

Klimaextreme, Boden und Landwirtschaft

Einfluss von Dürre auf die Diversität und Abundanz

von Bodenmikroorganismen und mikrobiellen

Endophyten

MASTERARBEIT

zur Erlangung des akademischen Grades Master of Science

Institut für Mikrobiologie

Fakultät Biologie

Universität Innsbruck

Laura Larcher, BSc

Innsbruck, März 2023

Betreuerin:

Nadine Präg, PhD

Institut für Mikrobiologie

Inhalt

1	Einleitung.....	1
1.1	Klimawandel und Ernährungssicherheit.....	1
1.1.1	Getreidepflanzen am Beispiel der Gerste	2
1.2	Pflanzen-Mikroorganismen-Interaktion.....	3
1.3	Endophytische Mikroorganismen	5
2	Material und Methoden.....	7
2.1	Versuchsaufbau.....	7
2.1.1	Standort und Arten der untersuchten Getreidesorten.....	7
2.1.2	Experimenteller Aufbau & Probennahme.....	8
2.2	Physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens.....	10
2.2.1	Prozentuelle Trockensubstanz	10
2.2.2	Organische Substanz – Glühverlust.....	10
2.2.3	Maximale Wasserhaltefähigkeit.....	10
2.2.4	pH-Wert und Leitfähigkeit.....	11
2.2.5	Ammonium- und Nitratbestimmung.....	12
2.2.6	Gelöster (organischer) Kohlenstoff und Stickstoff	13
2.3	Mikrobielle, Abundanz, Aktivität und Biomasse im bulk soil.....	14
2.3.1	Abundanz: Bestimmung der Gesamtkeimzahl – cfu	14
2.3.2	Aktivität: Bestimmung des Basalatmung mittels Infrarot-Gasanalyse.....	15
2.3.3	Mikrobielle Biomasse nach SIR.....	15
2.4	Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen im Stängel der Gerste .	16
2.4.1	Oberflächensterilisation der Gerstenstängel	16
2.4.2	DNA-Extraktion.....	16
2.4.3	Fluorometrische DNA-Quantifizierung.....	17
2.4.4	Endpunkt-PCR.....	17
2.5	Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste.	18
2.5.1	Vorversuche zur Oberflächensterilisation von Wurzeln	18
2.5.2	Nährmedientest zur Kultivierung endophytischer Mikroorganismen	18
2.5.3	Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen – cfu.....	19
2.5.4	Molekularbiologische Tests zur mikrobiellen Abundanz und Diversität.....	20

2.6	Kultivierung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste	23
2.6.1	Finales Protokoll zur Oberflächensterilisation der Gerstenwurzeln	23
2.6.2	Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen – cfu.....	24
2.6.3	Molekularbiologische Charakterisierung der isolierten Endophyten - Colony-PCR und Sanger-Sequenzierung für Bacteria und Fungi.....	25
2.6.4	DNA-Extraktion & Amplicon-Sequenzierung zur metataxonomischen Beschreibung der bakteriellen und pilzlichen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln	27
2.7	Amplicon-Datenauswertung und statistische Datenanalyse	27
3	Ergebnisse.....	29
3.1	Physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens	29
3.1.1	Prozentuellen Trockensubstanz	29
3.1.2	Organische Substanz – Glühverlust.....	30
3.1.3	Maximale Wasserhaltefähigkeit.....	31
3.1.4	pH-Wert und Leitfähigkeit.....	32
3.1.5	Ammonium- und Nitratbestimmung.....	34
3.1.6	Gelöster (organischer) Kohlenstoff (TC, DOC) und Stickstoff (TN).....	36
3.2	Mikrobielle Biomasse, Abundanz und Aktivität im bulk soil	39
3.2.1	Bestimmung der Gesamtkeimzahl – cfu.....	39
3.2.2	Mikrobielle Biomasse nach SIR.....	40
3.2.3	Bestimmung des Basalatumg mittels Infrarot-Gasanalyse	41
3.3	Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen im Stängel der Gerste .	42
3.3.1	Oberflächensterilisation	42
3.4	Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste.	43
3.4.1	Vorversuche zur Oberflächensterilisation.....	43
3.4.2	Nährmedientest zur Kultivierung endophytischer Mikroorganismen	44
3.4.3	Vorversuch zu den Extraktionskits	45
3.4.4	Digitale droplet PCR.....	46
3.4.5	16S Amplicon-Sequenzierung in Abhängigkeit des DNA-Extraktionskits.....	47
3.4.6	Alpha-Diversität – Prokaryoten der getesteten Extraktionskits.....	48
3.5	Kultivierung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste	49
3.5.1	Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen – cfu.....	49

3.5.2	Molekularbiologische Charakterisierung der isolierten Endophyten - Colony-PCR für Bacteria und Fungi.....	50
3.5.3	16S und ITS-Amplicon-Sequenzierung zur metataxonomischen Beschreibung der bakteriellen und pilzlichen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln	52
4	Diskussion.....	60
4.1	Physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens	60
4.2	Mikrobielle Biomasse, Aktivität und Abundanz im Bulksoil	62
4.3	Kultivierung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste	64
4.4	Amplicon-Sequenzierung zur metataxonomischen Beschreibung bakteriellen und pilzlichen Gemeinschaft in Gerstenwurzeln.....	66
4.4.1	Prokaryoten.....	66
4.4.2	Pilze.....	69
5	Anhang.....	72

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Alle Stellen, die wörtlich oder inhaltlich den angegebenen Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form noch nicht als Magister-/Master-/Diplomarbeit/Dissertation eingereicht.

Datum

Unterschrift

Danksagung

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

Zuerst gebührt mein Dank meiner Betreuerin Frau Nadine Präg, PhD. Vielen Dank für die tatkräftige Unterstützung im Labor und während des Schreibens. Für die hilfreichen Tipps und die konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit möchte ich mir auch sehr bedanken. Außerdem bedanke ich mich bei der Arbeitsgruppe von Univ.-Prof. Mag. Dr. Paul Illmer, die mir mit tatkräftiger Unterstützung und hilfreichen Tipps weitergeholfen hat.

Ein besonderer Dank kommt meiner Familie zu, die mir mein Studium ermöglichten und mich bedingungslos während meines ganzen Studiums unterstützten. Sie war immer für mich da und in vielerlei Hinsicht eine große Stütze.

Weiters möchte ich mich noch bei meinen Freunden bedanken. Sie gaben mir wichtigen emotionalen Rückhalt, nicht nur während des Schreibens dieser Masterarbeit, sondern während des gesamten Studiums.

Abschließend bedanke ich mich bei meinen ArbeitskollegInnen und der Abteilungsleiterin der AGES, die mir in stressigen Situationen den Rücken freihielten und mich unterstützten.

Summary

Extreme weather events such as drought are predicted to increase in frequency and intensity in the future due to climate change (Compant et al., 2010; Naylor & Coleman-Derr, 2018). Due to the close correlation between climate and agriculture, crop yields will also be affected by climate change. With the rise of air temperature, it must be assumed that soil temperature will also increase in the future. In plants, drought stress triggers, among other things, a reduction in crop productivity and lower crop yields (Bogati & Walczak, 2022). Barley (*Hordeum vulgare*) is considered the fourth most widely grown cereal in the world after wheat, corn and rice (Newton et al., 2011). Drought and heat stress was shown to lead to reduced yields of barley, for example, and there is also a deterioration in malt quality, which is due to high protein concentrations and low accumulation of carbohydrates (Mahalingam & Bergitzer, 2019). However, soil bacteria, which play key roles in nutrient cycling regulation, mineralization, nitrogen fixation, and the conversion of ammonia to plant-available nitrate, can also be negatively affected by elevated soil temperature and reduced water availability (Younas et al., 2022). Endophytic microbes (bacteria and fungi) colonize the interior of plants and can have beneficial effects on the host plant (Hardoim et al., 2015). To test the effect of drought on soil microbiology and the diversity and abundance of endophytic microbes, the current study was performed on barley fields and with barley roots. For this purpose, a part of the research field in Imst was divided into four plots and covered for controlled water input. Of these, two plots were hardly irrigated (=unirrigated), the irrigation of the other two plots corresponded to a natural precipitation amount during the growing season of spring barley in this region (=irrigated). Two different varieties of spring barley were grown. On the one hand the Alpina barley and on the other hand the Montafoner (Pumper) barley. Both barley varieties were subjected to the irrigated and non-irrigated treatment, respectively. Sampling of the matured barley was carried out after a four-week drought period, and plants with the entire root material were taken from each plot. For soil microbiology studies, the soil around the plants (=bulk soil) was taken from all four plots. Plants with root material and bulk soil outside the shelter were sampled as a reference to compare and confirm the calculated irrigation regime that should reflect natural precipitation. To investigate the effects of drought on soil microbiology, physical and chemical parameters of soil (dry matter, organic matter, maximum water holding capacity, pH, conductivity, ammonium and nitrate content, dissolved organic carbon and nitrogen) and microbial abundance and activity in bulk soil (determination of total plate count, basal respiration, and microbial biomass by SIR) were examined. Surface sterilization was established to investigate the effects of drought on endophytic microbes in barley roots. Endophytic microorganisms were cultured from the mortared surface sterilized roots followed by colony PCR and Sanger sequencing of the obtained isolates. To gain insight into the bacterial and fungal community and diversity of root endophytes in both barley cultivars (Alpina and

Pumper), the mortared and surface sterilized root material was subjected to 16S and ITS amplicon sequencing.

Results showed that a four-week drought significantly affected various soil parameters, but especially soil microbial biomass and soil pH. This means that soil microbes are tremendously affected by global warming and diverse rainfall patterns. In addition, this work showed that soils of different barley varieties have different levels of ammonium, nitrate, total carbon, and nitrogen, pointing to cultivar-specific influences on soil. Still, no irrigation- or cultivar-specific differences were demonstrated in the abundance of soil microbes, but the choice of nutrient media was shown to influence cultivability and thus abundance of soil microbes. Cultivation of endophytic microbes in barley roots showed significant cultivar-specific differences in the abundance of cultivable endophytes between both barley cultivars (Alpina and Pumper), with irrigation showing no significant effect although the plants were obviously suffering from drought and showing distinct differences on macroscopic level compared to the control plants. No difference was shown in the diversity of cultivable endophytic microorganisms between the two barley cultivars. Subsequent Sanger sequencing revealed that predominantly associated species of the classes Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria and Actinomycetia were cultured. On molecular level (16S amplicon sequencing), cultivar-specific differences in the bacterial community were established. Additionally, metataxonomics illustrated cultivar-specific responses of both barley cultivars upon drought. Prokaryotic diversity was affected by a combined influence of drought and barley cultivar-type. While the bacterial diversity of Alpina barley increased due to drought stress, a decrease in bacterial diversity was detected in Pumper barley. Variety-specific differences between the two barley cultivars were also detected in the fungal community (ITS amplicon sequencing). Still overall, the induced drought showed no significant effect on fungal community diversity indices but led to (cultivar-specific) significant shifts in specific fungal taxa.

In this work, it was shown that endophytic microbes responded to drought stress, but the response of endophytic microbes (abundance and diversity) varied between the two barley cultivars tested. For the future, the unique characteristics of diverse microorganisms, such as their interaction with crops, adaptation to climatic extremes, and genetic diversity, should be exploited to provide crops with greater stability against abiotic factors (Grover et al. 2011).

Zusammenfassung

Extreme Wetterereignisse wie Dürre werden laut Prognosen aufgrund des Klimawandels in ihrer Häufigkeit und Intensität in Zukunft zunehmen (Compant et al., 2010; Naylor & Coleman-Derr, 2018). Durch die enge Korrelation von Klima und Landwirtschaft werden durch den Klimawandel auch die Ernteerträge beeinflusst. Bei Pflanzen löst Dürrestress unter anderem eine Verringerung der Produktivität der Kulturpflanzen und geringere Ernteerträge aus (Bogati & Walczak, 2022). Die Gerste (*Hordeum vulgare*) gilt nach Weizen, Mais und Reis als vierthäufigstes angebautes Getreide weltweit (Newton et al., 2011). Hitzestress führt beispielsweise bei der Gerste zu einem verringerten Ertrag, es kommt zu einer Verschlechterung der Malzqualität, was auf hohe Proteinkonzentrationen und geringe Akkumulation von Kohlenhydraten zurückzuführen ist (Mahalingam & Bergitzer, 2019). Aber auch Bodenbakterien, die Schlüsselrollen bei der Regulation des Nährstoffkreislaufs, der Mineralisierung, der Stickstofffixierung und der Umwandlung von Ammoniak in pflanzenverfügbares Nitrat spielen, können von erhöhten Bodentemperaturen ebenfalls negativ beeinflusst werden (Younas et al., 2022). Endophytische Mikroben (Bakterien und Pilze) besiedeln das Innere der Pflanzen und können positive Auswirkungen auf die Wirtspflanze haben (Hardoim et al., 2015).

In dieser Arbeit wurden die Auswirkungen einer vierwöchigen Dürre auf die Bodenmikrobiologie und die Diversität und Abundanz endophytischer Mikroben in den Wurzeln der Gerste untersucht. Hierfür wurden Felder am Forschungsbauernhof in Imst in vier Parzellen eingeteilt und für einen kontrollierten Wassereintrag überdacht. Es wurde ein genaues Bewässerungsregime berechnet, bei dem zwei Parzellen kaum bewässert (=unbewässert) wurden und Dürre simulierten. Die Bewässerung der anderen 2 Parzellen glich einer normalen Dotation während der Vegetationszeit der Sommergerste und sollte dem natürlichen Niederschlag in dieser Region entsprechen (=bewässert). Es wurden zwei verschiedene Sorten der Sommergerste angebaut, zum einen die Gerste Alpina und zum anderen die Montafoner Pumpergerste. Beide Gerstensorten wurden jeweils der bewässerten und unbewässerten Behandlung unterzogen. Die Probennahme der gereiften Gersten erfolgte nach einer vierwöchigen Dürrephase, hierbei wurden aus jeder Parzelle Pflanzen mit dem gesamten Wurzelmaterial entnommen. Für Untersuchungen zur Bodenmikrobiologie wurde der Boden um die Pflanzen (=bulk soil) aus allen vier Parzellen entnommen. Als Referenz des berechneten Bewässerungsregimes, das den natürlichen Niederschlag widerspiegeln sollte, wurden Pflanzen mit Wurzelmaterial und bulk soil außerhalb der Überdachung entnommen. Um die Auswirkungen der Dürre auf die Bodenmikrobiologie zu untersuchen, wurden physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens, sowie die mikrobielle Abundanz und Aktivität im bulk soil untersucht. Um die Auswirkungen der Dürre auf die endophytischen Mikroben in den Gerstenwurzeln zu untersuchen, wurde eine Oberflächensterilisation etabliert. Aus den gemörserten oberflächensterilisierten Wurzeln erfolgte die Kultivierung endophytischer Mikroorganismen auf zwei verschiedenen Nährmedien mit anschließender colony-PCR

und Sanger-Sequenzierung, zur Identifikation der gewonnenen Isolate. Um einen Einblick in die bakterielle und pilzliche Gemeinschaft und Diversität der Wurzelendophyten in beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) und in Abhängigkeit des Wasserregimes zu gewinnen, wurde das Wurzelmaterial einer 16S und ITS Amplicon-Sequenzierungen unterzogen.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass eine vierwöchige Trockenheit verschiedene Bodenparameter signifikant beeinflusste, insbesondere aber die mikrobielle Biomasse des Bodens und den pH-Wert des Bodens. Dies bedeutet, dass Bodenmikroben von der globalen Erwärmung und den unterschiedlichen Niederschlagsmustern stark betroffen sind. Darüber hinaus zeigte diese Arbeit, dass Böden verschiedener Gerstensorten unterschiedliche Gehalte an Ammonium, Nitrat, Gesamtkohlenstoff und Stickstoff aufweisen, was den sortenspezifischen Einfluss der Gerste auf den Boden verdeutlicht. Bei der Kultivierung der Bodenmikroben konnten weder bewässerungs- noch sortenspezifische Unterschiede nachgewiesen werden, jedoch zeigte sich, dass die Wahl der Nährmedien die Kultivierbarkeit beeinflusste. Bei der Kultivierung endophytischer Mikroben in den Gerstenwurzeln konnten signifikante sortenspezifische Unterschiede in der Abundanz kultivierbarer Endophyten zwischen beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) festgestellt werden, wobei die Bewässerung keinen signifikanten Effekt zeigte, obwohl die Pflanzen von der Dürrephase deutlich gezeichnet waren und sich eindeutig von den Kontrollpflanzen in Größe, Reife und Ertrag unterschieden. In der Diversität kultivierbarer endophytischer Mikroorganismen konnte kein Unterschied zwischen den beiden Gerstensorten aufgezeigt werden. Bei der anschließenden Sanger-Sequenzierung zeigte sich, dass überwiegend zugehörige Arten der Klassen Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria und Actinomycetia kultiviert wurden. Die 16S Amplicon-Sequenzierung veranschaulichte sortenspezifische Reaktionen beider Gerstensorten auf die Dürre. Durch die hervorgerufene Dürre konnte eine signifikante Veränderung in der Diversität der bakteriellen Gemeinschaft in Abhängigkeit der Sorte nachgewiesen werden. Während die bakterielle Diversität der Gerste Alpina durch den Trockenstress zunahm, wurde bei der Pumpergerste eine Abnahme der bakteriellen Diversität unter Dürre nachgewiesen. Auch bei der pilzliche Gemeinschaft (ITS Amplicon-Sequenzierung) wurden sortenspezifische Unterschiede zwischen den beiden Gerstensorten nachgewiesen. Die hervorgerufene Dürre zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Diversität der pilzlichen Gemeinschaft zwischen den beiden Gerstensorten, wohl kam es aber zu Veränderungen einzelner Arten. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass endophytische Mikroben auf Dürrestress reagierten, die Reaktion der endophytischen Mikroben (Abundanz und Diversität) variierte jedoch zwischen den beiden getesteten Gerstensorten. Für die Zukunft sollten die einzigartigen Eigenschaften diverser Mikroorganismen, wie beispielsweise ihre Interaktion mit Kulturpflanzen, ihre Anpassung an Klimaextreme und ihre genetische Vielfalt, genutzt werden, um den Kulturpflanzen mehr Stabilität gegen abiotische Faktoren zu verleihen (Grover et al. 2011).

1 Einleitung

1.1 Klimawandel und Ernährungssicherheit

Der Klimawandel hat viele Facetten und umfasst ändernde Konzentrationen von Treibhausgasen in der Atmosphäre, Veränderungen der Niederschlagsmuster, steigende Temperaturen und die zunehmende Häufigkeit extremer Wetterereignisse (Gray & Brady, 2016). Die wohl wichtigsten Umweltfaktoren, die zu einem geringeren Pflanzenwachstum und dadurch zu einem eingeschränkten Ertrag führen sind hohe Temperaturen und Dürre. Die Kombination dieser beiden Belastungen führt zu vielen physiologischen Veränderung, die sich auf Ernteertrag und -qualität auswirken (Mahalingam & Bregitzer, 2019). Im Allgemeinen kann die Dürre als eine Periode ungewöhnlich trockenen Wetters definiert werden – welche lang genug andauert, um ernsthafte hydrologische Ungleichgewichte in Boden und Pflanzen zu verursachen. Die globale Oberflächentemperatur wird voraussichtlich bis zum Ende dieses Jahrhunderts um 1 °C bis 3,7 °C steigen (Gray & Brady, 2016). Durch den Zusammenhang der Lufttemperatur und der Bodentemperatur, muss davon ausgegangen werden, dass in Zukunft auch die Temperatur des Bodens steigt. Dürren können eine unterschiedliche Dauer und Intensität von Wasserstress auslösen (Gray & Brady, 2016). Der Boden, als Grundlage der Ernährungssicherheit, entscheidet über die Verfügbarkeit von Nahrungsmitteln - die Produktion von nahrhaften und qualitativ hochwertigen Lebensmitteln und Tierfutter kann nur auf gesunden und lebendigen Böden stattfinden (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015). Generell ist der Boden vielfältig von mikrobiellen Gemeinschaften besiedelt, die für die Bodenfunktion von essenzieller Bedeutung sind (Bardgett & Van der Putten, 2014; De Vries et al., 2018; Vries & Wallenstein, 2017). Bodenmikroben machen einen großen Teil der genetischen Vielfalt des Lebens im Boden aus und sind die unsichtbare Mehrheit im Boden. Sie spielen eine Schlüsselrolle in Ökosystemen und beeinflussen eine Vielzahl wichtiger Ökosystemprozesse, einschließlich der Nährstoffaufnahme, Stickstoffkreislauf, Kohlenstoffkreislauf, Mineralisierung und Stickstofffixierung (Van Der Heijden et al., 2008, Bardgett & Van der Putten, 2014; De Vries et al., 2018; Vries & Wallenstein, 2017). Bodenmikroorganismen sorgen für eine positive Regulation der Pflanzenproduktivität durch zwei Hauptmechanismen: indirekt über freilebende Mikroorganismen, die die Nährstoffversorgung und die Aufteilung der Ressourcen verändern und direkt über wurzelassoziierte Mikroorganismen, die mutualistische oder pathogene Beziehungen zu Pflanzen eingehen (Van Der Heijden et al., 2008). Vor allem in besonders nährstoffarmen Ökosystemen, wozu der Boden grundsätzlich zählt, sind Mikroorganismen für Pflanzen von enormer Bedeutung, da sie für die Aufnahme limitierender Nährstoffe als Pflanzensymbionten hilfreich sind (Van Der Heijden et al., 2008). Bodenmikroorganismen verbessern die Bodenstruktur und die Wasserspeicherkapazität, indem sie Polysaccharide und andere nützliche Substanzen produzieren (Bogati & Walczak, 2022). Bodenmikroben können Substanzen wie beispielsweise Indolelessigsäure

(IAA) und Prolin (Pro) synthetisieren und damit, einen Trockenstresstoleranz bei Pflanzen induzieren (Bogati & Walczak, 2022). Dürrestress führt zu Veränderungen der mikrobiellen Abundanz, stört die mikrobielle Struktur und verringert die mikrobielle Aktivität (einschließlich Enzymproduktion und Nährstoffkreislauf) im Boden (Bogati & Walczak, 2022). All diese Veränderungen führen zu einer Abnahme der Bodenfruchtbarkeit, gefolgt von einem verringerten Ernteertrag (Bogati & Walczak, 2022). In diversen Studien konnte gezeigt werden, dass verschiedenen Arten in der mikrobiellen Gemeinschaft unterschiedlich auf Dürre reagieren, wonach Trockenheit auf Bakterien einen viel stärkeren Einfluss zeigte als auf Pilznetzwerke (Barnard et al., 2013; De Vries & Shade, 2013; Vries & Wallenstein, 2017, Yang et al., 2020). Die Pilzgemeinschaft im Boden ändert sich durch Trockenheit kaum, zeigt sich daher eher als resistent gegenüber Veränderungen in der Wasserverfügbarkeit (Barnard et al., 2013). Im Vergleich dazu führt Trockenheit in der Bakteriengemeinschaft zu Veränderungen, vor allem dominante Bakterientaxa, wie beispielsweise Proteobacteria, reagieren dabei am stärksten (de Vries et al., 2018). Erhöhte Bodentemperaturen wirken sich auch negativ auf Pflanzen aus, sie können erheblichen Einfluss auf das Wurzelwachstum von Pflanzen haben (Gray & Brady, 2016). Die Trockenheit beeinträchtigt die Morphologie von Pflanzen stark, in dem sie die Keimung der Samen und das frühe Wachstum der Pflanzen hemmt (Hussain et al., 2019). Der Dürrestress führt außerdem zur Verringerung der Akkumulation und Aufteilung der pflanzlichen Biomasse. Folgen des Dürrestress können Verringerung der Produktivität der Kulturen und des Ernteertrags sein (Hussain et al., 2019). Für eine gute Pflanzenentwicklung ist eine starke Verbindung zwischen Pflanzen und Bodenmikroorganismen erforderlich (Younas et al., 2022).

1.1.1 Getreidepflanzen am Beispiel der Gerste

Die Gerste (*Hordeum vulgare*) ist nach Weizen, Mais und Reis das vierthäufigste angebaute Getreide weltweit (Newton et al., 2011). Die Gerste wurde bereits ab der frühen Jungsteinzeit zusammen mit Emmer und Einkorn in Vorderasien angebaut und gehört somit zu den ältesten Kulturpflanzen der Menschheit. Der Ursprung der Gerste ist die wilde Gerste (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*), die als Kulturpflanze im israelisch-jordanischen Raum anfangs angebaut wurde. *Hordeum vulgare* ist ein einjähriges Getreide aus der Familie der Süßgräser (Poaceae) (Miedaner, 2014). Der glatte und aufrecht wachsende Halm der Gerste kann Wuchshöhen von maximal 1,2 Metern erreichen. Die Ähren können je nach Sorte von zwei- bis sechszeilig sein (Miedaner, 2014). *Hordeum vulgare* ist eine eher anspruchslose Pflanze, die in vielen unterschiedlichen Böden gedeihen kann und auch mit rauen Wetterbedingungen zurechtkommt. Sie kann dadurch ohne Problem im Flachland aber auch in Gebirgsregionen von bis zu 4500 m Höhe angebaut werden (Miedaner, 2014). Bei der Gerste kann zwischen zwei verschiedenen Formen unterschieden werden. Zum einen die proteinreiche Wintergerste, die hauptsächlich für die Futtermittelproduktion verwendet wird. Zum anderen die

Sommergerste, die überwiegend in der Brauproduktion verwendet wird (Miedaner, 2014). Die Sommergerste wird in Österreich auf einer Fläche von ca. 35700 Hektar (ha) angebaut, die Wintergerste auf einer Fläche von rund 101600 ha (Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, 2023).

Trocken- oder Hitzestress führen bei der Gerste zu einem verringerten Ertrag, es kommt zu einer Verschlechterung der Malzqualität, was auf hohe Proteinkonzentrationen und geringe Akkumulation von Kohlenhydraten zurückzuführen ist (Mahalingam & Bregitzer, 2019). Die Kombination von Trockenheit und Hitzestress führten in einem Experiment von Mahalingam und Bergitzer (2019) zu drastischen Ertragsverlusten, außerdem wurde die Qualität des Mälzens stark beeinflusst. Es wurde gezeigt, dass es einen Unterschied macht in welcher Wachstumsphase sich die Gerste aktuell befand, ob der Dürrestress während des vegetativen Wachstums oder während des Vortriebsstadiums ausgeübt wurde (Mahalingam & Bregitzer, 2019). Obwohl es bereits Studien zum Einfluss der Dürre auf Endophyten der Gerste gibt, sind die Mechanismen wie genau die Pflanzen vor abiotischen Stressoren durch endophytische Mikroben geschützt werden, noch nicht gänzlich verstanden (Yang et al., 2020).

1.2 Pflanzen-Mikroorganismen-Interaktion

Die wichtigsten Voraussetzungen für optimales Pflanzenwachstum, Entwicklung und Fortpflanzung sind Licht, Wasser, Kohlenstoff und Mineralstoffe. Da Pflanzen an ihrem Platz verharren, sind sie einer Vielzahl von abiotischen und biotischen Faktoren ausgesetzt, die das Pflanzenwachstum und deren Entwicklung begrenzen (Yang et al., 2020). Zu den abiotischen Belastungen, welche die Pflanze schädigen zählen niedrige oder hohe Temperaturen, Salzstress, saure Bedingungen und Nährstoffstress/-mangel (Lata et al., 2018). Biotischer Stress entsteht durch Schäden an den Pflanzen selbst, welche durch lebende Organismen wie Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten und Schadinsekten hervorgerufen werden (Lata et al., 2018). Pflanzen beherbergen eine Fülle mikrobieller Gemeinschaften, die an den Wurzeln haften und sich innerhalb des Wurzelgewebes befinden (Bulgarelli et al., 2015). Durch die Besiedelung der endophytischen Mikroorganismen profitieren die Wirtspflanzen in vielerlei Hinsicht. Die direkten und indirekten positiven Wirkmechanismen der endophytischen Mikroben auf Wirtspflanzen werden in Kapitel 1.3 im Detail beschrieben. Das Leben im Pflanzengewebe bringt auch für die endophytischen Mikroorganismen viele Vorteile, so werden diese durchgehend mit Nährstoffen versorgt. Außerdem nutzen Bakterien das Pflanzengewebe als ökologische Schutzniche, die fern von schwankenden Umweltbedingungen, eine sichere und konsistente Umgebung bietet (Afzal et al., 2019). Um in die Pflanze einzudringen, folgen Endophyten dem gleichen Muster wie pathogene Mikroorganismen. Mit Ausnahme einiger endophytischer Mikroben, die durch Samen oder vegetatives Vermehrungsmaterial übertragen werden, werden bei

der endophytischen Besiedelung mehrere wichtige Phasen, einschließlich Wirtsfindung, Erkennung, Besiedlung der Pflanzenoberfläche und Eintritt in das innere Pflanzengewebe durchlaufen (Hardoim et al., 2015). Viele bakterielle Endophyten stammen aus der Rhizosphäre. Durch die Sekretion organischer Substanzen der Wurzeln (Rhizodesposition) werden die Endophyten angezogen und gelangen durch kleine Risse an den Wurzeln in die Pflanze (Hardoim et al., 2015). Stängel- und Blattoberfläche produzieren ebenfalls Exsudate, welche die Mikroorganismen anziehen. Aufgrund des UV-Lichts, Nährstoffmangels und der Austrocknung wird die Besiedlung der Pflanzenoberfläche verringert und nur angepasste Mikroorganismen können überleben. Außerdem können Endophyten über Samen und vegetativem Pflanzenmaterial übertragen werden (Lata et al., 2018). Um die Zellwände und Kutikula der Wirtspflanzen zu durchdringen, produzieren Endophyten verschiedene zellwandabbauende Enzyme wie beispielsweise Cellulasen und Pektinasen (Lata et al., 2018). Gersten und andere Pflanzen, welche endophytische Pilze beherbergen, profitieren durch eine Steigerung des Samenertrages, eine verbesserte Stresstoleranz sowie eine erhöhte Resistenz gegenüber Krankheitserregern (Murphy et al., 2014). Der Pilzendophyt *Piriformospora indica* (Basidiomycetes) sorgt für eine erhöhte Toleranz gegen Salzstress und erhöhte Pathogenresistenz (Murphy et al. 2014). *Fusarium equiseti* (Ascomycota) verhilft der Gerste mit einer Resistenz gegen eine Infektion mit *Gaeumannomyces graminis* (Murphy et al., 2014). Die Böden wurden durch die intensive Pflanzenproduktion und Ausbringung diverser Agrochemikalien in den letzten Jahren erschöpft, dadurch könnte die Pflanzenproduktion und in weiterer Folge die Fähigkeit genug Nahrungsmittel zu produzieren reduziert werden (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015). Diverse Belastungen wie die globale Erwärmung und die Bodendegradation führen zu einer Verringerung geeigneter Anbaustandorte und lokaler bzw. globaler Nahrungsmittelknappheit (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015). Der zusätzliche Einsatz von Agrochemikalien (Fungizide, Pestizide und Düngemittel) in der Landwirtschaft zur Erhaltung des Ertrags verursacht schwerwiegende Umweltschäden, eine Verschlechterung des Ökosystems und sorgt für steigende wirtschaftliche Kosten (Murphy et al., 2014). Die Ausbringung von nützlichen Pilzendophyten hätte positive Auswirkungen auf Pflanzen und würde den Einsatz von Chemikalien reduzieren, die Resistenz gegen Krankheitserreger erhöhen und die Stresstoleranz verbessern, während der Ertrag erhalten bleibt (Murphy et al. 2014). Um die gravierenden Auswirkungen des Klimawandels zu bewältigen, wäre eine breite Palette von Anpassungen und Minderungsstrategien notwendig. Die Züchtung besserer Pflanzenarten könnte dazu beitragen die abiotischen Stressfaktoren zu überwinden (Grover et al., 2011). Solche Strategien sind jedoch langwierig und mit hohen Kosten verbunden, weshalb es notwendig sein wird einfache und kostengünstige biologische Methoden für eine bessere Stresstoleranz zu entwickeln, welche kurzfristig eingesetzt werden können (Grover et al. 2011). So könnte beispielsweise die Verwendung von Bakterien in der Landwirtschaft den Pflanzen

gegen abiotische Belastungen wie Dürrestress helfen und eine neu aufkommende Anwendung von Mikroorganismen eröffnen. Die Bakterien *Pantoea agglomerans* und *Azospirillum* sp. zeigten beispielsweise bei Weizen durch unterschiedliche Mechanismen positive Auswirkungen für die Pflanze unter Dürrestress (Grover et al., 2011). Pflanzenwachstumsfördernde Bakterien (PGPB) sind an schlechte Bedingungen angepasst und können die Pflanzen vor den schädlichen Auswirkungen diverser Umweltbelastungen schützen (Vardharajula et al., 2011). Pflanzenwachstumsfördernde Bakterien verändern die physikalischen und chemischen Bodeneigenschaften und erhöhen dadurch die Toleranz von Pflanzen gegenüber abiotischem Stress (Vardharajula et al. 2011). Die Beimpfung von Pflanzen mit PGPB ist unter Dürrestress am effektivsten (Vardharajula et al. 2011). Durch die Beimpfung von Pflanzen mit Exopolysaccharid (EPS) produzierenden Bakterien konnte eine erhöhte Resistenz gegen Wasserstress aufgezeigt werden (Vardharajula et al. 2011). *Pseudomonas putida* produziert Exopolysaccharide (EPS) und verleiht Pflanzen Trockenstresstoleranz durch die Bildung eines Biofilms auf der Wurzeloberfläche von Sonnenblumensämlingen (Vardharajula et al. 2011). Schlussendlich ist ein besseres Verständnis der Zusammenhänge zwischen Bodenleben, Ökosystemen und den Auswirkungen menschlicher Eingriffe erforderlich, um eine Verringerung negativer Auswirkungen zu erzielen und die Vorteile der Bodenbiologie für eine nachhaltigere und produktivere Landwirtschaft effektiver zu nutzen (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015).

