn Wochen Vegetationsdauer der Holzstecklinge auf „rebmüdem“ Boden des zweiten und dritten Pflanzversuches wiedergegeben. Demnach waren durch die Inokulationen mit den verwendeten Mikroorganismen die prozentualen Änderungen bei den Triebblängen bzw. Spross- und Wurzelbiomassen beider Versuche im Vergleich zu den Kontrollansätzen nicht reproduzierbar. Dagegen konnten bei Behandlungen der Reben mit *P. fluorescens* RA56 einerseits Abnahmen der koloniebildenden Einheiten von *P. syringae* im Wurzelraum um 89,9 % bzw. 41,6 % und von *P. putida* im wurzelfernen Boden um 63,2 % bzw. 39,7 % beobachtet werden. Dualinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* führten in beiden Versuchen zu Erhöhungen der Koloniezahlen von *P. fluorescens* im Wurzelraum sowie im wurzelfernen Boden und zu geringeren Koloniezahlen von *P. putida* an den Rebwurzeln.

Die Peroxidase-Aktivitäten nahmen durch die Behandlungen mit dem Bakterienpräparat RA56 in den Rebwurzeln um 34,8 % bzw. 42,8 % zu und durch die AM-Inokulationen in den Blättern um 3,8 % bzw. 20,7 % ab. Auch die Aktivitäten der Polyphenolperoxidase in den Rebwurzeln wurden durch die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 um 39,0 % bzw. 31,7 % gesteigert. Dagegen konnte in allen Inokulationsvarianten Verringerungen der PPO-Aktivitäten in den Weinblättern festgestellt werden.

Tabelle 44: Prozentuale Änderung der Biomasse, der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFUs) und der Enzymaktivitäten in den Weinreben im Vergleich zur Kontrolle nach 10 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen (5BB) auf „**müdem**“ Boden (10-Wochen-Versuch) (Veg. = Vegetation; n. b. = nicht bestimmt; TS = Trockensubstanz)

Behandlung		Differenz zur Kontrolle [%]								
		<i>P. fluorescens</i> RA56			<i>G. intraradices</i>			<i>P. fluorescens</i> RA56 + <i>G. intraradices</i>		
		1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.	1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.	1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.
Biomasse	Trieblänge	n. b.	+ 62,4	- 0,6	n. b.	+ 38,8	- 21,6	n. b.	- 8,2	- 37,6
	TS Spross	n. b.	+ 29,7	- 7,8	n. b.	+ 24,6	- 17,9	n. b.	+ 8,0	- 16,2
	TS Wurzel	n. b.	+ 6,3	- 41,3	n. b.	+ 40,6	- 30,7	n. b.	+ 18,8	- 2,7
Wurzel CFU	<i>P. fluorescens</i>	n. b.	- 88,0	+ 48,7	n. b.	+ 71,8	- 46,9	n. b.	+ 70,3	+ 55,1
	<i>P. putida</i>	n. b.	- 70,8	+ 21,7	n. b.	+ 2,1	- 84,1	n. b.	- 52,1	- 98,9
	<i>P. syringae</i>	n. b.	- 89,9	- 41,6	n. b.	- 76,9	+ 608	n. b.	- 74,2	+2186
Boden CFU	<i>P. fluorescens</i>	n. b.	- 54,4	+ 181	n. b.	- 43,1	+ 104	n. b.	+ 292	+ 232
	<i>P. putida</i>	n. b.	- 63,2	- 39,7	n. b.	- 81,3	+ 3,0	n. b.	+ 204	+ 44,7
	<i>P. syringae</i>	n. b.	- 24,5	+ 25,4	n. b.	- 69,2	+ 56,8	n. b.	- 34,8	+ 34,3
POD-Aktivität	Blatt	n. b.	+ 17,8	- 2,6	n. b.	- 3,8	- 20,7	n. b.	- 21,6	+ 15,3
	Wurzel	n. b.	+ 34,8	+ 42,8	n. b.	+ 21,8	- 14,0	n. b.	+ 24,2	- 26,8
PPO-Aktivität	Blatt	n. b.	- 29,3	- 32,4	n. b.	- 68,0	- 50,6	n. b.	- 72,0	- 71,5
	Wurzel	n. b.	+ 39,0	+ 31,7	n. b.	+ 4,4	- 23,4	n. b.	+ 20,0	- 18,3

Die Ergebnisse nach sechzehn Wochen Wachstumsdauer der Rebpflanzen auf „rebmüdem“ Boden zeigten in Bezug auf die Trieblängen und Biomassen, dass durch die Inokulationsvarianten in allen drei Vegetationsversuchen Verbesserungen des Wachstums der Weinpflanzen gegenüber den Kontrollpflanzen erzielt wurden. Gleichzeitig konnten bei allen Varianten Reduzierungen der Koloniezahlen von *P. fluorescens*, *P. putida* und *P. syringae* im Wurzelraum der Versuchspflanzen beobachtet werden (Ausnahme: *P. fluorescens* im ersten Versuch bei Behandlung mit RA56). Im Gegensatz dazu war eine solche Verminderung der Koloniezahlen im wurzelfernen Boden ausschließlich bei der *P. fluorescens*-Gruppe nach Behandlung mit *G. intraradices* sowie dem Mykorrhizapilz in Kombination mit dem

Bakterienpräparat RA56 festzustellen. Die Anzahl der koloniebildenden Einheiten von *P. putida* wurde durch die zuletzt genannte Behandlungsart allerdings erhöht.

Die Peroxidase-Aktivitäten in den Weinblättern waren nur durch die Einzelinokulationen mit dem Mykorrhizapräparat in beiden untersuchten Vegetationsversuchen um 12,4 % bzw. 10,9 % erniedrigt. Dagegen bewirkten Einzelbehandlungen mit *P. fluorescens* RA56 Zunahmen der Peroxidase- und Polyphenoloxidase-Aktivitäten in den Rebwurzeln beider Pflanzversuche (Tabelle 45).

Tabelle 45: Prozentuale Änderung der Biomasse, der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFUs) und der Enzymaktivitäten in den Weinreben im Vergleich zur Kontrolle nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen (5BB) auf „müdem“ Boden  
(Veg. = Vegetation; n. b. = nicht bestimmt; TS = Trockensubstanz)

Behandlung		Differenz zur Kontrolle [%]								
		<i>P. fluorescens</i> RA56			<i>G. intraradices</i>			<i>P. fluorescens</i> RA56 + <i>G. intraradices</i>		
		1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.	1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.	1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.
Biomasse	Trieblänge	+ 35,9	+ 33,1	+ 58,4	+ 13,8	+ 11,0	+ 43,6	- 14,6	+ 1,0	+ 13,7
	TS Spross	+ 93,9	+ 35,4	+ 40,0	+ 56,1	+ 23,1	+ 51,1	+ 32,1	+ 35,5	+ 21,7
	TS Wurzel	+ 160	+ 15,3	+ 7,4	+ 117	+ 19,2	+ 46,7	+ 107	+ 32,9	+ 14,8
Wurzel CFU	<i>P. fluorescens</i>	+ 8,4	- 91,2	- 41,1	- 20,5	- 82,1	- 31,6	- 7,8	- 79,1	- 29,2
	<i>P. putida</i>	- 81,5	- 83,5	- 9,0	- 95,1	- 71,4	- 22,8	- 43,7	- 52,3	- 42,7
	<i>P. syringae</i>	- 44,9	- 96,5	- 55,1	- 37,4	- 88,6	- 35,9	- 10,8	- 84,2	- 5,8
Boden CFU	<i>P. fluorescens</i>	+ 34,1	- 25,2	+ 20,6	- 29,2	- 49,8	- 12,7	- 41,5	- 20,8	- 7,9
	<i>P. putida</i>	+ 522	- 18,8	- 18,6	+ 20,0	+ 23,6	- 39,7	+ 69,8	+ 15,2	+ 44,6
	<i>P. syringae</i>	+ 601	- 19,2	+ 36,1	+ 26,7	- 39,5	+ 105	+ 65,1	- 34,9	- 2,8
POD-Aktivität	Blatt	n. b.	+ 18,3	- 7,4	n. b.	- 12,4	- 10,9	n. b.	+ 1,4	- 25,9
	Wurzel	n. b.	+ 17,4	+ 54,1	n. b.	- 16,7	+ 16,1	n. b.	- 23,1	+ 28,0
PPO-Aktivität	Blatt	n. b.	+ 50,0	- 42,3	n. b.	+ 23,4	- 51,0	n. b.	+ 79,7	- 59,7
	Wurzel	n. b.	+ 10,2	+ 11,8	n. b.	- 1,1	- 11,8	n. b.	+ 36,5	- 20,0

**Nicht-rebmüder Boden:**

Bei der Betrachtung der Ergebnisse aus den drei Pflanzversuchen nach sechzehn Wochen Wachstumsdauer auf „nicht-rebmüden“ Boden konnte festgestellt werden, dass nur die Einzelinokulationen mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 ein verbessertes Triblängenwachstum sowie erhöhte Biomasse der Reben gegenüber den Kontrollpflanzen zur Folge hatten. Dagegen bewirkten die Einzelbehandlungen mit *G. intraradices* und die Dualinokulationen ein vermindertes Triblängenwachstum. Die Biomasseproduktion wurde durch den Mykorrhizapilz ebenfalls gefördert, allerdings war im zweiten Vegetationsversuch ein Rückgang der Sprossbiomasse zu beobachten. Die Dualinokulationen führten zu widersprüchlichen Ergebnissen, die keine eindeutige Tendenz zur Wirksamkeit dieser Behandlungsmethode aufzeigten.

Im Wurzelraum der Reben waren die Koloniezahlen von *P. fluorescens* durch Einzel- und Dualbehandlungen mit *G. intraradices* sowie die Zahlen der Kolonien von *P. syringae* durch Einzelinokulationen mit dem Mykorrhizapilz erniedrigt. Im wurzelfernen Boden konnten reproduzierbare Veränderungen im Vergleich zu den Kontrollansätzen nur bei den koloniebildenden Einheiten von *P. putida* beobachtet werden, deren Anzahlen in den Einzelinokulationsvarianten zu nahmen.

In den sechzehn Wochen alten Blättern der auf „nicht-müden“ Boden kultivierten Reben waren durch die Einzel- und Dualinokulationen mit *P. fluorescens* RA56 Steigerungen der Peroxidaseaktivitäten zu verzeichnen. In den Rebwurzeln führten die Einzelbehandlungen mit dem Mykorrhizapilz zu geminderten und die Dualbehandlungen zu erhöhten Aktivitäten dieses Enzyms. Im Hinblick auf die Polyphenoloxidase wurde ersichtlich, dass Inokulationen mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 und dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* alleine sowie in Kombination die Aktivitäten dieses Enzyms in den Rebblättern erniedrigte. In den Wurzeln wurden nur bei Einzelinokulationen mit dem Mykorrhizapilz die PPO-Aktivitäten in beiden Vegetationsversuchen verringert (Tabelle 46).

Tabelle 46: Prozentuale Änderung der Biomasse, der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFUs) und der Enzymaktivitäten in den Weinreben im Vergleich zur Kontrolle nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen (5BB) auf „**nicht-müdem**“ Boden  
(Veg. = Vegetation; n. b. = nicht bestimmt; TS = Trockensubstanz)

Behandlung		Differenz zur Kontrolle [%]								
		<i>P. fluorescens</i> RA56			<i>G. intraradices</i>			<i>P. fluorescens</i> RA56 + <i>G. intraradices</i>		
		1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.	1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.	1.Veg.	2.Veg.	3.Veg.
Biomasse	Trieblänge	+ 55,6	+ 1,9	+ 20,4	- 1,8	- 21,9	-24,5	- 42,3	- 1,6	- 6,9
	TS Spross	+ 69,2	+ 4,6	+ 32,2	+ 47,5	- 22,1	+ 13,8	- 9,3	- 7,0	+ 16,5
	TS Wurzel	+ 43,4	+ 7,0	+ 17,1	+ 27,6	+ 5,9	+ 14,0	- 11,8	+ 3,7	+ 19,9
Wurzel CFU	<i>P. fluorescens</i>	- 83,1	- 80,3	+ 555	- 87,3	- 71,1	- 46,6	- 97,9	- 30,8	- 69,0
	<i>P. putida</i>	- 99,3	- 56,6	+ 298	- 99,2	- 1,3	+ 261	- 98,3	- 84,2	+ 220
	<i>P. syringae</i>	- 89,4	- 83,9	+ 143	- 90,7	- 24,5	- 7,3	- 75,1	+ 219	- 51,9
Boden CFU	<i>P. fluorescens</i>	+ 245	- 36,8	- 51,0	+ 22,5	- 41,5	+ 10,7	+ 588	- 59,0	- 17,7
	<i>P. putida</i>	+1000	+ 40,5	+ 4,7	+ 18,8	+ 14,3	+ 15,6	+ 473	- 9,5	+ 15,6
	<i>P. syringae</i>	+ 721	- 22,0	- 67,6	+ 448	- 33,0	+ 18,6	+ 941	- 45,3	- 43,5
POD- Aktivität	Blatt	n. b.	+ 2,5	+ 9,7	n. b.	+ 24,3	- 0,8	n. b.	+ 17,4	+ 18,1
	Wurzel	n. b.	+ 11,4	- 6,5	n. b.	- 28,0	- 23,1	n. b.	+ 7,1	+ 24,3
PPO- Aktivität	Blatt	n. b.	- 17,1	- 17,6	n. b.	- 19,3	- 63,2	n. b.	- 17,1	- 55,2
	Wurzel	n. b.	+ 38,4	- 6,1	n. b.	- 39,7	- 16,5	n. b.	+ 11,0	- 11,7

### 3.8 Korrelationsanalytische Betrachtung der Versuchsergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse zur korrelationsanalytischen Betrachtung der Versuchsergebnisse vorgestellt. Es wurden die Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmungen, der Bestimmungen der Lebendkeimzahlen (CFUs) und der Messungen der Enzymaktivitäten in den Weinpflanzen für die Berechnungen der Korrelationskoeffizienten verwendet, um zu prüfen, ob zwischen den o. g. Versuchsparametern statistisch gesicherte biologische Zusammenhänge festzustellen waren. Die Werte für die angegebenen Korrelationskoeffizienten  $r$  liegen zwischen „-1“ und „+1“, wobei „0“ keine und „-1“ bzw. „+1“ perfekte Korrelationen bezeichnen. Für die Beurteilung der Ergebnisse wurden nur Korrelationskoeffizienten  $\geq \pm 0,5$  berücksichtigt ( $r = \pm 0,5$  entspricht: „schwache Korrelation“).

#### 3.8.1 Korrelationen zwischen Trockensubstanzproduktion der Rebpflanzen und Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen

##### **Rebmüder Boden:**

Die Prüfungen auf Korrelation zwischen der Trockensubstanz der Reben und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFUs) der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen zeigen, dass nach zehn Wochen Vegetationsdauer der Reben auf „müdem“ Boden starke Korrelationen zwischen der Trockensubstanzproduktion und den CFUs von *P. syringae* im Versuchboden festzustellen waren. Die negativen  $r$ -Werte sind so zu interpretieren, dass je kleiner die Koloniezahlen von *P. syringae* im Boden waren, desto besser war die Biomasseproduktion. Ähnliche Ergebnisse konnten auch für *P. fluorescens* und *P. putida* ermittelt werden, wobei kein Zusammenhang zur Wurzelbiomasse herzustellen war (Tab. 47). Im Gegensatz dazu schien eine Zunahme der *P. fluorescens* in der Rhizosphäre mit einer verbesserten Wurzelbiomasse verbunden zu sein ( $r = +0,62$ ).

Wie aus Tabelle 48 ersichtlich wird, stellten sich die Ergebnisse nach sechzehn Wochen Versuchsdauer anders dar. So konnte festgestellt werden, dass die Wurzelbiomasse mit zunehmender Anzahl von *P. syringae* ( $r = +0,80$ ) und *P. fluorescens* ( $r = +0,81$ ) im wurzelfernen Boden größer wurde, wogegen die Abnahme der Keimzahlen von *P. putida* ( $r = -0,59$ ) und *P. syringae* ( $r = -0,57$ ) im Wurzelraum auf eine Zunahme der Sprossbiomasse hindeutete.

Tabelle 47: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen der Rebpflanzen der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 Wochen Wachstumsdauer auf „**rebmüdem**“ **Boden** und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzel- und Bodenproben

<i>Pseudomonas</i> -Gruppe	Probe	TS Spross	TS Wurzel	TS Pflanze
		Korrelationskoeffizient r		
<i>P. fluorescens</i>	Wurzel	0,42	0,62	0,54
	Boden	-0,59	-0,26	-0,54
<i>P. putida</i>	Wurzel	0,08	-0,17	0,01
	Boden	-0,76	-0,13	-0,61
<i>P. syringae</i>	Wurzel	-0,35	0,10	-0,22
	Boden	-0,89	-0,76	-0,94

Tabelle 48: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen der Rebpflanzen der 1., 2. und 3. Vegetationsversuche nach 16 Wochen Wachstumsdauer auf „**rebmüdem**“ **Boden** und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzel- und Bodenproben

<i>Pseudomonas</i> -Gruppe	Probe	TS Spross	TS Wurzel	TS Pflanze
		Korrelationskoeffizient r		
<i>P. fluorescens</i>	Wurzel	-0,18	0,34	0,09
	Boden	0,36	0,81	0,28
<i>P. putida</i>	Wurzel	-0,59	-0,15	-0,58
	Boden	-0,28	0,11	-0,15
<i>P. syringae</i>	Wurzel	-0,57	0,29	-0,26
	Boden	0,22	0,80	0,73

**Nicht-rebmüder Boden:**

Die korrelationsanalytischen Betrachtungen der Ergebnisse aus den Vegetationsversuchen auf „nicht-rebmüdem“ Boden werden in der Tabelle 49 vorgestellt. Demnach wurden gute Korrelationen zwischen der Wurzelbiomasse und der Anzahl von *P. syringae* an den Rebwurzeln und im Boden ermittelt. Bei geringeren CFUs an den Rebwurzeln ( $r = -0,60$ ) und höheren CFUs im Boden ( $r = +0,77$ ) nahm die Biomasse der Wurzeln zu. Dieser Zusammenhang konnte auch bei der *P. fluorescens*-Gruppe in Bezug auf die Rebwurzeln beobachtet werden, allerdings waren die Korrelationen schwächer. Es waren keine Korrelationen zwischen der Sprossbiomasse und den CFUs der Pseudomonas-Gruppen zu erkennen.

Tabelle 49: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen der Rebpflanzen der 1., 2. und 3. Vegetationsversuche nach 16 Wochen Wachstumsdauer auf „**nicht-rebmüdem**“ Boden und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzel- und Bodenproben

<i>Pseudomonas</i> -Gruppe	Probe	TS Spross	TS Wurzel	TS Pflanze
		Korrelationskoeffizient r		
<i>P. fluorescens</i>	Wurzel	-0,28	-0,51	-0,44
	Boden	0,20	0,54	0,41
<i>P. putida</i>	Wurzel	-0,40	-0,40	-0,47
	Boden	0,33	-0,37	0,01
<i>P. syringae</i>	Wurzel	-0,42	-0,60	-0,58
	Boden	0,27	0,77	0,58

Zusätzlich zu den korrelationsanalytischen Betrachtungen der absoluten Koloniezahlen der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen wurde geprüft, ob statistische Zusammenhänge zwischen der CFU-Verhältniszahl, gebildet aus dem Quotienten der CFUs der *P. fluorescens* und der CFUs der *P. syringae*, sowie der



Trockensubstanzproduktion der Reben vorhanden waren. Es werden nur die Ergebnisse vorgestellt, bei denen Korrelationen festgestellt werden konnten.

Demnach wurde eine starke Korrelation ( $r = +0,83$ ) zwischen den CFU-Verhältniszahlen im Wurzelraum und der Sprossbiomasse der Reben in den Versuchen auf „müdem“ Boden nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer nachgewiesen. Dies bedeutet, dass eine Änderung des CFU-Verhältnisses zu Gunsten von *P. fluorescens* gegenüber *P. syringae* zu einer Zunahme der Sprossbiomasse führte. Bei den Versuchen auf „nicht-rebmüden“ Boden mit sechzehn Wochen Versuchsdauer wurde dieser Zusammenhang ebenso beobachtet, wobei die Korrelation mit  $r = +0,66$  etwas schwächer ausgeprägt war.

### 3.8.2 Korrelationen zwischen Trockensubstanzproduktion und Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen

Korrelationen zwischen der Biomasseproduktion und der Peroxidase-Aktivität konnten bei den Versuchen auf „rebmüdem“ Boden nur nach zehn Wochen Vegetationsdauer festgestellt werden. Dem zu Folge erhöhte sich die Sprossbiomasse mit zunehmender POD-Aktivität in den Blättern der Reben ( $r = +0,80$ ) und zunehmender POD-Aktivität in den Rebwurzeln ( $r = +0,82$ ). Auf „nicht-rebmüdem“ Boden wurde ebenfalls eine Zunahme der Sprossbiomasse in Verbindung mit gesteigerter POD-Aktivität in den Blättern ( $r = +0,70$ ) und in den Wurzeln ( $r = +0,52$ ) beobachtet. Zusätzlich war in diesen Versuchen eine starke Korrelation zwischen der Wurzelbiomasse und der POD-Aktivität in den Blättern ( $r = +0,84$ ) vorhanden (Tab. 50).

Tabelle 50: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen (TS) und der Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden

Vegetationsdauer		„Rebmüde“		„Nicht-Rebmüde“
		10 Wochen	16 Wochen	16 Wochen
		Korrelationskoeffizient r		
POD-Aktivität Blätter	TS Spross	0,80	0,07	0,70
	TS Wurzel	0,45	-0,19	0,84
	TS Pflanze	0,78	-0,04	0,76
POD-Aktivität Wurzeln	TS Spross	0,82	0,40	0,52
	TS Wurzel	0,29	0,35	0,47
	TS Pflanze	0,75	0,42	0,51

### 3.8.3 Korrelationen zwischen Trockensubstanzproduktion und Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen

In den Vegetationsversuchen auf „rebmüdem“ Boden nach zehn und sechzehn Wochen Versuchsdauer konnten lediglich Korrelationen zwischen der Wurzelbiomasse und der PPO-Aktivität in den Rebwurzeln aufgezeigt werden. Der Korrelationskoeffizient r betrug nach zehn Wochen -0,61, d. h. je geringer die PPO-Aktivität war, desto mehr Wurzelbiomasse wurde von den Reben produziert. Im Gegensatz dazu konnte nach sechzehn Wochen eine Steigerung der PPO-Aktivität mit einhergehender Zunahme der Wurzelbiomasse beobachtet werden ( $r = +0,56$ ). Stark positive Korrelationen wurden zwischen der Spross- und Wurzelbiomasse und der PPO-Aktivität in den Rebwurzeln der Versuche auf „nicht-müdem“ Boden ermittelt. Mit zunehmender PPO-Aktivität wurde sowohl die Sprosstrockensubstanz ( $r = +0,81$ ) als auch die Wurzeltrockensubstanz ( $r = +0,79$ ) erhöht (Tab. 51).

Tabelle 51: Korrelationen zwischen den Trockensubstanzproduktionen (TS) und der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden

Vegetationsdauer		„Rebmüde“		„Nicht-Rebmüde“
		10 Wochen	16 Wochen	16 Wochen
		Korrelationskoeffizient r		
PPO-Aktivität Blätter	TS Spross	-0,42	-0,23	0,07
	TS Wurzel	-0,42	-0,14	-0,04
	TS Pflanze	-0,47	-0,21	0,03
PPO-Aktivität Wurzeln	TS Spross	-0,29	0,34	0,81
	TS Wurzel	-0,61	0,56	0,79
	TS Pflanze	-0,44	0,46	0,81

#### 3.8.4 Korrelationen zwischen der Peroxidase-Aktivität in den Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in den Wurzelproben

Bei der Prüfung auf Korrelation zwischen der Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln von Rebpflanzen sowie der Anzahl der CFUs der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen sollte geprüft werden, ob ein statistisch gesicherter biologischer Zusammenhang zwischen diesen Untersuchungsparametern bestand. Aus Tabelle 52 geht hervor, dass nur bei den Vegetationsversuchen auf „rebmüdem“ Boden mit zehn Wochen Versuchsdauer eine schwache Korrelation zwischen der POD-Aktivität in den Rebwurzeln und der Lebendkeimzahl von *P. fluorescens* ( $r = +0,57$ ) gefunden wurde. Demnach war eine Zunahme von *P. fluorescens* im Wurzelraum mit einer erhöhten POD-Aktivität in den Pflanzenwurzeln verbunden. Nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „müdem“ und „nicht-müdem“ Boden konnten keine Korrelationen nachgewiesen werden.

Tabelle 52: Korrelationen zwischen der Peroxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzelproben der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden

Vegetationsdauer		„Rebmüde“		„Nicht-Rebmüde“	
		10 Wochen	16 Wochen	16 Wochen	
POD-Aktivität		Korrelationskoeffizient r			
Wurzel CFU	<i>P. fluorescens</i>	Wurzel	0,57	0,45	0,08
		Blatt	0,39	-0,02	0,41
	<i>P. putida</i>	Wurzel	0,14	-0,27	-0,10
		Blatt	-0,15	0,01	0,48
	<i>P. syringae</i>	Wurzel	-0,26	0,14	0,06
		Blatt	0,20	-0,18	0,43

Neben den korrelationsanalytischen Betrachtungen mit den absoluten Lebendkeimzahlen der *Pseudomonas*-Gruppen wurde geprüft, ob statistische Zusammenhänge zwischen der CFU-Verhältniszahl, gebildet aus dem Quotienten der CFUs der *P. fluorescens* und der CFUs der *P. syringae*, sowie der Peroxidase-Aktivität in den Rebwurzeln vorhanden waren. Dabei konnte eine positive Korrelation ( $r = +0,77$ ) bei den Pflanzversuchen auf „rebmüdem“ Boden und sechzehn Wochen Wachstumsdauer ermittelt werden. Dies deutet drauf hin, dass eine Änderung des CFU-Verhältnisses zu Gunsten von *P. fluorescens* gegenüber *P. syringae* zu einer Zunahme der POD-Aktivität in den Wurzeln führte.

### 3.8.5 Korrelationen zwischen der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzelproben

Nach zehn Wochen Wachstum der Rebpflanzen auf „müdem“ Boden konnten schwache Korrelationen zwischen den Polyphenoloxidase-Aktivitäten in den Blättern und Wurzeln sowie den Lebendkeimzahlen der einzelnen *Pseudomonas*-Gruppen im Wurzelraum festgestellt werden. Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen zeigen, dass mit abnehmender Anzahl der CFUs von sowohl *P. fluorescens* als auch *P. syringae* eine Zunahme der PPO-Aktivitäten in den Blättern und Wurzeln, (ausgedrückt als negative Korrelationskoeffizienten  $r$ ) einherging (Tab. 53). Dagegen konnten Steigerungen der PPO-Aktivitäten in den Pflanzenkompartimenten bei gleichzeitiger Zunahme der Lebendkeimzahlen von *P. putida* beobachtet werden. Bei den Vegetationsversuchen auf „rebmüdem“ Boden mit sechzehn Wochen Versuchsdauer konnte eine starke Korrelation zwischen der PPO-Aktivität in den Rebwurzeln und der Lebendkeimzahl von *P. fluorescens* ( $r = +0,71$ ) nachgewiesen werden. Demnach stand die Zunahme von *P. fluorescens* im Wurzelraum mit der erhöhten PPO-Aktivität in den Pflanzenwurzeln im Zusammenhang. Nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer auf „nicht-müdem“ Boden konnten keine Korrelationen nachgewiesen werden.

Tabelle 53: Korrelationen zwischen der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Blättern und Wurzeln der Rebpflanzen und der Anzahl der „Colony Forming Units“ (CFU) von *Pseudomonas*-Gruppen in Wurzelproben der 2. und 3. Vegetationsversuche nach 10 bzw. 16 Wochen Wachstumsdauer auf „rebmüdem“ sowie „nicht-rebmüdem“ Boden

Vegetationsdauer		„Rebmüde“		„Nicht-Rebmüde“	
		10 Wochen	16 Wochen	16 Wochen	
PPO-Aktivität		Korrelationskoeffizient r			
Wurzel CFU	<i>P. fluorescens</i>	Wurzel	-0,58	0,71	0,31
		Blatt	-0,64	0,15	0,45
	<i>P. putida</i>	Wurzel	0,53	-0,23	0,14
		Blatt	0,56	-0,12	-0,28
	<i>P. syringae</i>	Wurzel	-0,54	0,18	0,28
		Blatt	-0,37	-0,14	0,39

Wie auch bei der Peroxidase-Aktivität (siehe Kapitel 3.7.4) sollte geprüft werden, ob statistische Zusammenhänge zwischen der CFU-Verhältniszahl, gebildet aus dem Quotienten der CFUs der *P. fluorescens* und der CFUs der *P. syringae*, sowie der Polyphenoloxidase-Aktivität in den Rebwurzeln festzustellen waren. Die Korrelationsanalyse zeigte, dass eine positive Korrelation ( $r = +0,76$ ) bei den Pflanzversuchen auf „rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Versuchsdauer bestand. Es fand eine Zunahme der PPO-Aktivität in den Wurzeln in Folge der Änderung des CFU-Verhältnisses zu Gunsten von *P. fluorescens* gegenüber *P. syringae* statt.

## 4 Diskussion

### 4.1 Biomasseproduktion und Wachstum der Rebpflanzen

Die grundlegende Frage der vorliegenden Arbeit war, ob das Phänomen der Bodenmüdigkeit bei Weinreben in Rebschulen durch gezielte Inokulationen mit phytoeffektiven Mikroorganismen zu beheben ist. Die positive Beantwortung dieser Frage war der Ausgangspunkt für die Analyse der mikrobiologischen und pflanzenphysiologischen Grundlagen der Rebenmüdigkeit bzw. welche abiotischen oder biotischen Faktoren für dieses spezielle Nachbauproblem verantwortlich zu zeichnen sind.

In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden zur Behebung der Bodenmüdigkeit bei Weinreben in Rebschulen phytoeffektive Mikroorganismen wie der pflanzenassoziative Bakterienstamm *Pseudomonas fluorescens* RA56 und der wurzelsymbiotische Mykorrhizapilz *Glomus intraradices* eingesetzt. Die Kontrolluntersuchung zeigte, dass die Rebpflanzen auf müdem Boden nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer deutliche Wuchsdepressionen der Sprosse und Wurzeln in Hinblick auf die Biomassen und Triebblängen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen auf nicht-müdem Boden aufwiesen. Durch gezielte Inokulationen des rebmüden Bodens mit diesen Mikroorganismen als Einzel- oder Dualbehandlung konnte eine Zunahme der Sprossbiomassen und Triebblängen von Holzstecklingen der Unterlagsorte 5BB herbeigeführt werden, wobei die Einzelbehandlungen die größte Wirksamkeit besaßen. Durch phytoeffektive Mikroorganismen lässt sich also die Rebenmüdigkeit zumindest teilweise beheben.

Im Gegensatz dazu führte auf nicht-rebmüdem Boden nur die Einzelinokulationen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 zu signifikant verbessertem Pflanzenwachstum. Es wurde eine Steigerung der Biomasseproduktion und des Triebblängenwachstums erzielt. Die Anwendung des Mykorrhizapilzes wirkte sich dagegen zum Teil negativ auf das Pflanzenwachstum aus. Zwar führte sie im ersten Jahr zu keiner messbaren Depression, in der zweiten Vegetation jedoch zu einer Reduktion der Sprossbiomasse, d. h. *Glomus intraradices* reduzierte das Triebblängenwachstum der Reben. Daraus lässt sich ableiten, dass die infektiöse Besiedelungsphase mit dem Mykorrhizapilz insbesondere für die jungen Rebpflanzen biotischen Stress auf nicht-

müdem Bodensubstrat hervorruft. Eine Erklärung dafür wäre, dass der nicht-rebmüde Boden ein ausreichendes Angebot an pflanzenverfügbaren Nährstoffen aufweist und kein die Bodenmüdigkeit induzierendes mikrobiologisches Potenzial besitzt. Die zusätzliche Besiedlung des Bodens mit dem Mykorrhizapilz entzieht der Pflanze Kohlenstoffderivate und reduziert gleichzeitig die Menge der zur Verfügung stehenden Nährstoffe, so dass die Bilanz dieser Lebensgemeinschaft für den pflanzlichen Partner unter stressfreien Wachstumsbedingungen negativ ausfallen kann (MORTIMER, 2005).

Die Rebenmüdigkeit des Bodens äußert sich durch charakteristische Merkmale wie verringertes Sprosswachstum aufgrund der Verkürzung der Internodien und reduziertem Wurzelwachstum (PETGEN, 1998; WASCHKIES et al., 1992; WASCHKIES, 1992; WASCHKIES ET AL., 1994; WEINMANN, 2000). Eine vergleichbare Symptomatik wird auch bei sämtlichen Obstgehölzen aus der Familie der *Rosaceen* angetroffen (HOESTRA, 1968; KÜMMELER, 1981; MAZZOLA, 1998; OTTO, 1972; OTTO ET AL., 1993). So berichten CATSKA ET AL. (1982), COVEY ET AL. (1984), SAVORY (1969), SEWELL ET AL. (1992), SLYKHUIS & LI (1985) und VANG-PETERSEN (1970) von Wachstumsdepressionen bei Apfelpflanzen auf apfelmüdem Boden. Andere Autoren konnten bei Untersuchungen mit Pfirsichpflanzen (CATSKA ET AL., 1979; EAYRE ET AL., 2000; GUR ET AL., 1991; LEPIDI ET AL., 1974; XUE & YAO, 1998) oder Kirschen (JACKSON, 1973; SEWELL & WILSON, 1975; WEBSTER, 1984; WINKLER ET AL., 1992a, 1992b) ebenfalls eine Reduktion des Spross- und Wurzelwachstums als Folge des artgleichen Nachbaus feststellen. Diese Beobachtungen werden durch die hier vorgelegten Untersuchungen zum Wachstum der Rebenunterlagssorte 5BB auf nicht-rebmüdem und rebmüdem Boden in Gefäßversuchen bestätigt.

Die Wirkung von Rhizobakterien zur Förderung des Pflanzenwachstums als biologische Maßnahme gegen die Bodenmüdigkeit bei Weinreben, Obstgehölzen und Gemüsepflanzen wie z. B. Spargel wird schon seit längerer Zeit von verschiedenen Autoren untersucht und diskutiert. Für Weinreben liegen nur wenige Untersuchungen vor, z. B. die Untersuchung von WEINMANN (2000). Er konnte nach Inokulation von rebmüden Boden mit dem Rhizobakterium *Pseudomonas fluorescens* RA56 eine Verbesserung des Spross- und Wurzelwachstums von 5BB Grünstecklingen beobachten. Diese Beobachtung entspricht den eigenen Ergebnissen mit Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB (s. o.). Bei der Bekämpfung



der Apfelmüdigkeit bewirkt die Behandlung mit verschiedenen *Pseudomonas putida* Stämmen (BIRÓ ET AL., 1998; MAZZOLA, 1999) bzw. den Rhizobakterien *Enterobacter agglomerans* B8 und *Bazillus subtilis* EBW-4 (UTKHEDE & SMITH, 2000) ein gesteigertes Wachstum der Apfelpflanzen und verbesserte Ernteerträge auf apfelmüdem Boden. Im Gemüseanbau konnten die negativen Auswirkungen des Nachbaus von Spargel auf Spargel durch die Applikation von *Bazillus subtilis* FZB24 vermindert werden (LORD, 2003). Als Hauptursache der Spargelmüdigkeit sieht der Autor den phytopathogenen Pilz *Fusarium oxysporum* an. Er begründet dies mit der Beobachtung, dass bei gleichzeitiger Inokulation des Pflanzsubstrates mit *Fusarium oxysporum* eine deutliche Kompensation der Reduktion des Spross- und Wurzelwachstums in Relation zur infizierten Kontrolle erzielt werden konnte.

Neben der Anwendung von phytoeffektiven Rhizobakterien können arbuskuläre Mykorrhizapilze als wirksames biologisches Agens zur Behebung der Bodenmüdigkeit (replant disease) eingesetzt werden. Die Resultate der vorliegenden Untersuchungen zur Wirksamkeit des Mykorrhizapilzes *Glomus intraradices* gegen die Rebenmüdigkeit bestätigten diesen Zusammenhang. In ihnen führte die Inokulation mit dem Endomykorrhizapilz *Glomus intraradices* zu signifikanten Verbesserungen der Triebblängen und Trockenbiomassen sowie höheren Anwuchsraten der Rebstecklinge auf müdem Substrat. Im Vergleich dazu wiesen die Kontrollpflanzen zum Teil erhebliche Wachstumsdepressionen oder Absterberaten auf. Zu den Anwuchs- bzw. Absterberaten von Weinreben in müden Rebschulböden liegen in der Literatur keine Daten vor. Lediglich bei Pfirsichkeimlingen konnten BALLA ET AL. (1998) zeigen, dass gezielte Inokulationen mit *Glomus intraradices* oder *Glomus sp.* zu erhöhten Überlebensraten sowie verbessertem Wachstum der jungen Pflanzen führten. Diese AM-Pilze scheinen demnach geeignet, die Nachbauprobleme bei Pfirsichen zu beheben. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen XUE & YAO (1998) in ihren Versuchen mit Pfirsichpflanzen (*Prunus persica* L.) und Apfelkeimlingen (*Malus hupehensis*).

Die vorliegende Arbeit zeigt jedoch auch, dass auf nicht-müdem Boden das Wachstum der Reben durch die AM-Inokulationen beeinträchtigt wird. Als Grund hierfür kann die Besiedlung der Wurzeln mit AM-Pilzen gesehen werden. Die Infektion von Pflanzenwurzeln mit Mykorrhizapilzen, die keinem abiotischen oder durch phytopathogene Mikroorganismen verursachten biotischen Stress ausgesetzt

sind, bedeutet für diese eine zusätzliche Konkurrenz um Nährstoffe bei gleichzeitigem Entzug von Kohlenstoffderivaten aus dem pflanzlichen Stoffwechsel durch den AM-Pilz (s. o.).

Die eigenen Erkenntnisse bestätigen also im Wesentlichen die Untersuchungsergebnisse von WASCHKIES (1992) und WEINMANN (2000). Nach WASCHKIES (1992) wirkte sich die Inokulation von rebmüdem Boden mit dem Mykorrhizapilz *Glomus mosseae* in einer signifikanten Abschwächung der Rebenmüdigkeit aus, die in einer deutlichen Zunahme der Gesamtblattfläche und Trockengewichte der Rebpflanzen zum Ausdruck kam. Im Gegensatz zu unseren Untersuchungen wurden jedoch die Reben auf nicht-müden Kontrollböden durch diesen Mykorrhizapilz nicht in ihrem Wachstum beeinflusst. Weiterführende Untersuchungen von WEINMANN (2000) sowie die eigenen Versuche zur Behebung der Rebenmüdigkeit in Rebschulen zeigten, dass *Glomus intraradices* neben *G. mosseae* ebenfalls ein hohes antagonistisches Potential bei der Bekämpfung der Nachbauprobleme in der Rebpflanzvermehrung besitzt.