1.3 Endophytische Mikroorganismen

Alle Pflanzen beherbergen im Inneren verschiedenste mikrobielle Gemeinschaften wie Bakterien, Archaeen, Pilze und Viren. Diese Organismen, die das Innere der Pflanze besiedeln und mindestens einen Teil ihres Lebenszyklus im Pflanzengewebe verbringen, werden als Endophyten bezeichnet (Hardoim et al., 2015). Im Gegensatz zu Endosymbionten leben Endophyten nicht in lebenden Pflanzenzellen, oder sind von Membrankompartimenten umgeben, sondern besiedeln das innere Wirtsgewebe (Reinhold-Hurek & Hurek, 2011). Die Fähigkeit in Pflanzengewebe einzudringen und dort zu wachsen, macht Endophyten einzigartig und zeigt multidimensionale Interaktionen innerhalb der Wirtspflanze. Durch die Anwesenheit von Endophyten werden lebenswichtige Aktivitäten der Wirtspflanze beeinflusst (Khare et al., 2018). Die Liste der positiven Effekte von Endophyten auf die Wirtspflanze ist lang, durch die Bildung antibiotischer Substanzen dienen sie zum Schutz der Pflanzen, sie bilden Enzymprodukte, welche sich positiv auf die Wirtspflanze auswirken. Außerdem sorgen endophytische Mikroben für eine verbesserte Nährstoffaufnahme der Wirtspflanzen und sie können bioaktive Verbindungen synthetisieren, welche der Pflanze wieder der Abwehr von Krankheitserregern dienen (Nair & Padmavathy, 2014). Endophyten lassen sich in drei verschiedene Gruppen unterteilen: Kommensalen, Mutualisten und Pathogene. Am häufigsten kommt es zu einer kommensalistischen Beziehung zwischen den Endophyten und der Wirtspflanzen. Diese endophytischen Mikroben haben

weder einen nützlichen noch einen schädlichen Effekt auf die Wirtspflanzen, sie nutzen lediglich die von der Wirtspflanze produzierten Stoffwechselprodukte (Hardoim et al., 2015). Mutualistische Endopyhten haben eine positive Wirkung auf die Wirtspflanze. Durch eine verbesserte Nährstoffaufnahme von Wirtspflanzen und durch die Modulierung wachstums- und stressbedingter Phytohormone können endophytische Mikroorganismen den Wirtspflanzen direkt zugutekommen. Endophytische Bakterien können die Pflanzengesundheit auch indirekt verbessern, indem sie pathogene Krankheitserreger mit hydrolytischen Enzymen, Nährstoffbegrenzung und durch die Vorbereitung der Pflanzenabwehr entgegenwirken (Afzal et al., 2019). Weiters sind Endophyten von großer Bedeutung für die Erhaltung der Gesundheit von Pflanzen, da sie die Pflanzen vor abiotischen und biotischen Belastungen schützen oder vorbereiten können und zur Verbesserung von Wachstum und höheren Erträgen beitragen können (Khare et al., 2018). Unter pathogenen Endophyten versteht man latente Krankheitserreger, die sich unter normalen Wachstumsbedingungen entweder neutral oder schädlich auf die Wirtspflanze auswirken können. Unter extremen Bedingungen können sich diese jedoch für die Pflanze als nützlich erweisen, dies ist aber abhängig vom Genotyp der jeweiligen Pflanze und auch von den vorherrschenden abiotischen Stressfaktoren (Hardoim et al., 2015). Die endophytische Population variiert von Pflanze zu Pflanze und von Art zu Art. Innerhalb derselben Art variiert sie nicht nur von Region zu Region, sondern unterscheidet sich auch mit der Veränderung der klimatischen Bedingungen derselben Region (Nair & Padmavathy, 2014). Typische endophytische Bakterien in der Gerste zählen zu den Phyla Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes und Firmicutes (Bulgarelli et al., 2015). Typische Pilzendophyten der Gerste sind beispielsweise *Piriformospora indica* und *Sebacina vermifera* aus dem Phylum Basidiomycota und *Fusarium equiseti* aus dem Phylum Ascomycota (Murphy et al., 2014).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsaufbau

2.1.1 Standort und Arten der untersuchten Getreidesorten

Der Forschungsbauernhof in Brennbichl, Imst (Tirol) ist eine Kooperation zwischen der Universität Innsbruck und dem Land Tirol, die der gemeinsamen Grundlagenforschung und angewandten Forschung dient, aber auch praktische Ausbildung für Lehrerinnen und Lehrer sowie Workshops anbieten soll und 2016 eröffnet wurde. Am Forschungsbauernhof werden auf 3,2 Hektar Boden Leistungsversuche und Versuche zur Saatgutvermehrung u.a. verschiedenster Getreidesorten durchgeführt. Ein Hauptaugenmerk der Forschung liegt in der Verträglichkeit alter Sorten auf neue extreme Klimaereignisse wie beispielsweise die Dürre im Sommer. Die Forschungsfelder liegen auf einer Seehöhe von 715 m über dem Meeresspiegel. Am Standort kommt es zu einem durchschnittlichen Jahresniederschlag von 794 mm. Beim Bodentyp handelt es sich um einen Grauen Auboden (GA), welcher einen deutlich ausgebildeten Humushorizont zeigt. Die jährliche Düngung erfolgte mit 35 m³ Gülle in einer Verdünnung von 1:1, was einer Nährstoffmenge von 60 kg N, 35 kg P₂O₅ und 115 kg K₂O / ha entspricht. Die Bekämpfung von Unkraut erfolgte mit den handelsüblichen Produkten Pixie (1L/ha) und Primus (80 ml/ha). Beim Anbau und während des Versuches kam es aber zu keiner Düngung.

Für die vorliegende Untersuchung wurden zwei Sommergerstensorten auf einem Teil des Forschungsfeldes angebaut und untersucht. Die Aussaat beider Gerstensorten am Versuchsfeld erfolgte am 9. April 2021. Zum einen wurde die Gerstensorte Alpina angebaut, bei welcher es sich um eine langstrohige, zweizeilige Tiroler Futtergerste mit gutem Ertragspotential handelt, die auch in rauen Lagen gute Erträge liefert. Die Alpina ist Krankheiten gegenüber sehr widerstandsfähig und lässt sich unter biologischen Bedingungen hervorragend anbauen (Tiroler Saatbaugenossenschaft, 2022). Zusätzlich zur Alpina wurde noch die Montafoner Pumpergerste ausgesät. Hierbei handelt es sich um eine kompakte Sechszeiligergerste, welche spezielle Eigenschaften in Höhenlagen aufzeigt. Die Montafoner Pumpergerste ist geprägt von einem starken Regenerationsvermögen und einem geringen Wärmebedürfnis (Fundus Agricultura Alpina, 2022).

2.1.2 Experimenteller Aufbau & Probennahme

Extreme Klimaereignisse, wie Hitze und die daraus resultierende Dürre nehmen weltweit zu. Ziel dieser Arbeit war es die Auswirkungen der Dürre auf das Pflanzenwachstum und die mikrobielle Gemeinschaft in den Wurzeln zu untersuchen. Eine Überdachung diente einer kontrollierten Bewässerung und somit einer gezielten und quantifizierbaren Dürre und wurde am 1. Juni 2021 installiert. Dafür wurde ein Teil des Versuchsfeldes in vier Parzellen mit Holzstehern abgeteilt und überdacht (Abb. 1). Jede Parzelle hatte ein Ausmaß von 2 x 1,5 m und zusätzlich wurden bei jeder Parzelle 0,5 m an der Außenseite ausgeschlossen, um Randwirkungen zu vermeiden. Um eine Dürre zu bewirken, wurden die Parzellen 1 und 2 kaum bewässert (Tab. 1). Das Bewässerungsschema der Parzellen 3 und 4 glich einer normalen Dotation während der Vegetationszeit der Sommergerste und sollte dem natürlichen Niederschlag entsprechen. Bei beiden Behandlungen handelt es sich um ein exaktes und kontrolliertes Bewässerungsregime, welches Tab. 1 im Detail veranschaulicht. Die Probennahme der gereiften Gersten erfolgte am 9. Juli 2021 und entsprach daher einer Dürre von ca. vier Wochen. Bei der Probennahme wurden aus jeder der vier Parzellen sechs Pflanzen als biologische Replikate entnommen, was zu einer Anzahl von 24 Pflanzen führte. Die Pflanzen wurden innerhalb einer Parzelle aus verschiedenen Positionen entnommen. Hierbei wurde mit einem kleinen Spatel um die Pflanze die Erde gelockert, damit man die Pflanze inklusive Wurzelmaterial aus der Erde entnehmen konnte. Um diverse Bodenparameter des Untersuchungsfeldes zu bestimmen, wurden von den einzelnen Parzellen zusätzlich Bodenproben im Abstand von 30 cm in drei Parallelen um die Pflanzen entnommen (=bulk soil), was zu einer Anzahl von 12 Bodenproben führte. Hierfür wurde die oberste Schicht (ca. 3 cm) des Bodens abgehoben und der Boden darunter entnommen. Um einen Unterschied der Bodenparameter des überdachten Systems mit den natürlichen Witterungsbedingungen zu untersuchen und damit das Bewässerungsregime zu verifizieren, wurden außerdem Bodenproben außerhalb der Überdachung genommen. Die Entnahme des äußeren Bodens (=Boden außen) erfolgte technisch ident wie bei dem überdachten Boden und umfasste auch hier Felder, auf denen die Gerstensorte Alpina und Montafoner Pumpergerste (folglich oft mit Pumper abgekürzt) angebaut wurden.

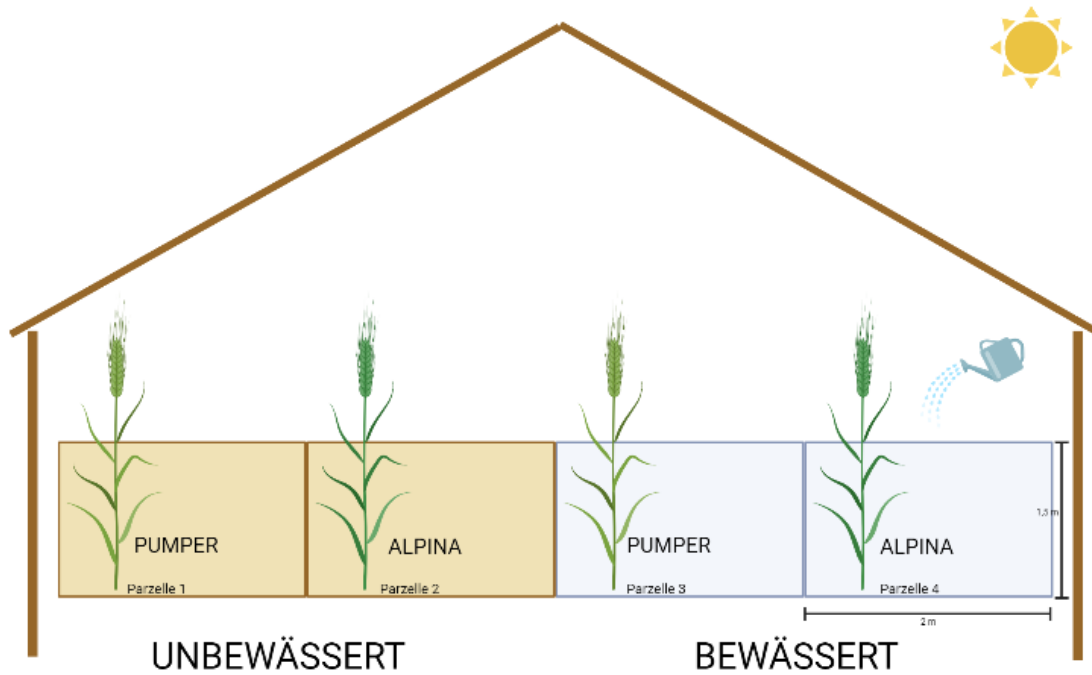


Abb. 1: Schematische Darstellung des überdachten Versuchsfeldes in Brennholz, Imst. Das Feld wurde in 4 Parzellen aufgeteilt, jede Parzelle war 2 x 1,5 m groß und wurde anhand eines Bewässerungsschemas (siehe Tabelle 1) bewässert.

Tab. 1: Bewässerungsschema des überdachten Versuchsfelds. Die bewässerte Behandlung entspricht dabei einem normalen Niederschlag, die unbewässerte (=wenig bewässert) Behandlung sollte eine Dürre hervorrufen.

Behandlung	Dürre (unbewässert)	Bewässert
Bewässerung	1x pro Woche Montag 26,25 l	2x pro Woche Montag 45 l Donnerstag 60 l
Bewässerungsvolumen	1l/m ² /d	4l/m ² /d
Gesamtvolumen	26,25 l	105 l

2.2 Physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens

2.2.1 Prozentuelle Trockensubstanz

Um die Trockensubstanz und damit ein Referenzwert für die Berechnung der weiteren Untersuchungen der Bodenproben zu ermitteln, wurden Glaspetrischalen 30 Minuten bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet. Mögliche Fettfilme auf den Glaspetrischalen wurden dadurch entfernt. Die heißen Petrischalen wurden im Exsikkator abgekühlt. Im Anschluss wurde das Taragewicht der Glaspetrischalen bestimmt und 10 g frischer Boden eingewogen. Die Trocknung des frischen Bodens erfolgte bei 105 °C für 16 Stunden. Am nächsten Tag wurden die Bodenproben in den Glaspetrischalen im Exsikkator abgekühlt und das Trockengewicht auf der Präzisionswaage bestimmt. Die Messung der prozentuellen Trockensubstanz erfolgte in jeweils 3 Parallelen. Die Ermittlung der Trockensubstanz erfolgte mittels Differentialwägung.

2.2.2 Organische Substanz – Glühverlust

Für die Bestimmung des Anteils an organischer Substanz im Boden wurden 2 g der getrockneten Bodenproben aus der prozentuellen Trockensubstanz (2.2.1) in Porzellanschälchen eingewogen und bei 430 °C für fünf Stunden verascht. Im Anschluss erfolgte die Abkühlung der Asche im Exsikkator und die Wägung auf der Präzisionswaage. Die Ermittlung des Glühverlusts erfolgte durch Differenzwägung und wurde in zwei technischen Parallelen durchgeführt.

2.2.3 Maximale Wasserhaltefähigkeit

Die maximale Wasserhaltekapazität zeigt die Fähigkeit des Bodens Wasser aufzunehmen und gegen die Schwerkraft zu halten. Um diese zu ermitteln wurden 7 g Boden in Glaszylinder mit Glasfritten eingewogen und für eine Stunde mit deionisiertem Wasser (a. deion) gesättigt. Dafür wurden die Glaszylinder in ein mit a. deion gefülltes Gefäß gestellt, sodass der Wasserspiegel im Gefäß höher als der eingewogene Boden in den Glaszylindern war. Das Taragewicht der Glaszylinder wurde im Vorfeld bestimmt. Die Glaszylinder wurden mit einer Alufolie abgedeckt. Nach einer Stunde wurden die Glaszylinder aus dem Gefäß genommen, kurz abtropfen gelassen und dann für weitere drei Stunden auf Quarzsand gestellt. Der Quarzsand wurde vorher mit Wasser gesättigt. Anschließend wurde das Nassgewicht der Glaszylinder und nach Trocknung bei 105 °C für 48 Stunden das Trockengewicht bestimmt. Die Bestimmung der Wasserhaltekapazität erfolgte in zwei technischen Parallelen pro Probe durch Differenzwägung.

2.2.4 pH-Wert und Leitfähigkeit

2.2.4.1 pH-Wert:

Für die Ermittlung des pH-Wertes der Bodenproben wurden 5 g Boden, in drei technischen Parallelen, in Falcons eingewogen und mit 12,5 ml Calciumchlorid-Lösung [0,1 M] aufgefüllt. Die Suspension wurde nach 24 Stunden geschüttelt und kurz absetzen gelassen, wonach die Messung des pH-Wertes mit einem pH-Meter (Metrohm, Schweiz) erfolgte.

2.2.4.2 Leitfähigkeit:

Die Messung der Leitfähigkeit erfolgte ähnlich wie die Messung des pH-Werts (2.2.4.1) mit dem Unterschied, dass der Boden in a. deion suspendiert wurde. Hierfür wurden 5 g frischer Boden, in drei technischen Parallelen, mit 12,5 ml a. deion in einem Falcon gesättigt. Die Messung erfolgte mit dem Leitfähigkeitsmesser LF330 (WTW, Deutschland).

2.2.5 Ammonium- und Nitratbestimmung

Für die Ammoniumbestimmung wurden 7,5 g frischer Boden mit 30 ml Kaliumchloridlösung [1M] suspendiert. Die Proben wurden für eine Stunde bei 120 rpm geschüttelt und anschließend über Faltenfilter filtriert. Die Bestimmung von Ammoniak basiert auf der modifizierten Berthelot-Reaktion (Schinner et al., 1996). Die Bestimmung von Nitrat (NO_3^-) und Nitrit (NO_2^-) basiert auf eine Cadmium-Reduktion (Schinner et al., 1996). Die Messung erfolgte mittels eines San⁺⁺ continuous flow analyzer (CFA) (Skalar, Niederlande). Alle für die Messung benötigten Reagenzien wurden nach Herstellerangaben hergestellt (Ausgabe 022421/99369674). Anders als vom Hersteller empfohlen wurde die Kaliumchloridlösung für diesen Versuch nicht mit destilliertem Wasser, sondern mit a. deion hergestellt. Für alle verwendeten Reagenzien wurde das Wasser vorher im Ultraschallbad zehn Minuten entgast, um einen ungestörten Durchfluss im Flow-Analyzer zu gewährleisten. Für die Kalibrierung des CFA wurden Gebrauchslösungen von Ammonium und Nitrat mit unterschiedlichen Konzentrationen verwendet, welche aus Stocklösungen (Tab. 2) hergestellt wurden. Die Stocklösungen für Ammonium und Nitrat [jeweils 100 mg N/l] wurden bereitgestellt.

Tab. 2: Herstellung der Standards aus den Stocklösungen (Ammoniumchlorid und Natriumnitrat, jeweils 100 mg C bzw. N/l) für die Ammonium- und Nitrat Bestimmung mittels CFA (Skalar, NL).

Konzentration [mg N/L]	Stocklösung Ammoniumchlorid [ml]	Stocklösung Natriumnitrat [ml]	1 M Kaliumchlorid [ml]
5	5	5	90
2,5	2,5	2,5	95
1	1	1	98
0,5	0,5	0,5	99
0,25	0,25	0,25	99,5
0,1	0,1	0,1	99,8
0,05	0,05	0,05	99,9

2.2.6 Gelöster (organischer) Kohlenstoff und Stickstoff

Der gelöste organische Kohlenstoff umfasst sowohl niedermolekulare Verbindungen wie Zucker, Aminosäuren und organische Säuren, als auch stabile höhermolekulare Moleküle wie Huminstoffe oder aromatische Verbindungen. Der gelöste Stickstoff ist für Pflanzen sofort verfügbar und besteht meist aus Ammonium und Nitrat. Für die Messung des gesamten Kohlenstoffes in der gelösten Fraktion (total carbon, TC) und gelösten Stickstoffs (total nitrogen, TN) wurden 10 g frischer Boden in Erlenmeyerkolben eingewogen. Die Bodenproben wurden mit 40 ml destilliertem Wasser suspendiert und bei 120 rpm für eine Stunde bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach der Inkubation wurden die Proben durch Faltenfilter filtriert und das Filtrat wurde bei 4 °C über Nacht kaltgestellt. Für die Messung am Total organic carbon analyzer CN 828 (TOC-L, Shimadzu, Kyōto) wurden 20 ml des Filtrats verwendet. Zur Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffes wurde die NPOC (=non-purgeable organic carbon)-Methode verwendet (Schinner et al., 1996). Zur C und N- Kalibrierung wurden Standards aus Ammoniumchlorid und Kaliumhydrogenphthalat (Stocklösungen: jeweils 100 mg C oder N/ml) verdünnt (Tab. 3).

Tab. 3: Herstellung der Standards aus den Stocklösungen [C/N] für die Messungen TC/TN und DOC.

Konzentration	Stocklösung [C/N] [ml]	Reinstwasser [ml]
C 100		
C 10	10 ml C 100	90
C 1	10 ml C 10	90
N 100		
N 10	10 ml N 100	90
N 1	10 ml N10	90

2.3 Mikrobielle, Abundanz, Aktivität und Biomasse im bulk soil

2.3.1 Abundanz: Bestimmung der Gesamtkeimzahl – cfu

Die Kultivierung der colony forming units (cfu) erfolgte auf drei verschiedenen Nährmedien (Bodenextrakt-Nährmedium, Sabouraud-Maltose-Agar, Stärke-Nährmedium). Das oligotrophe Bodenextraktmedium, welches das Nährstoffaufkommen im Boden am besten nachstellt, wurde wie Tab. A 1 im Anhang angegeben, hergestellt. Für den benötigten Bodenextrakt wurden 75 g frischer Boden mit 300 ml a. deion versetzt und vier Stunden bei 200 rpm geschüttelt. Nach einer kurzen Absetzphase des Bodens wurde die Suspension durch Faltenfilter filtriert und auf vier Falcons zu je 40 ml aufgeteilt. Das Filtrat wurde 20 Minuten bei 7000 rpm zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand erneut durch einen Faltenfilter filtriert und der Bodenextrakt getrennt vom Medium autoklaviert. Zur Untersuchung von Hefen und Schimmelpilzen diente der Sabouraud-Maltose-Agar (Tab. A 2 im Anhang zeigt die genaue Zusammensetzung). Das Antibiotikum Streptomycinsulfat wurde in sterilem, deionisiertem Wasser gelöst und dem sterilen, abgekühlten Nährmedium durch Sterilfiltration zugesetzt (Endkonzentration 0,25 g/ml). Das Antibiotikum Cycloheximid für das Stärke-Nährmedium (Tab. A 3 Anhang) wurde in 96 % Ethanol gelöst und dem sterilen, abgekühlten Nährmedium direkt zugegeben (Endkonzentration 0,05 g/ml). Für die Kultivierung der Bodenmikroorganismen wurden 0,1 g des auf 2 mm gesiebten frischen Bodens mit 900 µl steriler Ringerlösung verdünnt und gevortext. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe bis 10^{-6} erstellt (Abb. 2). Auf dem Bodenextrakt-Nährmedium wurden die Verdünnungen 10^{-4} , 10^{-5} und 10^{-6} ausplattiert. Auf das Stärke-Nährmedium wurden die Verdünnungen 10^{-2} , 10^{-3} und 10^{-4} und auf den Sabouraud-Maltose-Agar die Verdünnungen 10^{-1} , 10^{-2} und 10^{-3} ausplattiert. Es wurden von allen Verdünnungen 50 µl in jeweils drei technischen Parallelen ausplattiert. Alle Nährmedien wurden bei 25 °C inkubiert. Die Auszählung der cfu erfolgte nach vier Tagen.

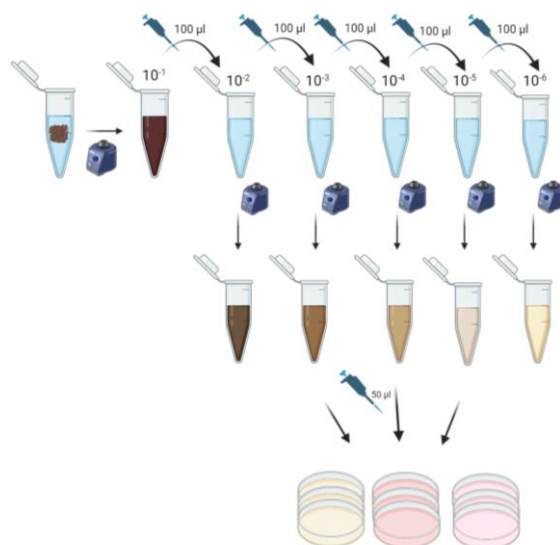


Abb. 2: Flussdiagramm zur Erstellung der Verdünnungsreihe für die Kultivierung der cfu aus dem Boden.

2.3.2 Aktivität: Bestimmung der Basalatemung mittels Infrarot-Gasanalyse

Für die Bestimmung der Basalatemung des Bodens wurde in dieser Arbeit die CO₂-Produktion mittels Infrarot-Gasanalysator ermittelt. Hierfür wurde frischer, gesiebter (2 mm) Boden (50 g Trockensubstanz) eingewogen (Tab. 4). Die bereits im Vorhinein bestimmte Trockensubstanz diente als Grundlage zur Berechnung der Einwaage und finalen Basalatemung. Die Bodenproben wurden in spezielle Messzylinder eingewogen und an die Messanlage EGA60 series (ADC BioScientific Ltd, Großbritannien) angeschlossen. Die Pumpleistung der Messanlage wurde auf 120 ml/min eingestellt. Die Messung des CO₂-Ausstoßes erfolgte für 16 Stunden bei konstanten 22°C.

Tab. 4: Einwaage des Bodens aufgeteilt in die Gerstensorten Pumper und Alpina und deren unterschiedliche Bewässerung. Die Bodenproben Alpina und Pumper „außen“ wurden außerhalb der Überdachung genommen.

Probe	Einwaage Boden frisch [g]
Alpina bewässert	61,94
Alpina unbewässert	55,52
Alpina außen	58,20
Pumper bewässert	61,20
Pumper unbewässert	55,23
Pumper außen	62,64

2.3.3 Mikrobielle Biomasse nach SIR

Das Prinzip der Substrat-induzierten Respiration (SIR) beruht darauf, dass Mikroorganismen bei der Zugabe einer leicht verfügbaren Kohlenstoffquelle, wie beispielsweise Glukose sofort mit einer verstärkten Atmung reagieren. Die dabei freigesetzte CO₂-Menge kann mittels Infrarot-Gasanalyse bestimmt und über einen empirisch ermittelten Zusammenhang (siehe Formel unten) zur mikrobiellen Aktivität bzw. Biomasse in Beziehung gebracht werden. Die Ermittlung der Biomasse der Bodenproben erfolgte nach der Messung der Basalatemung ebenfalls auf dem Infrarot Gasanalysator (EGA60 series, ADC BioScientific Ltd, Großbritannien). Dafür wurde nach 16 Stunden jede Bodenprobe mit 1 % Glukose vermischt und wieder zurück an die Messanlage gehängt. Die Berechnung der mikrobiellen Biomasse anhand des ermittelten CO₂-Ausstoßes erfolgte nach der Formel von (Anderson & Domsch, 1973).

$$b = 40,04x + 0,37$$

b... mikrobielle Biomasse in mg C_{mic} g⁻¹ TS

x... ml CO₂ h⁻¹ g⁻¹ TS

2.4 Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen im Stängel der Gerste

2.4.1 Oberflächensterilisation der Gerstenstängel

Um ausschließlich endophytische Mikroorganismen zu kultivieren, ist eine Sterilisation der Oberfläche des Stängels unumgänglich. Dabei sollten alle an der Oberfläche befindliche Mikroorganismen sowie restliche Bodenpartikel entfernt werden. Für diese Oberflächensterilisation wurden Natriumhypochlorit [2,5 %] und Ethanol [70 %] verwendet und in diversen Vorversuchen in unterschiedlicher Reihenfolge und Einwirkzeit getestet (Variante 1-4, Tab. 5). Die Stängel wurden in der Länge klein geschnitten und unter fließendem Leitungswasser gewaschen. Anschließend wurden die Stängel in sterilen Falcons oberflächensterilisiert. Beim letzten Waschschrift wurden 100 µl des Waschwassers auf das TSA-Nährmedien ausplattiert und für fünf Tage bei 25 °C inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte die Zählung der cfu (colony forming units) aus dem Waschwasser, um den Erfolg des Sterilisationsverfahrens zu überprüfen.

Tab. 5: Verschiedene Varianten zum Versuch der Oberflächensterilisation des Stängels der Gersten.

Lösungen	Varianten (V)			
	V1 [min]	V2 [min]	V3 [min]	V4 [min]
EtOH [70 %]	0,1	1	0,1	0,1
NaCl [2,5 %]	0,1	4	0,3	3
EtOH [70 %]	-	1	0,1	-
Waschschritte mit a. deion	3	6	10	3

2.4.2 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion der gemörserten und oberflächensterilisierten Stängel erfolgte mittels NucleoSpin Soil Kit (Machery-Nagel, Deutschland). Die Extraktion erfolgte nach Herstelleranleitung (07/2014). Für die Probenvorbereitung wurden 700 µl des SL1 Puffer verwendet. Für den Zellaufschluss wurde der FastPrep-24/5 (MP Biomedicals Germany GmbH, Deutschland) verwendet. Beim 4. Schritt wurde die Inkubation bei 4 °C auf 10 Minuten verlängert. Die DNA wurde mit 2x 15 µl SE Buffer eluiert.

2.4.3 Fluorometrische DNA-Quantifizierung

Die Bestimmung der DNA-Konzentration erfolgte mittels QuantiFluor® (Promega, USA). Hierfür wurde eine Gebrauchslösung wie vom Hersteller angegeben hergestellt (pro Probe: 0,5 µl DNA dsDye + 197,5 µl 1xTE-Puffer). Für die Messung wurden anschließend 2 µl der Probe mit 198 µl der Gebrauchslösung in ein 0,5 ml PCR-Reaktionsgefäß pipettiert und für zwei Minuten inkubiert. Anschließend erfolgte die Messung der dsDNA über den Fluoreszenz-Farbstoff. Die Menge an genomischer DNA in der Probe wird in µg DNA g⁻¹ TS angegeben

2.4.4 Endpunkt-PCR

Für die Vervielfältigung der DNA im Anschluss an die DNA-Extraktion wurde ein Mastermix mit den Primern für Bakterien 338f und 518r (Winkler et al., 2018) hergestellt (Tab. A 4 im Anhang). Als Polymerase wurde eine RedTaq Polymerase (VWR, Deutschland) verwendet. Für die Vervielfältigung der extrahierten DNA aus dem Stängel wurde das Temperaturprofil aus Tab. 6 verwendet.

Tab. 6: Temperaturprofil für die Vervielfältigung der extrahierten DNA aus dem Stängel der Gerste

Temperatur [°C]	Zeit [min]	
95	5	
95	0:30	35 Zyklen
56	0:30	
72	0:45	
72	7	
4	∞	

2.5 Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste

2.5.1 Vorversuche zur Oberflächensterilisation von Wurzeln

Für die Vorversuche zur Oberflächensterilisation wurde der Test-Boden aus Imst gesiebt und die im Sieb verbliebenen Wurzeln verwendet. Um die an den Wurzeln anhaftenden Bodenpartikel zu entfernen, wurden die Wurzeln unter fließendem Wasser gewaschen. Danach wurden die Wurzeln auf Zellstoff gelegt, kurz getrocknet und gewogen. Im Anschluss erfolgte die Oberflächensterilisation. Dazu wurden verschiedene Varianten (Tab. 7) ausgetestet und in Abhängigkeit von der verbleibenden Keimbelastung im Waschwasser modifiziert. Hauptsächlich wurden dabei die Inkubationszeiten der Pflanzenteile in den Lösungen (Natriumhypochlorit, Ethanol) verändert.