#### 4.2 Mikro- und Makronährstoffgehalte der Rebpflanzen und Versuchsböden

Das wesentliche Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Bodenmüdigkeit in Rebschulen durch die Applikation von phytoeffektiven Mikroorganismen zu beheben. Die weitere Fragestellung war, welche ursächlichen Parameter für die Wachstumsdepressionen der Rebpflanzen auf müdem Boden verantwortlich sein könnten. Vor diesem Hintergrund wurden u. a. untersucht, ob ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Rebenmüdigkeit und dem Ernährungszustand der Reben besonders in Bezug auf die Versorgung mit Mikro- und Makronährstoffen besteht.

Die Mineralstoffanalyse ergab insgesamt eine mittlere bis gute Versorgung der Rebpflanzen mit Mikro- und Makronährstoffen und zwar sowohl auf müdem als auch auf nicht-müdem Bodensubstrat. Die Gehalte an Fe, Ca, K, Mg und P in den Sprossen und Wurzeln der pflanzlichen Prüfglieder zeigten unabhängig von der Inokulation der Rebenstecklinge und vom verwendeten Pflanzsubstrat keine signifikanten Unterschiede auf. Ein wichtiger Unterschied wurde dagegen für die Metalle Mn, Cu und Zn festgestellt. In den Blättern der auf müden Boden kultivierten

Weinreben wurde eine Abnahme der Mn-Gehalte gemessen, die mit einer Zunahme der Cu- und Zn-Gehalte in den Wurzeln der betroffenen Pflanzen einhergeht.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde nach Inokulation von rebmüden Boden mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* eine Abnahme des pflanzenverfügbaren Mangans und darüber hinaus auch des Kupfers und Eisens beobachtet. Eine vermutete Korrelation zwischen dem Pflanzenwachstum und der durch Rhizosphärenbakterien vermittelten Mn-Verfügbarkeit im Boden konnte mangels einer Differenzierung der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen in Mn-Reduzierer und Mn-Oxidierer jedoch nicht ermittelt werden. Die beträchtlichen Wachstumsunterschiede zwischen den inokulierten und unbehandelten Rebpflanzen können durch die abweichenden Gehalte an Mn, Cu und Zn in den Wurzeln und Blättern aufgrund der guten allgemeinen Nährstoffversorgung der Reben nicht erklärt werden. Der Vergleich der Gehalte an pflanzenverfügbaren Mikro- und Makronährelementen im rebmüden Boden zum nicht-rebmüden Boden zeigte insgesamt eine deutliche Abnahme der Bodenlösungskonzentrationen. Die Untersuchungen der Ausgangsböden ergaben, dass die Bodeneigenschaften und Nährstoffgehalte keine wesentlichen Unterschiede aufwiesen, auf die sich diese verringerte Nährstoffmobilisierung im Bodensubstrat zurückführen ließe. Es muss deshalb davon ausgegangen werden, dass eine veränderte mikrobiologische Aktivität oder eine veränderte Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation oder der Wurzelexsudation zu einer qualitativen und/oder quantitativen Veränderung des chemischen Milieus im rebmüden Boden und der Rhizosphäre führte.

Die Resultate bezüglich der verringerten Mn-Gehalte bestätigen die Ergebnisse von (Waschkies, 1992). Die Autorin wies in ihren Untersuchungen nach, dass unabhängig von der Rebsorte signifikant niedrigere Mn-Gehalte in den rebmüden Pflanzen auf müdem Boden auftraten. Sie sieht darin einen Hinweis auf Veränderungen in der Rhizosphärenflora im Vergleich zu dem nicht-rebmüden Boden. Auch KOTHARI ET AL. (1991) konnten in Versuchen mit Mais zeigen, dass Bodenbehandlungen mit Rhizosphärenmikroorganismen und *Glomus mosseae* zu einer Reduzierung der Mn-Konzentrationen in den Sprossen und Wurzeln sowie im Rhizosphärenboden führten. Die Autoren führen die Änderungen der Konzentration in den Pflanzenkompartimenten und an austauschbaren bzw. pflanzenverfügbaren Mangan im Boden auf die Zusammensetzung der Population der

Rhizosphärenmikroorganismen zurück, insbesondere auf das Verhältnis von Mn-Reduzierern und Mn-Oxidierern. Sie zeigen, dass Boden mit nicht-mykorrhizierten Pflanzen einen zwanzig- bis dreißigfach höheren Anteil an Fe- und Mn-Reduzierern aufweisen. Weiterführende Untersuchungen von POSTA (1994) bestätigten diese Ergebnisse. Der Autor hebt die besondere Rolle der Mn-reduzierenden Mikroorganismen bei der Versorgung der Pflanzen mit Mangan hervor. Verschiedene Vertreter aus den Bakterien- und Pilzgattungen *Bazillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp. und *Aspergillus* spp. werden nach POSTA (1994) zu den Mn-Reduzierern gezählt, welche die Eigenschaft besitzen, Manganoxide durch abiotische oder enzymatische Reaktionen aus der nicht pflanzenverfügbaren Form  $Mn^{+4}$  in die pflanzenverfügbare Form  $Mn^{+2}$  umzuwandeln.

GERKE (1995) definiert die chemische Mobilisierung von für das Pflanzenwachstum nötige Nährstoffe im Boden als die Erhöhung der Nährstofflöslichkeit durch Veränderung chemischer Parameter in der Rhizosphäre. Diese wird durch mobilisierende Ausscheidungen von Pflanzenwurzeln oder Mikroorganismen im Wurzelraum bewirkt. Nach GERKE (1995) kann eine chemische Mobilisierung durch Veränderungen des pH-Wertes, Änderung des Redoxpotentials in der Rhizosphäre und durch Ausscheidung organischer Komplexbildner erfolgen. Eine entscheidende Voraussetzung für das Aneignungsvermögen von Pflanzen für Nährstoffe ist die Größe der aufnehmenden Oberfläche und die physiologischen Parameter der Wurzel, die ihr erlauben, ein größeres Bodenvolumen zu nutzen. In den vorliegenden Untersuchungen wurde ein reduziertes Wurzelwachstum der Reben auf müdem Boden im Vergleich zum nicht-müden Pflanzsubstrat festgestellt. Es kann also angenommen werden, dass eine Abnahme der Nährstoffmobilisierung stattgefunden hat, die auf eine verminderte Wurzelexsudation zurückzuführen ist. Eine verringerte Nährstoffversorgung der Rebepflanzen betrifft allerdings nur Mn und nicht die sonstigen Mikro- und Makronährstoffe, da in den Blättern der auf rebmüden Boden kultivierten Rebepflanzen sowie in der Bodenlösung nur eine signifikante Abnahme der Mangan-Gehalte festzustellen war. Unsere Untersuchungen zur Nährstoffversorgung der Pflanzen auf rebmüdem Boden zeigen, dass eine Mangelversorgung nicht die Ursache der Rebenmüdigkeit ist, zumal die betroffenen Weinreben keine erkennbaren Symptome für eine Manganunterversorgung aufwiesen.

#### 4.3 Populationsdichte und Verteilung von Pseudomonaden an Rebwurzeln und in den Versuchsböden

Da aufgrund der vorliegenden Ergebnisse eine ungenügende Nährstoffversorgung der Weinreben nicht die Ursache für die Bodenmüdigkeit sein kann, stellt sich die Frage, ob Mikroorganismen für dieses Phänomen verantwortlich sein könnten. In ihren Arbeiten hatten WASCHKIES (1992) und WEINMANN (2000) diesbezüglich die Gesamtheit der fluoreszierenden Pseudomonaden untersucht, allerdings ohne eine weitere Differenzierung dieser umfangreichen Bakteriengruppe vorzunehmen. Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Arbeit eine differenzierte Betrachtung dieser heterogenen Gruppe für drei *Pseudomonas*-Gruppen durchgeführt. Als typische Vertreter der Rhizosphärenbakterienpopulation wurden die Gruppen von *Pseudomonas fluorescens* sp. und *Pseudomonas putida* sp. sowie die phytopathogene Gruppe von *Pseudomonas syringae* sp. in den vorliegenden mikrobiologischen Untersuchungen berücksichtigt. Es wurde geprüft, ob eine oder mehrere dieser Bakteriengruppen als Verursacher der Bodenmüdigkeit bei Weinreben in Betracht kommen könnten.

Außerdem wurden Streptomyceten aus Boden- und Wurzelproben kultiviert, da verschiedene Autoren diese Actinomyceten-Gruppe als Ursache der Apfelmüdigkeit verantwortlich machen (OTTO ET AL., 1994a, 1994b; OTTO & WINKLER, 1995). Aufgrund von Voruntersuchungen konnte diese Bakteriengruppe als Ursache der Bodenmüdigkeit bei Weinreben ausgeschlossen werden, da weder mit den Boden- noch mit Wurzelproben reproduzierbare Ergebnisse erzielt wurden. Diese Ergebnisse wurden daher nicht in die Arbeit aufgenommen.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte durch Boden- und Wurzelextraktionen gezeigt werden, dass je nach Art der Behandlung der Rebstecklinge mit Mikroorganismen und Dauer der Pflanzversuche unterschiedliche Wirkungen auf die Anzahl koloniebildender Einheiten („Colony Forming Units“, CFU) der betrachteten *Pseudomonas*-Gruppen erzielt werden konnten. Demnach führten die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 unabhängig von der Vegetationsdauer auf rebmüdem Boden zu deutlichen Reduzierungen der CFUs innerhalb der phytopathogenen Gruppe von *P. syringae* in der Rhizosphäre (Tab. A7, Abb. 10, 11, 12). Nach sechzehn Wochen Versuchsdauer waren im Wurzelraum darüber hinaus die CFUs

aller *Pseudomonas*-Gruppen in den Versuchsansätzen nach Einzelinokulation mit dem Bakterienpräparat RA56 stark verringert (Abb. 10, 11, 12).

Die Unterdrückung der phytopathogenen *P. syringae* spp. durch den biologischen Antagonisten *P. fluorescens* RA56 kann auf unterschiedlichen biologischen Mechanismen beruhen. Zu ihnen zählt die Antibiose, die als Inhibition von Pathogenen durch antimikrobielle Substanzen definiert werden kann. Für den Wirkmechanismus der Antibiose spricht, dass das Rhizobakterium *P. fluorescens* RA56 aufgrund seiner stoffwechselphysiologischen Eigenschaften in der Lage ist, antibiotikahaltige Verbindungen freizusetzen (ABDI BAGHI, 1993). Es kann vermutet werden, dass durch die Ausscheidung solcher Substanzen in der Rhizosphäre der Reben ein suppressiver Effekt auf *P. syringae* spp. und andere *Pseudomonas*-Gruppen ausgeübt wurde. Allerdings wurde die Qualität und Quantität dieser antimikrobiellen Substanzen aus technischen Gründen in der vorliegenden Arbeit nicht überprüft. Die Produktion einer solchen antibiotisch wirkenden Substanz, des 2,4-Diacetylphloroglucinol (DAPD), ist aber durch CRONIN ET AL. (1997) nachgewiesen. Sie konnten zeigen, dass die Kartoffelnassfäule, die durch *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) verursacht wird, durch das biologische Agens *Pseudomonas fluorescens* Migula F113 unterdrückt wird.

Eine weitere Möglichkeit, wie phytopathogene Bakterien (z. B. *Pseudomonas syringae* spp.) durch Antagonisten bekämpft werden, besteht darin, dass beide um Eisen in der Rhizosphäre konkurrieren. Diesem Wirkmechanismus liegen Siderophoren zu Grunde: Rhizobakterien produzieren unter Eisen limitierten Bedingungen (Eisenmangel) eine Vielzahl von Fe-Chelatoren und Siderophoren, welche eine sehr große Affinität zu Eisen(III) aufweisen. Diese bakteriellen Fe-Chelatoren sind in der Lage, das in der Rhizosphäre verfügbare Eisen zu binden, um so die Versorgung der pathogenen Mikroorganismen mit diesem Nährelement und in Folge dessen ihr Wachstum einzuschränken (LOPER & HENKELS, 1999; O`SULLIVAN & O`GARA, 1992). Das in dieser Arbeit eingesetzte Rhizobakterium *P. fluorescens* RA56 ist in der Lage, solche Siderophore zu produzieren und in das umgebende Milieu abzugeben (ABDI BAGHI, 1993). Die eigenen Ergebnisse zeigen, dass durch die Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 eine solche Konkurrenzsituation hervorgerufen wurde. Die relativ hohe inokulierte Bakterienzahl von  $3 \times 10^9$  pro Rebpflanze kann in diesem Zusammenhang für die biologische Inaktivierung phytopathogener Bakterien

wie *P. syringae* spp. verantwortlich gemacht werden. Die durch die Inokulation verursachte erhöhte Pseudomonaden-Dichte in den ersten zehn Vegetationswochen lässt eine gesteigerte Ausscheidung von Siderophoren für die Fe-Aquirierung durch *Pseudomonas fluorescens* RA56 vermuten.

Die Abnahme der Keimzahlen aller *Pseudomonas*-Gruppen nach sechzehn Wochen Versuchsdauer ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass ab der sechsten Woche neben der Hemmung des Wachstums anderer Pseudomonaden durch das bakterielle Inokulat ein starker Rückgang der Populationsdichte der inokulierten *P. fluorescens* RA56 zu erwarten ist. Hierbei ist die Einstellung eines biologischen Gleichgewichts der Bakteriengemeinschaft in Boden und Rhizosphäre denkbar. Eine weitere Möglichkeit wäre, dass die Nährstoffversorgung der Pflanze Einfluss auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft in der Rhizosphäre ausübt (YANG & CROWLEY, 2000). Die durch das Inokulat veränderte Nährstoffverfügbarkeit im Boden könnte zu Veränderungen der pflanzlichen Nährstoffaufnahme und in Folge dessen zu quantitativen und/oder qualitativen Änderungen in der Zusammensetzung der Wurzelexsudate führen, welche von den Rhizobakterien als Kohlenstoffquelle genutzt werden. Je nach Art und Zusammensetzung der Exsudate ist von einer Förderung oder Hemmung bestimmter Bakterien-Spezies auszugehen.

Durch die vorliegenden Versuche mit Weinreben, die auf müdem Boden kultiviert wurden, konnte erstmalig gezeigt werden, dass inokulierte Mykorrhizapilze die Bakteriengruppe von *P. fluorescens* spp. suppressieren. So wurden als Folge der Einzel- und Dualinokulationen mit *Glomus intraradices* im wurzelfernen rebmüden Boden die CFUs von *P. fluorescens* spp. im Vergleich zu den Kontrollansätzen verringert. Diese Reduzierung der koloniebildenden Einheiten könnte damit erklärt werden, dass Vertreter aus der Gruppe der *P. fluorescens* spp. als typische Rhizosphärenbesiedler anderen Bodenbakterien oder den Mykorrhizapilzen in der Konkurrenz um Nährstoffe unterlegen sind.

Außer durch die gezielte Inokulation mit dem Rhizobakterium *P. fluorescens* RA56 konnte nach sechzehn Wochen Versuchsdauer durch die Anwendung des Mykorrhizapräparats *Glomus intraradices* ebenfalls eine Reduzierung der Lebendkeimzahlen (CFU) der drei untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen in der Rhizosphäre der Rebstecklinge beobachtet werden. Im wurzelfernen rebmüden

Boden wurden dagegen unter dem Einfluss dieses Mykorrhizapilzes nur die CFUs der *P. fluorescens*-Gruppe im Vergleich zu den Kontrollansätzen verringert. Dabei scheint der Interaktionen zwischen den Rhizobakterien und den Mykorrhizapilzen in der Rhizosphäre eine größere Bedeutung zu zukommen. Dies kann einerseits daran liegen, dass in der Rhizosphäre und -plane die größten Besiedlungsdichten mit fluoreszierenden Pseudomonaden vorzufinden sind. Diese ist, wie in den eigenen Untersuchungen gezeigt werden konnte, um den Faktor 10 höher als im wurzelfernen Boden. Zum anderen ist im Wurzelraum die Exsudation der Pflanzen am stärksten, die mit einer hohen mikrobiellen Aktivität einhergeht (WASCHKIES, 1992; WEINMANN, 2000).

Die Abnahme der Lebendkeimzahlen aller untersuchten Pseudomonaden-Gruppen in Folge der Mykorrhizapilz-Inokulation könnte auch auf eine Änderung der bakteriellen Artenzusammensetzung hindeuten, z. B. könnten Bakteriengruppen, die nicht den Pseudomonaden zu zuordnen sind, durch die etablierte Mykorrhiza in der Rhizosphäre gefördert worden sein. Diese bakterielle Mykorrhiza-Begleitflora würde als Konkurrent um Nährstoffe und Besiedlungsraum in der Rhizosphäre auftreten oder durch Ausscheidung antimikrobieller Substanzen zur Hemmung der Pseudomonaden-Gemeinschaft beitragen. Wie aus anderen Untersuchungen bekannt ist, kann *Glomus intraradices* die Kultivierbarkeit und Anzahl von *Pseudomonas* spp. in der Hyphosphäre negativ beeinflussen (RAVNSKOV ET AL., 1999). Die vorgelegten Ergebnisse von RAVNSKOV ET AL. (1999) lassen vermuten, dass die Beziehungen zwischen den arbuskulären Mykorrhizapilzen und den Bodenbakterien hoch spezifisch sein können und die Auswirkungen dieser Interaktionen in Abhängigkeit von den beteiligten Spezies gesehen werden müssen.

Als Maß für die mikrobielle Aktivität in den Versuchsböden wurde in den vorliegenden Untersuchungen die Dehydrogenase-Aktivität (DHA) bestimmt. Dabei ergab sich, dass ausschließlich nach vier Wochen Vegetationsdauer die Aktivitäten in den Böden der Varianten mit Inokulum zum Teil signifikant gegenüber den Kontrollansätzen erhöht waren. Zu diesem Versuchszeitpunkt setzen bei den Rebstecklingen eine intensive Wurzelbildung und eine erhöhte Photosyntheseaktivität durch das Sprosswachstum ein. In Folge des Wachstumsschubs ist von einer verstärkten Wurzelexsudation der Reben auszugehen, was zu einer erhöhten Bereitstellung von organischen Substanzen als Nährstoffquelle für die Mikroorganismen in der



Rhizosphäre aber auch im wurzelfernen Boden führen kann. Insgesamt waren die mikrobiellen Aktivitäten im rebmüden Boden gegenüber dem nicht-müden Boden deutlich erniedrigt. Dies konnte auch durch Messung der DHA für die unbepflanzten Ausgangsböden festgestellt werden. Die Unterschiede in den mikrobiellen Enzymaktivitäten lassen vermuten, dass sich die jeweiligen Versuchsböden in ihrem Artenspektrum und in der Populationsdichte unterschieden und/oder die Bodenmikroorganismen in Abhängigkeit von ihrem Lebenszyklus differente biologische Aktivität besaßen.

In der vorliegenden Arbeit wurde besonderes Augenmerk auf die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden als typische Rhizosphärenbakterien gelegt und daher ihre Interaktionen mit dem inokulierten AM-Pilz *G. intraradices* sowie den in den Versuchsböden vorhandenen autochthonen Mykorrhizapilzen beobachtet. Dabei konnte festgestellt werden, dass in rebmüden Boden die Bakterieninokulation einen positiven Einfluss auf die Besiedlung der Rebwurzeln mit autochthonen Mykorrhizapilzen ausübte, während die Mykorrhizifizierung der Pflanzen in nicht-müdem Bodensubstrat im Vergleich zur Kontrolle unbeeinflusst blieb. Im letzteren Falle war der Mykorrhizifizierungsgrad ca. doppelt so hoch als in den Wurzeln der Kontrollpflanzen auf müdem Boden. Dies lässt den Schluss zu, dass entweder die Anzahl infektiöser Einheiten der autochthonen Mykorrhizapilze im rebmüden Ausgangsboden geringer war oder ein hemmender Einfluss der vorliegenden mikrobiologischen Gemeinschaft auf vorgenannte vorhanden war.