Tab. 7: Verschiedene Varianten zur Oberflächensterilisation der Wurzeln

Behandlungen	Varianten [V] in Min.			
	V1	V2	V3	V4
Überkopfschüttler	x	x	x	10
Ultraschallbad	x	x	2	0,2
EtOH [96 %]	x	x	0,2	0,2
EtOH [70 %]	1	1,5	2	2
NaCl [2,5 %]	4	6	10	10
EtOH [70 %]	1	1,5	2	2
Waschschritte mit a. deion	6	4	4	4

2.5.2 Nährmedientest zur Kultivierung endophytischer Mikroorganismen

Um herauszufinden welches Nährmedium für die Kultivierung der Endophyten aus den Wurzeln der Gerste sehr geeignet ist, wurden insgesamt sechs verschiedene Nährmedien getestet (Tab. 8). Die Nährmedien (869 und Casein-Stärke-Nährmedium) wurden nach Eevers et al. (2015) hergestellt (Eevers et al., 2015). Tryptic-Soy Agar (TSA) wurde aus einem Fertignährmedium (Sigma-Aldrich) hergestellt, wobei zusätzlich 10 g/l Agar zugegeben wurde. Der angeführte Pflanzenextrakt wurde aus 4,681 g Pflanzenmaterial (Stängel und Blatt) suspendiert in 40 ml MgSO_4^{2-} [0,1M] hergestellt. Die Suspension wurde mehrmals für jeweils eine Minute mit 8000 bis 20500 Umdrehungen pro Minute mittels UltraTurrax (DIAX 500, Heidolph, Deutschland) homogenisiert und zwischendurch zur Verhinderung einer (zu starken) Erwärmung auf Eis gelegt. Dieses Prozedere wurde wiederholt, bis eine homogene Flüssigkeit entstand. Der Pflanzenextrakt wurde zum Abtrennen der restlichen

Pflanzenteile für fünf Minuten bei 8000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde durch angefeuchtete Faltenfilter filtriert und in ein neues Falcon überführt. Das Filtrat wurde erneut für fünf Minuten bei 8000 g zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde erneut durch angefeuchtete Faltenfilter filtriert und vor dem Autoklavieren dem Nährmedium [20 ml/l] zugegeben.

Tab. 8: Getestete Nährmedien für die Kultivierung von Endophyten jeweils mit (✓) und ohne (x) Pflanzenextrakt. Die Inhaltsstoffe der Nährmedien zeigen die Tabellen A 6,7,8 im Anhang.

Nährmedium	Pflanzenextrakt
869	✓
TSA	✓
Casein-Stärke	✓
869	x
TSA	x
Casein-Stärke	x

2.5.3 Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen – cfu

Um die Abundanz der kultivierbaren Mikroorganismen aus den oberflächensterilen Wurzeln zu bestimmen, wurden zwei verschiedene Nährmedien (TSA; Casein-Stärke-Medium) jeweils ohne Pflanzenextrakt verwendet. Die Auswahl der Medien resultierte aus den Ergebnissen aus 2.5.2. Die oberflächensterilen Wurzeln wurden mit 2,5 ml Ringerlösung gemörsert. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-4} erstellt. 50 μ l der Verdünnungsstufen 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} wurden auf TSA und Casein-Stärke-Medium in drei Parallelen ausplattiert und bei 25 °C für fünf Tage inkubiert.

2.5.4 Molekularbiologische Tests zur mikrobiellen Abundanz und Diversität

2.5.4.1 DNA-Extraktion – Austesten von DNA-Extraktionskits, Quantifizierung (ddPCR) und Amplicon-Sequenzierung (Illumina NovaSeq)

Um bei der anschließenden Amplicon-Sequenzierung von Prokaryoten und Pilzen die besten Ergebnisse im Hinblick auf die Diversität der Endophyten zu erzielen, wurden unterschiedlich behandelte Proben mit drei verschiedenen DNA-Extraktionskits extrahiert (Tab. 9). Tab. 10 zeigt die verwendeten Testkits und die Anleitungen, nach welchen die Extraktion durchgeführt wurde. Es wurde genau nach Herstelleranleitung gearbeitet, Abweichungen beim Extraktionskit NucleoSpin Soil werden in 2.4.2 genau beschrieben. Für die Homogenisierung der Proben wurden bei den Extraktionskits DNeasy Plant Pro (Qiagen) und NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel) der FastPrep-24/5 (MP Biomedicals Germany GmbH, Deutschland) verwendet. Bei dem Extraktionskit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) wurden die Proben bei Schritt 2 a für fünf Minuten bei 11000 g zentrifugiert. Die Quantifizierung der extrahierten DNA erfolgte wie in 2.4.3 beschrieben.

Tab. 9: DNA-Extraktion aus Wurzeln/Stängel der Gerstensorten Pumper und Alpina mittels unterschiedlicher DNA-Extraktionskits. Die Gerstensorten wurden vor der Extraktion unterschiedlich behandelt (siehe Spalte Behandlung).

Nr.	Gerstensorte	Bewässerung	Behandlung	Extraktionskit	Firma
1	Pumper (Wurzel)	unbewässert	gemörsert	NucleoSpin Plant II	Macherey-Nagel
2	Pumper (Wurzel)	unbewässert	N ₂	NucleoSpin Plant II	Macherey-Nagel
3	Alpina (Wurzel)	bewässert	ganze Wurzel	DNeasy Plant Pro	Qiagen
4	Pumper (Wurzel)	unbewässert	gemörsert	DNeasy Plant Pro	Qiagen
5	Alpina (Stängel)	außerhalb der Überdachung	gemörsert	NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel
6	Alpina (Stängel)	bewässert	gemörsert	NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel
7	Pumper (Wurzel)	unbewässert	gemörsert	NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel

Tab. 10: Verschiedene Extraktionskits inkl. Information zur Ausgabe der Anleitungen für die DNA-Extraktion

Testkit	Firma	Version Anleitung
NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel	07/2014
DNeasy Plant Pro	Qiagen	08/2019
NucleoSpin Plant II	Macherey-Nagel	05/2021

2.5.4.2 Digital-droplet PCR

Die molekularbiologische Quantifizierung der Abundanz endophytischer Bakterien erfolgte mittels Digitaler-droplet PCR (ddPCR) (Biorad, Deutschland). Die extrahierte DNA wurde 1:10 verdünnt und als DNA-Template im Mastermix (Tab. A 5 im Anhang) pipettiert. Als Polymerase wurde der EvaGreen Supermix (Biorad, Deutschland) verwendet und als Primer für die Quantifizierung von Bakterien wurden 338f und 518r (Praeg et al., 2021) verwendet. Als Positivkontrolle diente *Bacillus subtilis*, als Negativkontrolle steriles, deionisiertes Wasser. Am automatischen Droplet-Generator (Auto-DG, Biorad, Deutschland) wurde aus einer Wasser-Öl Emulsion jede Probe in rund 20000 Tröpfchen partitioniert. In der nachfolgenden PCR-Reaktion am Thermocycler T100 (Biorad, Deutschland) findet in jedem einzelnen dieser Tröpfchen eine eigene PCR-Amplifikation statt. Tab. 11 zeigt das verwendete Temperaturprofil für die ddPCR. Das Auslesen der Signale erfolgte am ddPCR-Reader (Biorad, Deutschland). Zur Quantifizierung wurden die extrahierten Proben aus 2.5.4.1 verwendet. Die Proben wurden je nach DNA-Konzentration unverdünnt, 1:10, 1:100 oder 1:1000 verdünnt verwendet. Als Positivkontrolle wurde *Bacillus subtilis* verwendet. Als Negativkontrolle diente steriles PCR-Wasser. Aus dem Waschwasser, aus dem unbehandelten und oberflächensterilisierten Stängel aus 2.4.2 wurde die bakterielle Abundanz ebenfalls mittels ddPCR quantifiziert. Auf die Ergebnisse der ddPCR der Endophyten aus dem Stängel (oberflächensterilisiert/unsteril) und aus dem Waschwasser wird in dieser Arbeit nicht weiter eingegangen.

Tab. 11: Temperaturprofil der ddPCR zur Amplifikation von Bakterien in den oberflächensterilen Wurzeln/Stängel der Gerste

Temperatur [°C]	Zeit [min]	Ramp [°C/s]	
95	5		
95	0:30	1,5	40 Zyklen
58	0:30	1,5	
72	01:00	1,5	
4	5		
90	5		
12	∞		

2.5.4.3 Endpunkt-PCR

Für die Vervielfältigung der DNA im Anschluss an die DNA-Extraktion wurde ein Mastermix mit den Primerpaar für Bakterien 338f und 518r (Winkler et al., 2018) hergestellt (Tab. A 4 im Anhang). Als Polymerase wurde eine RedTaq Polymerase (VWR, Deutschland) verwendet. Die PCR wurde mit 30 und 35 Zyklen angesetzt (Tab. 12).

Tab. 12: Temperaturprofil der Endpunkt-PCR zur Amplifikation von Bakterien.

Temperatur [°C]	Zeit [min]	
95	5	
95	0:30	30/35 Zyklen
56	0:30	
72	0:45	
72	7	
4	∞	

2.5.4.4 Vorversuch zur Amplicon-Sequenzierung

Um die unterschiedlichen DNA-Extraktionskits auch auf Basis der erzielten mikrobiellen Diversität zu beurteilen, wurden die DNA-Extrakte mit den Primern 799f-1193r (Beckers et al., 2016; Bodenhausen et al., 2013; Chelius & Triplett, 2001) amplifiziert, um damit die endophytischen Bakterien abzudecken, und mit einer Illumina NovaSeq Plattform (250 bp, paired-end) extern sequenziert (Novogene, UK). Die mit dem Primerpaar abgedeckte Region umschließt die hypervariablen Regionen V5-V7 der 16S rDNA von Prokaryoten.

2.6 Kultivierung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste

2.6.1 Finales Protokoll zur Oberflächensterilisation der Gerstenwurzeln

Die Oberflächensterilisation aus 2.5.1 wurde für die finale Anwendung erneut modifiziert. Die Wurzeln wurden anfangs noch gründlicher mit sterilem a. deion gewaschen. Nach der Oberflächensterilisation erfolgten fünf Waschschrte, wobei der fünfte Waschschrte zur Kontrolle auf TSA ausplattiert wurde. Die Vorgehensweise ist in Abb. 3 dargestellt und in Tab. A 9 im Anhang detailliert beschrieben.

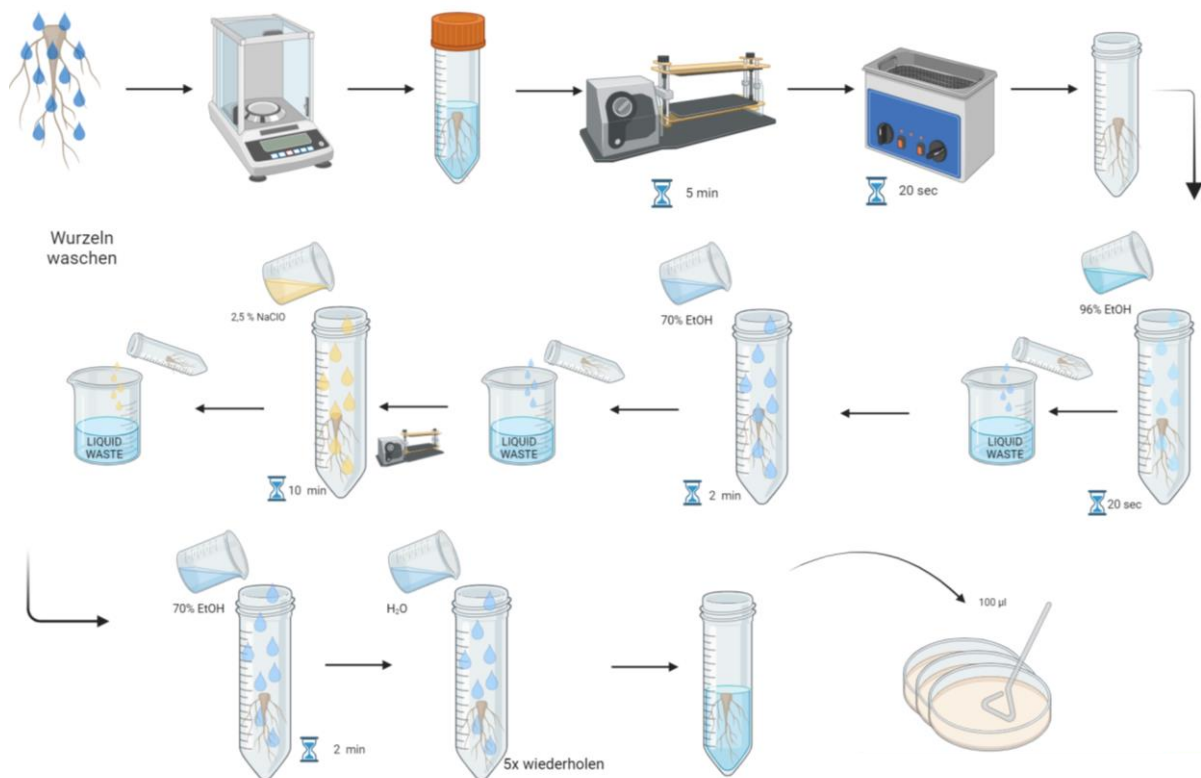


Abb. 3: Schematische Darstellung der Oberflächensterilisation der Wurzeln der Gerste.

2.6.2 Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen – cfu

Für die Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen aus der Wurzel wurden zwei verschiedene Nährmedien (TSA und Casein-Stärke-Nährmedium jeweils ohne Pflanzenextrakt) verwendet (Tab. A 7 und 8 im Anhang). Nach der erfolgreichen Oberflächensterilisation (Kontrolle durch Washwasserplatten) wurde die sterilen Wurzeln mit Ringerlösung verdünnt (0,125 g Wurzeln + 0,25 ml Ringerlösung) und gemörsert (Abb. 4). Die erhaltene homogene Lösung wurde in zwei Eppendorfgefäße aliquotiert (je 1 ml). Ein Gefäß mit den gemörserten Wurzeln wurde bei -20 °C eingefroren, aus dem anderen wurde eine Verdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-3} erstellt. 50 µl aller Verdünnungsstufen wurden jeweils auf die Nährmedien TSA und Casein-Stärke in drei technischen Parallelen ausplattiert und bei 25 °C inkubiert. Die Auszählung der cfu erfolgte nach drei und nach fünf Tagen.

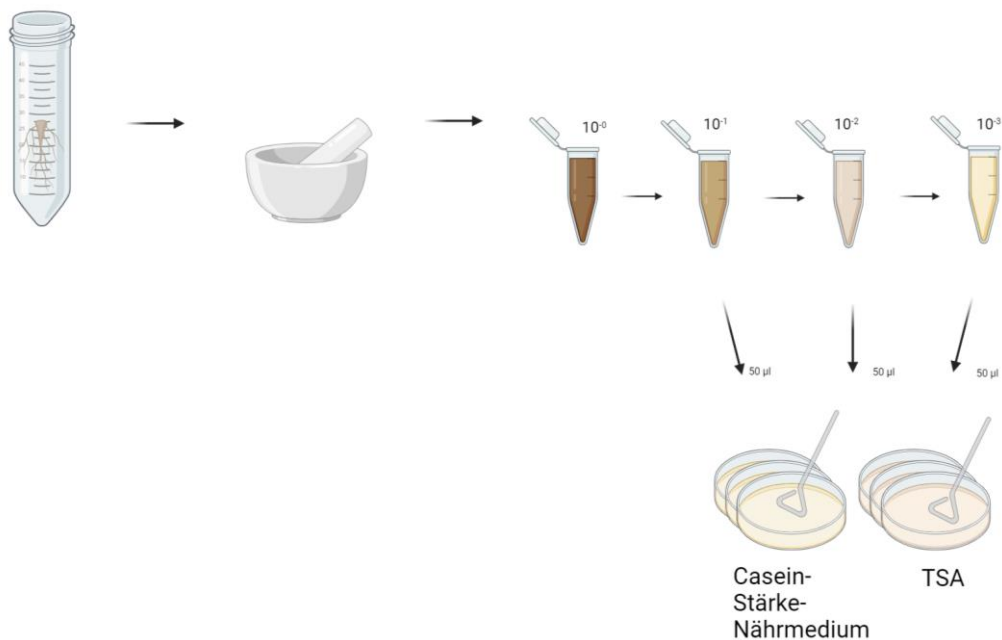


Abb. 4: Schematische Darstellung zur Erstellung der Verdünnungsreihe der gemörserten Wurzel und anschließende Kultivierung auf TSA und Casein-Stärke-Nährmedium.

2.6.3 Molekularbiologische Charakterisierung der isolierten Endophyten - Colony-PCR und Sanger-Sequenzierung für Bacteria und Fungi

Die Identifikation der kultivierbaren, endophytischen Mikroorganismen erfolgte mittels colony PCR und anschließender Sanger-Sequenzierung. Dafür wurden die einzelnen Kolonien des cfu-Ansatzes (2.6.2) mittels 3-Ösen-Ausstrich in Reinkultur gebracht und für fünf Tage bei 25 °C kultiviert. Die Auswahl der Kolonien erfolgte makroskopisch nach morphologischen Merkmalen. Es wurde ein Mastermix mit den Primern für Bakterien 27f-1492r (Dojka et al., 1998; Lane, 1991) und für Pilze ITS3-ITS4 (White et al., 1990) hergestellt. Aus den gewonnenen Isolaten wurde mit einer 1 µl Einweg-Impföse eine einzelne Kolonie entnommen und in ein vorbereitetes, mit Mastermix (Tab. A 10 und A 11 im Anhang) gefülltes PCR-Reaktionsgefäß getaucht. Das entnommene Material wurde durch mehrmaliges Drehen der Impföse im Mastermix gelöst. Anschließend erfolgte die Amplifikation der Isolate (Bakterien- und Pilz-PCR, Tab. 13 und 14). Die PCR-Produkte wurden anschließend auf ein 2%iges Agarosegel (Tab. A 12 im Anhang) aufgetragen und bei 100 Watt 20 Minuten durch das Gel laufen gelassen. Bei Proben, welche keine eindeutige Bande auf dem Agarosegel zeigten, wurde erneut Biomasse von der Originalplatte entnommen, in ein PCR-Reaktionsgefäß (mit Mastermix) getaucht und anschließend amplifiziert und das PCR-Produkt mittels Agarosegel überprüft. Sechs Proben, die nach mehrmaliger Wiederholung der colony-PCR keine Amplifikationsprodukte (Banden) im Agarosegel zeigten, wurden in ein Flüssigmedium überimpft. Dazu wurden 20 ml TSA-Flüssigmedium (wurde bereitgestellt) in einem sterilen Erlenmeyerkolben gefüllt und mit einer sterilen 1 µl Einmal-Impföse eine Kolonie gelöst. Diese Suspension wurde anschließend bei 20 °C und 120 rpm schüttelnd inkubiert. Nach 24 Stunden wurde 1 ml der Suspension in ein Aufschlussgefäß des DNA-Extraktionskits (NucleoSpin Soil, Macherey-Nagel) pipettiert und für zehn Minuten bei 14000 g zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden 700 µl abpipettiert und für die anschließende DNA-Extraktion laut Herstelleranleitung verwendet. Folgende Abweichungen vom Protokoll wurden dabei vorgenommen: vom Enhancer wurden 100 µl verwendet, außerdem wurde die Inkubationszeit (4 °C) bei Schritt 6 auf 10 Minuten verlängert. Nach der DNA-Extraktion wurde der DNA-Gehalt der Proben mittels Nanodrop (Thermo Scientific, USA) bestimmt. Die Proben wurden verdünnt, sodass der DNA-Gehalt für die PCR bei ca. 5 ng/µl betrug. Im Anschluss wurde 1 µl der DNA-Extrakte in PCR-Reaktionsgefäße mit Mastermix pipettiert und die PCR durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden auf ein 2%iges Agarosegel (Tab. A 12 im Anhang) aufgetragen. Alle Proben wurden im Anschluss nach Protokoll (PCR-Aufreinigungskit, SLG Deutschland) aufgereinigt und an eine externe Firma (Microsynth, Schweiz) zur Sanger-Sequenzierung geschickt. Nach der Qualitätskontrolle der erhaltenen Chromatogramme, wurden die Sequenzdaten mittels NCBI-BLAST ausgewertet und die Arten bestimmt.

Tab. 13: Temperaturprofil der colony-PCR für Bakterien

Temperatur [°C]	Zeit [min]	
95	5	
95	0:30	30 Zyklen
56	0:30	
72	0:45	
72	10	
12	∞	

Tab. 14: Temperaturprofil der colony-PCR für Pilze

Temperatur [°C]	Zeit [min]	
94	10	
95	01:00	35 Zyklen
56	01:00	
72	01:00	
72	10	
12	∞	

2.6.4 DNA-Extraktion & Amplicon-Sequenzierung zur metataxonomischen Beschreibung der bakteriellen und pilzlichen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln

Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte mittels DNeasy Plant Pro Kit (Qiagen, Düsseldorf) aus dem gemörsterten Wurzelmaterial. Hierfür wurde 1 ml des aufgetauten gemörsterten Materials in ein Aufschlussgefäß pipettiert und zehn Minuten bei 14000 g zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand entfernt und die Extraktion laut Herstelleranleitung (DNeasy Plant Pro Kit Handbook, August 2019) durchgeführt. Für die Homogenisierung der Probe wurde der FastPrep-24/5 (MP Biomedicals Germany GmbH, Deutschland) verwendet, dabei wurden die Proben bei 6 m/sec für 40 Sekunden homogenisiert. Nach der DNA-Extraktion erfolgte die Messung der DNA-Konzentration, wie in 2.4.3 beschrieben. Die Proben wurden nach der Messung bei -20 °C eingefroren. Zu einem späteren Zeitpunkt wurden die Proben verdünnt und gepoolt (Tab. A 13 im Anhang). Die gepoolten Proben wurden an eine externe Firma (Novogene, UK) für die Amplicon-Sequenzierung (Illumina NovaSeq, 250 bp paired-end) von Prokaryoten und Pilzen weitergeleitet. Die library-Herstellung für Prokaryoten wurde mittels Primerpaar 341f-806r (Caporaso et al., 2011; Muyzer et al., 1993) erstellt, welche die hypervariablen Regionen V3-V4 der 16S rDNA abdeckt (Länge ca. 470 bp). Für Pilze wurde mit dem Primerpaar ITS3(2024F)-ITS4(2409) (White et al., 1990) die ITS2 Region (Länge ca. 380 bp) amplifiziert.

2.7 Amplicon-Datenauswertung und statistische Datenanalyse

Die statistische Auswertung der Ergebnisse sowie deren grafische Darstellung der Bodendaten erfolgte mit dem Statistikprogramm Statistica 13 (TIBCO Statistica®) und Excel (Microsoft Office 365). Die Ergebnisse werden, wenn nicht anders angegeben, als Boxplots (Median, Quartile 25 (Non-Outlier Min)-75 % (Non-Outlier Max), Whiskers=Interquartile Range) dargestellt. Mittels mehrfaktorieller ANOVA und anschließendem Tukey-HSD Test wurden signifikante Unterschiede berechnet. Die Unterschiede zwischen beiden Pflanzenarten außerhalb der Überdachung (Insert in den Grafiken) wurden mit einem t-test ermittelt. Zur Beurteilung signifikanter Unterschiede betrug das Signifikanzniveau 0,05 ($p < 0,05$). Bei ausgewählten Parametern wurden auch grafischen Darstellungen aus der mehrfaktoriellen ANOVA oder Microsoft Excel verwendet.

Die Illumina-sequenzierten paired-end fastq-Dateien (Pilze und Prokaryoten), die nach Proben aufgeteilt/demultiplexed und aus denen die Barcodes, Adapter und Primer entfernt wurden, wurden mittels DADA2-Pipeline (Callahan et al., 2016) zur Erstellung der taxonomischen Einheiten „ASVs“ (=amplicon sequence variants) verwendet. Die fw und rv reads wurden mittels folgender Filterschritten auf Qualität und Länge geprüft und gefiltert:

```
out <- filterAndTrim(fnFs, filtFs, fnRs, filtRs, truncLen = c(200, 200), maxN = 0, maxEE = c(2,2), truncQ = 2, rm.phix = TRUE, compress = TRUE, verbose=TRUE, multithread = FALSE)
```

DADA2 leitet in weiterer Folge exakte Amplikonsequenzvarianten (ASVs) aus Amplicondaten ab und löst biologische Unterschiede von nur 1 oder 2 Nukleotiden auf. Der DADA2-Algorithmus verwendet ein parametrisches Fehlermodell (*err*), und jeder Amplikon-Datensatz hat einen anderen Satz von Fehlerraten. Die *learnErrors*-Methode lernt dieses Fehlermodell aus den Daten, indem sie abwechselnd die Fehlerraten schätzt und auf die Zusammensetzung der Proben schließt, bis sie zu einer gemeinsamen konsistenten Lösung konvergieren. Eine Anpassung des Fehlermodells an den Output von NovaSeq (Fehlermodell ist adaptiert für MiSeq-Plattformen) wurden wie folgt durchgeführt:

```
errF <- learnErrors(filtFs, nbases = 1e8, multithread = TRUE)
make.monotone.decreasing <- function(v) sapply(seq_along(v), function(i)
max(v[i:length(v)]))
errF.md <- t(apply(getErrors(errF), 1, make.monotone.decreasing))
errR <- learnErrors(filtRs, nbases = 1e8, multithread = TRUE)
make.monotone.decreasing <- function(v) sapply(seq_along(v), function(i)
max(v[i:length(v)]))
errR.md <- t(apply(getErrors(errR), 1, make.monotone.decreasing))
```

Den ASVs der 16S- und ITS-Amplikonsequenzierung wurde mittels naiver Bayes Klassifizierungsmethode die Taxonomie zugeordnet. Für Prokaryoten wurde dafür die Silva-Datenbank (version 138.1) (McLaren & Callahan, 2021) und für Pilze die UNITE ITS Datenbank (version 8.3) (Abarenkov et al., 2021) verwendet. Die erhaltenen ASV-Tabellen wurden in R (R-Core-Team, 2018) mittels *phyloseq* (McMurdie & Holmes, 2013) von rare ASVs bereinigt (sample-wise, threshold 0,01 % der relativen Abundanzen pro Library und >5 reads pro library) und mittels *decontam* package (Davis et al., 2018) von potenziellen Kontaminationen befreit. Mittels der packages *phyloseq* (McMurdie & Holmes, 2013), *microeco* (Liu et al., 2021) und *ggplot2* (Wickham, 2016) wurde die Gemeinschaften und Diversitäten der Prokaryoten und Pilze dargestellt und letztere in Form von Indizes (Observed, Shannon, Simpson) beschrieben. Signifikante Unterschiede in der Diversität in Abhängigkeit vom Wasserregime und Pflanzensorte wurde mittels one-way Anova und anschließenden Tukey-HSD ermittelt ($p < 0.05$).

3 Ergebnisse

3.1 Physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens

3.1.1 Prozentuellen Trockensubstanz

Die prozentuelle Trockensubstanz (TS) des temporär unter Dürre stehenden Bodens (unbewässert) im Feld der angebauten Gerstensorte Alpina lag bei 89 %, während bei der gleichen Gerstensorte die Bewässerung zu einer Reduktion der Trockensubstanz auf 80 % führte (Abb. 5). Vergleichbar ist das Ergebnis im Boden der angebauten Pumpergerste, da hier die prozentuelle Trockensubstanz der unbewässerten Felder bei 90 % lag und die der bewässerten Variante bei 82 %. In den Feldern beider Getreidesorten konnte die Bewässerung daher einen signifikanten Effekt hervorrufen. Die prozentuelle Trockensubstanz der außerhalb der Überdachung genommenen Bodenproben glich mit 80 % denen der bewässerten Varianten innerhalb der Überdachung und bestätigte somit richtige Berechnung und Dosierung der Wassermenge.

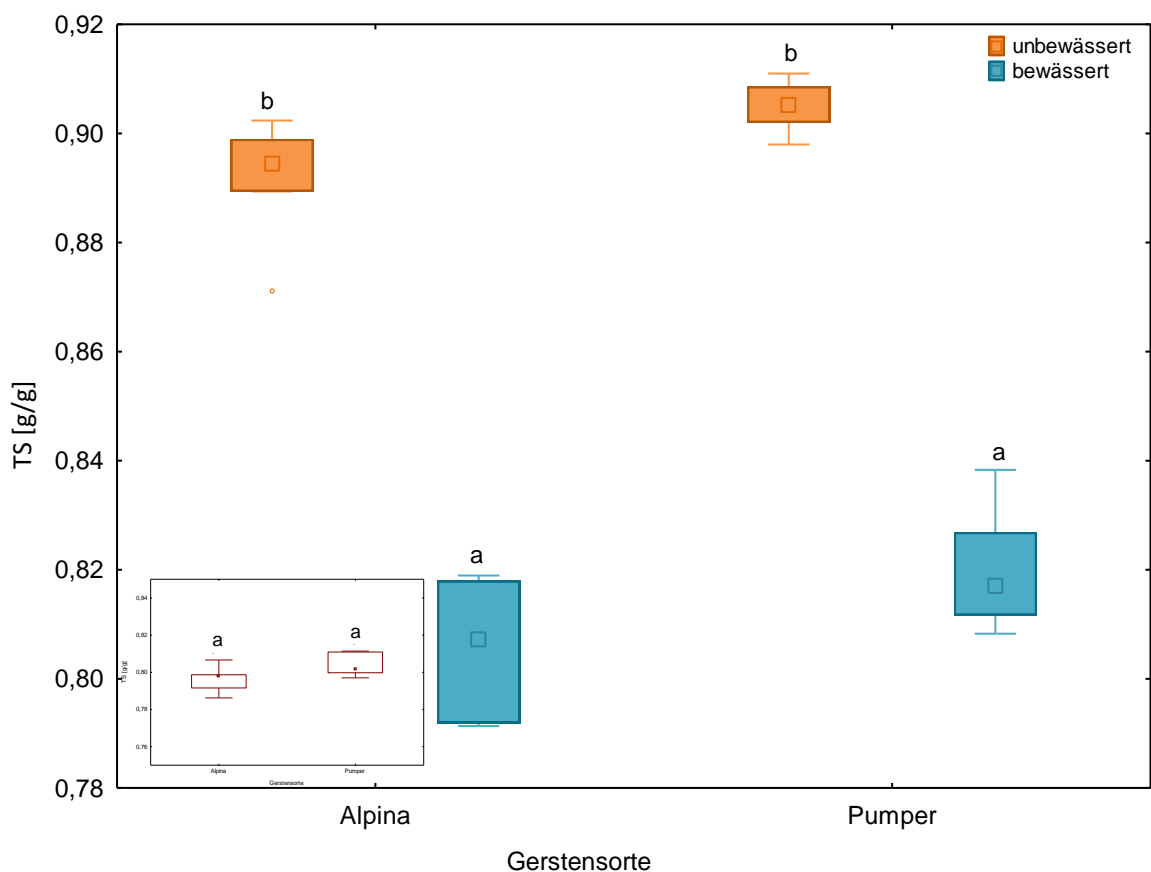


Abb. 5: Trockensubstanz [TS g/g] des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot der Trockensubstanz des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.2 Organische Substanz – Glühverlust

Die temporär hervorgerufene Dürre führte zu keiner signifikanten Veränderung des Gehalts an organischer Substanz (Abb. 6). Durchschnittlich lag die organische Substanz bei einem Gehalt von 0,06 g/g TS. Der geringste Gehalt an organischer Substanz konnte in der Bodenprobe Alpina unbewässert mit 0,055 g/g TS dokumentiert werden. Weder die Bewässerung noch die Gerstensorte hatten einen signifikanten Effekt auf die organische Substanz. Den höchsten Gehalt an organischer Substanz konnten die außerhalb der Überdachung genommenen Bodenproben beider Gerstensorten mit 0,064 g/g TS aufweisen (Abb. 6).