Nach CHRISTENSEN & JAKOBSEN (1993) beeinflusst die Symbiose von Pflanzen mit arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMP) die Besiedlung ihrer Wurzeln mit Rhizobakterien. Daraus resultiert eine größere räumliche Variabilität der bakteriellen Verteilung auf den mykorrhizierten Wurzeln. Dies kann entweder zu einer Zunahme der bakteriellen Besiedlungsdichte in der Rhizosphäre führen (ANDRADE ET AL., 1998; MEDINA ET AL., 2003a; VAN AARLE ET AL., 2003), keinen Effekt auf die Bakteriendichte ausüben (MANSFELD-GIESE ET AL., 2002; MEYER & LINDERMAN, 1986; OLSSON ET AL., 1998) oder sie erniedrigen (AMES ET AL., 1984; CHRISTENSEN & JAKOBSEN, 1993; WASCHKIES ET AL., 1994; WEINMANN, 2000). Diese widersprüchlichen Ergebnisse zu den Wirkungsweisen von arbuskulären Mykorrhizapilzen auf die Bodenbakterien im Wurzelraum können auf die Interaktionen der Bakterien mit unterschiedlichen AM-Spezies zurückgeführt werden. So wiesen MARSCHNER ET AL. (2001), MARSCHNER &

BAUMANN, (2003) und SECILIA & BAGYARAJ (1987) nach, dass verschiedene AM-Spezies sich in ihrem Effekt auf die Rhizosphärenmikroorganismen unterscheiden. Diese Autoren zeigten auch, dass die Interaktion zwischen den AM-Pilzen und den Rhizobakterien abhängig von der Pflanzenart sein kann (MARSCHNER & TIMONEN, 2005; MEDINA ET AL., 2003). In Übereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen berichten verschiedene Autoren von einer Abnahme der Populationsdichte von *Pseudomonas* spp. in der Rhizosphäre durch die Kolonisierung der Pflanzenwurzeln mit arbuskulären Mykorrhizapilzen (MARSCHNER & CROWLEY, 1996; MEYER & LINDERMAN, 1986; PAULITZ & LINDERMAN, 1989). RAVNSKOV ET AL. (1999) andererseits berichten, dass die Besiedlungsdichte mit fluoreszierenden Pseudomonaden durch die AM nicht beeinträchtigt wurde. Sie beobachteten aber eine verminderte Kultivierbarkeit dieser Bakterien. RAMOS ET AL. (2000) vermuten in diesem Kontext eine ausgeprägte Mangelernährung der Bakterienzellen in der Rhizosphäre von AM-Wurzeln. Die Autoren bestätigten die Ergebnisse der Arbeiten von MARSCHNER & CROWLEY (1996) und MARSCHNER ET AL. (1997), welche von einer Reduzierung der physiologischen Aktivität von fluoreszierenden Pseudomonaden in der Rhizosphäre durch die AM-Besiedlung berichten. Verschiedene Mykorrhizapilze unterscheiden sich in ihrer repressiven Wirkung auf *Pseudomonas* sp. (MARSCHNER & CROWLEY, 1996; MARSCHNER ET AL., 1997; PAULITZ & LINDERMAN, 1989). PAULITZ & LINDERMAN (1989) argumentieren, dass dieser Effekt in Abhängigkeit vom Grad der Mykorrhizierung der Pflanzenwurzeln durch die AM zu sehen sei und demnach mit zunehmendem prozentualen Anteil der Besiedlung mit AM an der Wurzellänge eine erhöhte Unterdrückung der Pseudomonaden zu erwarten ist.

Die Zusammensetzung der bakteriellen Mikroorganismengesellschaft im Boden ist an sich schon sehr komplex. Eine Besiedlung der Pflanzenwurzeln mit AM-Pilzen kann darüber hinaus entweder zu einer Förderung der Populationsdichte bestimmter Bakterien führen oder andere in ihrem Wachstum unterdrücken (AMORALEZCANO ET AL., 1998; MARSCHNER ET AL., 2001; MARSCHNER & BAUMANN, 2003; MEYER & LINDERMAN, 1986; POSTA, 1994; WAMBERG ET AL., 2003). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen in Übereinstimmung mit WASCHKIES ET AL. (1994), dass die Inokulation mit dem AM-Pilz *G. intraradices* ein verbessertes Wachstum der Weinreben auf rebmüdem Boden bewirkt. Diese Mykorrhizierung bewirkt gleichzeitig eine Abnahme der Populationsdichte an fluoreszierende Pseudomonaden, welche

als eine der kausalen Ursachen für diese spezielle Nachbaukrankheit angenommen werden kann. Während o. g. lediglich die Gesamtheit der kultivierbaren Pseudomonaden betrachteten, wurde in der vorliegenden Arbeit eine Differenzierung von diesen Bakteriengattungen in die o. g. *Pseudomonas*-Gruppen vorgenommen. Dabei wurde festgestellt, dass die *P. fluorescens*-Gruppe prozentual gesehen unter den kultivierten fluoreszierenden Pseudomonaden den höchsten Anteil in der Rhizosphäre ausmachte. Zur Gruppe der *P. syringae* gehörte ca. ein Drittel der untersuchten Pseudomonaden, zu der *P. putida*-Gruppe nur ein geringer Anteil. In den Versuchen bewirkten die Einzelinokulationen die deutlichste Verschiebung der Populationszusammensetzung zu Ungunsten der *P. syringae*-Gruppe. Im wurzelfernen Bereich dominierte dagegen die Gruppe der *P. syringae* sowohl im rebmüden als auch im nicht-rebmüden Boden. Beim Vergleich der Boden-Wurzel-Verhältnisse für die jeweiligen *Pseudomonas*-Gruppen wurde auf müdem Substrat eine durch die Einzelinokulationen hervorgerufene Verschiebung der Populationsdichte von *P. syringae* in Richtung wurzelferner Boden beobachtet. Dieser Effekt war bei Anwendung des Bakterienpräparates am deutlichsten ausgeprägt. Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass speziell die Einzelinokulation mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 eine Verdrängung der phytopathogenen *P. syringae* aus der Rhizosphäre der Reben bewirkt. Es kann davon ausgegangen werden, dass durch Einzelinokulation mit *P. fluorescens* RA56 die Entwicklung der Rebenmüdigkeit durch die *P. syringae*-Gruppe präventiv verhindert werden kann.

#### 4.4 Enzymaktivitäten in den Rebpflanzen

Viele Pflanzenenzyme sind an den Abwehrreaktionen gegen Pflanzenpathogene beteiligt. Hierzu zählen u. a. die oxidativen Enzyme Peroxidase und Polyphenoloxidase. Diese tragen durch die Bildung von Lignin und anderen oxidativen Phenolen wie z. B. ortho-Chinone zur Verstärkung der Zellstrukturen als Abwehrbarriere bei (AVDIUSHKO ET AL., 1993). Dies wurde für eine ganze Reihe von Pflanzen nachgewiesen (siehe unten). Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass die Rebenmüdigkeit durch phytopathogene Mikroorganismen wie *Pseudomonas syringae* ausgelöst wird. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb zusätzlich untersucht, ob es in den Weinreben zu physiologischen Antworten auf die Pathogenen und/oder zur Resistenzausbildung

kommt. Als erster Schritt zur Analyse dieser Möglichkeit wurde untersucht, ob die Inokulationen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 und *Glomus intraradices* Veränderungen der Enzymaktivitäten von Peroxidase (POD) und Polyphenoloxidase (PPO) hervorrufen. Zu dieser Problematik liegen in der Literatur keine Arbeiten vor.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte erstmals gezeigt werden, dass die Inokulation des PGPR *Pseudomonas fluorescens* RA56 in den Wurzeln der Weinreben auf rebmüdem Bodensubstrat zu einer verstärkten Aktivität der Enzyme POD und PPO nach zehn und sechzehn Wochen Vegetationsdauer führte. Dagegen war die Enzymaktivität der PPO in den Weinblättern nach zehn Wochen erniedrigt. Es kann also davon ausgegangen werden, dass im Wurzelgewebe eine induzierte Resistenz hervorgerufen wurde. Im Blattgewebe konnte im Gegensatz dazu keine Induktion der POD-Aktivität registriert werden. Die PPO-Aktivität war nach zehn Wochen sogar erniedrigt. Ebenso war zu diesem Zeitpunkt die PPO-Aktivität durch die Inokulationen mit dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* deutlich erniedrigt. Daraus lässt sich schließen, dass die Blattorgane der behandelten Reben im Vergleich zu den Kontrollpflanzen keinem abiotischen bzw. biotischen Stress (Phytopathogene) und/oder der Aktivierung von Resistenzmechanismen unterlagen. In den Blättern der Reben auf nicht-müdem Boden konnte durch die Einzel- und Dualbehandlungen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 eine leichte Erhöhung der POD-Aktivitäten nachgewiesen werden. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass durch die Bodeninokulation mit dem phytoeffektiven Rhizobakterium eine induzierte systemische Resistenz (ISR) in den oberirdischen Pflanzenkompartimenten erfolgte. Ähnlich wie auf rebmüdem Boden nach zehn Wochen Versuchsdauer waren die PPO-Aktivitäten in den Blättern im Vergleich zur Kontrolle erniedrigt, allerdings nicht in dem Maße wie bei den Versuchen auf müdem Bodensubstrat.

Die Einzelbehandlungen der Reben mit dem Mykorrhizapräparat auf nicht-müdem Boden bewirkten deutliche Reduzierungen der POD-Aktivitäten in den Wurzeln und der PPO-Aktivitäten in den Blättern sowie Wurzeln gleichermaßen. Der Grund dafür könnte darauf beruhen, dass bei Abwesenheit von biotischem Stress wie der Rebenmüdigkeit in mykorrhizierten Pflanzen keine Resistenz induziert wird. Dann besteht für die Pflanze nicht die Notwendigkeit, Peroxidase und Polyphenoloxidase zu bilden. Aufgrund dieser Ergebnisse kann vermutet werden, dass durch die etablierte Mykorrhiza andere pflanzliche Schutzmechanismen aktiviert werden.

Ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein der Peroxidase und der Polyphenoloxidase sowie der pflanzlichen Abwehr gegen Pathogene wurde bei verschiedenen Pflanzenarten wie z. B. Tabak (GOY ET AL., 1992), Tomatenpflanzen (BASHAN ET AL., 1987) und Gurken (RASMUSSEN ET AL., 1991) nachgewiesen. Diese pflanzliche Abwehr, bzw. die durch Rhizobakterien (PGPR) induzierte systemische Resistenz (ISR), wird von CHEN ET AL. (2000) in Zusammenhang mit den Aktivitäten der oxidativen Enzyme POD und PPO gebracht. Die Autoren berichten von einer Zunahme der POD- und PPO-Aktivitäten in den Wurzeln von Gurkenpflanzen nach Inokulation der PGPR *Pseudomonas corrugata* 13 und *Pseudomonas aureofaciens* 63-28 schon vor dem Kontakt der Pflanze mit dem phytopathogenen Pilz *Pythium alphanidermatum*, der die Umfallkrankheit auslöst. SCHNEIDER & ULLRICH (1994) berichten von einer Stimulation der Aktivitäten der Enzyme Chitinase,  $\beta$ -1,3-Glucanase, Peroxidase, Polyphenoloxidase und Phenylalaninammoniumlyase (PAL) in den Blattgeweben von Gurken- und Tabakpflanzen nach Induktion der pflanzlichen Abwehr durch den Echten Gurkenmehltau (*Sphaerotheca fuliginea*), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bakterieller Stängelbrand) und Salizylsäure. Die Induktion der Enzymaktivitäten der POD und der PPO erfolgt nach CHEN ET AL. (2000) bei der Pathogenabwehr genauso wie bei der induzierten systemischen Resistenz (ISR). Normalerweise kommt es zu einer Akkumulation der Polyphenoloxidase nach der Verletzung von pflanzlichem Gewebe. Demnach kommt es nach der Verletzung ausgewachsener Blätter von Tomatenpflanzen zu einer systemischen Erhöhung der PPO-Transkripte in den jungen Blättern (THIPYAPONG & STEFFENS, 1997). AVDIUSHKO ET AL. (1993) konnten in ihren Untersuchungen eine Zunahme der Aktivierung von POD und PPO in der Umgebung von Läsionen an Gurkenblättern beobachten, die durch epiphytische Pathogene verursacht wurden.

#### 4.5 Statistische Prüfung auf biologische Zusammenhänge

Abschließend wurden die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse mittels Korrelationsanalyse daraufhin überprüft, ob zwischen den untersuchten Versuchsparametern wie Biomasseproduktion, Lebendkeimzahlen der *Pseudomonas*-Gruppen und den Enzymaktivitäten in den Pflanzenkompartimenten statistisch abgesicherte biologische Zusammenhänge vorhanden waren.

Bei rebmüdem Boden zeigte sich, dass geringere Lebendkeimzahlen von *P. syringae* im wurzelfernen müden Boden zu einer Erhöhung der Biomasse der jungen Reben führte. Bei den älteren Pflanzen wirkte sich die Abnahme der Lebendkeimzahlen von *P. syringae* in der Rhizosphäre bei gleichzeitiger Zunahme im wurzelfernen Boden positiv auf die Sprossbiomasse aus. Dieser Unterschied in der räumlichen Verteilung und seine Bedeutung für das Pflanzenwachstum kann damit erklärt werden, dass die jungen Reben nach zehn Wochen Vegetationsdauer noch nicht ein so ausgeprägtes Wurzelsystem wie die sechzehn Wochen alten Pflanzen ausgebildet hatten. Da die älteren Reben eine starke Durchwurzelung der Pflanzgefäße aufwiesen, ist aufgrund der großen Wurzeloberfläche von einer hohen Besiedlungsdichte mit Mikroorganismen der Rhizosphäre und -plane auszugehen, wobei *P. syringae* zu Gunsten von *P. fluorescens* aus dem Wurzelraum verdrängt wurde.

Bei den Versuchen mit nicht-müdem Boden konnte dieser Zusammenhang ebenfalls nachgewiesen werden. Das Wurzelwachstum wurde in diesem Falle durch die Reduktion der Lebendkeimzahlen von *P. syringae* in der Rhizosphäre befördert.

Die korrelationsanalytische Betrachtung der Parameter Biomasse und Peroxidase-Aktivität führte zu dem Ergebnis, dass mit zunehmender POD-Aktivität eine gesteigerte Sprossbiomasseproduktion stattfand. Dieser Zusammenhang wurde sowohl bei den Versuchen auf müden als auch auf nicht-müden Boden beobachtet.

Ähnliche Befunde wurden bei der Korrelation Biomasse mit der Polyphenoloxidaseaktivität ermittelt, wobei dieser Effekt auf die Wurzeln der älteren Rebpflanzen beschränkt blieb. Da die besten Biomasseerträge bei den mit PGPR und Mykorrhizapilz behandelten Rebpflanzen erzielt wurden, können die Steigerungen der Enzymaktivitäten in den Blatt- und Wurzelorganen auf diese Inokulationen zurückgeführt werden.

Die Korrelation der Lebendkeimzahlen mit den Enzymaktivitäten bestätigte, dass eine Verschiebung des Lebendkeimzahlverhältnisses von *P. fluorescens* und *P. syringae* in der Rhizosphäre zu Gunsten von *P. fluorescens* eine erhöhte Peroxidase- und Polyphenoloxidaseaktivität in den Rebwurzeln der sechzehn Wochen alten Pflanzen auf müdem Boden zur Folge hatte.

Die gesteigerten Enzymaktivitäten, die bevorzugte Besiedlung der Rhizosphäre durch *P. fluorescens* sowie die Unterdrückung bzw. Verdrängung der phytopathogenen *P. syringae* aus dem Wurzelraum können als Resultat der Inokulationen mit PGPR und Mykorrhizapilz gesehen werden und deuten auf die Induzierung von Resistenzmechanismen in den Rebpflanzen hin. Infolge dessen kann der phytopathogene Charakter der Bodenmüdigkeit neutralisiert und ein gesundes Wachstum der Rebpflanzen gewährleistet werden.

## 5. Zusammenfassung

Das Problem der Bodenmüdigkeit in Rebschulen äußert sich in Wachstumsdepressionen der veredelten Pfropfreben. Oft ist bereits nach drei- bis viermaliger Nutzung einer Fläche als Rebschule Rebenmüdigkeit festzustellen. Eine geregelte Fruchtfolge zur Vermeidung von Nachbauschwierigkeiten ist nur selten möglich, da es sich hier um Spezialbetriebe zur Erzeugung von Rebenpflanzgut handelt. Infolge dessen können große wirtschaftliche Schäden für diese Betriebe entstehen. Die Ziele dieser Untersuchung waren einerseits die Behebung der Bodenmüdigkeit in Rebschulen durch Bodeninokulationen mit dem pflanzenassoziativen Rhizobakterienstamm *Pseudomonas fluorescens* RA56 und dem symbiotischen Endomykorrhizapilz *Glomus intraradices* sowie andererseits die möglichen Ursachen der Rebenmüdigkeit zu ermitteln.

Die Schwerpunkte dieser Arbeit lagen in der Untersuchung des Einflusses von gezielten Bodeninokulationen auf die Rebenmüdigkeit in Rebschulböden. Zu diesem Zweck wurden deren Wirkungen einerseits auf das Wachstum von Rebholzstecklingen (Unterlagssorte 5BB) und andererseits auf die Zusammensetzung der Population ausgewählter bodenbürtiger und phytopathogener Bakterien der Gruppen *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* und *P. syringae* in der Rhizosphäre und im wurzelfernen Boden in Abhängigkeit vom rebmüden sowie nicht-rebmüden Pflanzsubstrat geprüft. In Gewächshausversuchen wurden über drei Vegetationsperioden die Wirkungen von inokulierten Mikroorganismen auf die Lebendkeimzahlen und Artzusammensetzungen o. g. Bakteriengruppen in Boden und Rhizosphäre geprüft sowie der Biomasseertrag, das Triebängenwachstum und die Nährstoffversorgung der Weinreben bestimmt. Begleitend zu den vorgenannten Untersuchungen wurden Messungen der Dehydrogenaseaktivitäten als Maß für die mikrobiologische Aktivität im Boden sowie der Peroxidase- und Polyphenoloxidaseaktivitäten in den Pflanzenkompartimenten als Parameter für die Reaktion der Weinreben auf biotischen Stress durchgeführt. Abschließend wurden die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse mittels Korrelationsanalyse daraufhin überprüft, ob zwischen den untersuchten Versuchsparametern wie Biomasseproduktion, Lebendkeimzahlen der *Pseudomonas*-Gruppen und den Enzymaktivitäten der Pflanzenkompartimente statistisch abgesicherte biologische Zusammenhänge vorhanden waren.



Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Rebpflanzen der Kontrollansätze auf müdem Boden nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer deutliche Depressionen der Sprossbiomassen um 23,1 % bis 38,1 % sowie der Wurzelbiomassen um 23,0 % bis 47,4 % im Vergleich zu den Kontrollpflanzen auf nicht-müdem Boden aufwiesen. Gezielte Inokulationen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 und *Glomus intraradices* als Einzel- oder Dualbehandlung bewirkten auf rebmüdem Boden eine Zunahme der Spross- und Wurzelbiomassen um bis zu 93,9 % bzw. 160,0 %, der Triebblängen um bis zu 58,4 % sowie verbesserten Anwuchsraten von Holzstecklingen der Unterlagssorte 5BB. Dabei zeigten die Einzelbehandlungen die größte Wirksamkeit. Auf nicht-rebmüdem Boden führten nur die Einzelinokulationen mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 zu signifikant verbessertem Pflanzenwachstum. Dabei konnte eine Steigerung der Biomasseproduktion um bis zu 69,2 % (Spross) und des Triebblängenwachstums um bis zu 55,6 % erzielt werden. Die Inokulation mit dem Mykorrhizapilz wirkte sich dagegen weniger deutlich positiv auf das Pflanzenwachstum aus und führte in der zweiten Vegetation sogar zu einer Reduktion der Sprossbiomasse um 22,1 %. Das Triebblängenwachstum der Reben wurde durch die Behandlung mit *Glomus intraradices* um bis zu 42,3 % reduziert.

Die Mineralstoffanalysen der müden als auch nicht-müden Bodensubstrate ergaben insgesamt eine mittlere bis gute Versorgung der Rebpflanzen mit Mikro- und Makronährstoffen. Die Mineralstoffversorgung wurde weder durch das Inokulat mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 noch durch die Inokulation mit dem Mykorrhizapilz *Glomus intraradices* entscheidend beeinflusst. Obwohl in den Blättern der auf rebmüden Boden kultivierten Rebpflanzen sowie in der Bodenlösung eine signifikante Abnahme der Mangan-Gehalte festzustellen war, kann Nährstoffmangel als Ursache für die Rebenmüdigkeit ausgeschlossen werden, da die betroffenen Reben keine Symptome für eine Manganunterversorgung aufwiesen.

In Abhängigkeit von der Behandlung der Rebstecklinge mit Bakterien oder Mykorrhizapilzen und der Dauer der Pflanzversuche wurden unterschiedliche Auswirkungen auf die Anzahl koloniebildender Einheiten („Colony Forming Units“, CFU) der betrachteten *Pseudomonas*-Gruppen erzielt. Auf rebmüdem Boden führten die Inokulationen mit *P. fluorescens* RA56 unabhängig von der Vegetationsdauer zu deutlichen Reduzierungen der CFUs innerhalb der phytopathogenen Gruppe von *P.*

*syringae* in der Rhizosphäre. Darüber hinaus waren nach sechzehn Wochen Vegetationsdauer die CFUs der untersuchten *Pseudomonas*-Gruppen im Wurzelraum in allen Versuchsansätzen mit Inokulum stark verringert. Weiterhin konnte im behandelten rebmüden Boden festgestellt werden, dass die *P. fluorescens*-Gruppe prozentual zur Gesamtheit der kultivierten fluoreszierenden Pseudomonaden am stärksten in der Rhizosphäre vertreten war, wogegen die Gruppe der *P. syringae* ca. ein Drittel der untersuchten Pseudomonaden ausmachte und die *P. putida* nur einen geringen Anteil an der Gesamtpopulation einnahmen. Gleichzeitig bewirkten die Einzelinokulationen die deutlichste Verschiebung der Populationszusammensetzung zu Ungunsten der *P. syringae*. Im wurzelfernen rebmüden und nicht-rebmüden Boden war die Gruppe der *P. syringae* dominierend. Beim Vergleich der Besiedelungsdichte der *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelnahen (Rhizosphäre) und wurzelfernen rebmüden Substrat wurde eine Verschiebung der Populationsdichte von *P. syringae* in Richtung wurzelferner Boden beobachtet, die durch die Einzelinokulationen hervorgerufen wurde. Dieser Effekt war bei Anwendung des Bakterienpräparates am deutlichsten ausgeprägt. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass speziell durch die Einzelinokulation mit dem Bakterienpräparat *P. fluorescens* RA56 eine Verdrängung der phytopathogenen *P. syringae* aus der Rhizosphäre der Reben erzielt werden kann. Zusätzlich kann davon ausgegangen werden, dass eine präventive Behandlung von nicht-rebmüdem Boden mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 die Ausbildung der Rebenmüdigkeit vermindert oder unterdrückt.

Die Behandlung mit Inokulum erhöhte die mikrobiellen Aktivitäten (Dehydrogenase-Aktivitäten) in den Versuchsböden nach vier Wochen Vegetationsdauer zum Teil signifikant gegenüber den Kontrollansätzen. Zu diesem Zeitpunkt setzte bei den Rebstecklingen sowohl eine intensive Wurzelbildung als auch ein erhöhtes Sprosswachstum ein, dass zu einer Steigerung der Photosyntheseaktivität und Wurzelexsudation führte. Die pflanzlichen Ausscheidungen im Wurzelraum werden im Zuge dessen von den Mikroorganismen als Nahrungs- bzw. Energiequelle genutzt.

Auf rebmüdem Bodensubstrat führte die Inokulation des „Plant Growth Promoting Rhizobacterium“ (PGPR) *Pseudomonas fluorescens* RA56 nach zehn und sechzehn Wochen Vegetationsdauer zu einer verstärkten Aktivität der Enzyme Peroxidase

(34,8 bis 42,8 % bzw. 17,4 bis 54,1 %) und Polyphenoloxidase (31,7 bis 39,0 % bzw. 10,2 bis 11,8 %) in den Wurzeln der Weinreben. Daraus kann geschlossen werden, dass dieses PGPR im Wurzelgewebe eine Resistenz gegenüber den die Bodenmüdigkeit auslösenden Mikroorganismen induziert. Im Blattgewebe konnte im Gegensatz dazu keine Induktion der POD-Aktivität registriert werden. Die PPO-Aktivität lag nach zehn Wochen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen sogar um bis zu 32,4 % niedriger. Die Inokulationen mit dem Mykorrhizapilz *G. intraradices* führten zusätzlich zu einer Reduktion der PPO-Aktivitäten um bis zu 68,0 % deutlich ab. Die Blattoorgane der behandelten Reben schienen weder biotischen Stress (Phytopathogene) zu unterliegen noch war eine Aktivierung pflanzlicher Resistenzmechanismen festzustellen. Bei Behandlung der Reben auf nicht-müdem Boden mit *Pseudomonas fluorescens* RA56 konnte eine leichte Erhöhung der POD-Aktivitäten in den Blättern beobachtet werden. Dies lässt vermuten, dass durch die Bodeninokulation mit dem phytoeffektiven Rhizobakterium eine systemische Resistenz in den oberirdischen Pflanzenkompartimenten induziert wurde.

Die korrelationsanalytische Betrachtung der Untersuchungsergebnisse zeigte, dass geringere Lebendkeimzahlen von *P. syringae* im wurzelfernen müden Boden zu einer Erhöhung der Biomasse der jungen Reben führte. Bei den älteren Pflanzen wirkte sich die Abnahme der Lebendkeimzahlen von *P. syringae* in der Rhizosphäre bei gleichzeitiger Zunahme im wurzelfernen Boden positiv auf die Sprossbiomasse aus. Außerdem konnte festgestellt werden, dass mit zunehmender POD-Aktivität eine gesteigerte Sprossbiomasseproduktion stattfand. Dieser Zusammenhang wurde sowohl bei den Versuchen auf müden als auch auf nicht-müden Boden beobachtet. Eine positive Korrelation der Polyphenoloxidaseaktivität mit der Wurzelbiomasse konnte ebenfalls ermittelt werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen führen zu der Schlussfolgerung, dass eine Behebung und eventuell eine Prävention der Bodenmüdigkeit in Rebschulen durch den gezielten Einsatz des Bakterienpräparates *Pseudomonas fluorescens* RA56 sowie dem Mykorrhizapilz *Glomus intraradices* möglich ist. Bei einer großflächigen Anwendung im Freiland stellt das Bakterienpräparat aufgrund seiner niedrigeren Produktions- und Applikationskosten die wirtschaftlichere Alternative bei einer großflächigen Anwendung im Freiland dar. Aufgrund der vorliegenden Erkenntnisse kommt als kausaler Verursacher dieses speziellen

Nachbauproblems in Rebschulböden die *Pseudomonas*-Gruppe der phytopathogenen *Pseudomonas syringae* spp. in Betracht. Es kann daher der Begriff der „Rebenmüdigkeit“ durch die Bezeichnung „Bakterien induzierte Nachbaukrankheit der Weinrebe“ ersetzt werden.

## Summary

Soil exhaustion in grapevine nurseries manifests itself in reduced take and stunted growth of cultivated grapevine graftings. This phenomenon can often be observed after an area has been used as a grapevine nursery for merely three or four seasons. Controlled crop rotation to avoid reproduction impairment is seldom possible since grapevine nurseries are specialized in the generation of grapevine stock. In consequence, economic losses due to soil exhaustion are high. The aim of this study was, on the one hand, to prevent soil exhaustion in grapevine nurseries by inoculation of the soil with the plant-associated rhizobacteria strain *Pseudomonas fluorescens* RA56 and the symbiotic endomycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and, on the other, to determine its possible cause.

The emphasis of this study laid in the investigation of the effect the inoculation of soil with microorganisms upon soil exhaustion. For these purposes the effect of microorganisms was examined on one side upon the growth of grapevine rootstocks and on the other side upon biodiversity of selected soil-borne, phytopathogenic bacteria of the group *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* and *P. syringae* in the rhizosphere and in root-free soil on both non-replanted and replanted soil substrate. In greenhouse trials covering three vegetation periods, effects of the inoculated microorganisms on the viable bacterial count and species composition of the bacterial groups in soil and rhizosphere were analysed and the biomass production, shoot length and nutrient supply of the grapevines examined. In parallel, the dehydrogenase activity, as a measure for the microbial activity in the soil and the peroxidase and polyphenoloxidase activities in plant compartments, parameters for the reaction of the vine to biotic stress, were determined. Analyses were performed to establish whether the examined parameters - biomass production, viable bacterial count of the *Pseudomonas* groups and enzyme activities - yield statistically significant biological correlations.

Results show that after a sixteen-week vegetation period, control grapevines on replanted soil exhibit an obvious reduction of sprout biomass (23.1 - 38.1 %) and root biomass (23.0 - 47.4 %) in comparison to control plants on non-replanted soil. Inoculation with *Pseudomonas fluorescens* RA56 and *Glomus intraradices* as a single or combined treatment resulted in an increase of the sprout and root biomass

of up to 93.9 % and 160 %, respectively, an increase in sprout length of up to 58.4 % and an improved taking rate of grapevine rootstock cultivar 5BB on replanted soil. Single treatments proved most effective. In trials on non-replanted soil, only single inoculation with *Pseudomonas fluorescens* RA56 resulted in a significant improvement in plant growth. Sprout biomass was improved by up to 69.2 % and sprout length by up to 55.6 %. Treatment with mycorrhiza had less positive effects on plant growth, leading in the second vegetation period to a reduction of sprout biomass of about 22.1 %. Grapevine sprout length was reduced by up to 42.3 % after treatment with *Glomus intraradices*.

Analysis of mineral compounds revealed overall an average to good supply of micro- and macronutrients for grapevines both on non-replanted and replanted soil substrates, irrespective of treatment. The supply with mineral compounds was neither effected by the inoculation with *Pseudomonas fluorescens* RA56 nor by treatment with *Glomus intraradices*. Although, in experiments on replanted soil, a significant reduction in manganese concentration was found both in vine leaves and in the soil solution, nutrient deficiency can be ruled out as the cause of replant disease since the vines exhibited no signs of manganese deficiency.

Depending on the microbial treatment of the young grapevines and the length of the trial period, different effects were recorded on the number of colony forming units (CFU) of the observed *Pseudomonas* groups. Thus, irrespective of the vegetation period, inoculation with *P. fluorescens* RA56 on replanted soil led to a significant reduction of CFUs within the phytopathogenic group of *P. syringae* in the rhizosphere. After a sixteen-week period, the CFUs of the examined *Pseudomonas* groups were significantly reduced in the rhizosphere under all test conditions with inoculum. *P. fluorescens* was the most abundant of the cultivated fluorescent Pseudomonads in the rhizosphere, whereas *P. syringae* made up about one third and *P. putida* only a small proportion of the total population. Furthermore, the single inoculation produced the most obvious shift of the population composition to the disadvantage of *P. syringae*. In root-free soil, whether non-replanted or replanted *P. syringae* were dominant. Examination of the soil/root relationship of the various *Pseudomonas* groups revealed on replanted substrate a density shift of *P. syringae* toward root-free soil after a single inoculation whereby this effect was most apparent after application of the bacteria preparation. In total, the results reveal that in

particular a single inoculation with *P. fluorescens* RA56 can suppress the pathogenic *P. syringae* in the grapevine rhizosphere and can act as a deterrent against negative effects and induction of soil exhaustion by these bacteria even in fresh vineyard soil. Therefore a preventive treatment of non-replanted soil of grapevine nurseries with *P. fluorescens* RA56 can reduce or even contraindicate the development of soil exhaustion.

After a four-week vegetation period, the microbial activity (dehydrogenases) in the test soils with inoculum showed in part a significant increase in comparison to controls. At this point in the test, the grapevine graftings exhibited intensive root formation and an increased photosynthesis activity due to shoot growth.

In replanted soil, inoculation of the plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) *Pseudomonas fluorescens* RA56 led after a ten and sixteen week vegetation period to an increased peroxidase activity (34.8 – 42.8 % and 17.4 - 54.1 %, respectively) and polyphenoloxidase (31.7 - 39.0 % and 10.2 - 11.8 %, respectively) in grapevine roots. These findings imply a PGPR-induced resistance to the trigger microorganisms for soil exhaustion in the rhizosphere. In leaf material, however, no increase in POD activity was determined, and after a ten-week vegetation period, a reduction of PPO activity of up to 32.4 % was measured in comparison to controls. Furthermore, the PPO activity was reduced significantly (up to 68.0 %) by inoculation with the mycorrhiza fungus *G. intraradices*. The leaves of treated vines appear subject to neither abiotic nor biotic stress. No activation of resistance mechanisms was observed. After treatment with *Pseudomonas fluorescens* RA56, vine leaves from plants on non-replanted soil showed a slight increase in POD activity. This observation implies that the inoculation of soil with the phytoeffective rhizobacteria induces systemic resistance in the plant compartments above ground.

Statistical correlations of the experimental data reveal that the low viable bacterial counts of *P. syringae* in root-free, replanted soil lead to an increase in the biomass of young vines. In older vines a decrease in viable counts of *P. syringae* in the rhizosphere combined with their increase in root-free soil had positive effects on the sprout biomass. An increase in POD activity was shown to be concurrent with an increase in sprout biomass production. This relationship holds true for experiments on both non-replanted and replanted soil. Similarly, a positive correlation was found between the polyphenoloxidase activity and the root biomass.

These results lead to the conclusion that alleviation and even prevention of soil exhaustion in grapevine nurseries by selective application of the bacterial preparation *Pseudomonas fluorescens* RA56 as well as the mycorrhiza *Glomus intraradices* is possible. The bacterial preparation due to low production and application costs is the economic alternative for large outdoor areas. Based on our knowledge of the Pseudomonads, *Pseudomonas syringae* can be considered the cause for the phenomena of soil exhaustion in grapevine nurseries, or more precisely, bacterial grapevine replant disease.



## 6. Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in standardisierten Gewächshausversuchen erzielt. Aufbauend auf den vorhandenen Erkenntnissen wäre es das Ziel zukünftiger Arbeiten, in Freilandexperimenten die Wirksamkeit des Bakterienpräparates *Pseudomonas fluorescens* RA56 und des Mykorrhizapilzes *Glomus intraradices* auf die Behebung bzw. Vermeidung der Bodenmüdigkeit in Rebschulen zu überprüfen. Diese Freilandversuche sollten unter den praxisüblichen Bedingungen der Rebpfanzgutvermehrung stattfinden. Dabei wäre ein wichtiger Aspekt die Erprobung verschiedener maschineller Applikationstechniken für die Einbringung dieser phytoeffektiven Mikroorganismen im Feld, um die Wirtschaftlichkeit der Behandlungen zu überprüfen und nachzuweisen. Hierfür wäre die Nutzung der in den Rebschulbetrieben vorhandenen landwirtschaftlichen Technik von Vorteil. Die erfolgreiche Erprobung im Freiland ist die Voraussetzung für die Markteinführung dieser biologischen Präparate. Durch diese lässt sich die Wirtschaftlichkeit der Rebschulen steigern, da ein Landwechsel entfällt. Zum anderen kann die Anwendung der biologischen Präparate dazu beitragen, dass ökologisch bedenkliche chemische Maßnahmen in den Ländern außerhalb der EU zurückgedrängt werden.

Aus wirtschaftlicher Sicht kommt von den beiden in der Untersuchung eingesetzten Präparaten dem Bakterienpräparat *Pseudomonas fluorescens* RA56 die größere Bedeutung zu, weil die Produktionskosten nur ein Zehntel der des Mykorrhizapräparats betragen.

In den Pflanzversuchen dieser Arbeit wurden ausschließlich Holzstecklinge der Unterlagssorte 5BB verwendet. Die weiterführenden Untersuchungen müssen auf weitere Unterlagssorten und Pfropfreben ausgeweitet werden, um die Wirksamkeit der inokulierten Mikroorganismen bei diesen Pflanzguten auf rebmüdem Boden zu überprüfen. Auch für die Behebung der Bodenmüdigkeit im Obstbau und in Baumschulen hat diese Untersuchung eine große Bedeutung, da auch hier die Nachbauprobleme auf mikrobielle Ursachen zurückzuführen sind. Für den Wirksamkeitsnachweis müssen Gewächshaus- und Freilandversuche durchgeführt werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, dass die phytopathogene *Pseudomonas syringae*-Gruppe der Auslöser für die Bodenmüdigkeit bei Weinreben in Rebschulen ist. Die Verifizierung dieser These sollte durch eine Untersuchung erfolgen, in der die Rebenmüdigkeit durch *Pseudomonas syringae*-Pathovare induziert wird. Hierzu sollten aus rebmüden Boden isolierte *Pseudomonas syringae*-Pathovare in ein nicht-müdes Bodensubstrat eingebracht werden. Zur eindeutigen Identifizierung dieser Pathovare sollten als Ergänzung zu den klassischen mikrobiologischen Methoden molekularbiologische Methoden eingesetzt werden. Nur so ist eine exakte Differenzierung der verschiedenen Subspezies zu gewährleisten. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Rolle von phytopathogenen Pilzen bei der Entstehung und Ausprägung der Rebenmüdigkeit nicht überprüft. Der Zusammenhang zwischen der Bodenmüdigkeit bei Weinreben und phytopathogenen Pilzen sollte daher in weiteren Arbeiten untersucht werden.

Ein weiterer Aspekt dieser Untersuchung war der Einfluss der Rebenmüdigkeit auf die physiologischen Reaktionen der Rebpflanzen. Als Indikatoren für die pflanzliche Abwehrreaktion und/oder die Ausbildung einer Resistenz gegenüber phytopathogenen Mikroorganismen wurden die Aktivitäten der Peroxidase und Polyphenoloxidase untersucht. Für ein besseres Verständnis dieser pflanzlichen Abwehr- bzw. Resistenzmechanismen sind ebenfalls weiterführende Untersuchungen notwendig. In diesen sollte geklärt werden, welche Isoperoxidasen bzw. welche anderen sekundären Pflanzeninhaltsstoffe bei der Pathogenabwehr im Falle der Rebenmüdigkeit beteiligt sind.