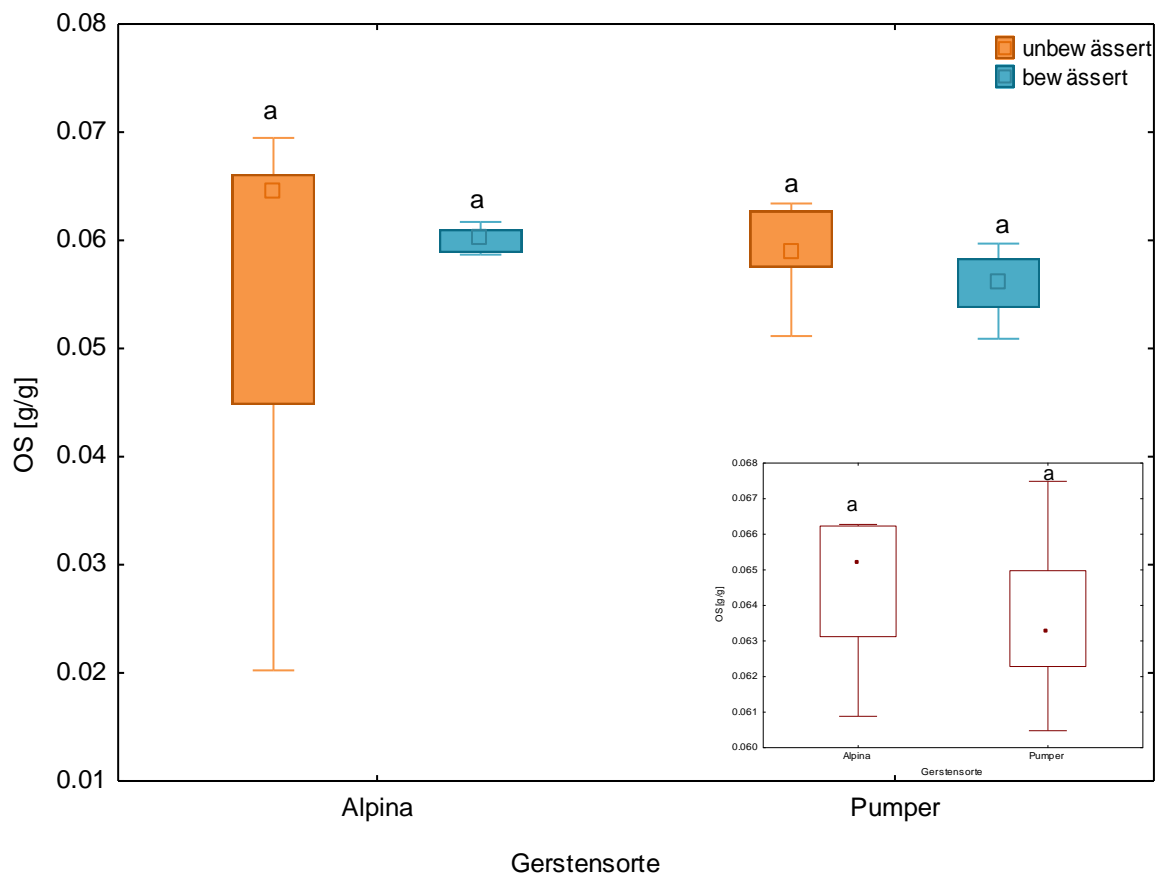


Abb. 6: Organische Substanz (OS) [g/g TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik rechts unten handelt es sich um einen Boxplot der organischen Substanz des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.3 Maximale Wasserhaltefähigkeit

Die applizierte Dürre führte zu einem sortenspezifischen Einfluss auf die maximale Wasserhaltekapazität des Bodens (Abb. 7). Der bewässerte Boden der Pumpergerste hatte mit 0,53 g H₂O/ g TS die geringste maximale Wasserhaltekapazität. Dahingegen konnte der unbewässerte Boden derselben Gerstensorten eine maximale Wasserhaltekapazität von 0,56 g H₂O/g TS aufweisen. Die unterschiedliche Bewässerung des Bodens der Pumpergerste zeigte somit einen signifikanten Effekt auf die maximale Wasserhaltekapazität (Abb. 7). Bei den unbewässerten Bodenproben der Gerstensorte Alpina zeigten sich zwischen den Bewässerungsvarianten keine signifikanten Unterschiede. Hierbei lag die maximale Wasserhaltekapazität des bewässerten Bodens bei 0,54 g H₂O/g TS und die unbewässerte bei 0,55 g H₂O/g TS (Abb. 7). Die Wasserhaltekapazitäten deckten sich mit den Kontrollwerten außerhalb der Überdachung (Insert).

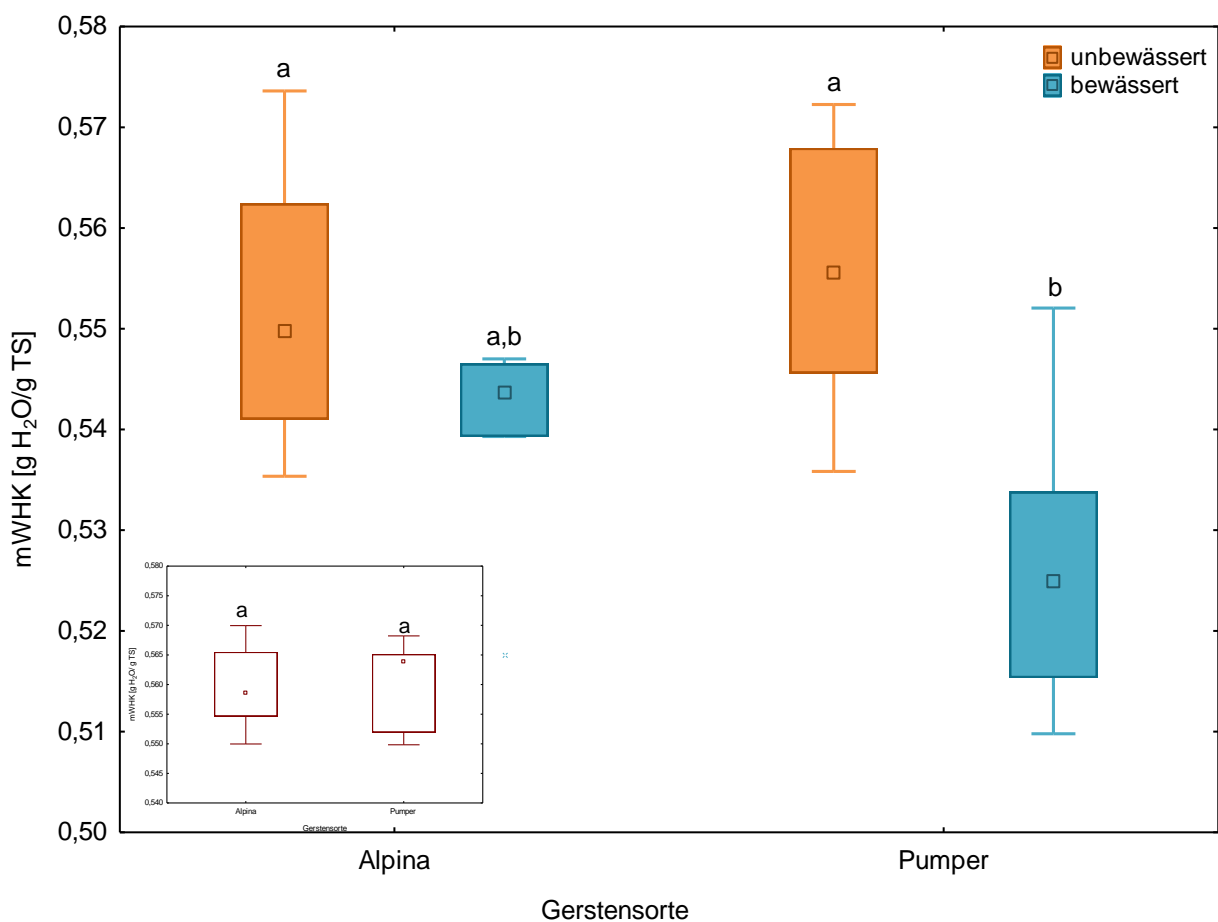


Abb. 7: Maximale Wasserhaltefähigkeit [g H₂O/g TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot der maximalen Wasserhaltefähigkeit des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.4 pH-Wert und Leitfähigkeit

3.1.4.1 pH-Wert

Die gezielte Wasserlimitierung führte bei allen Bodenproben, unabhängig von der angebauten Gerstensorte, zu einer signifikanten Reduktion des pH-Wertes (Abb. 8). So wies der Boden bei geringer Bewässerung (=Dürre) einen pH-Wert von 7,04 (Gerstensorte Alpina) auf. Dieser unterschied sich signifikant vom bewässerten Boden derselben Gerstensorte (7,19). Bei der Pumpergerste zeigte der unbewässerte Boden ebenfalls einen signifikant niedrigeren pH-Wert (7,04) als bei der bewässerten Variante (7,15). Die Bodenproben außerhalb der Überdachung glichen dem pH-Wert der unbewässerten überdachten Bodenproben (Abb. 8, Insert).

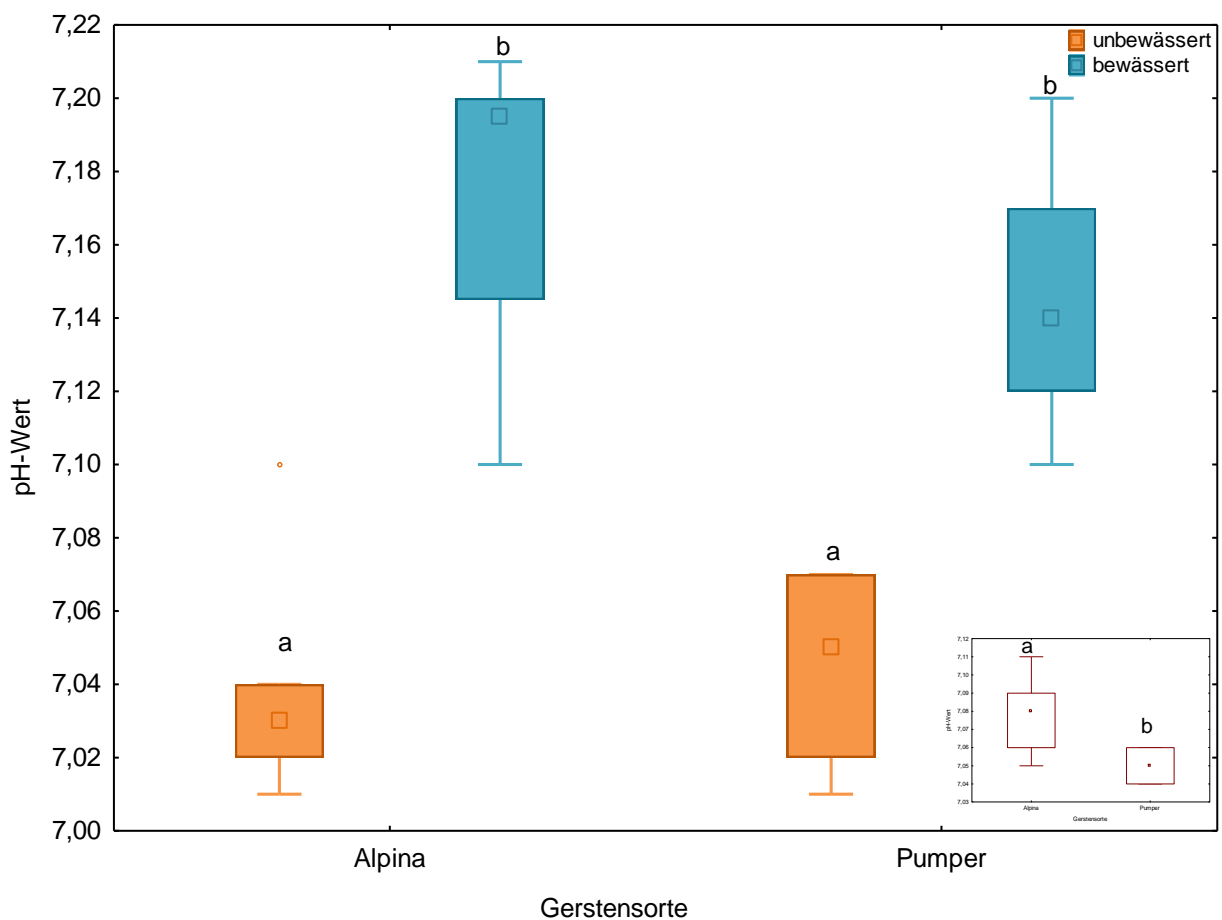


Abb. 8: pH-Wert ($-\log H^+$) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik rechts unten handelt es sich um einen Boxplot zum pH-Wert des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.4.2 Leitfähigkeit

Die elektrische Leitfähigkeit des Bodens veränderte sich je nach Anbau der Gerstensorte (Abb. 9). Das konnte sowohl für die Felder innerhalb der Überdachung als auch für die Bodenproben außerhalb der Überdachung nachgewiesen werden (Abb. 9 inkl. Insert). Somit zeigte die Bewässerung keinen Einfluss auf die Leitfähigkeit des Bodens bei der Gerstensorte Pumper, während bei der Sorte Alpina die Leitfähigkeit grundsätzlich höher lag und zudem signifikant erhöht war, wenn eine Dürre vorlag. Der unbewässerte Boden der Gerstensorte Alpina unterschied sich mit einer Leitfähigkeit von 125 $\mu\text{S}/\text{cm}$ signifikant vom unbewässerten Boden der Pumpergerste (104 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Bei der Pumpergerste ließ sich kein signifikanter Unterschied in der Leitfähigkeit zwischen den beiden Behandlungen (unbewässert/bewässert) belegen. Die außerhalb der Überdachung genommenen Bodenproben der Gerstensorte Alpina wiesen, wie innerhalb der Überdachung, eine höhere Leitfähigkeit im Vergleich zur Gerstensorte Pumper auf (Abb. 9).

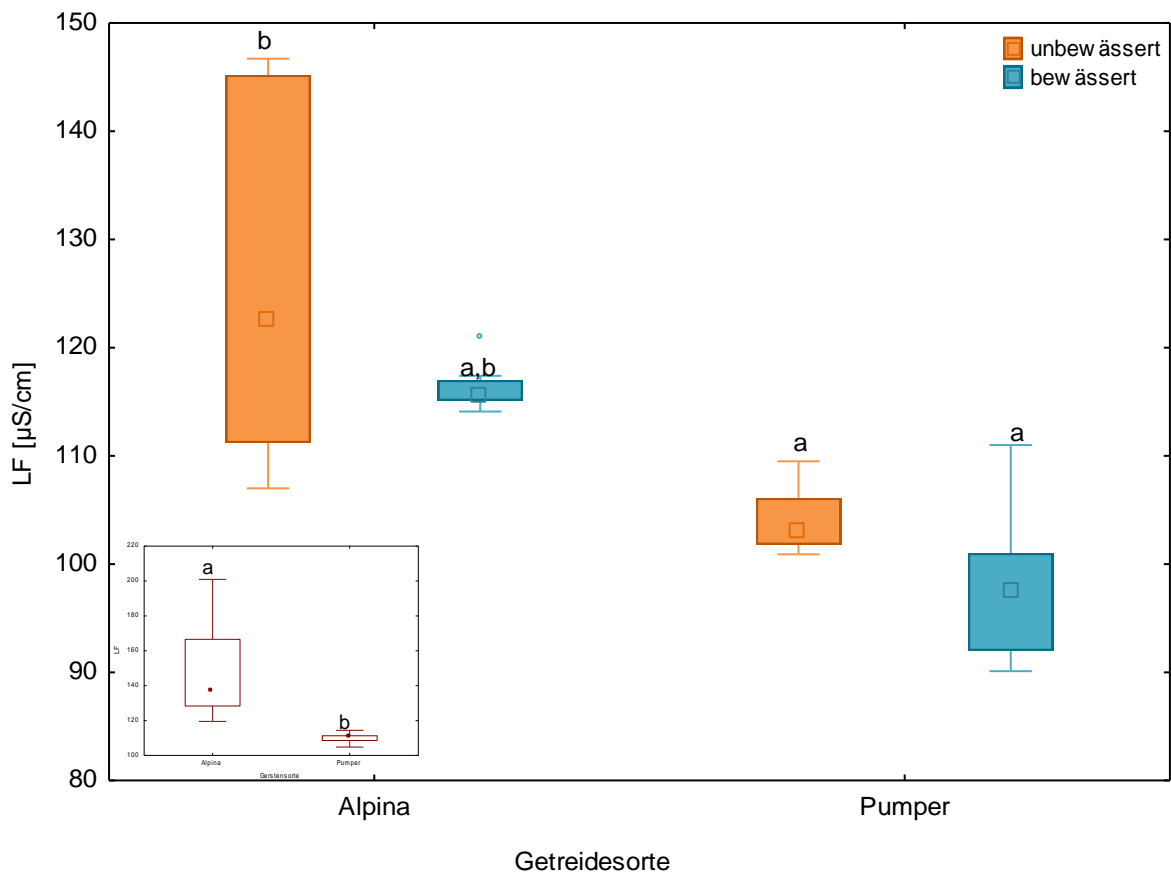


Abb. 9: Leitfähigkeit [$\mu\text{S}/\text{cm}$] des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot der Leitfähigkeit des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.5 Ammonium- und Nitratbestimmung

3.1.5.1 Ammoniumgehalt

Im Vergleich zum Nitratgehalt, änderte sich der der Ammoniumgehalt im Boden nicht in Abhängigkeit vom Bewässerungsregime und der Gerstensorte, sondern lag bei allen Bodenproben ca. bei 0,8 $\mu\text{g/g TS}$ (Abb. 10). Der Ammoniumgehalt im Boden der Pumpergerste war tendenziell etwas niedriger (nicht signifikant) als im Boden der Gerstensorte Alpina, was sich auch mit den Kontrollmessungen außerhalb der Überdachung deckte (Insert). Im Detail zeigte der bewässerte Boden der Pumpergerste einen Ammoniumgehalt von 0,69 $\mu\text{g/g TS}$. In der unbewässerten Variante derselben Gerstensorte betrug der Ammoniumgehalt 0,77 $\mu\text{g/g TS}$.

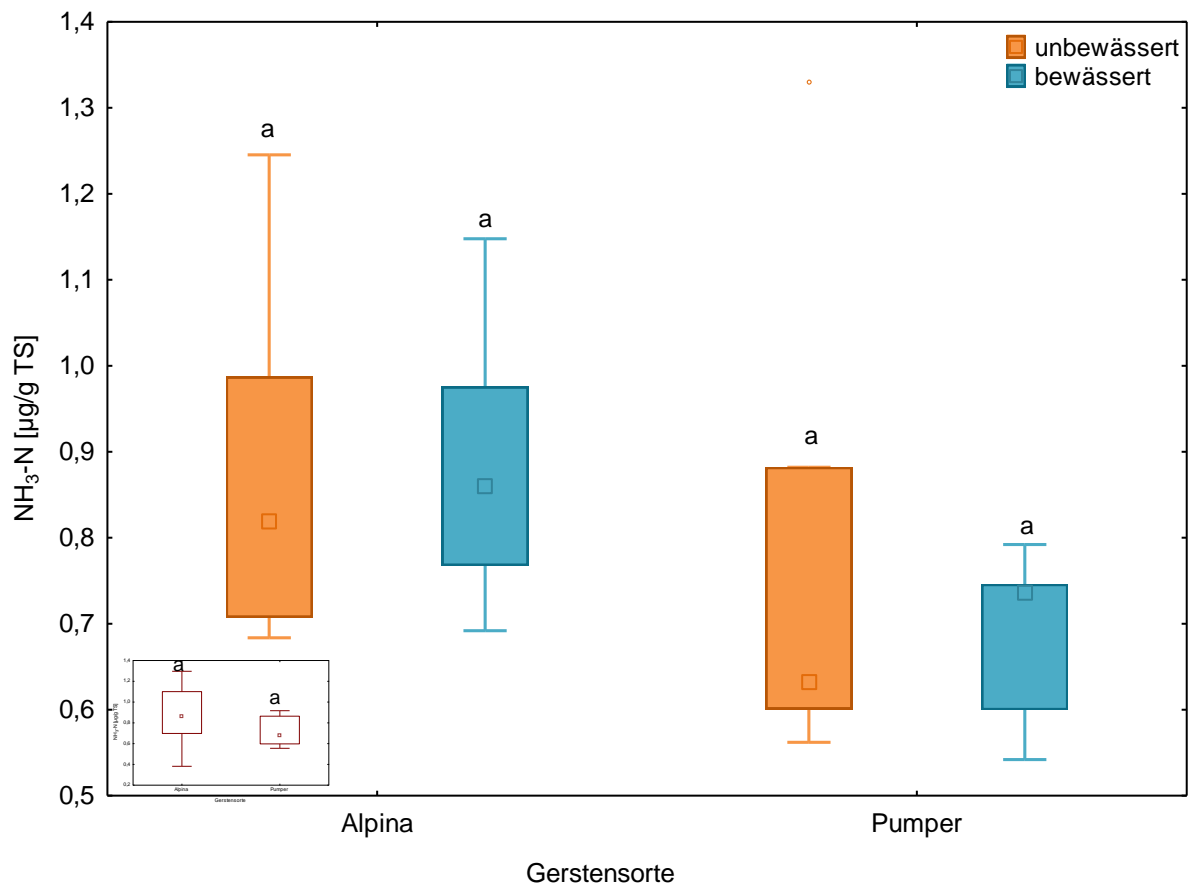


Abb. 10: Ammoniumgehalt [$\mu\text{g/g TS}$] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0,05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum Ammoniumgehalt des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.5.2 Nitratgehalt

Die gezielte Dürre führte zu einem sortenspezifischen Einfluss auf den Nitratgehalt der Bodenproben. Im Boden der Gerstensorte Alpina zeigte sich generell ein höherer Nitratgehalt als im Boden der Pumpergerste (Abb. 11), was sich auch bei den Kontrollmessungen außerhalb der Überdachung bestätigte (Insert). Bei der Gerstensorte Alpina lag sowohl bei Bewässerung als auch bei Dürre ein Nitratgehalt von ca. 7,9 $\mu\text{g/g}$ TS vor. Dieser Gehalt unterschied sich signifikant vom unbewässerten Boden der Pumpergerste (ca. 6,0 $\mu\text{g/g}$ TS).

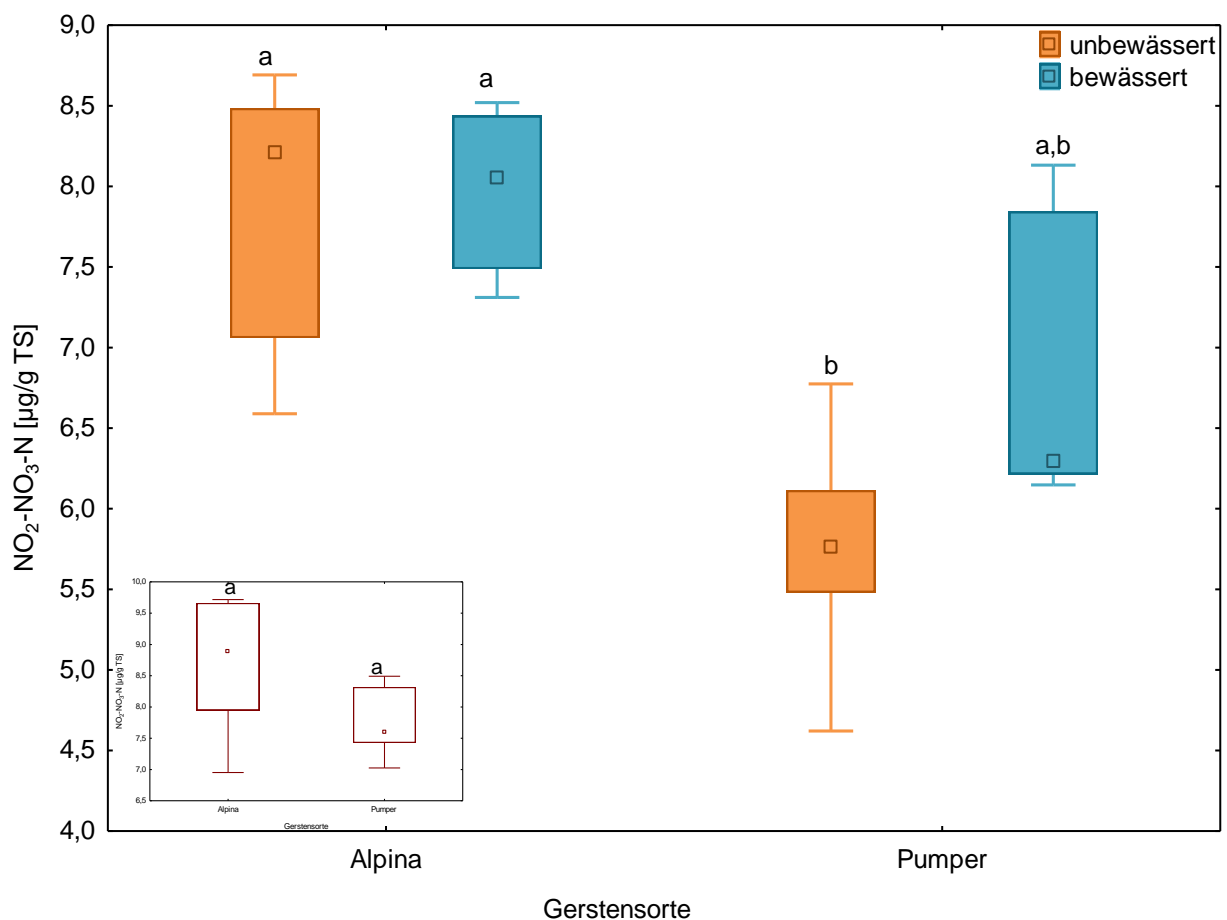


Abb. 11: Nitratgehalt [$\mu\text{g/g}$ TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum Nitratgehalt des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.6 Gelöster (organischer) Kohlenstoff (TC, DOC) und Stickstoff (TN)

3.1.6.1 Gelöster Gesamtkohlenstoff

Weder das Bewässerungsregime noch die Gerstensorte hatten einen signifikanten Einfluss auf den gelösten Gesamtkohlenstoff (TC) im Boden (Abb. 12). Der Boden der Gerstensorte Alpina zeigte tendenziell einen höheren TC-Gehalt als der Boden der Pumpergerste. Den geringste TC-Gehalt wies der bewässerte Boden der Pumpergerste auf (85 $\mu\text{g TC/g TS}$). Im Vergleich zeigte der bewässerte Boden der Gerste Alpina mit 96 $\mu\text{g TC/g TS}$ einen etwas höheren TC-Gehalt. Durch die hohe Standardabweichung im TC-Gehalt der gemessenen Bodenproben zeigten sich zwischen den Gerstensorten und deren Behandlungen keine signifikanten Unterschiede. Die TC-Gehalte der Bodenproben außerhalb der Überdachung deckten sich mit den TC-Gehalten der bewässerten Bodenproben bei der Gerstensorte Alpina, während außerhalb der Überdachung der Boden der Gerste Alpina mit 111 $\mu\text{g TC/g TS}$ einen höheren TC-Gehalt aufwies als der Boden der Pumpergerste (101 $\mu\text{g TC/g TS}$). Dieser Unterschied war nicht signifikant.

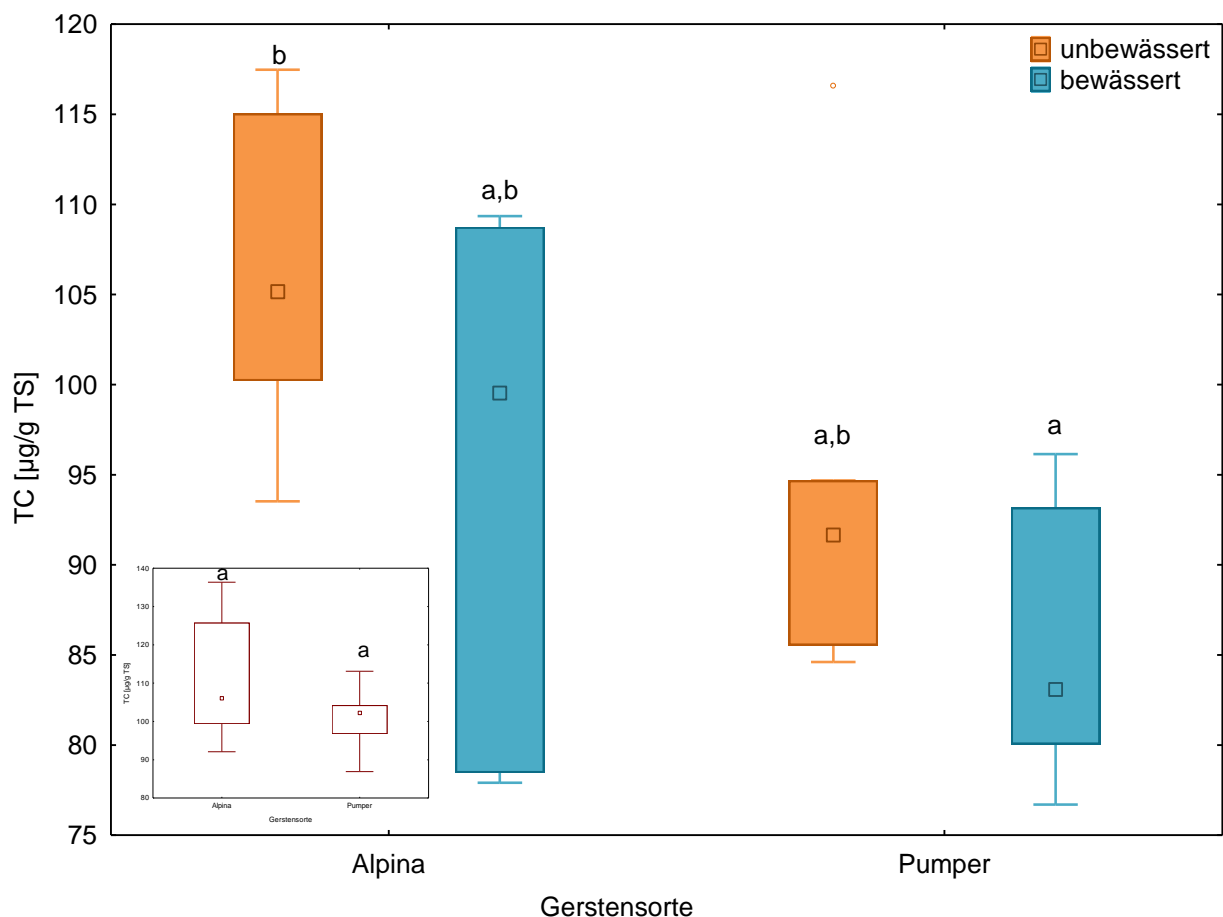


Abb. 12: Gelöster Gesamtkohlenstoff (TC [$\mu\text{g/g TS}$]) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0,05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum gelösten Gesamtkohlenstoff des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.6.2 Gelöster organischer Kohlenstoff (DOC)

Der Gehalt an gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) lag durchschnittlich bei 61,5 $\mu\text{g DOC/g TS}$ (Abb. 13). Weder die gezielte Dürre (für 4 Wochen) noch die Gerstensorten (Alpina und Pumper) beeinflussten den DOC-Gehalt signifikant. Im Detail lagen die DOC-Werte bei den bewässerten Bodenproben und dem Anbau von Alpina bei 62 $\mu\text{g DOC/g TS}$, während der geringste DOC-Gehalt mit 57 $\mu\text{g DOC/g TS}$ im bewässerten Boden in den Feldern mit Pumpergerste (Abb. 13) vorhanden war. Aus letzterem ließ sich kein signifikanter Unterschied zur unbewässerten Variante (63 $\mu\text{g DOC/g TS}$) ableiten. Der höchste Gehalt an gelöstem organischem Kohlenstoff wurde in den Bodenproben außerhalb der Überdachung der Gerste Alpina nachgewiesen (75 $\mu\text{g DOC/g TS}$), wodurch sich ein signifikanter Unterschied beim Anbau der Gerstensorte Alpina zwischen der Bewässerung und den natürlich beregneten Felder außerhalb der Überdacht ergab (Abb. 13, Insert).

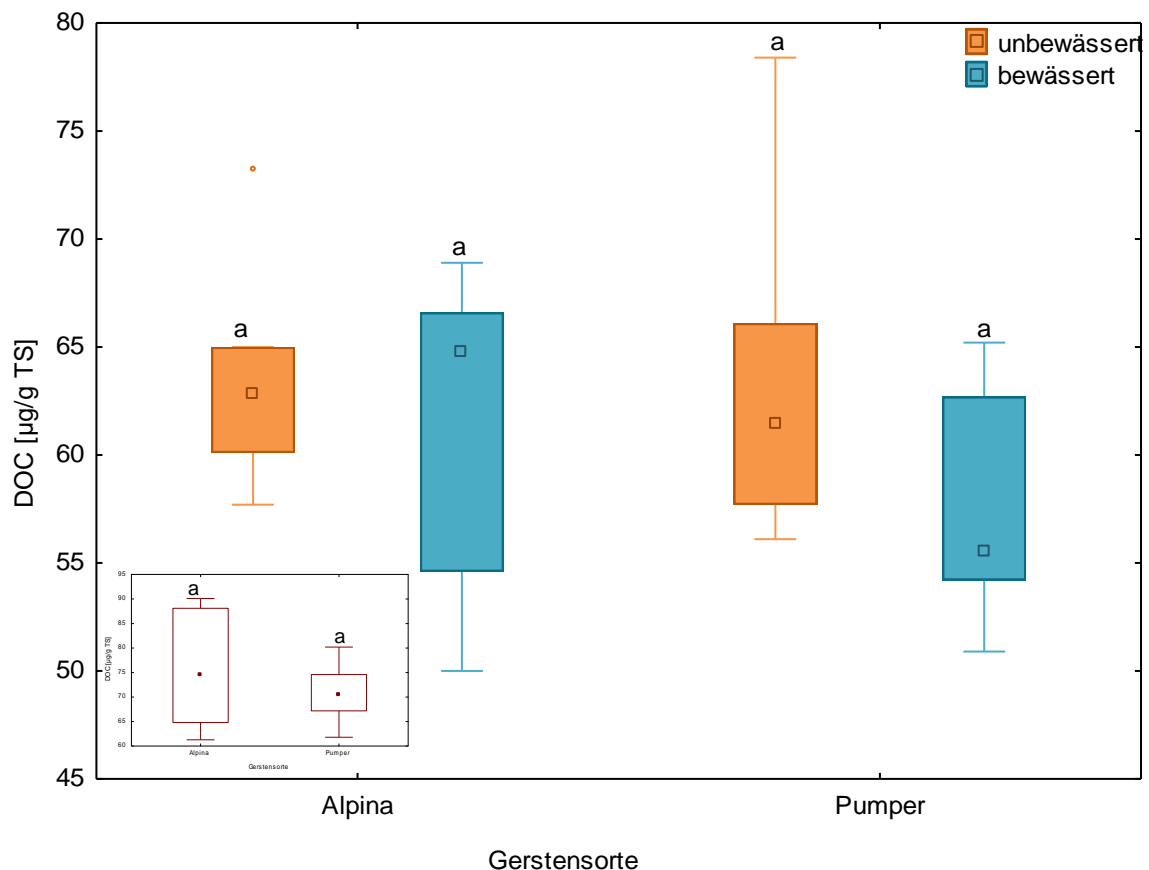


Abb. 13: Gelöster organischer Kohlenstoff (DOC [$\mu\text{g/g TS}$]) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum gelösten organischen Kohlenstoff des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.1.6.3 Gelöster Gesamt-Stickstoff (TN)

Bei den Bodenproben der Pumpergerste hatte die Dürre keinen signifikanten Effekt auf den Gehalt an gelöstem Stickstoff (total nitrogen=TN) (Abb. 14). Die unbewässerten Bodenproben der Pumpergerste zeigten mit 8,6 $\mu\text{g N/g TS}$ einen etwas höheren Wert als der bewässerte Boden (7,1 $\mu\text{g N/g TS}$). Die Bodenproben der Gerste Alpina zeigten unabhängig vom Bewässerungsregime einen höheren Gesamt-Stickstoffgehalt (mit 8,9 $\mu\text{g N/g TS}$ in der bewässerten Variante und 11 $\mu\text{g N/g TS}$ in der unbewässerten Variante). Der sortenspezifische Unterschied im Stickstoffgehalt des Bodens zeigte sich auch außerhalb der Überdachung und war dort sogar signifikant (Abb. 14, Insert).

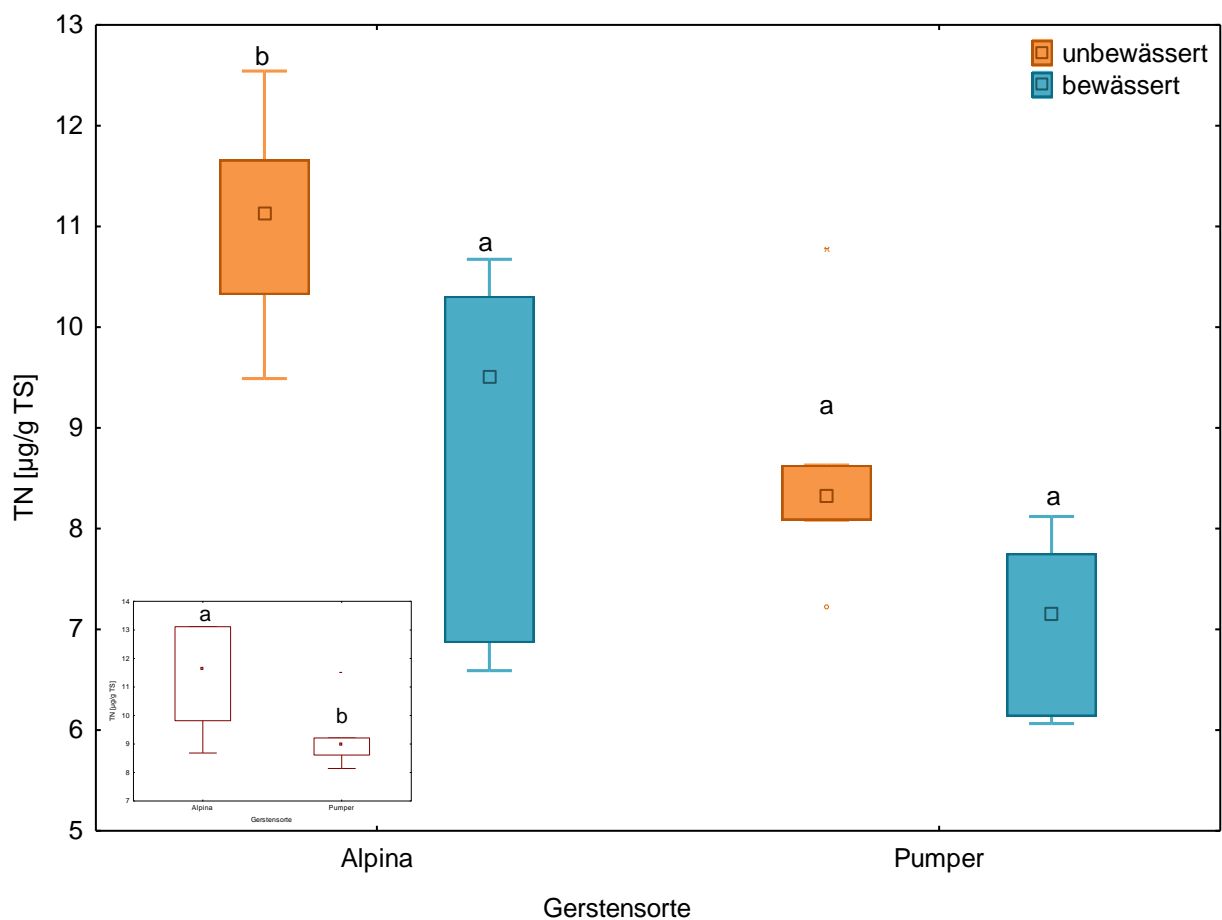


Abb. 14: Stickstoffgehalt (TN [$\mu\text{g/g TS}$]) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum Stickstoffgehalt des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.2 Mikrobielle Biomasse, Abundanz und Aktivität im bulk soil

3.2.1 Bestimmung der Gesamtkeimzahl – cfu

Der vierwöchige Dürrestress hatte keine Auswirkung auf die Abundanz der kultivierbaren Mikroorganismen im bulk soil. Das Bodenextraktmedium führte zur höchsten Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen. Auf dem Sabouraud-Maltose-Agar konnten aus dem unter vierwöchiger Dürre gestandenen Boden der Pumpergerste $1,5 \cdot 10^6$ cfu/g TS kultiviert werden (Abb. 15). Signifikant niedriger ($2,7 \cdot 10^5$ cfu/g TS) war die kultivierte Gesamtkeimzahl im bewässerten Boden der Pumpergerste auf demselben Nährmedium. Aus dem unbewässerten Boden der Gerste Alpina konnten auf dem Sabouraud-Maltose-Agar $8,4 \cdot 10^5$ cfu/g TS kultiviert werden. Aus dem bewässerten Boden derselben Gerstensorte waren $3,6 \cdot 10^5$ cfu/g TS kultivierbar (Sabouraud-Maltose-Agar). Die höchste kultivierbare Gesamtkeimzahl ($3,0 \cdot 10^6$ cfu/g TS) auf Stärke-Nährmedium wurde im bewässerten Boden der Pumpergerste gefunden. Dieser unterschied sich nicht signifikant von der Gesamtkeimzahl des unbewässerten Bodens derselben Gerstensorte ($1,9 \cdot 10^6$ cfu/g TS). Auf dem Bodenextrakt-Nährmedium wurde die höchste Anzahl an Mikroorganismen kultiviert. Im bewässerten Boden der Gerste Alpina wurden $2,1 \cdot 10^7$ cfu pro Gramm Trockensubstanz (TS) kultiviert. Im unbewässerten Boden derselben Gerstensorten wurden $8,6 \cdot 10^6$ cfu pro Gramm TS kultiviert. Aus dem bewässerten Boden der Pumpergerste waren $1,2 \cdot 10^7$ cfu/g TS kultivierbar, im unbewässerten $1,8 \cdot 10^7$. Die Gesamtkeimzahl der kultivierbaren Mikroorganismen auf dem Bodenextrakt-Nährmedium unterschied sich weder zwischen den Gerstensorten noch der Bewässerung signifikant.

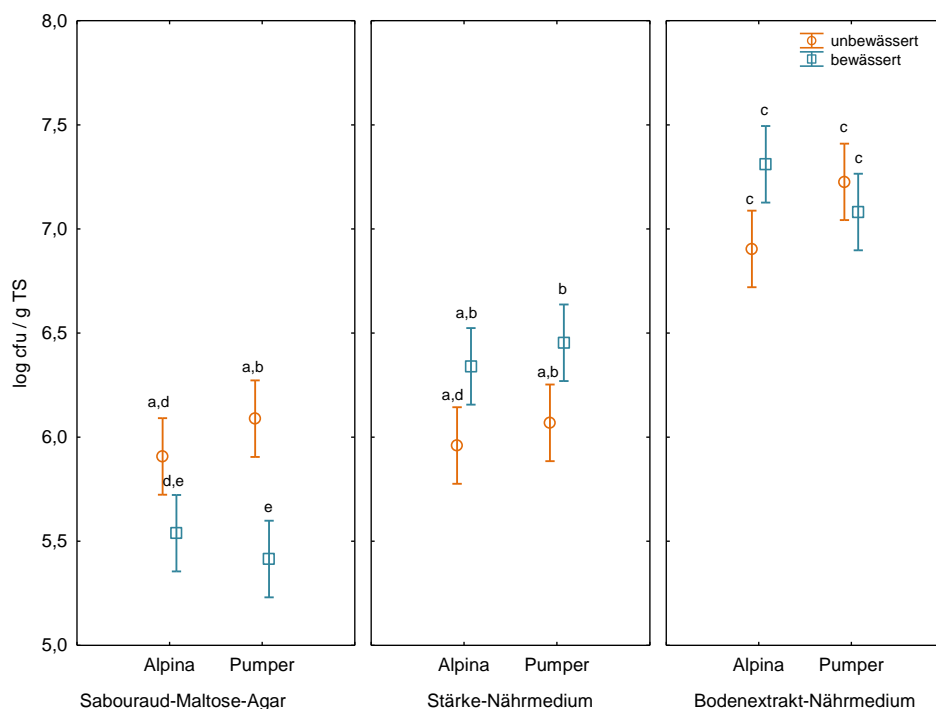


Abb. 15: Gesamtkeimzahl [log cfu/g TS] im Boden der Versuchsfelder in Abhängigkeit von den angebaute Gerstensorten (Alpina und Pumper), Bewässerungsregime (unbewässert=Dürre, bewässert) und verwendetem Nährmedium (Sabouraud-Maltose-Agar, Stärke-Nährmedium, Bodenextrakt-Nährmedium). Grafik aus einer multifaktoriellen ANOVA, Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede an (Tukey HSD, $p < 0.05$).

3.2.2 Mikrobielle Biomasse nach SIR

Die mikrobielle Biomasse im Boden wurde signifikant vom Bewässerungsregime beeinflusst, so führte die vierwöchige Dürre zu einer Reduktion der mikrobiellen Biomasse. Dieser Einfluss war zudem sortenspezifisch, da die Reduktion der mikrobiellen Biomasse sich noch deutlicher bei der Pumpergerste niederschlug (Abb. 16). Der bewässerte Boden der Pumpergerste wies mit $821 \mu\text{g C}_{\text{mic}}/\text{g TS}$ eine signifikant höhere mikrobielle Biomasse auf als der unbewässerte Boden derselben Gerstensorte ($493 \mu\text{g C}_{\text{mic}}/\text{g TS}$). Der bewässerte Boden der Gerste Alpina wies eine mikrobielle Biomasse von $770 \mu\text{g C}_{\text{mic}}/\text{g TS}$ auf. Auch dieser unterschied sich signifikant von den unbewässerten Bodenproben derselben Gerstensorte ($576 \mu\text{g C}_{\text{mic}}/\text{g TS}$). Die außerhalb der Überdachung genommenen Bodenproben auf Feldern mit den Gerstensorten Alpina und Pumper wies eine signifikant höhere mikrobielle Biomasse auf als die unbewässerten Böden beider Getreidesorten, deckten sich aber mit ca. $870 \mu\text{g C}_{\text{mic}}/\text{g TS}$ mit der mikrobiellen Biomasse der bewässerten Felder.

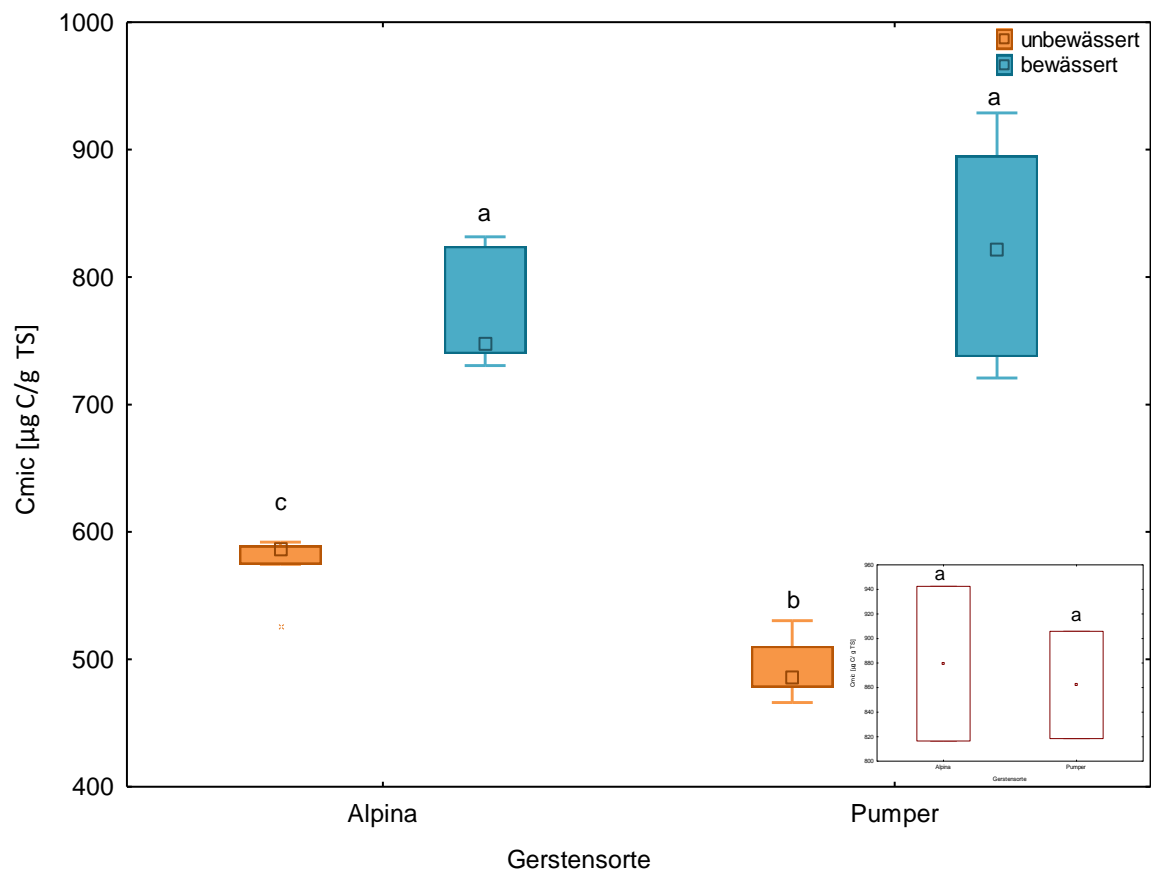


Abb. 16: Mikrobielle Biomasse (C_{mic} [$\mu\text{g C/g TS}$]) des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik rechts unten handelt es sich um einen Boxplot der mikrobiellen Biomasse des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.2.3 Bestimmung des Basalatumg mittels Infrarot-Gasanalyse

Die applizierte Dürre führte zu einem sortenspezifischen Einfluss auf die Basalatumg (Abb. 17). Der Boden der angepflanzten Gerstensorte Alpina erzielte durch die Dürre die geringste Basalatumg ($0,86 \mu\text{g CO}_2/\text{g TS/h}$), was sich signifikant von der bewässerten Variante ($1,6 \mu\text{g CO}_2/\text{g TS/h}$) unterschied. Im Gegensatz dazu, wies die bewässerte Variante mit $1,07 \mu\text{g CO}_2/\text{g TS/h}$ eine geringere (nicht signifikant) Basalatumg auf als die unter Dürre stehende Variante ($1,2 \mu\text{g CO}_2/\text{g TS/h}$). Die außerhalb der Überdachung genommenen Bodenproben der Pumpergerste wiesen durchschnittlich eine signifikant höhere Basalatumg auf und erreichten Werte bis zu $2,5 \mu\text{g CO}_2/\text{g TS/h}$.

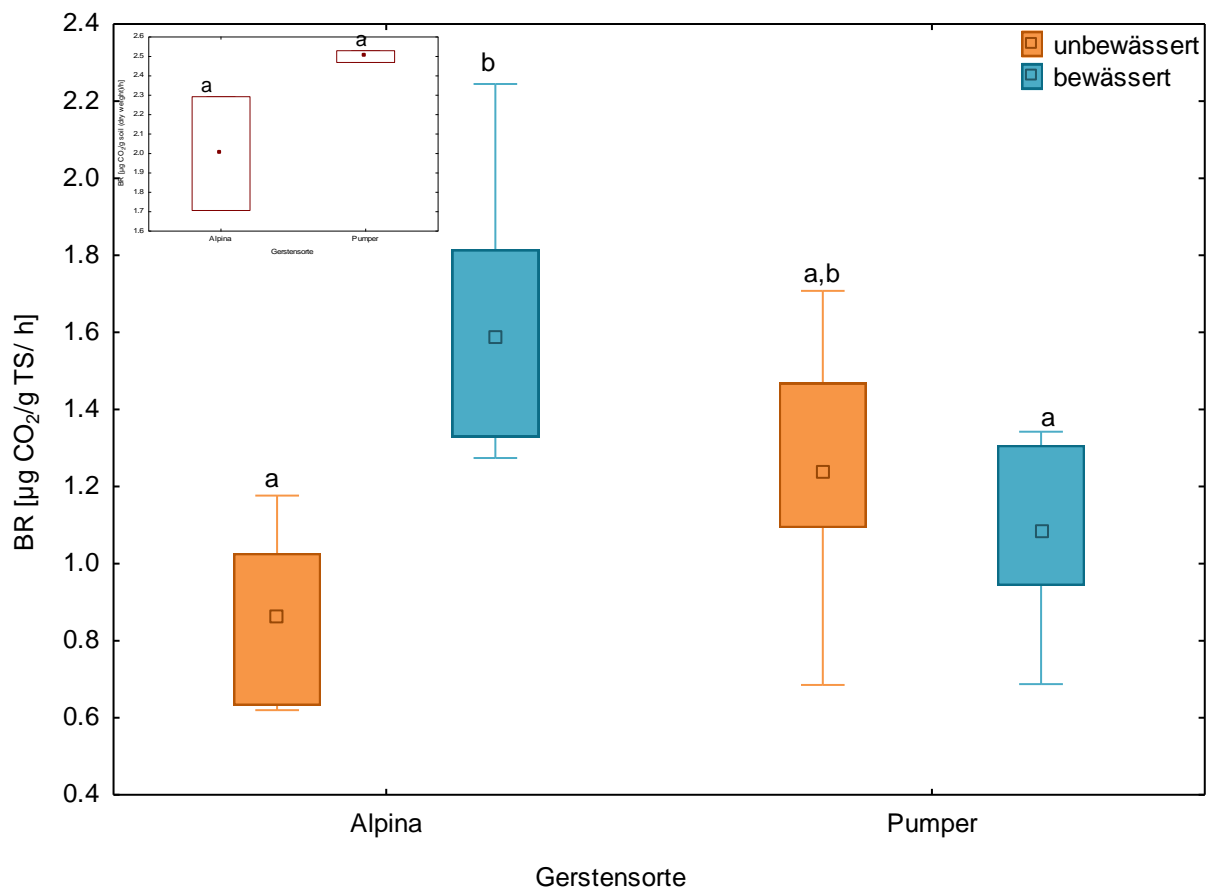


Abb. 17: Basalatumg (BR) [$\mu\text{g CO}_2/\text{g TS}$] des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links oben handelt es sich um einen Boxplot zur Basalatumg des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).

3.3 Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen im Stängel der Gerste

3.3.1 Oberflächensterilisation

Der erste Versuch zur Oberflächensterilisation des Stängels der Gerste mit der Variante 1 (V1) (Tab. 15) zeigte erste Erfolge. Hier konnten keine koloniebildenden Einheiten (kbe) bzw. colony forming units (cfu) im Waschwasser nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse konnten mehrfach nicht repliziert werden. Auch Abänderungen des Sterilisationsprotokolls zeigten keine gründlich sterile Oberfläche. Es zeigte sich, dass grüne bzw. frischere Stängel kaum zur Gänze oberflächensterilisiert werden konnten. Auch bei mehrfacher Wiederholung und Abänderung der verschiedensten Varianten konnte keine sterile Oberfläche erreicht werden (Tab. 15). Bei dünnen Stängeln der Gerste konnte eine sterile Oberfläche erreicht werden. Daraus resultierte aber, dass keine endophytischen Mikroorganismen auf den Nährmedien kultiviert werden konnten. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit nur noch mit den Wurzeln beider Gerstensorten weitergearbeitet.

Tab. 15: Varianten (V1-V4) der Protokolle zur Oberflächensterilisation (siehe 2.4.1) des Stängels der Gerste inkl. erzielten cfu-Gehalte im Waschwasser am Ende der Oberflächensterilisation auf TSA-Nährmedium. Legende: +++ >30 cfu pro Platte, ++ 10-30 cfu pro Platte, + < 10 cfu pro Platte, n.d. nicht durchgeführt

Variante	CFU-Waschwasser	CFU-Waschwasser WH
V1	+++	n.d.
V2	0	+++
V3	+	n.d.
V4	+++	n.d.

3.4 Vorversuche zur Untersuchung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste

3.4.1 Vorversuche zur Oberflächensterilisation

Eine gelungene Oberflächensterilisation zeichnet sich durch keine nachweisbaren cfu (colony forming units) im Waschwasser aus. Tab. 16 veranschaulicht die verschiedenen durchgeführten Varianten (V1-V4) zur Oberflächensterilisation und deren cfu im Waschwasser. Bei den Varianten 1 und 2 (V1 und V2) wurde keine sterile Oberfläche der Wurzeln erzielt, da bei beiden Varianten cfu im Waschwasser nachgewiesen wurden. In der Variante 4 konnten keine cfu im Waschwasser nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse zeigten sich auch bei mehrfacher Wiederholung und der Sterilisation der unterschiedlichen Wurzeln der Gerstensorten Pumper und Alpina.

Tab. 16: Verschiedene Protokolle (V1-V4) zur Oberflächensterilisation der Wurzeln der Gerste und die cfu des ausgespatelten Waschwassers auf dem TSA-Nährmedium. Legende: +++ >30 cfu pro Platte, ++ 10-30 cfu pro Platte, + < 10 cfu pro Platte

Variante	CFU-Waschwasser	CFU-Waschwasser WH
V1	+++	n.d.
V2	++	n.d.
V3	+	0
V4	0	0

3.4.2 Nährmedientest zur Kultivierung endophytischer Mikroorganismen

Bei allen getesteten Nährmedien zeigte der Einsatz von Pflanzenextrakt im Nährmedium keinen positiven Effekt auf die Abundanz der kultivierbaren endophytischen Mikroorganismen aus den Wurzeln der Gerste (Abb. 18). Nicht nur die cfu, sondern auch deren unterschiedliche Morphotypen waren ausschlaggebend für die weitere Verwendung der Nährmedien. Bei den Nährmedien TSA und CS (Casein-Stärke-Nährmedium) konnte die größte Diversität in den unterschiedlichen Morphotypen erreicht werden. Aus diesem Grund wurden diese zwei Medien (TSA und CS) ohne Pflanzenextrakt für den Hauptversuch verwendet.

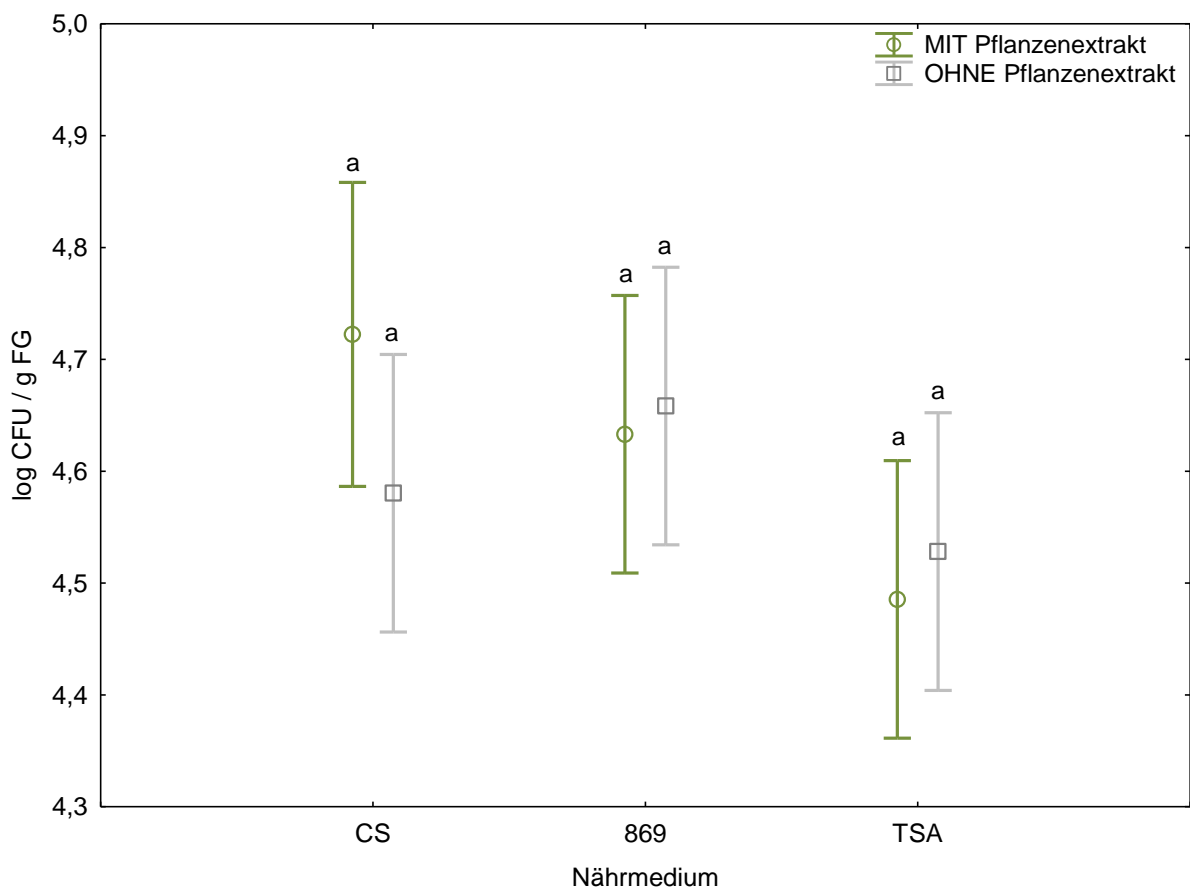


Abb. 18: Gesamtkeimzahl [log cfu/g TS] der oberflächensterilisierten Wurzeln der Gerste auf drei verschiedenen Nährmedien (Casein-Stärke-Nährmedium (CS), 869 und TSA) mit und ohne Zugabe eines Pflanzenextrakts. Grafik aus einer multifaktoriellen ANOVA, Streumaß=95 %-iges Konfidenzintervall, Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede an (Tukey HSD, $p < 0.05$).

3.4.3 Vorversuch zu den Extraktionskits

Die Wahl des Extraktionskits beeinflusste den Gehalt der extrahierbaren DNA aus der Probe (Tab. 17). Mit dem NucleoSpin Soil Extraktionskit (Macherey-Nagel) wurde die höchste Konzentration der extrahierten DNA erzielt (16 ng DNA/ μ l). Mit dem Extraktionskit DNeasyPlant Pro (Qiagen) wurde eine geringere Menge der genomischen DNA isoliert (Tab. 17). Im Detail wurden bei der Pumpergerste 1,39 ng DNA/ μ l und bei der Gerste Alpina 3,10 ng DNA/ μ l extrahiert. Eine weniger zufriedenstellende Extraktion erfolgte mit dem NucleoSpin Plant II Extraktionskit. Es muss angemerkt werden, dass für die DNA-Extraktion unterschiedlich vorbehandeltes Material verwendet wurde (siehe Tab. 17) und daher die Vergleichbarkeit nicht ganz gegeben war, aber eine Annahme über die Menge und Qualität der extrahierten DNA für weitere Extraktionen gemacht werden konnte.

Tab. 17: DNA-Extraktion aus Stängel/Wurzeln der Gerstensorten Pumper und Alpina mit unterschiedlichen DNA-Extraktionskits. Die Gerstensorten wurden vor der Extraktion unterschiedlich behandelt (siehe Spalte Behandlung). DNA-Konzentrationen wurden fluorometrisch ermittelt (Quantus).

Nr.	Gerstensorte	Bewässerung	Behandlung	Extraktionskit	Firma	DNA-Konzentration [ng/ μ l]
1	Pumper (Wurzel)	unbewässert	gemörsert	NucleoSpin Plant II	Macherey-Nagel	0,698
2	Pumper (Wurzel)	unbewässert	N ₂	NucleoSpin Plant II	Macherey-Nagel	0,107
3	Alpina (Wurzel)	bewässert	ganze Wurzel	DNeasy Plant Pro	Qiagen	3,10
4	Pumper (Wurzel)	unbewässert	gemörsert	DNeasy Plant Pro	Qiagen	1,39
5	Alpina (Stängel)	außerhalb der Überdachung	gemörsert	NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel	3,47
6	Alpina (Stängel)	Bewässert	gemörsert	NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel	0,0451
7	Pumper (Wurzel)	unbewässert	gemörsert	NucleoSpin Soil	Macherey-Nagel	16

3.4.4 Digitale droplet PCR

Die Abundanz an endophytischen Prokaryoten (copies/g FG) variierte in Abhängigkeit von Pflanzenmaterial und gewähltem Extraktionskit stark (Abb. 19). Die höchste Anzahl an copies/g FG wurden aus den ganzen Wurzeln mit dem DNeasy Plant Pro Extraktionskit der Firma Qiagen nachgewiesen ($1,36 \cdot 10^9$ copies/ g FG). Das gemörserte Wurzelmaterial erreichte beim NucleoSpin Soil Extraktionskit $1,2 \cdot 10^9$ und bei dem DNeasy Plant Pro Extraktionskit der Firma Qiagen $2,15 \cdot 10^8$ copies/g FG. Das Plant II Extraktionskit (Macherey-Nagel) konnte weder bei der ddPCR noch bei der finalen Amplicon-Sequenzierung (siehe Abb. 19 und 20) überzeugen. Mit den $2,82 \cdot 10^7$ copies /g FG (gemörsert) und $1,61 \cdot 10^6$ (mit flüssigem N₂ verkleinert) waren die Anzahl an endophytischen Prokaryoten am geringsten (Abb. 19).