## Literatur

- ABDI BAGHI, R. (1993):** Stoffwechselfysiologische Eigenschaften von *P. fluorescens* RA56. Persönliche Mitteilung
- ABDI BAGHI, R. (1997):** Hemmung von *Fusarium* sp. durch *Pseudomonas fluorescens* RA56 in vitro. Unveröffentlicht.
- ABDI BAGHI, R. (1999):** Persönliche Mitteilung
- AMES, R. N.; REID, C. P. P.; INGHAM, E. R. (1984):** Rhizosphere Bacterial Population Responses To Root Colonization By A Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *New Phytologist* 96: 555-563.
- AMORALEZCANO, E; VAZQUEZ, M. M.; AZCON, R. (1998):** Response of nitrogen-transforming microorganisms to arbuscular mycorrhizal fungi. *Biol. Fertil. Soils* 27 (1): 65-70.
- ANDRADE, G.; LINDERMAN, R. G.; BETHLENFALVAY, G. J. (1998a):** Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant and Soil* 202 (1): 79-87.
- ANDRADE, G.; LINDERMAN, R. G.; MILHARA, K. L.; BETHLENFALVAY, G. J. (1998b):** Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant and Soil* 202 (1): 89-96.
- ANONYMUS (2006):** Ertragslage Garten- und Weinbau. Bundessortenamt, BMELV: 108-113.
- AVDIUSHKO, S. A.; YE, X. S.; KUC, J. (1993):** Detection of several enzymatic activities in leaf prints of cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 42: 441-454.
- AZAIZEH, H. A.; MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V.; WITTENMAYER, L. (1995):** Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. *Mycorrhiza* 5 (5): 321-327.

- BAKER, K. F.; ROISTACHER, C. N. (1957):** Heat treatment of soil. In: Baker, K. F., ed. The UC system for producing healthy container-grown plants. Oakland, CA: University of California, Division of Agricultural Sciences: 123-137.
- BALLA, I.; VERTESY, J.; BIRÓ, B.; VÖRÖS, I. (1998):** Survival And Growth Of Micropropagated Peach Inoculated With Endomycorrhizal Strains. *Acta Horticulturae* 477: 115-122.
- BASHAN, Y.; OKON, Y.; HENIS, Y. (1987):** Peroxidase, polyphenoloxidase, and phenols in relation to resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in tomato plants. *Can. J. Bot.* 65 (2): 366-372.
- BENDER, C. L.; ALARCON-CHAIDEZ, F.; GROSS, D. C. (1999):** *Pseudomonas syringae* Phytotoxins: Mode of Action, Regulation, and Biosynthesis by Peptide and Polyketide Synthetases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 266-292.
- BENEFIELD, C. B.; HOWARD, P. J. A.; HOWARD, D. M. (1977):** The estimation of dehydrogenase activity in soil. *Soil Biol. Biochem.* 9: 67-70. in: Alef, K. (1991): *Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie*. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lech: 113-116.
- BERGEY, D. H.; KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (1984):** *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore. 1. Auflage, Band 1: 159-199.
- BIRÓ, B.; MAGYAR, K.; VÁRADY, G.; KECSKÉS, M. (1998):** Specific Replant Disease Reduced by PGPR Rhizobacteria on Apple Seedlings. *Acta. Hort.* 477: 75-82.
- BLEE, K. A.; YANG, K. Y.; ANDERSON, A. J. (2004):** Activation of Defense Pathways: Synergism between Reactive Oxygen Species and Salicylic Acid and Consideration of Field Applicability. *European Journal of Plant Pathology* 110: 203-212.
- BÖRNER, H. (1959):** The apple replant problem. I.: The excretion of phlorozin from apple root residues. *Contr. Boyce Thomson Inst.* 20: 39-56.

- BÖRNER, H. (1965):** Möglichkeiten einer Toxinbildung im Boden und die Beutung dieser Stoffe für das Problem der Bodenmüdigkeit in Apfelbaumschulen. *Erwerbsobstbau* 7: 187-193.
- BRINKER, A. M.; CREASY, L. L. (1988):** Inhibitors as a possible basis for grape replant problem. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 113 (3): 304-309.
- BROWN, M.E. (1972):** Plant growth substances produced by microorganisms of soil and rhizosphere. *J. Appl. Bact.* 35: 443-451.
- BUWALDA, J. G.; GOH, K. M. (1982):** Host-fungus competition for carbon as a cause of growth depressions in vesicular-arbuscular mycorrhizal ryegrass. *Soil Biology and Biochemistry* 14: 103-106.
- BUYSENS, S.; HEUNGENS, K.; POPPE, J.; HOFTE, M. (1996):** Involvement of Pyochelin and Pyoverdine in Suppression of *Pythium*-Induced Damping-Off of Tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 865-871.
- CATSKA, V.; HUDSKA, G.; VANCURA, V.; PRIKRYL, Z. (1979):** Microorganisms and replant diseases in fruit orchards. *Ved. Pr. Ovocnarske* 7: 143-55.
- CATSKA, V.; VANCURA, V.; HUDSKA, G.; PRIKRYL, Z. (1982):** Rhizosphere microorganismen in relation to the apple replant problem. *Plant and Soil* 69: 187-197.
- CHEN, C.; BELANGER, R. R.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T. C. (1999):** Role of Salicylic Acid in Systemic Resistance Induced by *Pseudomonas* spp. Against *Pythium aphanidermatum* in Cucumber Roots. *European Journal of Plant Pathology* 105 (5): 477-486.
- CHEN, C.; BELANGER, R. R.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T. C. (2000):** Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 56 (1): 13-23.
- CHIARAPPA, L. (1959):** The root rot complex of *Vitis vinifera* in California. *Phytopathology* 49: 670-674.

- CHRISTENSEN, H.; JAKOBSEN, I. (1993):** Reduction of bacterial growth by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Biology and Fertility of Soils* 15: 253-258.
- CORDIER, C., POZO, M. J.; BAREA, J. M.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. (1998):** Cell Defense Responses Associated with Localized and Systemic Resistance to *Phytophthora parasitica* Induced in Tomato by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11: 1017-1028.
- COVEY, R. P.; KOCH, B. L.; LARSEN, H. J.; HAGLUND, W. A. (1984):** Control of apple replant disease with formaldehyde in Washington. *Plant Dis.* 68: 981-983.
- CRONIN, D.; MOENNE-LOCCHOZ, Y.; FENTON, A.; DUNNE, C.; DOWLING, D. N.; O`GARA, F. (1997):** Ecological interaction of a biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain producing 2,4- diacetyl-phloroglucinol with the soft rot potato pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 23: 95-106.
- DE MEYER, G.; CAPIEAU, K., AUDENAERT, K.; BUCHALA, A.; METRAUX, J. P.; HOFTE, M. (1999):** Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 450-458.
- DEAL, D. R.; MAI, W. F.; BOOTHROYD, C. W. (1972):** A survey of biotic relationships in grape replant situation. *Phytopathology* 62 (6): 503-507.
- DIXON, R. K.; GARRET, H. E.; COX, G. S. (1989):** Boron fertilization, vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and growth of *Citrus jambhiri* Lush. *J. Plant. Nutrit.* 12 (6): 687-700.
- DUFFY, B. K.; DEFAGO, G. (1999):** Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2429-38.
- DUIJFF, B. J.; MEIJER, J. W.; BAKKER, P.; SCHIPPERS, B. (1993):** Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp.. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 99: 277-289.

- DULLAHIDE, S.; STIRLING, G.; NIKULIN, A.; STIRLING, A. (1994):** The role of nematodes, fungi, bacteria, and abiotic factors in the etiology of apple replant problems in the Granite Belt of Queensland. *Aust. J. Exp. Agric.* 34 (8): 1177-1182.
- DUMAS-GAUDOT, E.; GOLLOTTE, A.; CORDIER, C.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. (2000):** Modulation of host defence systems. In: Kapulnik Y, Douds DD, eds. *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Dordrecht, Kluwer: 173-200.
- DUNIWAY, J. M.. (2002):** Status of Chemical Alternatives to Methyl Bromide for Pre-Plant Fumigation of Soil. *Phytopathology* 92: 1337-1343.
- EAYRE, C. G.; SIMS, J. J.; OHR, H. D.; MACKEY, B. (2000):** Evaluation of methyl iodide for control of peach replant disorder. *Plant Dis.* 84: 1177-1179.
- EISSENSTAT, D. M.; GRAHAM, J. H.; SYVERTSEN, J. P.; DROUILLARD, D. L. (1993):** Carbon Economy of Sour Orange in Relation to Mycorrhizal Colonization and Phosphorus Status. *Annals of Botany* 71: 1-10.
- ELAD, Y.; BAKER, R. (1985):** The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 75 (3): 190-195.
- ELAD, Y.; CHET, I. (1987):** Possible role of competition for nutrition in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. *Phytopathology* 77 (3): 190-195.
- ELSHERIF, M. (1988):** Auswirkungen unterschiedlicher Anbausysteme auf den Krankheitsbefall an Winterweizen und auf das Auftreten von Antagonisten, insbesondere von fluoreszierenden Pseudomonaden. Dissertation, Universität Hohenheim.
- FRIC, F.; FUCHS, W. H. (1970):** Veränderungen der Aktivität einiger Enzyme im Weizenblatt in Abhängigkeit von der temperaturlabilen Verträglichkeit für *Puccinia graminis tritici*. *Phytopathol. Z.* 67: 161-174.
- FRIDLENDER, M.; INBAR, J.; CHET, I. (1993):** Biological control of soilborne plant pathogens by a [beta]-1,3 glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1211-1221.

- GARCIA-GARRIDO, J. M.; OCAMPO, J. A. (2002):** Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *J. Exp. Bot.* 53: 1377-1386.
- GARDNER, J. M.; CHANDLER, J. L.; FELDMAN, A. W. (1984):** Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent pseudomonads on citrus roots. *Plant and Soil* 77: 103-113.
- GERKE, J. (1995):** Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Universität Göttingen.
- GOY, P. A.; FELIX, G.; METRAUX, J. P.; MEINS, F. (1992):** Resistance to disease in the hybrid *Nicotiana glutinosa* x *Nicotiana debneyi* is associated with high constitutive levels of [beta]-1,3-glucanase, chitinase, peroxidase and polyphenoloxidase. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41: 11-21.
- GRAHAM, J. H.; LEONARD, R. T.; MENGE, J. A. (1981):** Membrane-Mediated Decrease in Root Exudation Responsible for Phosphorus Inhibition of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Formation. *Plant Physiology* 68: 548-552.
- GUENOUNE, D.; GALILI, S.; PHILLIPS, D. A.; VOLPIN, H.; CHET, I.; OKON, Y.; KAPULNIK, Y. (2001):** The defense response elicited by the pathogen *Rhizoctonia solani* is suppressed by colonization of the AM-fungus *Glomus intraradices*. *Plant Science* 160: 925-932.
- GUR, A.; COHEN, Y.; KATAN, J.; BARKAI, Z. (1991):** Preplant application of soil fumigants and solarization for treating replant diseases of peaches and apples. *Sci. Hortic.* 45: 215-24.
- HAMMERSCHMIDT, R. (2001):** Inducing Resistance: A Summary of Papers Presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. *European Journal of Plant Pathology* 107: 1-6.
- HARTGE, K. H. (1971):** Die physikalische Untersuchung von Böden. Eine Labor- und Praktikumsanweisung. Stuttgart, Ferdinand Enke Verlag.



- HARTLEY, R. D.; WHITEHEAD, D. C. (1984):** Phenolic acids in soils and their influence on plant growth and soil microbial processes. In: Harborne, J. B., ed.: Biochemistry of phenolic compounds. Academic Press.
- HASSAN, M. S.; EL-BEHADLI, A. H.; ALSAADAWI, I. S. (1989a):** Citrus replant problem in Iraq: I. Possible role of soil fungi and nematodes. *Plant and Soil* 116: 151-155.
- HASSAN, M. S.; ALSAADAWI, I. S.; EL-BEHADLI, A. H. (1989b):** Citrus replant problem in Iraq: II. Possible role of allelopathy. *Plant and Soil* 116: 157-160.
- HASSAN, M. S.; EL-BEHADLI, A. H.; ALSAADAWI, I.S. (1989c):** Citrus replant problem in Iraq: III. Interactive effect of soil fungi and allelopathy. *Plant and Soil* 116: 161-166.
- HAUSE, B.; MAIER, W.; MIERSCH, O.; KRAMELL, R.; STRACK, D. (2002):** Induction of Jasmonate Biosynthesis in Arbuscular Mycorrhizal Barley Roots. *Plant Physiology* 130: 1213-1220.
- HEIN, K. (1972):** *Beiträge zum Problem der Bodenmüdigkeit*. Dissertation. Technische Universität Hannover.
- HINE, R. B. (1961):** The role of fungi in the peach replant problem. *Plant Dis.* 45, 462-465.
- HOESTRA, H. (1968):** Replant diseases of apple in The Netherlands. *Meded. Landbouwhoges. Wageningen* 68: 105 pp.
- HOFFLAND, E.; PIETERSE, C. M. J.; BIK, L.; VAN PELT, J. A. (1995):** Induced resistance in Arabidopsis and radish: involvement of PR proteins. *Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control*. European Foundation for Plant Pathology Conference, 3rd, Poznan, Sept.5-9, 1994: 265-268.
- JACKSON, J. E. (1973):** Effects of soil fumigation on the growth of apple and cherry rootstocks on land previously cropped with apples. *Ann. Appl. Biol.* 74: 99-104.
- JAFFEE, B. A.; ABAWI, G. S.; MAI, W. F. (2003):** Role of soil microflora and *Pratylenchus penetrans* in an apple replant disease. *Phytopathology* 72 (4): 247-251.

- KALIESS, D. (2003):** Einfluss von *Pseudomonas fluorescens* RA56 auf das Wachstum von Rebstecklingen auf rebmüdem Boden. Unveröffentlicht.
- KEEL, C.; DEFAGO, G. (1997):** Interactions between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanisms and ecological impact. In: Gange, A. C.; Brown, V. K., eds.: Multitrophic interactions in terrestrial systems. Oxford: Blackwell Science: 27-47.
- KEMMER, E. (1935):** Über die Auswirkungen der Bodenmüdigkeit bei Obstgehölzen. Gartenwelt 39.
- KHMEL, I. A.; SOROKINA, T. A.; LEMANOVA, N. B.; LIPASOVA, V. A.; METLITSKI, O. Z.; MURDEINAYA, T. V.; CHERNIN, L. S. (1998):** Biological control of crown gall in grapevine and raspberry by two *Pseudomonas* spp. with a wide spectrum of antagonistic activity. Biocontrol Science and Technology 8: 45-57.
- KIELWEIN, G. (1969):** Ein Nährboden zur selektiven Züchtung von Pseudomonaden und Aeromonaden. Archiv für Lebensmittelhygiene 20: 131-133.
- KIELWEIN, G. (1971):** Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln. Archiv für Lebensmittelhygiene 22: 29-37.
- KJOLLER, R.; ROSENDAHL, S. (1996):** The presence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* influences enzymatic activities of the root pathogen *Aphanomyces euteiches* in pea roots. Mycorrhiza 6 (6): 487-491.
- KLAUS, H. (1939):** Das Problem der Bodenmüdigkeit unter Berücksichtigung des Obstbaus. Landw. Jahrb. 89: 413-459.
- KLESSIG, D. F.; MALAMY, J. (1994):** The salicylic acid signal in plants. Plant Molecular Biology 26: 1439-1458.
- KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S.; KUC, J. (1992):** Proposed definitions related to induced disease resistance. Biocontrol Science and Technology 2: 347-349.
- KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. (1989):** A modified procedure for staining roots to detect VA- mycorrhizas. Mycol. Res. 92: 486-488.

- KOTHARI, S. K.; MARSCHNER, H.; ROMHELD, V. (1991):** Effect of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and rhizosphere micro-organisms on manganese reduction in the rhizosphere and manganese concentrations in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist* 117: 649-655.
- KUCEY, R. M. N.; PAUL, E. A. (1982):** Carbon flow, photosynthesis, and N<sub>2</sub> fixation in mycorrhizal and nodulated faba beans (*Vicia faba* L.). *Soil Biology and Biochemistry* 14: 407-412.
- KÜMMELER, M. (1981):** Zusammenhang zwischen dem Kohlenwasserstoff- bzw. Phenolgehalt des Bodens und dem Auftreten von Bodenmüdigkeit bei Äpfel. Dissertation. Universität Bonn.
- LEEMAN, M.; DEN OUDEN, F. M.; VAN PELT, J. A.; DIRKX, F. P. M.; STEIN, J.; BAKKER, P. A. H. M.; SCHIPPERS, B. (1996):** Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86 (2): 149-155.
- LEEMAN, M.; VAN PELT, J. A.; DEN OUDEN, F. M.; HEINSBROEK, M.; BAKKER, P. A. H. M.; SCHIPPERS, B. (1995):** Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 85 (9): 1021-1027.
- LEMANCEAU, P.; BAKKER, P.; DE KOGEL, W.; ALABOUVETTE, C.; SCHIPPERS, B. (1993):** Antagonistic Effect of Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and Pseudobactin 358 upon Pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 74-82.
- LEPIDI, A. A.; NUTI, M. P.; CITERNESI, U. (1974):** Microbiological aspects of the peach replant disease. Rhizosphere effect in peaches replanted in normal and diseased conditions. *Ann. Phytopathol.* 6: 35-44.
- 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: 510-516.

- LINDERMAN, R. G. (2000):** Effects of mycorrhizas on plant tolerances to diseases. In: Kapulnik, Y.; Douds, D. D., eds. Arbuscular mycorrhizas: physiology and funktion. Dordrecht. Kluwer: 345-365.
- LIU, L.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. (1995b):** Induction of Systemic Resistance in Cucumber against *Fusarium* Wilt by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Phytopathology* 85 (6): 695-698.
- LIU, L.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. (1995a):** Induction of Systemic Resistance in Cucumber against Bacterial Angular Leaf Spot by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Phytopathology* 85 (8): 843-847.
- LOPER, J. E.; BUYER, J. S. (1991):** Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4: 5-13.
- LOPER, J. E.; HENKELS, M. D. (1999):** Utilization of Heterologous Siderophores Enhances Levels of Iron Available to *Pseudomonas putida* in the Rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 5357-5363.
- LORD, F. (2003):** Untersuchungen zum Einfluss spezieller Rhizosphärenbakterien auf Pflanzenwachstum und *Fusarium* spp.-Toleranz bei Spargel (*Asparagus officinalis* L.). Dissertation. Humboldt-Universität zu Berlin.
- MAI, W. F.; ABAWI, G. S. (1981):** Controlling replant diseases of pome and stone fruits in Northeastern United States by preplant fumigation. *Plant Disease* 65 (6): 856-864.
- MANSFELD-GIESE, K.; LARSEN, J.; BODKER, L. (2002):** Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *FEMS Microbiology Ecology* 41: 133-140.
- MARAIS, P. G. (1979):** Fungi associated with rootrot in vineyards in the western cape. *Phytophylactica* 11: 65-68.
- MARAIS, P. G. (1980):** Fungi associated with decline and death of nursery grapevines in the western cape. *Phytophylactica* 12: 9-13.

- MARSCHNER, P., CROWLEY, D. E.; HIGASHI, R. M. (1997):** Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant and Soil* 189 (1): 11-20.
- MARSCHNER, P.; CROWLEY, D. E.; LIEBEREI, R. (2001):** Arbuscular mycorrhizal infection changes the bacterial 16 S rDNA community composition in the rhizosphere of maize. *Mycorrhiza* 11: 297-302.
- MARSCHNER, P.; CROWLEY, D. E. (1996):** Root colonization of mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum*) by *Pseudomonas fluorescens* 2-79RL. *New Phytologist* 134: 115-122.
- MARSCHNER, P.; BAUMANN, K. (2003):** Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in split-root maize. *Plant and Soil* 251: 279-289.
- MARSCHNER, P.; TIMONEN, S. (2005a):** Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere. *Applied Soil Ecology* 28: 23-36.
- MARSCHNER, P.; TIMONEN, S. (2005b):** Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere. *Applied Soil Ecology* 28: 23-36.
- MARTIN, F. N. (2003):** Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. *Annual Review of Phytopathology* 41: 325-350.
- MAURHOFER, M.; HASE, C.; MEUWLY, P.; METRAUX, J. P.; DEFAGO, G. (1994):** Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathology* 84: 139-46.
- MAURHOFER, M.; REIMMANN, C.; SCHMIDLI-SACHERER, P.; HEEB, S.; HAAS, D.; DEFAGO, G. (1998):** Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas*

*fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against tobacco necrosis virus. *Phytopathology* 88: 678-684.

**MAZZOLA, M. (1998):** Elucidation of the Microbial Complex Having a Causal Role in the Development of Apple Replant Disease in Washington. *Phytopathology* 88: 930-938.

**MAZZOLA, M.; FUJIMOTO, D.; THOMASHOW, L., COOK, R. (1995):** Variation in Sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* to Antibiotics Produced by Fluorescent *Pseudomonas* spp. and Effect on Biological Control of Take-All of Wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2554-2559.

**MAZZOLA, M. (1999):** Control of replant disease of tree fruits with *Pseudomonas putida*. (The United States of America as Represented by the Secretary of Agriculture, USA): 7 pp., US-Patent [5948671].

**MCKENRY, M.; BUZO, T.; KRETSCH, J.; KAKU, S., OTOMO, E., ASHCROFT, R., LANGE, A., KELLY, A. (1994):** Soil fumigants provide multiple benefits; alternatives give mixed results. *California Agriculture* 48 (1): 22-28.

**MEDINA, A.; PROBANZA, A.; GUTIERREZ MANERO, F. J., AZCON, R. (2003):** Interactions of arbuscular-mycorrhizal fungi and *Bacillus* strains and their effects on plant growth, microbial rhizosphere activity (thymidine and leucine incorporation) and fungal biomass (ergosterol and chitin). *Applied Soil Ecology* 22: 15-28.

**METRAUX, J. P.; SIGNER, H.; RYALS, J.; WARD, E., WYSS-BENZ, M.; GAUDIN, J.; RASCHDORF, K., SCHMID, E.; BLUM, W., INVERARDI, B. (1990):** Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250: 1004-1006.

**MEYER, J., DEHNE, H. - W. (1986):** The influence of VA mycorrhizae on biotrophic leaf pathogens: Proceedings of the First European Symposium on Mycorrhizae. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Dijon. Conference Proceeding: 781-786.

- MEYER, J. R., LINDERMAN, R. G. (1986):** Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. *Soil Biology and Biochemistry* 18: 191-196.
- MORANDI, D., BAILEY, J. A.; GIANINAZZI-PEARSON, V. (1984):** Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant Pathol.* 24 (5): 357-364.
- MORTIMER, P. E.; ARCHER, E.; VALENTINE, A. J. (2005):** Mycorrhizal C costs and nutritional benefits in developing grapevines. *Mycorrhiza* 15 (3): 159-165.
- MOSER, L. (1963):** Versuche zur Bekämpfung der Rebenmüdigkeit. Klosterneuburg Mitteilungen: Ser. A 13.
- NEENO-ECKWALL, E. C.; SCHOTTEL, J. L. (1999):** Occurrence of antibiotic resistances in the biological control of potato scab disease. *Biological Control* 16: 199-208.
- OLSON, B. D., BURR, T. J. (1983):** Microflora associated with grape roots grown in grape nursery replant and non-replant soils. *Phytopathology* 73 (9): abstr.
- OLSSON, P.; FRANCIS, R.; READ, D. J., SÖDERSTRÖM, B. (1998):** Growth of arbuscular mycorrhizal mycelium in calcareous dune sand and its interaction with other soil microorganisms as estimated by measurement of specific fatty acids. *Plant and Soil* 201 (1): 9-16.
- ONGENA, M., DAAYF, F., JACQUES, P., THONART, P.; BENHAMOU, N., PAULITZ, T. C., BELANGER, R. R. (2000):** Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathology* 49: 523-530.
- OTTO, G. (1972c):** Studies on the cause of specific replant disease of fruit-trees. I. Experiments to transfer specific replant disease through the root system. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie* 127: 279-89.
- OTTO, G. (1972a):** The cause of soil depletion in fruit trees. II. Experiments on the transfer of specific replant disease through rootless depleted soil. *Zentralblatt*

für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie 127: 601-11.

**OTTO, G. (1972b):** The cause of specific replant disease in fruit-trees. 3. Experiments to remove specific replant disease by steaming of the soil at various temperatures. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie 127: 777-82.

**OTTO, G. (1973):** Investigations about cause of specific replant disease of fruit-trees. V. Influence of different steaming temperatures on the microflora of a sick soil. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie 128: 377-82.

**OTTO, G.; WINKLER, H. (1977):** Investigations about cause of specific replant disease of fruit trees. VI. Proof of *Actinomycetes* in feeder roots of apple seedlings in soils with different degrees of soil sickness. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie 132: 593-606.

**OTTO, G.; WINKLER, H. (1982):** Auswirkungen von Nachbauschäden bei der Reproduktion von Apfelanlagen und Möglichkeiten zu ihrer Verhinderung. Gartenbau 29: 243-244.

**OTTO, G.; WINKLER, H. (1989):** Stand und Methoden der Bekämpfung von Nachbauschäden in Baumschulen. Gartenbau 36: 5-6.

**OTTO, G.; WINKLER, H. (1993):** Colonization of rootlets of apple seedlings from replant soils by *Actinomycetes* and endotrophic Mycorrhiza. Acta Horticulturae 324: 53-59.

**OTTO, G.; WINKLER, H. (1995):** Nachweis von Actinomyceten und Auftreten der endotrophen Mycorrhiza in den Faserwurzeln von Ziergehölzen aus der Familie Rosaceae. Journal of Plant Diseases and Protection 102: 599-605.



- OTTO, G.; WINKLER, H., SZABO, K. (1993):** Zum Stand der Erkenntnisse über die Ursache der Bodenmüdigkeit bei einigen Rosaceen - Arten. aus: Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem 289: 11-25.
- OTTO, G.; WINKLER, H., SZABO, K. (1994a):** Influence of growth regulators on the infection of rootlets of apple seedlings in SARD soils by Actinomycetes. Acta Horticulturae 363: 101-105.
- OTTO, G.; WINKLER, H., SZABO, K. (1994b):** Proof of Actinomycetes in rootlets of species of *Rosaceae* from s SARD soil - A contribution to the specificity of replant diseases. Acta Horticulturae 363: 43-48.
- O`SULLIVAN, D. J.; O`GARA, F. (1992):** Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiological Reviews 56: 662-676.
- PATRICK, Z. A. (1955):** The peach replant problem in Ontario. II. Toxic substances from microbial decomposition products of peach root residues. Canad. J. Botany 33: 461-486.
- PAULITZ, T. C.; LINDERMAN, R. G. (1989):** Interactions between fluorescent pseudomonads and VA mycorrhizal fungi. New Phytologist 113: 37-45.
- PETGEN, M. (1998):** Einfluss der arbuskulären Mykorrhiza auf Nährstoffaufnahme und Wachstum bei Reben (*Vitis* sp.). Dissertation. Univ. Hohenheim, Inst. für Pflanzenernährung.
- PIERSON, L.; THOMASHOW, L. S. (1992):** Cloning and Heterologous Expression of the Phenazine Biosynthetic Locus from *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. Mol. Plant-Microbe Interact. 5 (4): 330-339.
- PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M., HOFFLAND, E., VAN PELT, J. A., VAN LOON, L. C. (1996):** Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. Plant Cell 8: 1225-1237.

- POSTA, K.; MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V. (1994):** Manganese reduction in the rhizosphere of mycorrhizal and nonmycorrhizal maize. *Mycorrhiza* 5: 119-124.
- POTGIETER, H. J.; ALEXANDER, M. (1966):** Susceptibility and Resistance of Several Fungi to Microbial Lysis. *Journal of Bacteriology* 91: 1526-1532.
- POZO, M. J.; CORDIER, C.; DUMAS-GAUDOT, E.; GIANINAZZI, S.; BAREA, J. M.; AZCON-AGUILAR, C. (2002):** Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 525-534.
- RAMOS, C.; MOLBAK, L.; MOLIN, S. (2000):** Bacterial Activity in the Rhizosphere Analyzed at the Single-Cell Level by Monitoring Ribosome Contents and Synthesis Rates. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 801-809.
- RASMUSSEN, J. B.; HAMMERSCHMIDT, R.; ZOOK, M. N. (1991):** Systemic Induction of Salicylic Acid Accumulation in Cucumber after Inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiology* 97: 1342-1347.
- RAUPACH, G. S.; KLOEPPER, J. W. (2000):** Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth-promoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Disease* 84: 1073-1075.
- RAVNSKOV, S.; NYBROE, O.; JAKOBSEN, I. (1999):** Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hyphosphere soil. *New Phytologist* 142: 113-122.
- REBENPFLANZGUTVERORDNUNG (1986):**. Rebenpflanzgutverordnung vom 21.01.1986. Bundesgesetzblatt Jahrgang 1986 [Teil 1]. Bonn.
- RICE, E. L. (1984):** Allelopathy. Orlando: Academic Press.
- RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; EVINER, V. T. (2002):** The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil* 238 (2): 325-333.

- RYAN, A. D.; KINKEL, L. L. (1997):** Inokulum density and population dynamics of suppressive and pathogenic *Streptomyces* strains and their relationship to biological control of potato scab. *Biological Control* 10: 180-186.
- SAVORY, B. M. (1969):** Evidence that toxins are not the causal factors of the specific apple replant disease. *Ann. Appl. Biol.* 63: 225-231.
- SAVORY, B. M. (1966):** Specific replant diseases. zit. bei Kümmeler, M. (1981).
- SCHÄFER, H. (1970):** Über die Isolierung und Disk-Elektrophorese der Isoenzyme der Peroxydase aus den Blättern der Gattung *Vitis*. *Wein-Wissenschaft* 25: 277-282.
- SCHNEIDER, S.; ULLRICH, W. R. (1994):** Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 45: 291-304.
- SCHRAUWEN, J. (1966):** Nachweis von Enzymen nach elektrophoretischer Trennung an Polyacrylamid-Säulchen. *J. Chromatog.* 23: 177-180.
- SCHROTH, M. N.; HILDEBRAND, D.; STARR, M. (1981):** Phytopathogenic Members of the Genus *Pseudomonas*. In: Starr, M., Stoph, H.; Trüper, H.; Balows, A., Schlege, H., eds. *Selections from the Prokaryotes: A Handbook on Habitates, Isolation and Identification of Phytopathogenic Bacteria*. Berlin: Springer Verlag New York.
- SCHROTH, M. N.; HANCOCK, J. G. (1982):** Disease-suppressive soil and root-colonising bacteria. *Science* 216: 1376-1381.
- SECILIA, J.; BAGYARAJ, D. J. (1987):** Bacteria and actinomycetes associated with pot cultures of vesicular–arbuscular mycorrhizas. *Can. J. Microbiol.* 33 (12): 1069-1073.
- SEWELL, G. W. F. (1981):** Effects of *Pythium* species on the growth of apple and their possible causal role in apple replant disease. *Ann. Appl. Biol.* 97: 31-42.

- SEWELL, G. W. F.; ROBERTS, A. L.; ELSEY, R. F. (1992):** Apple replant disease: the assessment and results of seedling bio-assays of growth responses to soil fumigation with chloropicrin. *Ann. Appl. Biol.* 121: 199-209.
- SEWELL, G. W. F.; WHITE, G. C. (1979):** The effects of formalin and other soil treatments on the replant disease of apple. *J. Hortic. Sci.* 54: 333-5.
- SEWELL, G. W. F.; WILSON, J. F. (1975):** The role of *Thielaviopsis basicola* in the specific replant disorders of cherry and plum. *Ann. Appl. Biol.* 79: 149-169.
- SHACHAR-HILL, Y.; PFEFFER, P. E.; DOUDS, D.; OSMAN, S. F.; DONER, L. W.; RATCLIFFE, R. G. (1995):** Partitioning of Intermediary Carbon Metabolism in Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Leek. *Plant Physiology* 108: 7-15.
- SHAUL, O.; GALILI, S.; VOLPIN, H.; GINZBERG, I.; ELAD, Y.; CHET, I., KAPULNIK, Y. (1999):** Mycorrhiza-Induced Changes in Disease Severity and PR Protein Expression in Tobacco Leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 1000-1007.
- SIDDIQUI, I. A., SHAUKAT, S. S. (2003):** Role of salicylic acid in *Pseudomonas aeruginosa* strain IE-6S+ mediated induction of systemic resistance against *Meloidogyne javanica* in tomato. *Phytopathologia Mediterranea* 42: 268-274.
- SLEZACK, S.; DUMAS-GAUDOT, E.; PAYNOT, M.; GIANINAZZI, S. (2000):** Is a Fully Established Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Required for Bioprotection of *Pisum sativum* Roots against *Aphanomyces euteiches*? *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 238-241.
- SLYKHUIS, J. T.; LI, T. S. C. (1985):** Responses of apple seedlings to biocides and phosphate fertilizers in orchard soils in British Columbia. *Canadian Journal of Plant Pathology* 7: 294-301.
- SMITH, S.; READ, D. J. (1997):** Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press.
- SUSLOW, T.; SCHROTH, M. N. (1982):** Role of Deleterious Rhizobacteria as Minor Pathogens in Reducing Crop Growth. *Phytopathology* 72 (1): 111-115.

- THIPYAPONG, P.; STEFFENS, J. C. (1997):** Tomato Polyphenol Oxidase (Differential Response of the Polyphenol Oxidase F Promoter to Injuries and Wound Signals). *Plant Physiology* 115: 409-418.
- THIRUP, L.; JOHNSEN, K.; WINDING, A. (2001):** Succession of Indigenous *Pseudomonas* spp. and *Actinomycetes* on Barley Roots Affected by the Antagonistic Strain *Pseudomonas fluorescens* DR54 and the Fungicide Imazalil. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (3): 1147-1153.
- TRAQUAIR, J. A. (1984):** Etiology and control of orchard replant problems. *Canadian Journal of Plant Pathology* 6 (1): 54-62.
- TREVORS, J. T. (1984):** Dehydrogenase activity in soil: a comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biol. Biochem.* 16: 673-674. in: Alef, K. (1991): *Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie*. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lech: 113-116.
- TREVORS, J. T.; MAYFIELD, C. I.; INNISS, W. E. (1982):** Measurement of electron transport system (ETS) activity in soil. *Microbial. Ecology* 8:163-168. in: Alef, K. (1991): *Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie*. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lech: 113-116.
- UTKHEDE, R. S. (1992):** Biological control of soilborne pathogens of fruit trees and grapevines. *Canadian Journal of Plant Pathology* 14 (1): 100-105.
- UTKHEDE, R. S.; SMITH, E. M. (2000):** Impact of chemical, biological and cultural treatments on the growth and yield of apple in replant-disease soil. *Australasian Plant Pathology* 29: 129-136.
- UTKHEDE, R. S.; VRAIN, T. C.; YORSTON, J. M. (1992):** Effects of nematodes, fungi and bacteria on the growth of young apple trees grown in apple replant disease soil. *Plant and Soil* 139: 1-6.
- VAN AARLE, I. M., SODERSTROM, B.; OLSSON, P. A. (2003):** Growth and interactions of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from limestone and acid rock habitats. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 1557-1564.

- VAN LOON, L. C. (2000):** Systemic induced resistance. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases: 521-574.
- VANG-PETERSEN, O. (1970):** Replanting of apple trees on soil with specific replant diseases. Tidsskr. Planteavl 74: 490-6.
- WAMBERG, C.; CHRISTENSEN, S.; JAKOBSEN, I.; MULLER, A. K.; SORENSEN, S. J. (2003):** The mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) affects microbial activity in the rhizosphere of pea plants (*Pisum sativum*). Soil Biology and Biochemistry 35: 1349-1357.
- WANG, G. M.; COLEMAN, D. C.; FRECKMAN, D. W.; DYER, M. I.; MCNAUGHTON, S. J.; AGRA, M. A.; GOESCHL, J. D. (1989):** Carbon partitioning patterns of mycorrhizal versus non-mycorrhizal plants: real-time dynamic measurements using  $^{11}\text{CO}_2$ . New Phytologist 112: 489-493.
- WASCHKIES, C. (1992):** Untersuchungen über die Ursachen der Rebenmüdigkeit auf Rebschulböden. Dissertation. Univ. Hohenheim, Inst. für Pflanzenernährung.
- WASCHKIES, C.; SCHROPP, A.; MARSCHNER, H. (1992):** Rebenmüdigkeit auf Rebschulböden. Der Deutsche Weinbau 47: 583-584.
- WASCHKIES, C.; SCHROPP, A.; MARSCHNER, H. (1994):** Relations between grapevine replant disease and root colonization of grapevine (*Vitis* sp.) by fluorescent pseudomonads and endomycorrhizal fungi. Plant and Soil 162: 219-227.
- WEBSTER, A. D. (1984):** The effects of fumigation and rootstock on the growth of young sweet cherry trees planted in land previously cropped with cherries. Journal of Horticultural Science 59: 349-358.
- WEINMANN, M. (2000):** Einsatz der arbuskulären Mykorrhiza und von Bakterienpräparaten gegen die Rebenmüdigkeit auf Rebschulböden unter kontrollierten und Freilandbedingungen. Diplom-Arbeit, Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenernährung.
- WESTCOTT, S. W. III; BEER, S. V.; STILES, W. C. (1986):** Infection of apple roots by actinomycetes associated with soils conducive to apple replant disease. Plant Dis. 70: 1125-1128.

- WHIPPS, J. M. (1997):** Developments in the biological control of soil-borne plant pathogens. *Advances in Botanical Research* 26, 1-134.
- WINKLER, H.; OTTO, G. (1972):** Untersuchungen über die Ursache der Bodenmüdigkeit bei Obstgehölzen: IV. Einfluss verschiedener Dämpfungstemperaturen auf frei lebende Nematoden in müdem Boden. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie* 127: 783-788.
- WINKLER, H.; OTTO, G., MADEL, H. (1992a):** Untersuchungen zum Nachbauproblem bei Kirsche / Teil I. *Erwerbsobstbau* 34: 70-74.
- WINKLER, H.; OTTO, G., MADEL, H. (1992b):** Untersuchungen zum Nachbauproblem bei Kirsche / Teil II: Anwendung von Dazomet- und Metham-Na-Präparaten unter Freilandbedingungen. *Erwerbsobstbau* 34: 106-109.
- WITTENMAYER, L.; SZABO, K. (2000):** The role of root exudates in specific apple (*Malus x domestica* Borkh.) replant disease (SARD). *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163: 399-404.
- XUE, B.; YAO, S. (1998):** Studies on replant problems of apple and peach. *Acta Horticulturae* 477: 83-88.
- YANG, C.-H.; CROWLEY, D. E. (2000):** Rhizosphere Microbial Community Structure in Relation to Root Location and Plant Iron Nutritional Status. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 345-351.