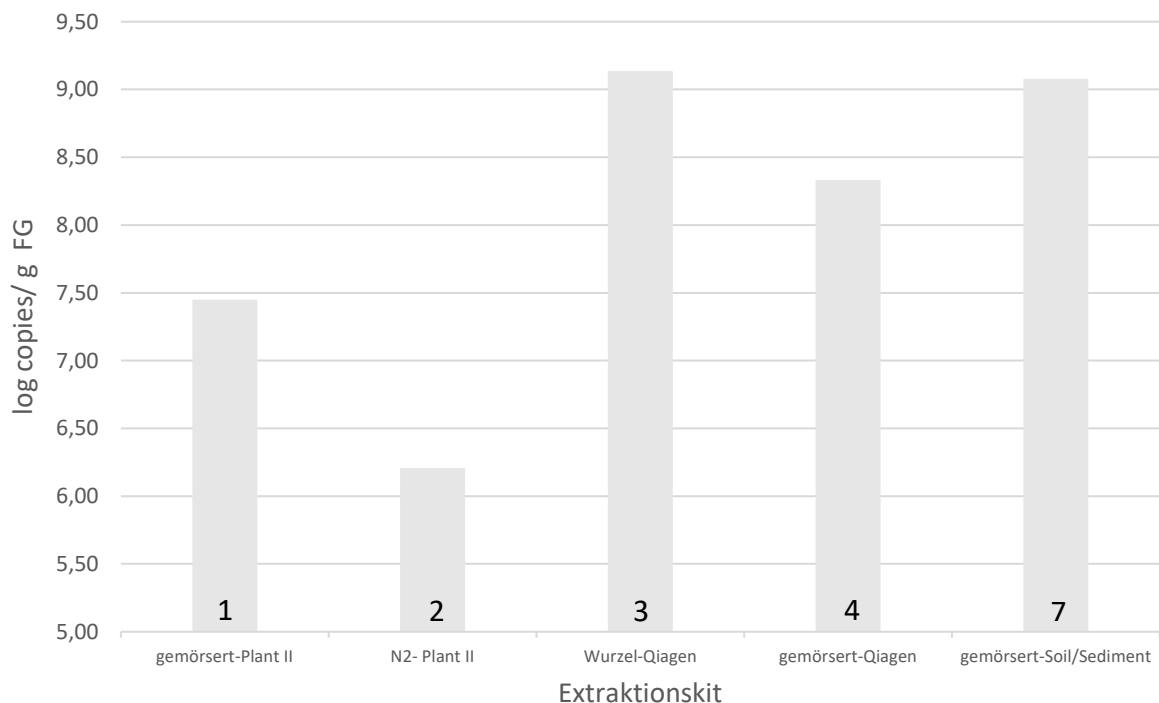


Abb. 19: Abundanz an Prokaryoten [log copies/g FG] in Abhängigkeit vom verwendeten Pflanzenmaterial und Extraktionskit, siehe 2.5.4.1. Die Zahlen in den Balken entsprechen den Zahlen aus Tab. 17. 1=Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 2= Wurzel (Pumper) mit N₂ zerkleinert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 3= ganze Wurzel (Alpina), extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 4= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 7= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel)

3.4.5 16S Amplicon-Sequenzierung in Abhängigkeit des DNA-Extraktionskits

Anhand der Amplicon-Sequenzierung wurde entschieden, welches Extraktionskit für den Hauptversuch verwendet wird. Trotz des hohen extrahierten DNA-Gehalts konnte mit dem NucleoSpin Soil Extraktionkit (Macherey-Nagel) die relative Abundanz und Diversität der Bakterien in den Wurzeln der unbewässerten Pumpergerste nur schlecht erfasst werden (Abb. 20, Nr. 7). Das NucleoSpin Plant II Extraktionskit (Macherey-Nagel) konnte bei der mit Flüssigstickstoff behandelten Probe die Abundanz der Endophyten gut erfassen, jedoch mit dem gemörserten Wurzelmaterial nicht. Das DNeasy Plant Pro (Qiagen) konnte die Abundanz der endophytischen Bakterien aus der ganzen Wurzel der Alpina Gerste gut wiedergeben (Abb.20, Nr. 3). Durch die Ergebnisse aus 3.4.3, 3.4.4 und 3.4.5 fiel die Auswahl des Extraktionskits auf das DNeasy Plant Pro Kit der Firma Qiagen.

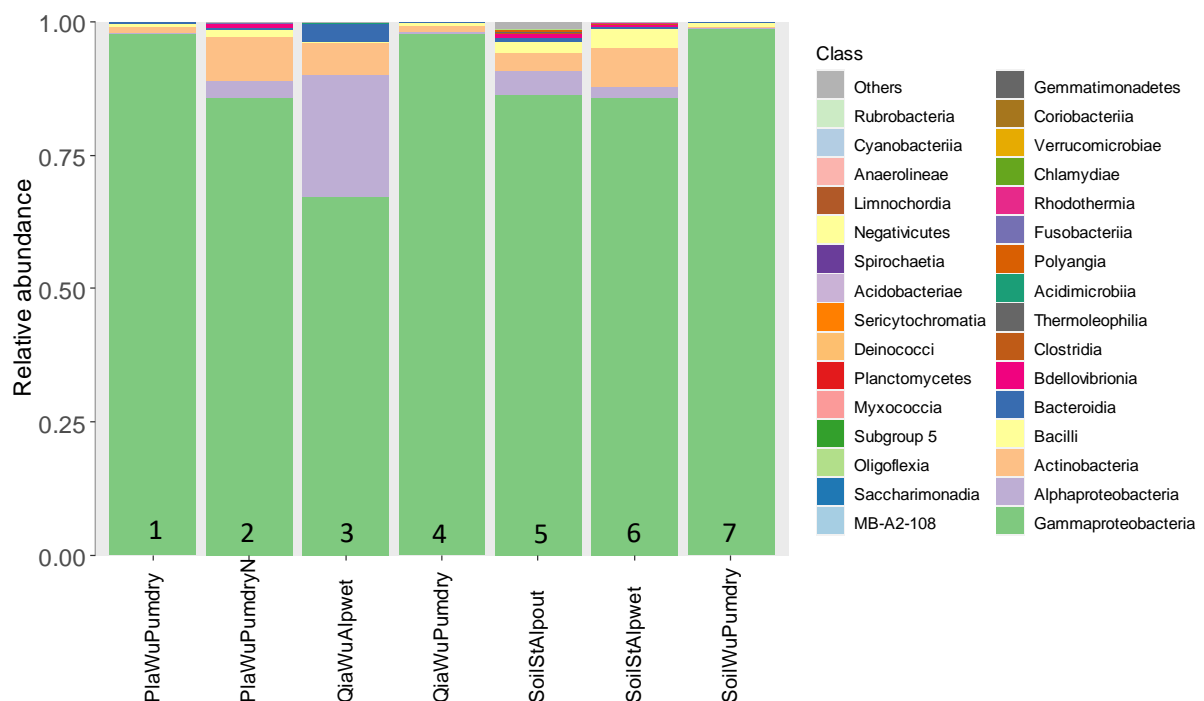


Abb. 20: Relative Abundanz [%] der Prokaryoten (taxlevel=Klasse). Ergebnisse aus der Amplicon-Sequenzierung zum Vorversuch der Extraktionskit 2.5.4.1. Die Zahlen in den Balken entsprechen den Zahlen aus Tab. 17. 1=Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 2= Wurzel (Pumper) mit N₂ zerkleinert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 3= ganze Wurzel (Alpina), extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 4= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 5=Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel), 6= Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil, 7= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel)

3.4.6 Alpha-Diversität – Prokaryoten der getesteten Extraktionskits

Die höchste Anzahl an untersuchten Arten (> 500) wurde mit dem NucleoSpin Soil (Machery-Nagel) Extraktionskit aus dem Stängel der Gerste Alpina außerhalb der Überdachung erzielt (Abb. 21 a). Die geringste Anzahl an untersuchten Arten (< 50) wurde ebenfalls mit dem NucleoSpin Soil (Machery-Nagel) Extraktionskit aus dem Stängel der unbewässerten Pumpergerste erreicht. Die höchste prokaryotische Diversität konnte in den Wurzeln der bewässerten Gerste Alpina mit dem Extraktionskit DNeasy Plant Pro (Qiagen) nachgewiesen werden (Shannon >3) (Abb.21 b). Trotz des geringen extrahierten DNA-Gehaltes konnte mit dem Extraktionskit NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel) aus den mit Flüssigstickstoff behandelnden Gerstenwurzeln (unbewässert) eine prokaryotische Diversität von >2 (Shannon) erreicht werden (Abb. 21 b). Die größte Diversität beim Shannon- (>3) und Simpson-Index (>0,8) erreichte die bewässerte Wurzel der Gerste Alpina, extrahiert mit dem DNeasy Plant Pro Testkit (Qiagen) (Abb. 21 b, c).

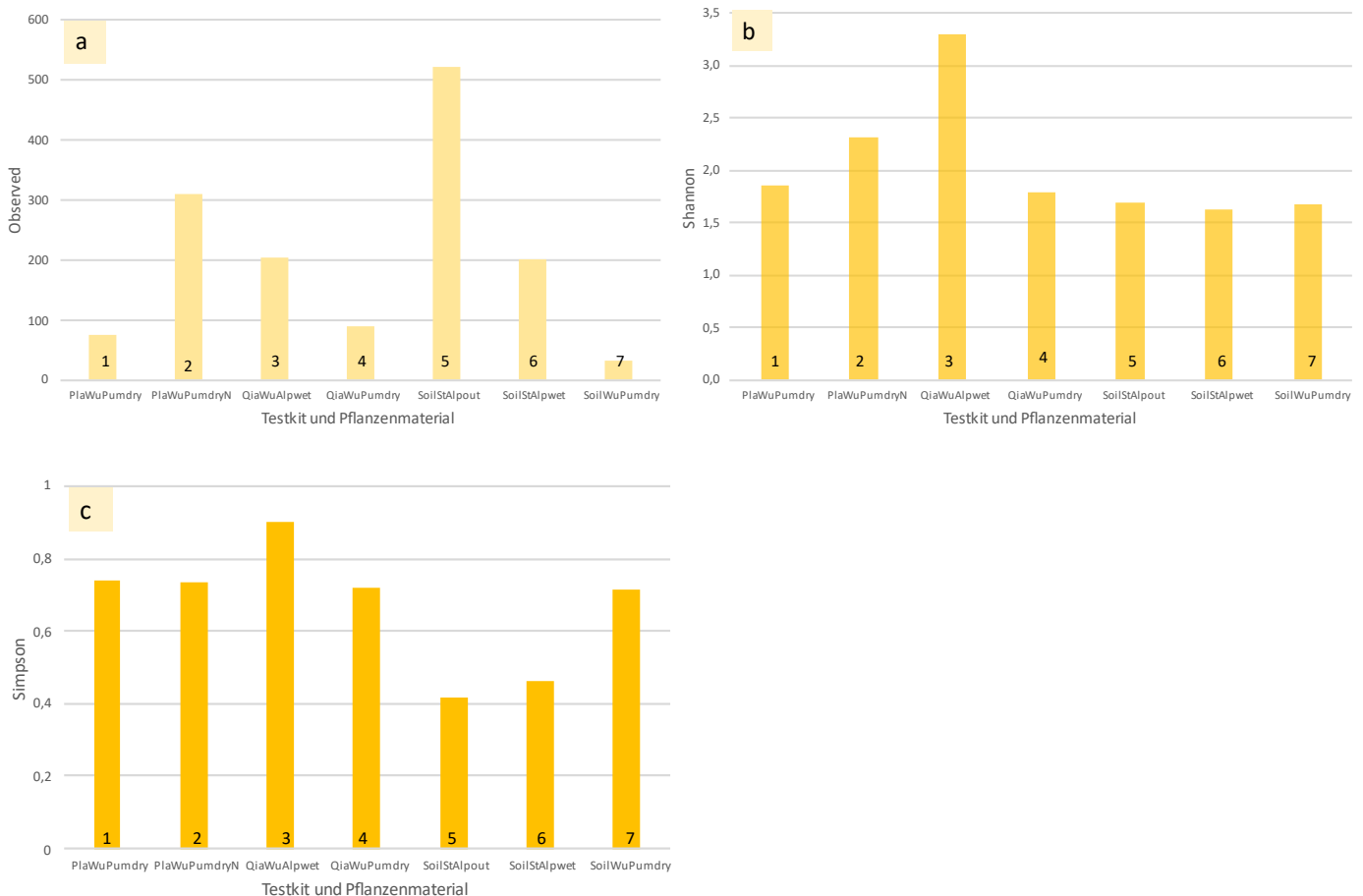


Abb. 21: Diversitätsindices (a: Observed, b: Shannon, c: Simpson) der prokaryotischen, endophytischen Gemeinschaft aus verschiedenen Pflanzenteilen und in Abhängigkeit des DNA-Extraktionskits (Vorversuch der Extraktionskits 2.5.4.1). Die Zahlen in den Balken entsprechen den Zahlen aus Tab. 17. 1=Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel), 2= Wurzel (Pumper) mit N₂ zerkleinert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel), 3= ganze Wurzel (Alpina), extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 4= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 5=Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil (Machery-Nagel), 6= Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil, 7= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Soil (Machery-Nagel)

3.5 Kultivierung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste

3.5.1 Bestimmung der Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen – cfu

Generell konnte auf TSA-Nährmedium eine höhere Abundanz kultivierbarer Endophyten nachgewiesen werden als auf dem Casein-Stärke-Nährmedium (Abb. 22). Die Pumpergerste zeigte auf beiden Nährmedien eine signifikant höhere Abundanz der kultivierbaren endophytischen Mikroorganismen in den Wurzeln auf als die Gerste Alpina. Die Bewässerung schien in beiden Gerstensorten keinen signifikanten Einfluss auf die Abundanz der kultivierbaren Endophyten zu haben. Die höchste Abundanz der kultivierbaren Endophyten zeigte sich bei der Pumpergerste auf TSA-Nährmedium in der bewässerten Variante mit $3,34 \cdot 10^6$ cfu/g FG. Die unbewässerte Variante derselben Gerstensorte zeigte eine Abundanz von $1,18 \cdot 10^6$ cfu/g FG. Hingegen zeigte die Gerste Alpina auf dem TSA-Nährmedium bei der unbewässerten Variante eine Abundanz von $1,53 \cdot 10^5$ cfu/g FG (Abb. 22). Etwas niedriger war die Abundanz der kultivierbaren Endophyten in der bewässerten Variante ($1,47 \cdot 10^5$ cfu/g FG). Auf Casein-Stärke-Nährmedium zeigten die Wurzeln der Pumpergerste eine Abundanz kultivierbarer Endophyten von $3,35 \cdot 10^6$ cfu/g FG (bewässert) und $7,33 \cdot 10^5$ cfu/g FG (Dürre). Die Wurzeln der Gerste Alpina zeigten auf Casein-Stärke-Nährmedium eine Abundanz kultivierbarer Endophyten von $1,28 \cdot 10^5$ cfu/g FG pro Gramm Frischgewicht (bewässert) und $1,45 \cdot 10^5$ cfu/g FG (Dürre).

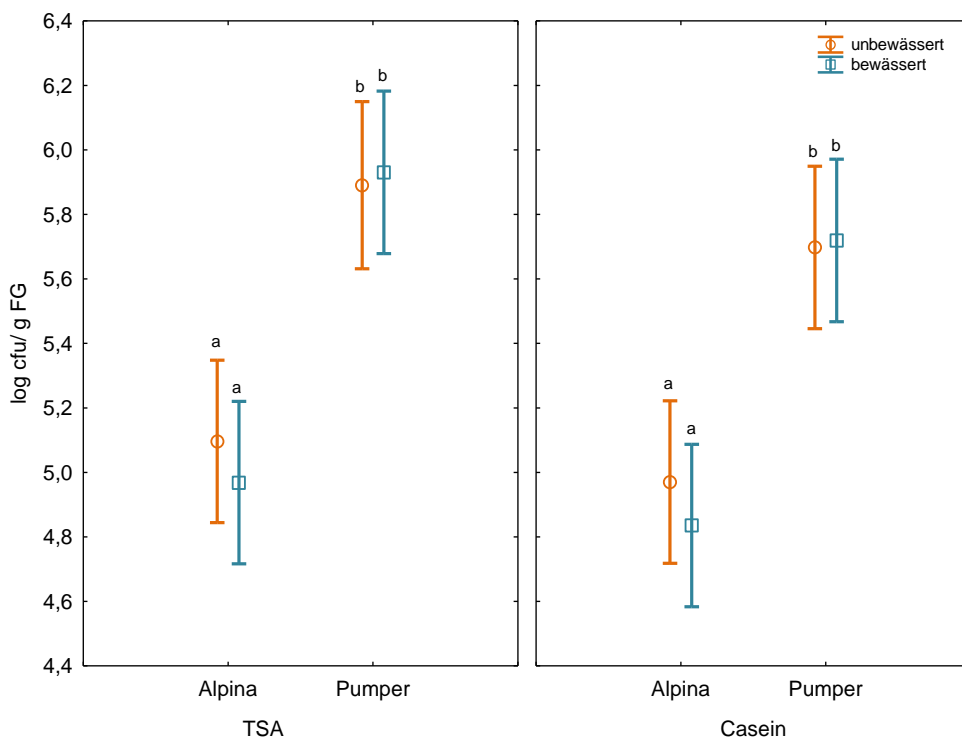


Abb. 22: Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen [log cfu/g FG] aus den Wurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) in Abhängigkeit der zwei Nährmedien (TSA und Casein-Stärke-Nährmedium) und der Bewässerung (bewässert/unbewässert). Grafische Darstellung aus einer mehrfaktoriellen ANOVA; Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey HSD nach mehrfaktorieller ANOVA). FG=Frishgewicht.

3.5.2 Molekularbiologische Charakterisierung der isolierten Endophyten - Colony-PCR für Bacteria und Fungi

Durch die applizierte Dürre konnte kein sortenspezifischer Einfluss auf die Diversität endophytischer Mikroben nachgewiesen werden. Daher werden die folgenden Isolate nicht den Gerstensorten bzw. dem Bewässerungsregime zugewiesen. In beiden Gerstensorten konnten unabhängig von deren Bewässerung Bakterien des Phylums Proteobacteria kultiviert werden. Zu diesem Phylum zählen unter anderem Alphaproteobacteria und Gammaproteobacteria (Tab. 18). Bei den Alphaproteobacteria konnten beispielsweise *Agrobacterium fabrum* und *Stenotrophomonas indicatrix* kultiviert werden. Bei den Gammaproteobacteria konnten verschiedene *Pseudomonas* und *Pantoea* Spezies kultiviert werden (Tab. 18). Weiters wurden acht verschiedene Spezies der Klasse Actinomycetia isoliert, dazu gehören beispielsweise *Microbacterium paraoxydans*, *Microbacterium foliorum* und *Plantibacter flavus*. Auch aus der Klasse der Bacilli wurden verschiedene Vertreter in Reinkultur gebracht, wie beispielsweise *Bacillus cereus*, *Paenibacillus amylolyticus*, *Paenibacillus tundrae* und *Staphylococcus epidermidis* (Tab. 18). Außerdem wurden *Chryseobacterium indoltheticum*, *Pedobacter terrae* und *Koksonia* sp. kultiviert. Auf dem Casein-Stärke-Nährmedium wurden 2 Pilze, nämlich *Sarocladium strictum* und *Fusarium hostae*, in Reinkultur gebracht (Tab 18).

Tab. 18: Gram-Färbung und Sanger-Sequenzierung (16S rRNA) der mikrobiellen Endophyten (Reinkultur-Isolate aus den Wurzeln).

Spezies	Klasse	Gram-Typ und Morphologie	Makroskopisches Aussehen	Nährmedium
<i>Agrobacterium fabrum</i>	Alphaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Rosa, glänzend	TSA
<i>Sphingomonas aerolata</i>	Alphaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Gelb, matt	TSA
<i>Phyllobacterium ifriqiense</i>	Alphaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Weiß, glänzend	CS
<i>Ensifer adhaerens</i>	Alphaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Cremerfarben, glänzend	CS
<i>Stenotrophomonas indicatrix</i>	Gammaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Gelb-orange, glänzend	TSA
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	Gammaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Dunkelgelb	TSA
<i>Pseudomonas azotoformans</i>	Gammaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Aprikosenfarbig, glänzend	TSA
<i>Pseudomonas poae</i>	Gammaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Aprikosenfarbig, glänzend	TSA
<i>Pantoea vagans</i>	Gammaproteobacteria	Gram-Stäbchen	Hellgelb, glänzend	CS
<i>Pantoea agglomerans</i>	Gammaproteobacteria	Gram- Stäbchen	Hellgelb, glänzend, franziger Rand	TSA
<i>Microbacterium paraoxydans</i>	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Farblos, glänzend	TSA
<i>Microbacterium oleivorans</i>	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Hell-orange, glänzend	TSA
<i>Plantibacter flavus</i>	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Gelb, glänzend	TSA
<i>Microbacterium saperdae</i>	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Zitronengelb, glänzend	TSA

<i>Arthrobacter bussei</i>	Actinomycetia	Gram+ Kokken	Hellrot/orange, glänzend	TSA
<i>Microbacterium foliorum</i>	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Zitronengelb, glänzend	TSA
<i>Rhodococcus</i> sp.	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Cremerfarben, schleimig	CS
<i>Microbacterium schleiferi</i>	Actinomycetia	Gram+ Stäbchen	Hellrot/glänzend, klein, glatter Rand	CS
<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	Bacilli	Gram+ Stäbchen	Gräulich, gefranzter Rand	TSA
<i>Paenibacillus tundrae</i>	Bacilli	Gram+ Stäbchen	Farblos, große Kolonie	CS
<i>Bacillus mycoides</i>	Bacilli	Gram+ Stäbchen	Hellgrau, kranzförmig	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bacilli	Gram+ Kokken	Beige/creme glänzend, kleine Kolonien	TSA
<i>Paenibacillus mobilis</i>	Bacilli	Gram+ Stäbchen	Durchsichtig, glänzend, glatter Rand, erhaben	CS
<i>Bacillus cereus</i>	Bacilli	Gram+ Stäbchen	Weißes, fädiges Wachstum	CS
<i>Chryseobacterium indoltheticum</i>	Flavobacteriia	Gram- Stäbchen	Dunkel-orange, glänzend	CS
<i>Pedobacter terrae</i>	Sphingobacteriia	Gram- Stäbchen	Rosa/rot	CS
<i>Koksonia</i> sp.			Gelb, cremig, schleimig	CS
<i>Sarocladium strictum</i>	Sordariomycetes		Helles, hyphenartiges Wachstum	CS
<i>Fusarium hostae</i>	Sordariomycetes		Helles, hyphenartiges Wachstum	CS

3.5.3 16S und ITS-Amplicon-Sequenzierung zur metataxonomischen Beschreibung der bakteriellen und pilzlichen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln

3.5.3.1 Bakterielle Gemeinschaft eingeteilt in Klassen

Durch die hervorgerufene Dürre konnte eine Veränderung der relativen Abundanz endophytischer Bakterien (Klassen) in den Wurzeln beider Gerstensorten nachgewiesen werden. Bei der Gerste Alpina konnte durch die Dürre (unbewässert) im Vergleich zur bewässerten Variante eine höhere relative Abundanz der Actinobacteria nachgewiesen werden (Abb.23). Ebenso nahm im Vergleich zur bewässerten Variante die relative Abundanz der Proteobacteria durch die vierwöchige Dürre in den Wurzeln der Gerste Alpina ab. Die dominierende Klasse bei der Pumpergerste waren die Gammaproteobacteria. Aufgrund des limitierten Wasserangebots (unbewässert) kam es bei der Pumpergerste zu einer Vermehrung der Gammaproteobacteria (Abb. 23). Die Klassen Actinobacteria und Bacteroidia, welche in der bewässerten Variante der Pumpergerste einen deutlichen Anteil der relativen Abundanz ausmachten, nahmen durch die applizierte Dürre stark ab.

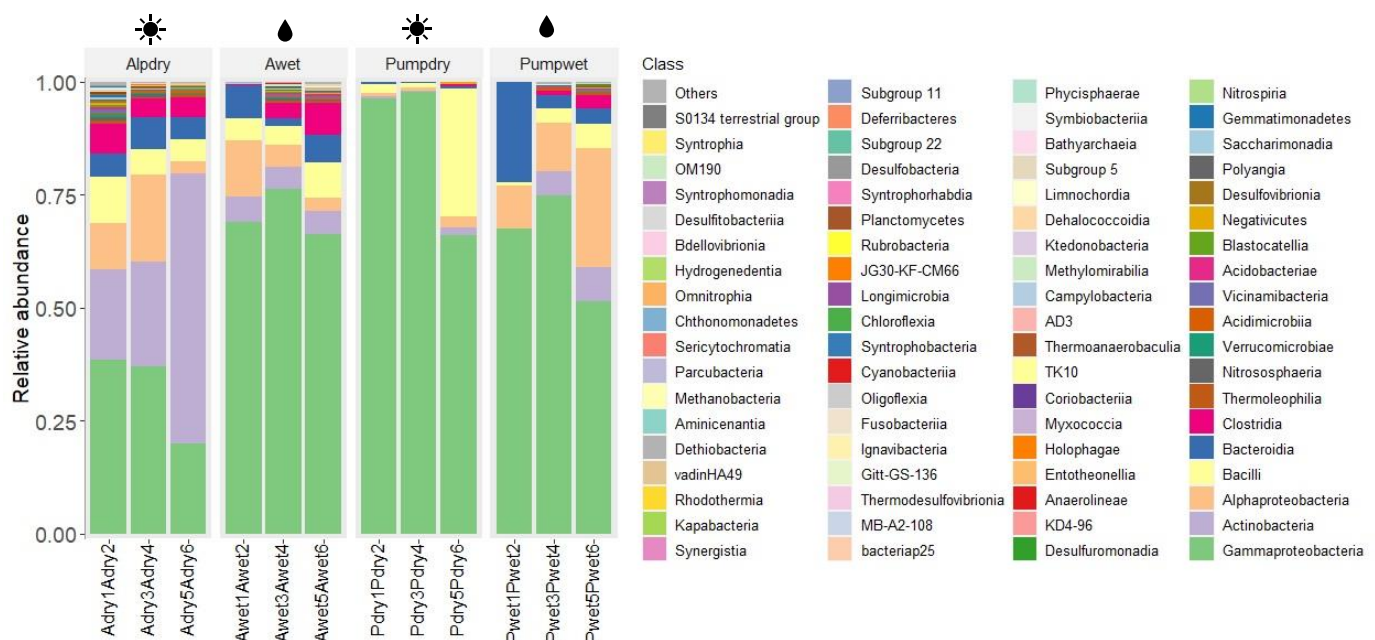


Abb. 23: Relative Abundanz [%] der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Klasse) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.

3.5.3.2 Bakterielle Gemeinschaft eingeteilt in Ordnungen

Durch die hervorgerufene Dürre konnte ein sortenspezifischer Einfluss auf die relative Abundanz in den Ordnungen der endophytischen Bakterien in den Gerstenwurzeln beider Sorten nachgewiesen werden. Im Vergleich zur bewässerten Variante der Gerste Alpina nahm durch die Wasserlimitierung (unbewässert) die relative Abundanz der Ordnung Pseudomonadales um ca. die Hälfte ab (Abb. 24). Die relative Abundanz der Enterobacteriales unterschied sich bei der Gerste Alpina nicht wesentlich in den bewässerten und unbewässerten Varianten. Durch die Wasserlimitierung (unbewässert) konnte bei der Gerste Alpina eine erhöhte relative Abundanz in den Pseudonocardiales, Burkholderiales und Corynebacteriales im Vergleich zur bewässerten Variante festgestellt werden. Im Vergleich zur bewässerten Variante kam es bei der Pumpergerste durch die applizierte Dürre zu einer Vermehrung der Enterobacteriales und einer Reduktion der Pseudomonadales (Abb. 24). Die Ordnung Burkholderiales wurde durch die applizierte Dürre bei der Pumpergerste nahezu verdrängt.

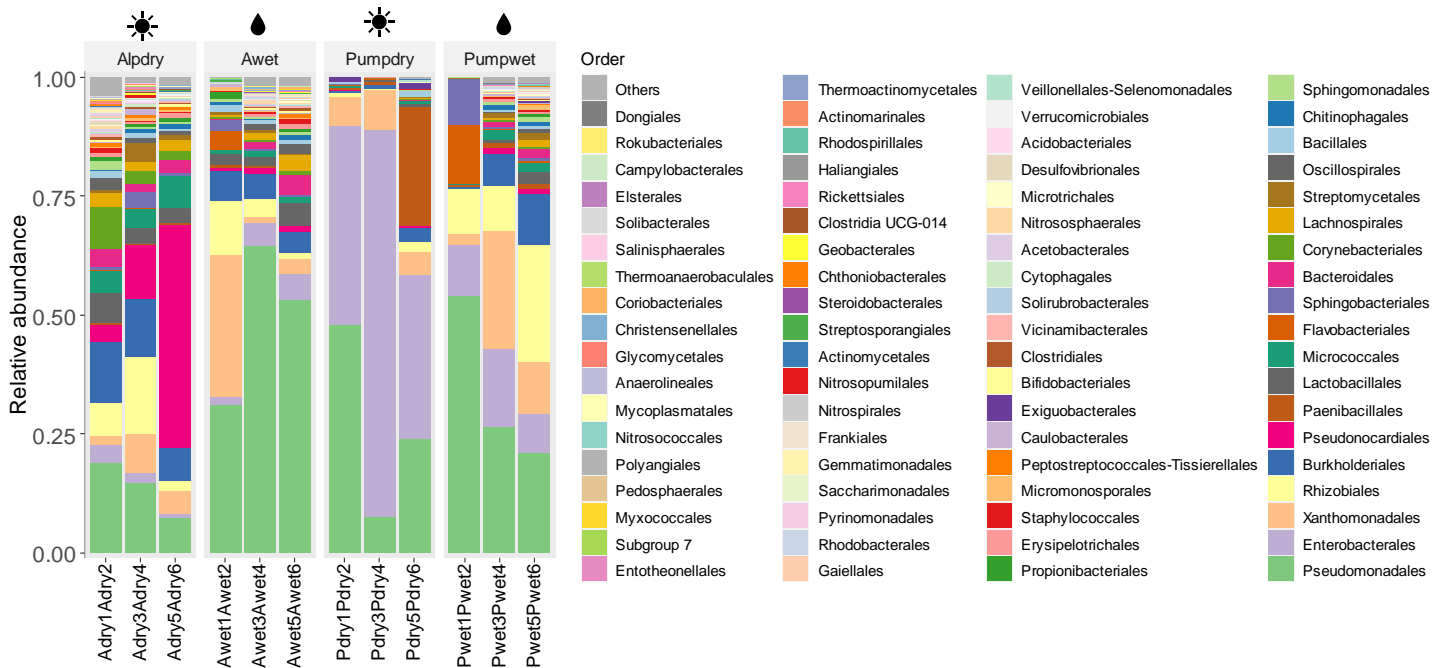


Abb. 24: Relative Abundanz [%] der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Ordnung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.