**Anhang**

## Anhang Ergebnisse:

Tabelle A1: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „**rebmüdem**“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Cu	Fe	Mn	Zn
		mg / kg TS			
1. Veg.	Kontrolle	44,3 $\pm$ 7,5 a	2228 $\pm$ 576 a	144 $\pm$ 39,6 a	50,7 $\pm$ 4,0 a
	RA56	46,2 $\pm$ 3,1 a	2278 $\pm$ 127 a	136 $\pm$ 6,4 a	50,9 $\pm$ 5,8 a
	AM	45,5 $\pm$ 4,0 a	2147 $\pm$ 489 a	126 $\pm$ 16,5 a	52,5 $\pm$ 5,0 a
	AM + RA56	42,0 $\pm$ 3,5 a	1855 $\pm$ 156 a	101 $\pm$ 14,8 a	48,7 $\pm$ 4,3 a
2. Veg.	Kontrolle	32,0 $\pm$ 3,3 a	1615 $\pm$ 85 a	58,4 $\pm$ 4,6 a	49,3 $\pm$ 17,6 a
	RA56	36,7 $\pm$ 3,5 a	1708 $\pm$ 180 a	59,6 $\pm$ 10,8 a	45,5 $\pm$ 4,4 a
	AM	27,9 $\pm$ 2,7 a	1500 $\pm$ 299 a	48,7 $\pm$ 9,5 a	38,6 $\pm$ 7,0 a
	AM + RA56	32,4 $\pm$ 2,2 a	1760 $\pm$ 94 a	56,6 $\pm$ 2,8 a	40,3 $\pm$ 3,3 a
3. Veg.	Kontrolle	33,6 $\pm$ 3,8 a	4875 $\pm$ 1152 a	200 $\pm$ 55,3 a	56,4 $\pm$ 5,5 a
	RA56	38,7 $\pm$ 8,5 a	4393 $\pm$ 888 a	169 $\pm$ 26,9 a	55,0 $\pm$ 7,5 a
	AM	31,7 $\pm$ 5,1 a	4220 $\pm$ 610 a	161 $\pm$ 25,5 a	45,4 $\pm$ 8,9 a
	AM + RA56	28,0 $\pm$ 2,3 a	4543 $\pm$ 1110 a	179 $\pm$ 51,2 a	47,1 $\pm$ 7,4 a

Tabelle A2: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „**rebmüdem**“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Ca	K	Mg	P
		mg / g TS			
1. Veg.	Kontrolle	18,6 $\pm$ 2,0 a	9,9 $\pm$ 0,8 a	3,1 $\pm$ 0,4 a	1,9 $\pm$ 0,2 a
	RA56	19,2 $\pm$ 0,9 a	9,1 $\pm$ 0,5 a	2,9 $\pm$ 0,1 a	1,9 $\pm$ 0,1 a
	AM	18,2 $\pm$ 1,0 a	9,1 $\pm$ 0,5 a	3,0 $\pm$ 0,1 a	1,9 $\pm$ 0,1 a
	AM + RA56	17,7 $\pm$ 1,2 a	10,3 $\pm$ 1,7 a	3,0 $\pm$ 0,3 a	2,0 $\pm$ 0,1 a
2. Veg.	Kontrolle	14,5 $\pm$ 0,7 a	9,9 $\pm$ 1,2 a	3,1 $\pm$ 0,1 a	1,3 $\pm$ 0,1 a
	RA56	15,2 $\pm$ 0,7 a	10,4 $\pm$ 0,9 a	2,3 $\pm$ 0,1 a	1,4 $\pm$ 0,1 a
	AM	13,8 $\pm$ 1,2 a	9,6 $\pm$ 1,8 a	2,1 $\pm$ 0,2 a	1,4 $\pm$ 0,2 a
	AM + RA56	14,5 $\pm$ 0,4 a	11,1 $\pm$ 0,3 a	2,4 $\pm$ 0,1 b	1,6 $\pm$ 0,1 a
3. Veg.	Kontrolle	12,8 $\pm$ 0,9 a	13,2 $\pm$ 1,2 a	3,1 $\pm$ 0,1 a	1,6 $\pm$ 0,1 a
	RA56	13,4 $\pm$ 1,6 a	15,5 $\pm$ 1,0 a	3,3 $\pm$ 0,4 a	1,7 $\pm$ 0,1 a
	AM	12,3 $\pm$ 1,4 a	13,4 $\pm$ 2,6 a	3,0 $\pm$ 0,5 a	1,6 $\pm$ 0,3 a
	AM + RA56	11,2 $\pm$ 0,8 a	13,5 $\pm$ 1,4 a	3,0 $\pm$ 0,2 a	1,6 $\pm$ 0,2 a

Tabelle A3: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Mikronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „**nicht-rebmüdem**“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Cu	Fe	Mn	Zn
		mg / kg TS			
1. Veg.	Kontrolle	28,6 $\pm$ 9,4 a	2733 $\pm$ 1072 a	150 $\pm$ 91,9 a	59,5 $\pm$ 19,9 a
	RA56	20,1 $\pm$ 2,8 a	1810 $\pm$ 364 a	85 $\pm$ 11,8 a	39,6 $\pm$ 5,5 a
	AM	26,1 $\pm$ 2,2 a	2078 $\pm$ 208 a	101 $\pm$ 10,0 a	46,1 $\pm$ 3,9 a
	AM + RA56	26,1 $\pm$ 4,0 a	2255 $\pm$ 496 a	122 $\pm$ 39,1 a	43,4 $\pm$ 6,7 a
2. Veg.	Kontrolle	25,0 $\pm$ 3,6 a	1740 $\pm$ 115 a	69,7 $\pm$ 3,8 a	26,2 $\pm$ 3,4 a
	RA56	22,0 $\pm$ 1,7 a	1503 $\pm$ 184 a	66,3 $\pm$ 6,6 a	25,0 $\pm$ 2,1 a
	AM	22,5 $\pm$ 2,1 a	1560 $\pm$ 238 a	62,2 $\pm$ 9,4 a	28,9 $\pm$ 7,6 a
	AM + RA56	20,0 $\pm$ 4,0 a	1240 $\pm$ 291 a	50,8 $\pm$ 6,8 b	25,2 $\pm$ 7,3 a
3. Veg.	Kontrolle	20,3 $\pm$ 1,3 a	4157 $\pm$ 915 a	168 $\pm$ 40,1 a	30,7 $\pm$ 4,2 a
	RA56	24,0 $\pm$ 2,8 a	3710 $\pm$ 1029a	151 $\pm$ 34,2 a	34,1 $\pm$ 3,6 a
	AM	22,2 $\pm$ 3,1 a	4948 $\pm$ 964 a	199 $\pm$ 38,3 a	33,7 $\pm$ 5,0 a
	AM + RA56	19,9 $\pm$ 1,4 a	3728 $\pm$ 636 a	155 $\pm$ 29,8 a	27,0 $\pm$ 2,2 a

Tabelle A4: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Makronährstoffgehalte in Wurzeln von Rebpflanzen nach 16-wöchiger Anzucht auf „**nicht-rebmüdem**“ Boden  
(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Ca	K	Mg	P
		mg / g TS			
1. Veg.	Kontrolle	15,4 $\pm$ 3,1 a	11,8 $\pm$ 3,5 a	2,9 $\pm$ 0,4 a	2,0 $\pm$ 0,82 a
	RA56	13,8 $\pm$ 0,9 a	9,2 $\pm$ 0,9 a	2,5 $\pm$ 0,3 a	1,5 $\pm$ 0,04 a
	AM	14,3 $\pm$ 0,8 a	10,2 $\pm$ 1,2 a	2,9 $\pm$ 0,2 a	1,8 $\pm$ 0,07 a
	AM + RA56	15,4 $\pm$ 1,6 a	12,9 $\pm$ 2,5 a	3,2 $\pm$ 0,5 a	2,2 $\pm$ 0,48 a
2. Veg.	Kontrolle	14,9 $\pm$ 1,2 a	14,4 $\pm$ 2,9 a	2,6 $\pm$ 0,3 a	1,2 $\pm$ 0,13 a
	RA56	14,7 $\pm$ 0,4 a	11,9 $\pm$ 1,7 a	2,3 $\pm$ 0,1 a	1,1 $\pm$ 0,04 a
	AM	13,4 $\pm$ 0,9 a	11,4 $\pm$ 1,8 a	2,2 $\pm$ 0,3 a	1,5 $\pm$ 0,32 a
	AM + RA56	13,3 $\pm$ 0,8 a	10,2 $\pm$ 1,4 a	2,0 $\pm$ 0,1 b	1,4 $\pm$ 0,19 a
3. Veg.	Kontrolle	8,5 $\pm$ 0,4 a	14,8 $\pm$ 1,5 a	2,6 $\pm$ 0,1 a	1,1 $\pm$ 0,05 a
	RA56	8,5 $\pm$ 0,6 a	15,7 $\pm$ 0,8 a	2,7 $\pm$ 0,1 a	1,1 $\pm$ 0,08 a
	AM	8,2 $\pm$ 0,7 a	15,5 $\pm$ 2,0 a	2,9 $\pm$ 0,1 b	1,3 $\pm$ 0,10 b
	AM + RA56	7,8 $\pm$ 0,6 a	15,1 $\pm$ 1,3 a	2,6 $\pm$ 0,2 a	1,3 $\pm$ 0,04 b

Tabelle A5: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Mikronährstoffen in „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpflanzen der Unterlagssorte 5BB

(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Cu	Fe	Mn	Zn
mg / kg TS					
1. Veg.	Kontrolle	6,3 $\pm$ 0,1 a	71,1 $\pm$ 3,5 a	348 $\pm$ 6,8 a	8,9 $\pm$ 0,5 a
	RA56	6,3 $\pm$ 0,1 a	75,7 $\pm$ 1,3 a	355 $\pm$ 4,7 a	9,3 $\pm$ 0,4 a
	AM	6,2 $\pm$ 0,2 a	80,7 $\pm$ 4,8 a	353 $\pm$ 4,2 a	8,5 $\pm$ 0,4 a
	AM + RA56	6,2 $\pm$ 0,1 a	80,4 $\pm$ 7,0 a	350 $\pm$ 3,9 a	7,6 $\pm$ 0,6 b
2. Veg.	Kontrolle	6,1 $\pm$ 0,1 a	63,6 $\pm$ 4,1 a	287 $\pm$ 4,2 a	8,1 $\pm$ 0,4 a
	RA56	6,3 $\pm$ 0,1 a	66,7 $\pm$ 4,7 a	292 $\pm$ 3,2 a	7,1 $\pm$ 0,3 b
	AM	5,8 $\pm$ 0,1 b	65,1 $\pm$ 9,3 a	281 $\pm$ 2,7 a	7,3 $\pm$ 0,7 a
	AM + RA56	5,8 $\pm$ 0,1 b	54,0 $\pm$ 3,1 a	267 $\pm$ 5,8 b	8,0 $\pm$ 0,5 a
3. Veg.	Kontrolle	6,7 $\pm$ 0,4 a	64,8 $\pm$ 3,4 a	305 $\pm$ 1,8 a	7,2 $\pm$ 0,3 a
	RA56	6,9 $\pm$ 0,5 a	75,3 $\pm$ 13,6 a	309 $\pm$ 6,3 a	8,0 $\pm$ 0,7 a
	AM	6,6 $\pm$ 0,2 a	77,8 $\pm$ 4,1 a	305 $\pm$ 4,2 a	7,5 $\pm$ 0,3 a
	AM + RA56	6,8 $\pm$ 0,2 a	71,9 $\pm$ 6,0 a	296 $\pm$ 4,4 b	8,1 $\pm$ 0,8 a

Tabelle A6: Einfluss der Inokulation mit *P. fluorescens* RA56 und *G. intraradices* (AM) auf die Gehalte von pflanzenverfügbaren Makronährstoffen in „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16-wöchiger Anzucht von Rebpflanzen der Unterlagssorte 5BB

(Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in Spalten unterscheiden sich signifikant; Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 12; Dunnett - Test,  $p \leq 0,05$ )

Versuch	Behandlung	Ca	K	Mg	P
mg / kg TS					
1. Veg.	Kontrolle	n. b.	137 $\pm$ 14,7 a	149 $\pm$ 1,9 a	33,8 $\pm$ 1,9 a
	RA56	n. b.	142 $\pm$ 4,3 a	155 $\pm$ 3,5 a	38,9 $\pm$ 1,3 b
	AM	n. b.	133 $\pm$ 8,4 a	153 $\pm$ 2,7 a	37,5 $\pm$ 0,3 b
	AM + RA56	n. b.	169 $\pm$ 7,5 b	152 $\pm$ 2,0 a	39,8 $\pm$ 1,8 b
2. Veg.	Kontrolle	n. b.	162 $\pm$ 5,2 a	148 $\pm$ 0,8 a	38,4 $\pm$ 1,4 a
	RA56	n. b.	160 $\pm$ 4,4 a	148 $\pm$ 1,7 a	36,7 $\pm$ 1,2 a
	AM	n. b.	166 $\pm$ 10,5 a	149 $\pm$ 1,4 a	32,3 $\pm$ 1,4 b
	AM + RA56	n. b.	157 $\pm$ 3,2 a	145 $\pm$ 1,7 a	29,6 $\pm$ 0,6 b
3. Veg.	Kontrolle	n. b.	163 $\pm$ 8,1 a	145 $\pm$ 1,0 a	34,3 $\pm$ 1,1 a
	RA56	n. b.	171 $\pm$ 10,5 a	146 $\pm$ 1,5 a	36,5 $\pm$ 1,8 a
	AM	n. b.	162 $\pm$ 5,3 a	152 $\pm$ 2,2 b	33,4 $\pm$ 1,5 a
	AM + RA56	n. b.	163 $\pm$ 3,0 a	150 $\pm$ 2,3 b	33,9 $\pm$ 1,0 a

Tabelle A7: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen an Wurzeln der Unterlagssorte 5BB im 2. und 3. Vegetationsversuch nach 10 Wochen Vegetationsdauer auf „**rebmüdem**“ Boden;  
(unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

		CFU x 10 <sup>5</sup> / g TS Wurzel		
Behandlung		<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
2. Vegetation	Kontrolle	16,1 $\pm$ 1,7 a	1,9 $\pm$ 0,9 a	15,3 $\pm$ 4,2 a
	RA56	1,9 $\pm$ 0,3 b	0,6 $\pm$ 0,1 b	1,6 $\pm$ 0,1 b
	AM	27,7 $\pm$ 3,6 c	1,9 $\pm$ 0,6 a	3,5 $\pm$ 0,2 b
	AM + RA56	27,4 $\pm$ 6,6 c	0,9 $\pm$ 0,2 b	4,0 $\pm$ 0,8 b
3. Vegetation	Kontrolle	2,7 $\pm$ 0,5 a	2,6 $\pm$ 0,3 a	0,6 $\pm$ 0,1 a
	RA56	4,0 $\pm$ 0,9 b	3,2 $\pm$ 0,9 a	0,3 $\pm$ 0,02 a
	AM	1,4 $\pm$ 0,2 c	0,4 $\pm$ 0,3 b	3,9 $\pm$ 0,7 b
	AM + RA56	4,2 $\pm$ 0,6 b	0,03 $\pm$ 0,01 b	12,6 $\pm$ 5,7 c



Tabelle A8: CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen im wurzelfernen „rebmüdem“ Boden des 2. und 3. Vegetationsversuchs nach 10 Wochen Vegetationsdauer der Unterlagssorte 5BB;  
(unterschiedliche Buchstaben symbolisieren signifikante Unterschiede; Mittelwerte  $\pm$  SD; SNK - Test,  $p \leq 0,05$ )

		CFU x 10 <sup>4</sup> / g TS Wurzel		
Behandlung		<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
2. Vegetation	Kontrolle	4,3 $\pm$ 1,9 a	1,4 $\pm$ 0,2 a	11,7 $\pm$ 1,9 a
	RA56	2,0 $\pm$ 0,9 a	0,5 $\pm$ 0,2 a	8,8 $\pm$ 2,1 b
	AM	2,5 $\pm$ 1,2 a	0,3 $\pm$ 0,1 a	3,6 $\pm$ 1,5 c
	AM + RA56	17,0 $\pm$ 6,4 b	4,4 $\pm$ 2,2 b	7,6 $\pm$ 1,8 bd
3. Vegetation	Kontrolle	4,5 $\pm$ 1,2 a	4,0 $\pm$ 1,1 a	12,0 $\pm$ 1,6 a
	RA56	12,7 $\pm$ 1,6 b	2,4 $\pm$ 0,4 b	15,0 $\pm$ 3,3 b
	AM	9,3 $\pm$ 2,6 c	4,1 $\pm$ 0,3 a	18,7 $\pm$ 2,0 c
	AM + RA56	15,0 $\pm$ 1,4 b	5,8 $\pm$ 1,2 c	16,1 $\pm$ 1,2 bc

Tabelle A9: Boden-Wurzel-Verhältnis der CFUs von *Pseudomonas*-Gruppen auf „nicht-rebmüdem“ Boden nach 16 Wochen Vegetationsdauer von Holzstecklingen der Unterlagsorte 5BB

Versuch	Behandlung	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. syringae</i>
		CFU Boden / CFU Wurzel		
1. Veg.	Kontrolle	0,001	0,017	0,001
	RA56	0,013	27,79	0,056
	AM	0,006	2,48	0,043
	AM + RA56	1,74	5,73	0,030
2. Veg.	Kontrolle	1,39	0,28	4,04
	RA56	4,56	0,84	18,54
	AM	2,81	0,32	3,59
	AM + RA56	0,82	1,90	0,69
3. Veg.	Kontrolle	17,77	10,67	41,72
	RA56	1,35	3,05	5,40
	AM	36,53	3,70	53,96
	AM + RA56	47,53	4,11	47,13

Ich versichere, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig angefertigt habe und die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben habe. Ich versichere außerdem, dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat und dass sie noch nicht veröffentlicht worden ist.

## Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Prof. Dr. R. K. Achazi für seine Geduld und Unterstützung bei der Betreuung dieser Arbeit. Er stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

Besonderen Dank zolle ich meinem Mentor Dr. Rahmat Abdi Baghi, der mir von Beginn bis Ende dieser Arbeit fachlich und menschlich zur Seite stand und mich darüber hinaus als Geschäftsführer der Phytobacter AG materiell unterstützte, Bakterienpräparate zur Verfügung stellte sowie durch seine ausgezeichneten Kontakte zu verschiedenen Institutionen die Durchführung dieser Arbeit erst ermöglichte.

Herrn Dr. Schropp von der Staatlichen Lehr- und Versuchsanstalt für Obst- und Weinbau in Neustadt a. d. Weinstrasse / Rheinland-Pfalz danke ich sehr für die Bereitstellung der Versuchsböden und der Rebstecklinge sowie für seine fachliche Unterstützung und Beratung.

Den Mitarbeitern der Biologischen Bundesanstalt Berlin-Dahlem möchte ich für ihre Unterstützung meiner Arbeit danken, vor allem den Mitarbeitern der Abteilung „Ökologische Chemie“ unter der Leitung von Dr. Strumpf für die Möglichkeit zur Durchführung der anorganischen Untersuchungen sowie für die Bereitstellung von Gewächshäusern. Besonderer Dank gilt an dieser Stelle Herrn Berg, der mich bei der Umsetzung der Gewächshausversuche tatkräftig unterstützte und mir mit seinem gärtnerischen Fachwissen eine große Hilfe war.

Den Institutsmitgliedern des Instituts für Ökotoxikologie, vor allem Françoise Treitz, Angelika Seyfarth, Gabi Erzigkeit und Hannelore Vierow möchte ich für ihre Hilfsbereitschaft und die freundliche Arbeitsatmosphäre danken. Gabriela Korus danke ich für ihr herausragendes Engagement bei der mikrobiologischen Mitarbeit. Für die große Hilfe im Bereich der Mikrobiologie und alle Problemlösungen in Zusammenhang mit Computerhard- und software bedanke ich mich bei Dr. Johannes Arens. Dr. Jürgen Kronshage danke ich für die fachliche Beratung auf dem Gebiet der Biostatistik.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern und Freunden sowie meiner Lebenspartnerin Irina, die mich über die Dauer dieser Arbeit seelisch und moralisch unterstützt und motiviert haben.