3.5.3.3 Alpha-Diversität - Prokaryoten

Die ausgeübte Trockenheit führte zu kulturspezifisch entgegengesetzten Auswirkungen auf die Diversität der prokaryotischen Endophyten (Abb. 25). Während die Wasserlimitierung bei der Gerste Alpina zu einer höheren Diversität führte (Shannon >4), konnte bei der Pumpergerste unter den gleichen Bedingungen die geringste Diversität nachgewiesen werden (Shannon-Index <2). Diese Unterschiede waren bei beiden berechneten Diversitätsindizes (Shannon und Simpson) signifikant (Abb. 25). Nach dem Shannon-Index (und Simpson) konnte durch die Bewässerung der Pumpergerste eine höhere Diversität endophytischer Prokaryoten nachgewiesen werden als bei der bewässerten Gerste Alpina (nicht signifikant). Die Wasserlimitierung führte bei der Gerste Alpina zwar zu einer höheren Diversität als bei der bewässerten Variante der gleichen Gerstensorte, jedoch über beide Gerstensorten ließ sich kein signifikanter Effekt der Dürre nachweisen

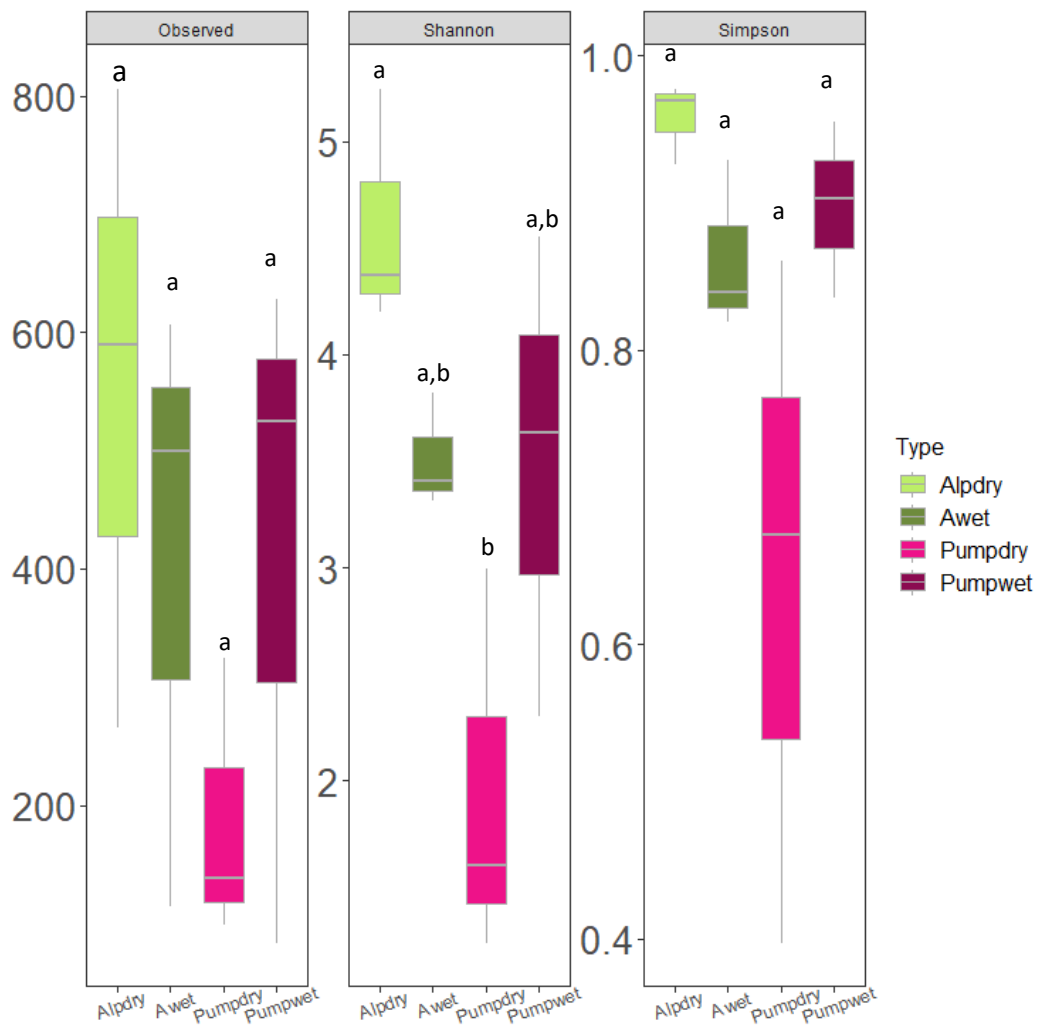


Abb. 25: Diversitätsindizes (Observed, Shannon, Simpson) der bakteriellen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach one-way Anova, $p < 0.05$).

Das Venn-Diagramm (Abb.26) veranschaulicht, dass in beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) unabhängig von der Bewässerung 123 Bakterienarten, welche 82,4 % der Sequenzen ausmachten, ident sind und somit in beiden Sorten vorkommen. Durch die applizierte Dürre konnte in den Wurzeln der Gerste Alpina 956 Bakterienarten gefunden werden, die nur die unbewässerte Gerste Alpina beherbergte (=2,2 % der Sequenzen). Durch die Wasserlimitierung konnten in der Pumpergerste 206 solcher Indikatoren aufgezeigt werden, die damit 3 % der Sequenzen ausmachten (Abb. 26).

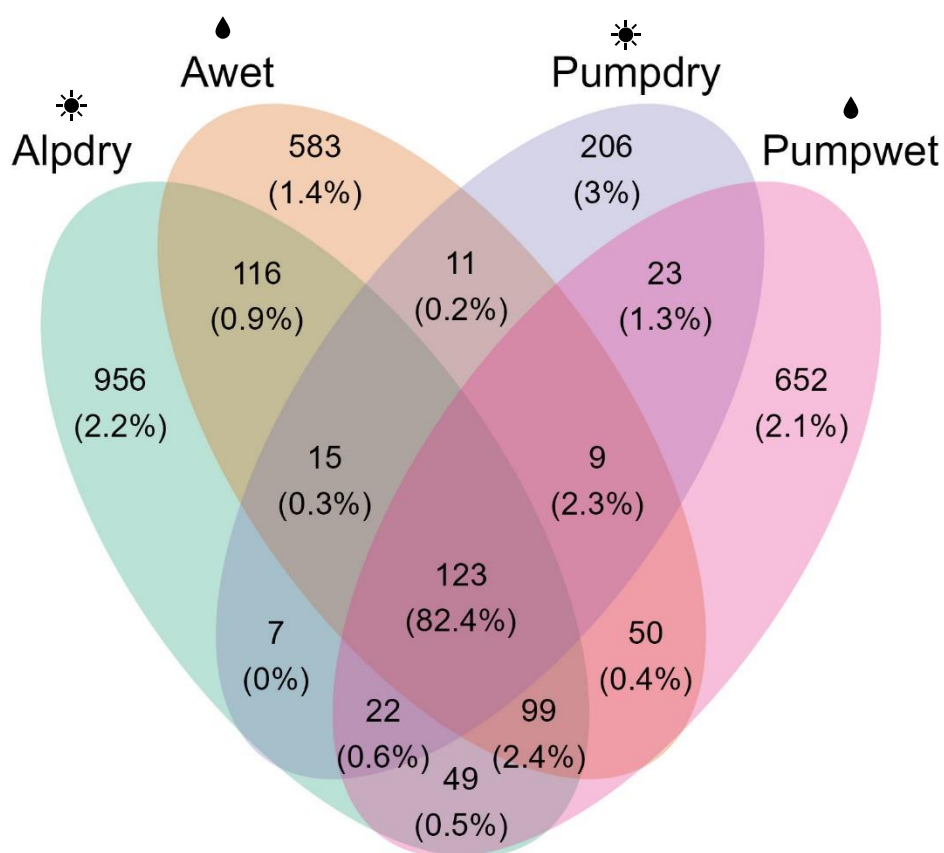


Abb. 26: Venn-Diagramm der prokaryotischen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert).

3.5.3.4 Pilzliche Gemeinschaften eingeteilt in Klassen

Durch die hervorgerufene Dürre konnten Veränderungen der relativen Abundanzen endophytischer Pilze in den Gerstenwurzeln beider Sorten nachgewiesen werden. Zudem wurden auch eindeutige sortenspezifische Unterschiede in der Diversität endophytische Pilze aufgezeigt. Verglichen mit der bewässerten Variante erhöhte die Dürre (=unbewässert) bei der Gerste Alpina die relative Abundanz der Leotiomycetes um ca. ein Viertel (Abb. 27). Durch die applizierte Dürre verringerte sich die relative Abundanz der Klassen Saccharomycetes und Eurotiomycetes in den Wurzeln der Gerste Alpina (im Vergleich zur bewässerten Variante). Bei der Pumpergerste führte der verminderte Wassereintrag (=unbewässert) zu einer Verdopplung der relativen Abundanz der Dothideomycetes (verglichen mit der bewässerten Variante der Pumpergerste). Die Klasse der Mucoromycetes konnten der Trockenheit in beiden Gerstensorten nicht standhalten, dies führte verglichen mit den bewässerten Varianten, zu einer Verringerung der relativen Abundanz in beiden Gerstensorten (Abb. 27).

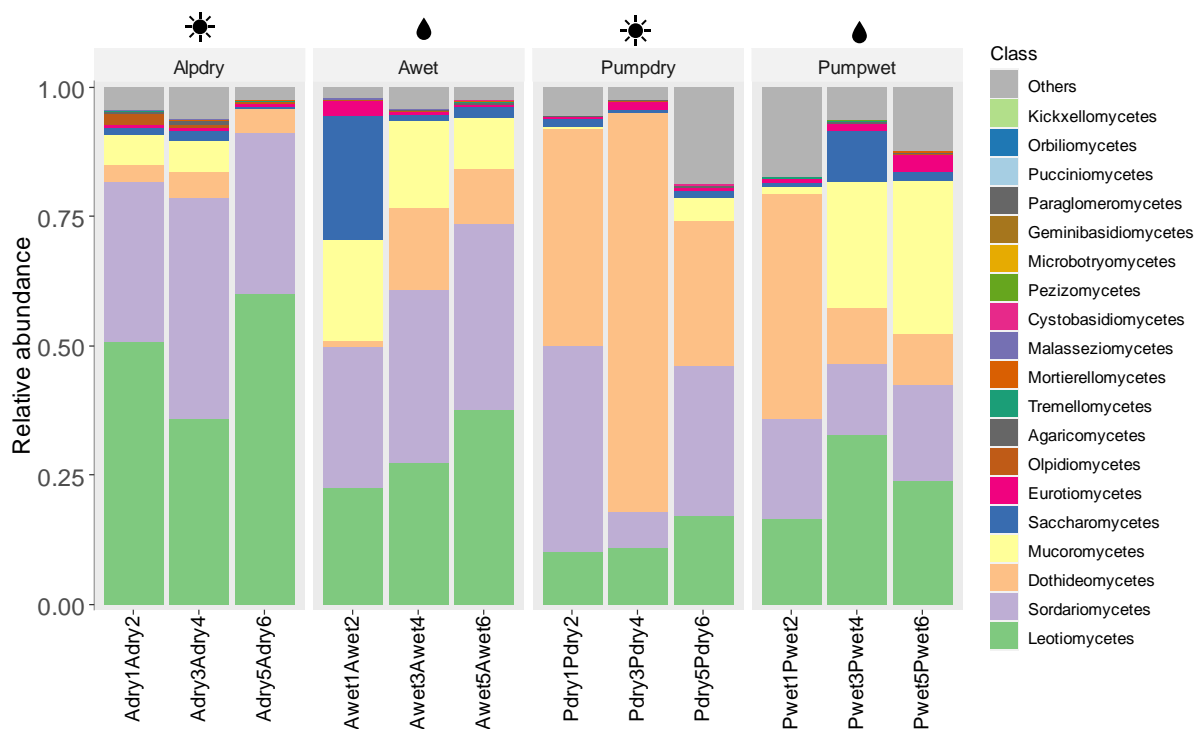


Abb. 27: Relative Abundanz [%] der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Klassen) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.

3.5.3.5 Pilzliche Gemeinschaften eingeteilt in Ordnungen

Die Dürre führte zu einem signifikanten Einfluss auf die pilzliche Gemeinschaft in den Wurzeln der Gerste (Abb. 28). Zudem zeigte sich ein sortenspezifischer Effekt. Verglichen mit der bewässerten Variante erhöhte sich durch die Wasserlimitierung (unbewässert) die relative Abundanz der Ordnung Erysiphales bei der Gerste Alpina um ca. 25 %. Auch die Ordnung Xylariales konnte durch die applizierten Dürre eine etwas höhere relative Abundanz in der Gerste Alpina erreichen (im Vergleich zur bewässerten Variante derselben Gerstensorte). Im Gegensatz zur bewässerten Variante, zeigte die hervorgerufene Dürre bei der Gerste Alpina eine Verringerung der Ordnung Mucorales. Verglichen mit der bewässerten Variante und im Gegensatz zur Gerste Alpina zeigte die Wasserlimitierung (=unbewässert) bei der Pumpergerste eine Verringerung der relativen Abundanz der Ordnung Erysiphales (Abb. 28). Im Gegenzug stieg die relative Abundanz der Pleosporales unter der applizierten Dürre um mehr als das Doppelte an, während diese Ordnung in der Alpina Gerste fast kaum vorhanden war.

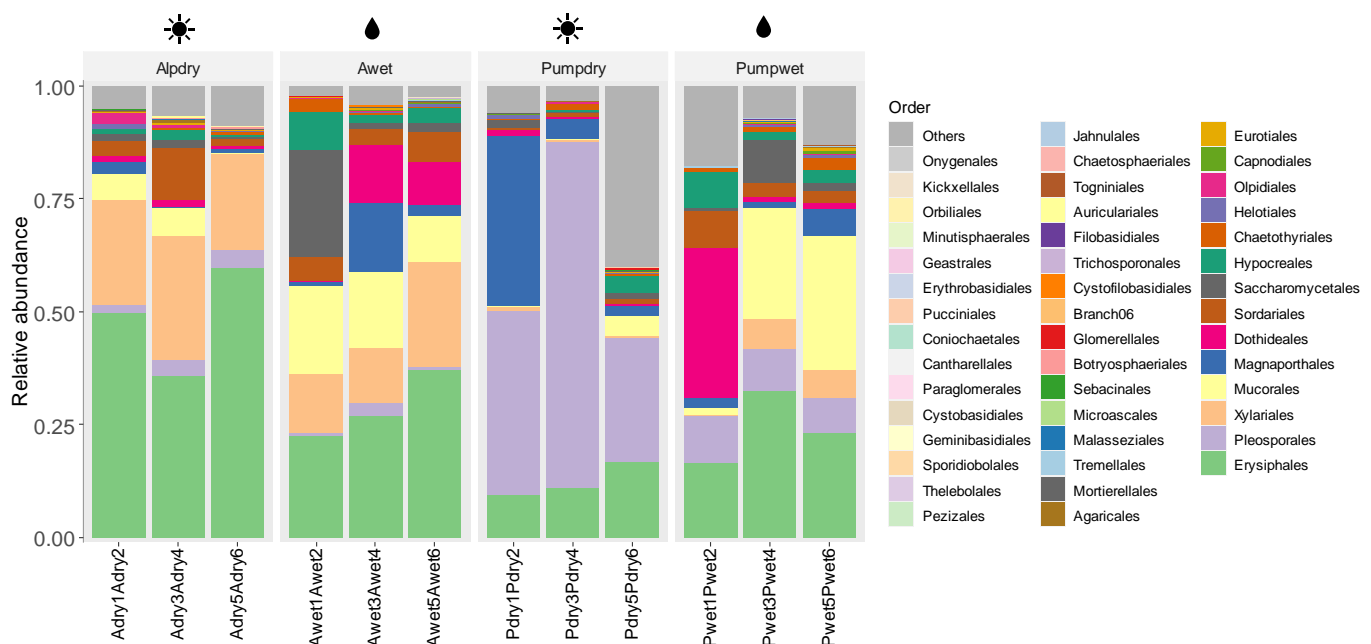


Abb. 28: Relative Abundanz [%] der pilzlichen Gemeinschaft (taxlevel=Ordnung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.

3.5.3.6 Alpha-Diversität - Fungi

Die Dürre führte zu sortenspezifischen Unterschieden in der Diversität endophytischer Pilze in den Wurzeln. Die Anzahl an *observed species* (=Artenreichtum) erstreckte sich von 150 – 300 Arten, signifikante Unterschiede zwischen den Sorten und ein signifikanter Effekt der Dürre wurde nicht nachgewiesen (Abb. 29), obwohl die Pflanzen sehr deutlich von der Dürre gezeichnet waren. Beim Shannon- und Simpson Index erzielte die Pumpergerste die höchste Diversität an pilzlichen Endophyten. Durch die applizierte Dürre wurde bei der Pumpergerste die geringste Diversität endophytischer Pilze nachgewiesen (Shannon <2, Simpson <0,7), der Effekt der Dürre war aber nicht signifikant. Laut Shannon-Index zeigte sich bei der Gerste Alpina durch die Wasserlimitierung (2,8) keine starke Änderung in der Diversität der pilzlichen Endophyten (Abb. 29).

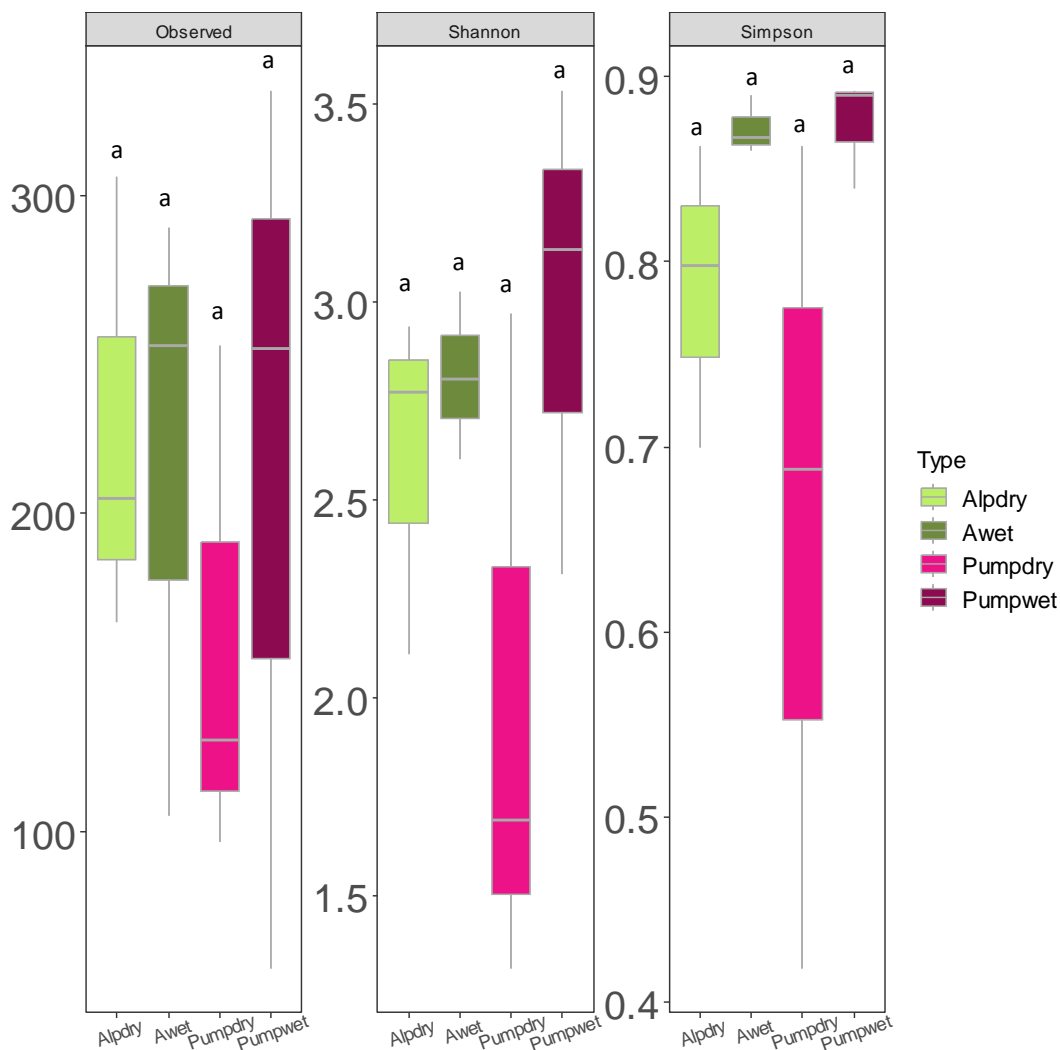


Abb. 29: Artenreichtum (*observed*) und Diversitätsindices (Shannon- und Simpson Index) der Pilz-Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach one-way Anova, $p < 0.05$).

Das Venn-Diagramm der pilzlichen Gemeinschaft veranschaulichte, dass in beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) unabhängig von deren Bewässerung 124 gemeinsame Pilzarten gefunden wurden, die 86,7 % der Sequenzen der pilzlichen Endophyten in den Gerstenwurzeln ausmachten (Abb. 30). Durch die Dürre konnten in den Wurzeln der Pumpergerste 112 verschiedene Pilzarten gefunden werden, die in keiner anderen Probe gefunden wurden, und somit Indikatorarten aufzeigen, während bei der nicht unter Dürre stehenden Pumpergerste 124 Pilzarten einzigartig waren. Die bewässerte Gerste Alpina beherbergte 78 Pilzarten, welche 0,6 % der Sequenzen ausmachten, und Indikatorarten für Alpina darstellten. Unter Dürre beherbergte die Gerste Alpina 75 unterschiedliche Pilze, die 0,5 % der Sequenzen ausmachten, und nur in dieser Probe gefunden werden konnten (Abb. 30).

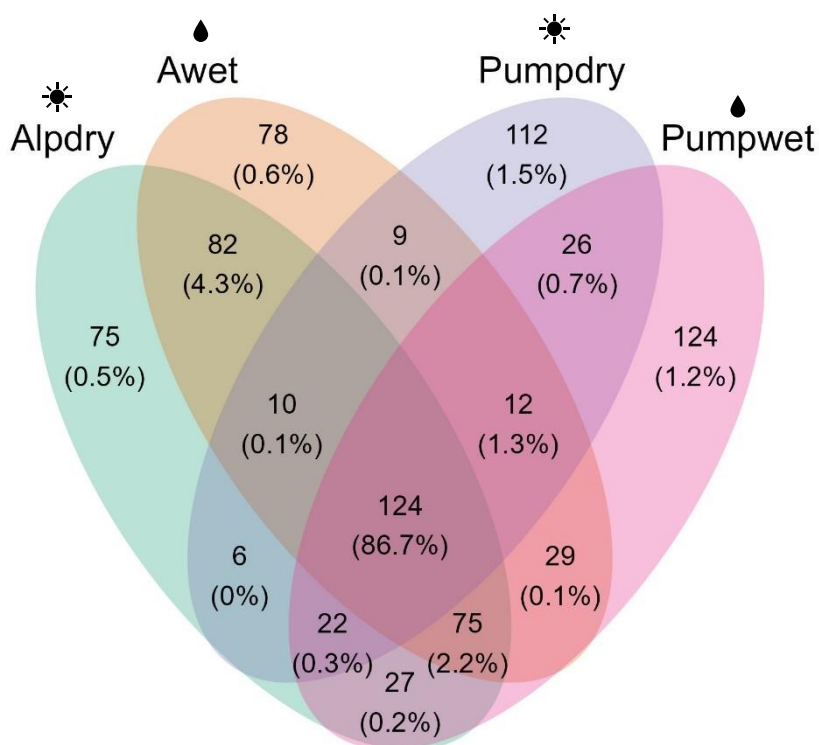


Abb. 30: Venn-Diagramm der pilzlichen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) in Abhängigkeit des Wasserregimes. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert).

4 Diskussion

4.1 Physikalische und chemische Kenngrößen des Bodens

Die applizierte Dürre führte zu erheblichen Auswirkungen auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens. Durch die Wasserlimitierung (unbewässert) erhöhte sich die Trockensubstanz im Boden beider Gerstensorten im Vergleich zu den bewässerten Gerstensorten (Alpina und Pumper) um 10 %. Beim pH-Wert des Ackerbodens, welcher sich auf die Nährstoffverfügbarkeit auswirkt, konnte eine bewässerungsabhängige Veränderung festgestellt werden. Durch die Dürre kam es unabhängig von der Gerstensorte verglichen mit den bewässerten Varianten zu einer signifikanten Reduktion des pH-Wertes. Da sich der pH-Wert trotz der vierwöchigen Dürre (=unbewässert) in beiden Gerstensorten im neutralen Bereich (7,04) befand, konnte davon ausgegangen werden, dass sich dieser nicht negativ auf die Nährstoffverfügbarkeit auswirkte (Ottow, 2006). Wie sich der pH-Wert des Bodens über eine länger anhaltende Dürre auswirkt, könnte in zukünftigen Studien untersucht werden. Die Reduktion des pH-Wertes mit der Dürre kann am veränderten Redoxpotential durch den erhöhten Sauerstoffeintrag oder an inhibierten N-Mineralisationsvorgängen liegen. Der pH-Wert in den Böden außerhalb des Versuchsfeldes (Kontrollfelder) lag mit pH=7,0 auf demselben Niveau wie die unbewässerten Felder, was wiederum auf eine temporäre Wassersättigung in den bewässerten Felder hinweist und dadurch zu reduzierten Redoxvorgängen mit einhergehenden pH-Wert Erhöhung. Die elektrische Leitfähigkeit kann als ein Maß für die Summe der gelösten Ionen herangezogen werden. Bei einer elektrischen Leitfähigkeit von über 4000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ wird von einer toxischen Wirkung auf die Kulturpflanzen ausgegangen. Generell gelten Gersten aber als eher salztolerante Kulturpflanzen (Amelung et al., 2018). In dieser Arbeit wurde der höchst gemessene Salzgehalt im wasserlimitierten (unbewässerten) Boden der Gerste Alpina mit 125 $\mu\text{S}/\text{cm}$ gemessen werden. Dieser unterschied sich signifikant zum gleich behandelten (unbewässert) Boden der Pumpergerste (104 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Durch die Wasserlimitierung konnte es zu einer Aufkonzentrierung der im Boden vorhandenen Ionen kommen, dies würde die höher gemessene Leitfähigkeit in beiden unbewässerten Gerstensorten erklären (Amelung et al., 2018). Der Ertrag landwirtschaftlicher Nutzpflanzen ist stark von der Versorgung mit Mineralstoffen, insbesondere Stickstoff abhängig. Stickstoff gilt als der limitierende Faktor für Nutzpflanzen (MOKHELE et al., 2012). In Pflanzen können sowohl anorganische als auch organische Formen von Stickstoff metabolisiert werden. Nitrat und Ammonium im Boden sind häufige Formen von anorganischem Stickstoff (Mokhele et al., 2012). Im Boden der Gerste Alpina wurde generell ein höherer Gehalt an pflanzenverfügbarem Ammonium nachgewiesen als im Boden der Pumpergerste (nicht signifikant). Durch die applizierte Dürre konnte in beiden Gerstensorten kein signifikanter Effekt (bewässert und unbewässert) auf den Ammoniumgehalt nachgewiesen werden. Im Boden der Gerste Alpina konnten unabhängig von der

Bewässerung tendenziell höhere Nitratgehalte nachgewiesen werden als im Boden der Pumpergerste. Während sich der Nitratgehalt im Boden der Gerste Alpina durch die applizierte Dürre kaum veränderte, führte die Wasserlimitierung im Boden der Pumpergerste zu einer signifikanten Reduktion des Nitratgehaltes (verglichen mit dem unbewässerten Boden der Gerste Alpina). Da auch im Boden außerhalb der Überdachung die Ammonium- und Nitratgehalte bei der Alpina Gerste höher lagen, kann von einem sortenspezifischen Einfluss der Gerste Alpina auf den Ammonium- und Nitratgehalt ausgegangen werden. Laut Mokhele et al. (2012) gelten pH-Wert, UVB-Strahlung, die Menge an vorhandenem Nitrat und vorhandene Schwermetalle als wichtige Parameter, welche die Aufnahme und Reduktion von Stickstoff im Boden beeinflussen.

Als ein weiterer wichtiger Indikator für die Bodenqualität gilt die organische Bodensubstanz, welche wichtige agronomische und ökologische Funktionen erfüllt (Raphael et al., 2016). Durch die applizierte Dürre konnte im Boden beider Gerstensorten höhere Werte des Gesamtkohlenstoffs und Gesamtstickstoffs gemessen werden. Der wasserlimitierte (unbewässert) Boden der Gerste Alpina zeigte den höchsten Gehalt an Gesamtstickstoff, dieser unterschied sich signifikant von den anderen gemessenen Bodenproben (Alpina bewässert, Pumper bewässert und unbewässert). Die unter der applizierten Dürre erhöhten Werte an Kohlenstoff und Stickstoff im Boden beider Gerstensorten könnten darauf hindeuten, dass eine Gemeinschaft aktiver Mikroben die Dürre nicht überlebte, folglich kam es durch das Absterben der Mikroben zur Freisetzung von Nährstoffen (wie Kohlenstoff und Stickstoff) aus den toten Zellen im Boden. Die Folgen wären ein erhöhter Gehalt an Kohlenstoff und Stickstoff im Boden, jedoch eine verminderte mikrobielle Diversität im Boden (Bogati & Walczak, 2022). Da auch der Boden der Gerste Alpina außerhalb der Überdachung tendenziell höhere Wert an Gesamtkohlenstoff und Gesamtstickstoff aufwies, kann von einem sortenspezifischen Einfluss der Gerste Alpina auf den Gesamtkohlenstoff und Stickstoffgehalt ausgegangen werden. Der gelöste organische Kohlenstoff zeigte keine signifikanten Unterschiede, weder zwischen den beiden Gerstensorten noch zwischen den unterschiedlichen Behandlungen bewässert und unbewässert. Bogati und Walczak (2022) konnten feststellen, dass sich durch die Dürre der Gehalt an gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) aufgrund einer reduzierten Mineralisierung und einer höheren Stabilität der gelösten organischen Substanz erhöhte. Möglicherweise war eine vierwöchige Dürre zu kurz, um eine Erhöhung des DOC zu erreichen.

4.2 Mikrobielle Biomasse, Aktivität und Abundanz im Bulksoil

Die mikrobielle Biomasse (mikrobieller Biomassekohlenstoff) im Boden ist ein Sensitivitäts- und Frühwarnindikator für die Verschlechterung eines Bodenökosystems (Geng et al., 2015; Somova & Pechurkin, 2001). Durch die hervorgerufene Dürre wurde der mikrobielle Biomassenkohlenstoff im Boden beider Gerstensorten signifikant reduziert. Die Pumpergerste reagierte auf die Wasserlimitierung stärker als die Gerste Alpina. Bei der Pumpergerste führte die applizierte Dürre zu einer signifikanten Reduktion der mikrobiellen Biomasse (über 300 $\mu\text{g C/g TS}$). Bei der Gerste Alpina führte die hervorgerufene Dürre zu einer signifikanten Reduktion der mikrobiellen Biomasse um fast 200 $\mu\text{g C/g TS}$. Der mikrobielle Biomassenkohlenstoff reagiert stark auf die Bodenumgebung und Klimabedingungen, so werden Wachstum und Reproduktion von Bodenmikroben durch die globale Erwärmung und diverse Niederschlagsmuster beeinflusst (Geng et al., 2015; Johnson et al., 2003). Für die Aufrechterhaltung des Stoffwechsels benötigen die Bodenmikroorganismen Wasser. Können die Bodenmikroorganismen dem trockenen Boden kein Wasser mehr entziehen, ist nur mehr ein Erhaltungsstoffwechsel möglich. Dies können nur bestimmte Mikroorganismen aushalten, einige überdauern, andere sterben ab (WEISSKOPF, 2000). Studien über extremen Trockenstress haben gezeigt, dass die mikrobielle Aktivität und Gemeinschaftsstruktur des Bodens ernsthaft geschädigt werden kann und dürreempfindliche Mikroorganismen verschwinden würden, weil sie sich nicht an den Trockenstress anpassen können (Geng et al., 2015).

Durch die hervorgerufene Dürre konnten in Abhängigkeit des Nährmediums signifikante Effekte auf die Kultivierung der Bodenmikroben erzielt werden. Auf dem Sabouraud-Maltose Agar, auf dem generell die geringste Gesamtkeimzahl an Bodenmikroben kultiviert wurde, konnte durch die applizierte Dürre bei der Pumpergerste eine signifikant höhere Gesamtkeimzahl nachgewiesen werden als bei der derselben Gerstensorte bewässert. Bei der Gerste Alpina wurden aus dem unbewässerten Boden eine höhere (nicht signifikant) Gesamtkeimzahl kultiviert, als bei der bewässerten Behandlung der Gerste Alpina. Der Sabouraud-Maltose Agar eignet sich vor allem für die Kultivierung von Hefen und Pilzen, da durch die Zugabe des Breitbandantibiotikums Streptomycin das Wachstum von gramnegativen und grampositiven Bakterien gehemmt wird (Illmer et al., 2021). Durch das vorhandene Benagalrot im Sabouraud-Maltose Agar konnte das Wachstum von größeren Pilzkolonien begrenzt werden, sodass langsam wachsende Pilze nicht überwuchert wurden (Illmer et al., 2021). In einer Studie von De Vries et al. (2018) wurde herausgefunden, dass Pilzgemeinschaften im Boden generell besser auf Vegetationsveränderungen reagieren als Bakteriengemeinschaften. Möglicherweise sind Pilze die ersten Verbraucher von unterirdischem Kohlenstoff bei Trockenstress (De Vries et al., 2018). Sporenbildende Mikroorganismen wie beispielsweise Pilze sind resistent gegenüber Trockenstress und können dadurch lange Zeit in ruhender Form überleben (Bogati & Walczak, 2022).

Auf dem Stärke-Nährmedium konnte die Trockenheit (=Dürre) keinen signifikanten Effekt auf die kultivierbaren Bodenmikroben innerhalb der jeweiligen Gerstensorten (Alpina und Pumper) hervorrufen. Durch die hervorgerufene Dürre konnte auf dem Bodenextrakt-Nährmedium kein signifikanter Effekt auf die kultivierbaren Mikroorganismen zwischen beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) nachgewiesen werden. Sporenbildende Mikroorganismen, wie *Bacillus* sp. sind gegen Dürre resistent und können lange Zeit in ruhender Form überleben (Bogati & Walczak, 2022). Durch das dicke Peptidoglykan in der Zellwand besitzen grampositive Bakterien eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit (verglichen mit gramnegativen Bakterien) (Bogati & Walczak, 2022). Möglicherweise kam es durch die Trockenheit zu einer verringerten Abundanz gramnegativer Bakterien und gleichzeitig wurde die Abundanz grampositiver Bakterien erhöht. Dies würde erklären, weshalb kein signifikanter Effekt der Dürre auf die kultivierbaren Bodenmikroben auf Bodenextrakt-Nährmedium nachweisbar war. In dieser Arbeit wurde keine weitere Differenzierung der kultivierbaren Bodenmikroben durchgeführt. Auf dem oligotrophen Bodenextrakt-Nährmedium, welches das Nährstoffauskommen im Boden am besten darstellt, wurden die meisten koloniebildenden Einheiten (kbe/cfu) kultiviert. Die Abundanz an kultivierbaren Bodenmikroben verringerte sich bei der Gerste Alpina durch die applizierte Dürre auf $8,6 \cdot 10^6$ cfu/g TS, was sich nicht signifikant von der bewässerten Variante ($2,1 \cdot 10^7$ cfu/g TS) derselben Gerstensorte unterschied. Bei der bewässerten Pumpergerste konnten auf dem Bodenextrakt-Nährmedium $1,8 \cdot 10^7$ cfu/g TS kultiviert werden, aus dem unter vierwöchigen Dürrestress gestandenen Boden wurden $1,2 \cdot 10^7$ cfu/g TS kultiviert. Zwischen allen kultivierbaren cfu auf dem Bodenextrakt konnten keine signifikanten sorten- und bewässerungsspezifische Unterschiede festgestellt werden. Nur knapp über 1 % aller Boden-Mikroorganismen können mit traditionellen Techniken kultiviert werden, dabei spielt das verwendete Nährmedium eine große Rolle (Pham & Kim, 2012). Die überwiegende Mehrzahl der kultivierbaren Bacteria in Böden entfällt auf die vier großen Phyla Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes und Bacteroidetes (OTTOW, 2006). Generell können aus dem Boden, je nach Nährmedium, zwischen 10^6 - 10^8 cfu (colony forming units)/g Boden kultiviert werden (Liu et al., 2017), dies deckt sich ebenfalls mit den kultivierten Bodenmikroben auf dem Bodenextrakt-Nährmedium in dieser Arbeit.

4.3 Kultivierung endophytischer Mikroorganismen in Wurzeln der Gerste

Die Kultivierung endophytischer Mikroorganismen aus den Gerstenwurzeln zeigte sortenspezifische Unterschiede zwischen beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) unabhängig von deren Bewässerung. Bei der Kultivierung endophytischer Mikroben in den Gerstenwurzeln konnten signifikante sortenspezifische Unterschiede in der Abundanz kultivierbarer Endophyten zwischen beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) festgestellt werden, wobei die Bewässerung keinen signifikanten Effekt zeigte, obwohl die Pflanzen von der Dürrephase deutlich gezeichnet waren und sich eindeutig von den Kontrollpflanzen in Größe, Reife und Ertrag unterschieden. In der Diversität kultivierbarer endophytischer Mikroorganismen konnte kein Unterschied zwischen den beiden Gerstensorten (bewässert und unbewässert) aufgezeigt werden. Aus beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) konnten unabhängig von der Bewässerung (bewässert und unbewässert) die identischen endophytischen Mikroorganismen isoliert werden. Weil sich die Endophyten im Inneren der Pflanze und somit in einer Art ökologischen Schutzniche befinden, zeigten sie keine bzw. nur schwache Reaktionen auf abiotische Faktoren (Afzal et al., 2019). Durch die durchgeführten NGS-Analysen wurden jedoch sortenspezifische Indikatoren nachgewiesen, welche sich durch das Bewässerungsregime (bewässert und unbewässert) änderten. Daher muss angemerkt werden, dass durch die kulturbasierten Ansätze nur eine geringe Anzahl der Prokaryoten erfasst werden kann und dies nur einen Einblick in die Diversität gibt, zumal die kultivierte Abundanz auch stark Nährmedienabhängig ist. Huang (2018) bestätigt, dass die kulturbasierten Ansätze nur einen Einblick über die Diversität der kultivierbaren Mikroben geben können, da die Mehrheit der Bakterien mit traditionellen Methoden nicht bzw. nur aufwändig kultiviert werden kann (HUANG, 2018). Um genauere Aussagen über die Diversität der endophytischen Mikroben treffen zu können, wurden die NGS-Analysen durchgeführt. Kulturbasierte Ansätze sind dennoch von enormer Bedeutung, da die vorhandenen Isolate wichtige Aufschlüsse über den Organismus geben und diverse Tests zur Physiologie durchgeführt werden können. Aus den Wurzeln der Pumpergerste konnten unabhängig von der Bewässerung in beiden Nährmedien (TSA und CS) signifikant mehr Mikroorganismen kultiviert werden als aus den Wurzeln der Gerste Alpina. Durch die Wasserlimitierung wurden in den Wurzeln der Pumpergerste $1,18 \cdot 10^6$ cfu/g FG (TSA) und $7,33 \cdot 10^5$ cfu/g FG (Casein-Stärke-Nährmedium) kultiviert. In der Gerste Alpina führte die applizierte Dürre zu $1,53 \cdot 10^5$ cfu/g FG (TSA) und $1,45 \cdot 10^5$ cfu/g FG (Casein-Stärke-Nährmedium). Das endophytische Mikrobiom im Wurzelgewebe erreicht laut LIU et al. (2017) 10^4 - 10^8 cfu pro Gramm Wurzelgewebe, wohingegen im Boden und der Rhizosphäre mit deutlich mehr cfu/g Boden gerechnet werden kann (Liu et al., 2017). Dies konnte in dieser Arbeit bestätigt werden. Die unterschiedliche Beschaffenheit der Gerstenwurzeln Alpina und Pumper könnten Gründe für die unterschiedliche Abundanz der kultivierbaren Mikroorganismen sein. Die Wurzeln der Pumpergerste waren dick und kurz, während die Wurzeln der Gerste Alpina eher lang und

filigran waren. Im Zuge der Kultivierung endophytischer Mikroorganismen wurden zwei endophytische Pilze aus der Klasse Sordariomycetes kultiviert: *Fusarium hostae* und *Sarocladium strictum*. *Sarocladium strictum* konnte in bestimmten Pflanzen eine insektizide Aktivität nachgesagt werden (El-Sayed et al., 2020). Ein gezielter Nachweis kultivierbarer endophytischer Pilze wurde kulturtechnisch nicht durchgeführt. Prinzipiell ließ die makroskopische Beurteilung der isolierten Endophyten keinen Rückschluss auf einen Dürreeinfluss oder sortenspezifischen Effekt zu. Aus den 28 unterschiedlichen Arten der kultivierten endophytischen Bakterien konnten ca. 35 % zum Phylum Proteobacteria gezählt werden. Bei der späteren NGS-Analyse konnte gezeigt werden, dass Proteobacteria, abhängig von der Gerstensorte, mindestens 40 % der relativen Abundanz ausmachten und eines der dominanten Phyla darstellte. Proteobacteria bilden innerhalb der Prokaryoten eine der größten Abteilungen und stellen die überwiegende Mehrheit gramnegativer Bakterien (Gupta, 2000). Etwa 28 % der kultivierbaren endophytischen Bakterien zählten zum Phylum Actinobacteria. Die Actinobacteria zeigten sich in den NGS-Analysen als Indikatorarten, da durch applizierte Dürre sortenspezifische Reaktionen erfolgten. Während sich die relative Abundanz der Actinobacteria in den Wurzeln der Gerste Alpina durch die hervorgerufene Dürre mehr als verdoppelte (verglichen mit der bewässerten Gerste Alpina), wurden die Actinobacteria in den unbewässerten Wurzeln der Pumpergerste nahezu verdrängt (verglichen mit der bewässerten Pumpergerste). Actinobacteria sind grampositive Bakterien, welche charakteristisch einen hohen GC-Gehalt aufweisen und sowohl in terrestrischen als auch in aquatischen Ökosystemen vorkommen (Barka et al., 2016). Actinobacteria sind geprägt von einem umfangreichen Sekundärstoffwechsel und produzieren etwa 2/3 aller natürlich gewonnen Antibiotika, antimykotischer Verbindungen und viele weitere medizinisch relevanten Stoffen (Barka et al., 2016). Unter nährstoffarmen Bedingungen verbringen Actinobacteria den größten Teil ihres Lebenszyklus als halbruhende Sporen. Die Bodenpopulation der Actinobacteria werden von der Gattung *Streptomyces* dominiert (Barka et al., 2016). Die kultivierten Bacilli (21 %) zählten zum Phylum Firmicutes. Firmicutes konnten auch durch die 16S Amplicon-Sequenzierung in beiden Gerstensorten in unterschiedlicher relativer Abundanz nachgewiesen werden. Firmicutes bilden Endosporen, um extremen Umweltbedingungen standzuhalten. Die Bildung bakterieller Endosporen ist für Bakterien ein wichtiger Prozess der ruhende Lebensformen ermöglicht (Beskrovnaya et al., 2021; Galperin et al., 2012; Nicholson et al., 2000; Setlow, 2007). Durch geringe Stickstoff- und Kohlenstoffverfügbarkeit können Bakterien aus dem Phylum Firmicutes Endosporen bilden, die gegen UV-Strahlung, extremen pH-Wert, hohen Temperaturen und Druck resistent sind (Beskrovnaya et al., 2021; Galperin et al., 2012; Nicholson et al., 2000; Setlow, 2007). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass durch die Kultivierung der Endophyten und deren anschließende Sanger-Sequenzierung gezeigt wurde, dass die überwiegende Mehrheit der kultivierbaren Endophyten sich in die Phyla Proteobacteria, Actinobacteria und Firmicutes einteilen ließ. Dies deckt sich mit den Untersuchungen von Santoyo et

al. (2016). Da die Hauptbesiedelung endophytischer Mikroorganismen in die Wurzeln der Wirtspflanzen vom Boden aus erfolgt und im Boden die vier Phyla die dominanten kultivierbaren Vertreter sind (Hardoim et al., 2015), sind die Ergebnisse sehr plausibel.

4.4 Amplicon-Sequenzierung zur metataxonomischen Beschreibung bakteriellen und pilzlichen Gemeinschaft in Gerstenwurzeln

4.4.1 Prokaryoten

Wie erwartet war die Diversität der bakteriellen Endophyten, ermittelt mittels Amplicon-Sequenzierung, um vielfaches artenreicher als die kultivierbare Gemeinschaft der endophytischen Bakterien. Während insgesamt 28 verschiedene bakterielle Endophyten kultiviert werden konnten, wurden durch die Amplicon-Sequenzierung zwischen 200 bis 500 verschiedene Arten gefunden, was deutlich über der geltenden Einschätzung, dass 1 % der Prokaryoten kultivierbar sind (HUANG, 2018), liegt. Der 4-wöchige Dürrestress zeichnete die Gersten sehr deutlich und die Gerstenpflanzen unterschieden sich makroskopisch eindeutig von den Kontrollpflanzen. Im Allgemeinen erwirkte die Dürre keinen signifikanten Effekt auf die Diversität der Endophyten in den Wurzeln, jedoch ergaben sich sehr deutliche Verschiebungen der relativen Abundanzen der Endophyten durch den Trockenstress. Signifikant war der Einfluss der Gerstensorten auf die Diversität der Endophyten und im Speziellen wurde ein signifikant kombinierter Effekt von Dürre und Gerstensorte nachgewiesen, wodurch sich eine signifikante Reduktion der Diversität der prokaryotischen Endophyten in der Pumpergerste ergab. Im Detail wurde in den Wurzeln der Gerste Alpina durch die herbeigeführte Dürre das Phylum der Proteobacteria um rund die Hälfte reduziert, verglichen mit der bewässerten Behandlung, in welcher eine relative Abundanz der Proteobacteria von rund 75 % nachgewiesen wurde. Dies deckt sich mit einer Studie von Hartmann et al. (2017), in der sich der Anteil der Proteobacteria bei langfristiger Wasserbegrenzung deutlich reduzierte. Der gegenteilige Effekt zeigte sich in den Wurzeln der Pumpergerste, durch die Trockenheit kam es zu einer Erhöhung der relativen Abundanz der Proteobacteria auf über 80 % (verglichen mit der bewässerten Pumpergerste) (Abb. A1 im Anhang). Die sortenspezifische Reaktion endophytischer Bakterien auf Trockenheit wurden im taxonomischen Level Klassen unterstrichen. Wichtig hierbei zu erwähnen ist, dass es sich bei beiden getesteten Gersten um eine Art, nämlich *Hordeum vulgare* handelte, es waren lediglich unterschiedliche Sorten (Alpina und Pumper). Die applizierte Dürre führte in den Wurzeln der Gerste Alpina zu einer Reduktion der Gammaproteobacteria und einer Steigerung der Actinobacteria um mehr als das Dreifache (verglichen mit Alpina bewässert) (Abb.23). Anders als bei der Gerste Alpina stieg bei der Pumpergerste der Anteil der Gammaproteobacteria durch die applizierte Dürre an, während der der Actinobacteria und Bacteroidia deutlich abnahm bzw. verschwand. Die dominanten

Ordnungen zeigten starke Variationen zwischen den beiden Gerstensorten Alpina und Pumper und es konnten sortenspezifischen Reaktionen auf den Dürrestress nochmal deutlicher hervorgehoben werden (Abb. 24). Die Zusammensetzung der mikrobiellen Endophyten korreliert mit der Pflanzenphysiologie und wird durch die Wurzelexsudation oder der Sezernierung verschiedener Metaboliten der Pflanzen angetrieben (Compant et al., 2010). Die Besiedlung pflanzenassoziierter Mikroorganismen hängt also von der Verfügbarkeit bestimmter Verbindungen ab, welche von Pflanzen produziert werden, die als primäre Nährstoffquelle, als chemotaktische Lockstoffe oder Signalmoleküle fungieren (Compant et al., 2010). Dadurch können sich durch erhöhte Temperatur und Trockenheit unterschiedliche Genotypen von pflanzenwachstumsfördernden Bakterien und Pilzen in der Pflanze etablieren, welche auch unterschiedliche Aktivitäten aufweisen. Durch die Studie von Compant et al. (2010) könnte die sortenspezifische Reaktion beider Gerstensorten auf Dürre bedeuten, dass beide Gerstensorten (Alpina und Pumper) unterschiedliche Verbindungen produzierten, welche dann in weiterer Folge verschiedene Bakterien aus dem Boden rekrutierten und diese sich als Endophyten im Pflanzengewebe anreicherten. Auch Naylor und Coleman-Derr (2018) beschrieben, dass Pflanzen aus den Bodengemeinschaften Bakterien rekrutieren, in Folge reichern sich diese als eine wirtsspezifische endophytische Wurzelgemeinschaft an. Diese Anreicherung kann jedoch durch Trockenheit beeinträchtigt werden, direkt durch Selektion austrocknungstoleranter Taxa oder auch indirekt durch veränderte Bodenchemie und Diffusionsraten (Naylor & Coleman-Derr, 2018). Auch Pflanzen reagieren auf Dürre mit einer Reihe physiologischer Reaktionen, wie beispielsweise Veränderung im Profil des Wurzelexsudats, um sich vor schädlichen Auswirkungen zu schützen (Naylor & Coleman-Derr, 2018). Die Rhizodesposition ist eines der wichtigsten Mittel, mit dem Pflanzen Bakterien rekrutieren. Daraus haben Naylor und Coleman-Derr (2018) geschlossen, dass das Wurzelmikrobiom bei Trockenheit dadurch bestimmt wird, wie die Trockenheit die Wirtspflanze und auch die umgebenden Böden beeinflusst. Verglichen mit der bewässerten Variante der Gerste Alpina, führte die applizierte Dürre zu einer signifikant höheren endophytischen Diversität in den Gerstenwurzeln (Shannon-Index >4) (Abb.25). Umgekehrt zeigte die Wasserlimitierung in den endophytischen Bakterien aus den Wurzeln der Pumpergerste eine negative Auswirkung auf die Diversität (Shannon-Index <2), wodurch sich ein sortenspezifischer Effekt der Dürre ergab. Hierbei könnte es eine Spezifität der Endophyten und ihren Wirtspflanzen geben. Die genetische Vielfalt endophytischer Bakterien kann durch die Umweltbedingungen und dem Wirtsgenotyp bestimmt werden (Shi et al., 2014). Die Unterschiede der endophytischen Diversität in den beiden Gerstensorten könnte auf die Variabilität des Genotyps der Pflanzen zurückzuführen sein. Bei Untersuchungen des Einflusses des Genotyps in Baumwollpflanzen wurde herausgefunden, dass die unterschiedlichen genetischen, morphologischen und physiologischen Eigenschaften einzelner Baumwollsorten zu Unterschieden in der Diversität endophytischer Bakterien zwischen den Sorten führten (Adams &

Kloepper, 2002). Außerdem konnte in anderen Studien gezeigt werden, dass das Alter von Wirtspflanzen und die Umweltbedingungen Auswirkungen auf endophytische Gemeinschaften haben (Hallmann et al., 1997; Helander et al., 2006; Shi et al., 2014). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass die Dürre im Boden zu einer Verschiebung der mikrobiellen Diversität führte (Naylor & Coleman-Derr, 2018). So kann sich unter Wasserlimitierung das Verhältnis von grampositiven zu gramnegativen Bakterien verschieben (Naylor & Coleman-Derr, 2018). Die Zellwand aus Peptidoglykan grampositiver Bakterien verleiht ihnen in Trockenheit höhere Widerstandskraft (Bogati & Walczak, 2022). Häufig konnte beobachtet werden, dass unter Dürre die häufigsten gramnegativen Stämme wie Verrucomicrobia, Proteobacteria und Bacteroidetes abnahmen, während grampositive Vertreter der Phyla Actinobacteria und Firmicutes zunahmten (Naylor & Coleman-Derr, 2018). In dieser Arbeit konnte eine Zunahme der relativen Abundanz der Actinobacteriota durch Dürre in der Gerste Alpina nachgewiesen werden, bei der Pumpergerste konnte kein Anstieg grampositiver Bakterien nachgewiesen werden, hier kam es umgekehrt zu einer Zunahme der gramnegativen Proteobacteria unter Dürre (verglichen mit den bewässerten Behandlungen der jeweiligen Gerstensorte).

Allgemein konnten die dominanten Phyla der Proteobacteria, Actinobacteriota, Firmicutes und Bacteroidota in beiden Gerstensorten unabhängig von der Bewässerung in unterschiedlichen relativen Abundanzen nachgewiesen werden (Abb. A1 im Anhang). Santoyo et al. (2016) berichteten, dass generell das Phylum der Proteobakterien (mit den Klassen α , β und γ -Proteobakterien) bei Diversitätsanalysen von Endophyten in Pflanzen dominierten. Proteobacteria präferieren eine reichhaltige Ernährung und eine Lebensweise in Substraten mit erhöhter Ressourcenverfügbarkeit (Hartmann et al., 2017). Das Phylum Proteobacteria ist ökologisch und physiologisch sehr vielfältig und reicht von Schlüsselrollen in diversen Nährstoffkreisläufen in Böden bis hin zu symbiontischen oder parasitären Beziehungen mit Pflanzen (Hartmann et al., 2017). Vertreter der Firmicutes und Actinobacteriota gehören ebenfalls zu den Klassen, welche generell am häufigsten als Endophyten vorkommen (Santoyo et al., 2016; Yang et al., 2020). In den Wurzeln der Pumpergerste war das Phylum Proteobacteria mit über 70 % relativer Abundanz das dominante Phylum. Das bestätigten auch die Ergebnisse anderer Studien, die die mikrobielle Diversität in unterschiedlichen Pflanzen untersucht haben (Moore et al., 2006; Shi et al., 2014; Sun et al., 2008). Deutlich abundanter als in den Wurzeln der Gerste Alpina und damit die dominierende Klasse in den Wurzeln der Pumpergerste waren Gammaproteobacteria, die eine relative Abundanz von über 75 % (Pumper unbewässert) bzw. über 50 % (Pumper bewässert) ausmachten. Die dominanten Ordnungen zeigten starke Variationen zwischen den beiden Gerstensorten Alpina und Pumper und es konnten sortenspezifischen Reaktionen auf den Dürrestress nochmal deutlicher hervorgehoben werden (Abb. 24). In den bewässerten Wurzeln der Pumpergerste waren innerhalb der Proteobacteria die dominierenden Ordnungen die Pseudomonadales, Enterobacterales, Xanthomonadales und Burkholderiales (Abb. 24), die applizierte

Dürre führte zu einer Erhöhung der relativen Abundanz der Enterobacterales. Durch die herbeigeführte Dürre wurden die Pseudomonadales bei der Gerste Alpina nahezu halbiert (verglichen mit der bewässerten Variante derselben Gerstensorte). Durch die Wasserlimitierung konnte die relative Abundanz der Pseudonocardiales in den Wurzeln der Gerste Alpina mehr als verdoppelt werden (Abb. 23). Die auf Gattungsebene dominanten Endophyten in den Wurzeln bewässerter Alpina und Pumpergerste waren *Pseudomonas*, mit einer relativen Abundanz von mind. 25 % (Abb. A 3 im Anhang). Nair und Padmavathy beschrieben 2014, dass häufig gefundene Endophyten in Pflanzen auf Gattungsebene *Enterobacter* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., *Phyllosticta* sp., *Cladosporium* sp. sind. Dies konnte in dieser Arbeit nicht bestätigt werden, da Nair und Padmavathy (2014) andere Pflanzen (Ginkgo, Kampferbaum, Tomaten usw.) untersuchten. Die auf Gattungsebene dominanten Endophyten in den Wurzeln bewässerter Alpina und Pumpergerste waren Vertreter der Pseudomonaden.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass beide Gerstensorten (Alpina und Pumper) unterschiedliche auf Trockenstress reagierten und eine Akkumulation vieler verschiedener einflussreicher Parameter, wie beispielsweise die Variabilität des Genotyps und die Variabilität der Rhizodesposition vorlag, die das endophytische Wurzelmikrobiom formten. Für die Zukunft könnte das Beimpfen von Kulturpflanzen mit pflanzenwachstumsfördernden Bakterien- und Pilzendophyten eine Verbesserung des Pflanzenwachstum in dürregetressten Umgebungen bringen (Tufail et al., 2022). Es wurde gezeigt, dass sowohl Bakterien- als auch Pilzbasierte Bioinokulate welche auf die Pflanzen ausgebracht wurden, signifikante Verbesserungen für das Pflanzenwachstum und dem Wachstum unter Trockenstressbedingungen mit sich brachten (Tufail et al., 2022).

4.4.2 Pilze

Der Großteil der Pflanzen sind mit einer oder mehreren endophytischen Pilzarten assoziiert. Die vielfältigen Gruppen von endophytischen Pilzen wirken sich auf verschiedene Weise positiv auf die Wirtspflanzen aus, zum Beispiel indem sie die Leistungsfähigkeit durch abiotische und biotische Stresstoleranz erhöhen, die Biomasse erhöhen und den Wasserverbrauch verringern (El Mansy et al., 2020; Golparyan et al., 2018; Sohrabi et al., 2023). Der 4-wöchigen Dürrestress zeichnete die Gersten sehr deutlich und sie unterschieden sich makroskopisch eindeutig von den Kontrollpflanzen. Im Hinblick auf die Diversität der Endophyten in den Wurzeln, kam es zu keinem signifikanten Effekt. Es ergaben sich jedoch deutliche Unterschiede, was die mikrobielle Zusammensetzung der Endophyten anbelangt, im Speziellen sind sehr deutliche Unterschiede zwischen den Gerstensorten nachgewiesen worden. Im Detail führte die applizierte Dürre in beiden Gerstensorten zu einer Zunahme relativer Abundanz der Ascomycota (Abb. A4 im Anhang). Die Wasserlimitierung verringerte die relative Abundanz der Leotiomycetes und erhöhte die relative Abundanz der Sordariomycetes und

Dothidiomycetes in den Wurzeln der Pumpergerste (verglichen mit der bewässerten Variante der Pumpergerste) (Abb. 27). Auch in den Ordnungen der pilzlichen Endophyten zeigten sich sortenspezifische Unterschiede zwischen Alpina und Pumper, vor allem in Reaktion auf Dürrestress (Abb. 28). Die applizierte Dürre (unbewässert) führte in beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) zur Reduktion der Ordnung Mucorales, aus der Klasse Mucoromycetes (verglichen mit den bewässerten Varianten beider Gerstensorten). In den Wurzeln der Gerste Alpina erhöhte sich die relative Abundanz der Erysiphales und Xylariales durch die hervorgerufene Dürre (verglichen mit Alpina bewässert). Bei der Gerste Alpina führte die Trockenheit zu einer Zunahme der relativen Abundanz der Leotiomycetes und Sordariomycetes und zu einer Abnahme der Dothidiomycetes. Die sortenspezifische Änderung der relativen Abundanz in den Gerstenwurzeln als Antwort auf Dürrestress könnte mit einer Sekretion verschiedener Signalmoleküle, welche unterschiedliche pilzliche Mikroben aus dem Boden anziehen, begründet werden. Wie in 4.4.1 bereits beschrieben, hängt die Besiedlung der Mikroorganismen aus dem Boden in das Pflanzengewebe von der Verfügbarkeit bestimmter Verbindungen ab, welche von den Pflanzen sezerniert werden, um die Bodenmikroben anzulocken (Compant et al., 2010). In dieser Arbeit zeigte sich, dass die pilzliche Gemeinschaft beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) durch den Dürrestress nicht so stark beeinflusst wurde, als die bakterielle Gemeinschaft unter Dürrestress in beiden Gerstensorten. In einer Studie von Barnard et al. (2013) und Yang et al. (2020) wurde gezeigt, dass Pilzgemeinschaften vor Dürre eher unberührt blieben und verglichen mit Bakterien eine Resistenz gegen Veränderungen der Wasserverfügbarkeit zeigten. Die unterschiedlichen Reaktionen von Bakterien und Pilzen auf Dürre könnte daher kommen, dass Pilze und Bakterien eine andere wasserbezogene Nische besetzen (Boer et al., 2005). Außerdem kann die Zusammensetzung des endophytischen Mikrobioms in Pflanzen von diversen Faktoren wie Pflanzenwirt, Pflanzendichte, Nährstoffverfügbarkeit, Umweltbedingungen und Wechselwirkungen mit externen Mikroorganismen abhängen (Porrás-Alfaro & Bayman, 2011). Weiters wurde in anderen Studien beschrieben, dass der Wassergehalt in Boden und Pflanzen den Einfluss von Pilz-Endophyten auf die Pflanzenleistung bestimmt (Dastogeer, 2018). Pflanzen, welche in wasserbegrenzenden Umgebungen angebaut werden, erfahren höhere endophytische Effekte durch Pilze, als Pflanzen, die in angemessenen Bewässerungsumgebungen angebaut werden (Dastogeer, 2018). Auch Dastogeer (2018) beschreibt, dass die Interaktion zwischen endophytischen Pilzen und der Wirtspflanze zum einen von der Identität des Pflanzenwirts bestimmt wird und zum anderen von den Pilzsymbionten abhängt (Dastogeer, 2018). In den Wurzeln beider Gerstensorten konnten endophytische Pilze gefunden werden, die hauptsächlich zu den Phyla Ascomycota, Mucoromycota, Basidiomycota und Olpidiomycota gehörten, wobei das Phylum Ascomycota in beiden Gerstensorten (Alpina und Pumper) unabhängig von der Bewässerung dominierte (über 60 %) (Abb. A 4 im Anhang). Auch in anderen Untersuchungen zeigte sich das Phylum Ascomycota in Wurzelgemeinschaften dominant (Shakya et al., 2013). Die Phyla

Basidiomycota und Olpidiomycota hatten in den Gerstensorten Alpina und Pumper, unabhängig von der Bewässerung, die geringste relative Abundanz (Abb. A 4 im Anhang). Die dominierende Klasse in den unbewässerten Wurzeln der Pumpergerste waren die Pleosporales, die eine relative Häufigkeit von rund 40 % ausmachten. Eine der größten Ordnungen der Dothidiomycetes sind die Pleosporales, die etwa ein Viertel aller Dothideomycetes Arten umfassen. Pleosporales sind ubiquitär, verschiedene Arten konnten beispielsweise als Epiphyten und Endophyten gefunden werden. (KRUYSS et al., 2006; ZHANG et al., 2012). Die Mucoromycetes (Phylum Mucoromycota) machten in den bewässerten Wurzeln der Pumpergerste rund 25 % der relativen Abundanz aus. Verglichen mit der bewässerten Pumpergerste, wurde durch die Dürre die relative Häufigkeit der Erysiphales und Mucorales verringert (Abb. 27). Bei der Gerste Alpina führte die Wasserlimitierung zu einer reduzierten relativen Abundanz der Erysiphales und Mucorales, aber zu einer erhöhten relativen Häufigkeit der Dothideales. Die Ordnung Erysiphales beinhaltet verschiedene Pilzarten, welchen den Echten Mehltau verursachen können, und gehören damit zu den häufigsten und wichtigsten Pflanzenpilzpathogenen (Vielba-Fernández et al., 2020). Die Diversität endophytischer Pilze zeigt starke Variationen durch verschiedene Standorte, Klimazonen und Jahreszeiten (Carroll, 1995; Gamboa et al., 2002; Lingfei et al., 2005; Porrás-Alfaro & Bayman, 2011). Pilze spielen eine übergeordnete Rolle in Ökosystemen, da sie in der Lage sind Pflanzen vor abiotischen und biotischen Faktoren zu schützen, ihre Widerstandsfähigkeit zu erhöhen und den Pflanzen helfen sich an neue Lebensräume anzupassen (Lugtenberg et al., 2016). Durch die vielseitigen Anwendungen von Agrochemikalien und keiner nachhaltigen Landwirtschaft konnte ein Verlust wertvoller endophytischer Pilze verzeichnet werden (Food and Agriculture Organization of the United Nations 2015).

Aufgrund der vielen positiven Wirkmechanismen bestimmter endophytischer Pilze wurden endophytische Pilze kommerzialisiert um die Landwirtschaft in Bezug auf Klimaveränderungen wie Dürre, Salz- und Wasserstress zu verbessern und eine nachhaltigere Landwirtschaft zu ermöglichen (Lugtenberg et al., 2016). Für die Zukunft steht ein verbessertes Pflanzenmanagement in der Landwirtschaft im Vordergrund, um in allen Phasen der Pflanzenzüchtung den Verlust wertvoller pilzlichen Endophyten zu verhindern (Lugtenberg et al., 2016).

5 Anhang

Tab. A 1: Zusammensetzung Bodenextrakt-Nährmedium (Illmer & Schinner, 1997). Bodenextrakt-Herstellung siehe Punkt 2.3.1. (pH- Wert=7)

Inhaltsstoff	Einwaage [g] pro Liter
Glucose	0,1
Hefeextrakt	0,1
KH ₂ PO ₄	0,05
Agar	15,0
Bodenextrakt	40 ml
A. deion.	960 ml

Tab. A 2: Zusammensetzung Sabaroud-4 % Maltose Agar (pH-Wert=5,6 ±0,2)

Inhaltsstoff	Einwaage [g] pro Liter
Protease-Pepton	5,0
Pepton aus Casein	5,0
Maltose-Monohydrat	42,105
Agar	15,0
Bengalrot	40 mg
Streptomycinsulfat	250 mg

Tab. A 3: Zusammensetzung Stärke-Nährmedium (pH-Wert=7)

Inhaltsstoff	Einwaage [g] pro Liter
Stärke, löslich	10,0
(NH ₄)SO ₄	2,0
K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄ *7 H ₂ O	1,0
NaCl	1,0
CaCO ₃	1,0
Bengalrot	40 mg
Agar	17,0
Cycloheximid	50 mg
Aqua deion.	1000 ml

Tab. A 4: Herstellung Mastermix für die Endpunkt PCR von Bakterien.

Reagenz	µl/Anatz
PCR H ₂ O	10,25
PCR Mix (2x)	12,50
Primer forward (338f)	0,625
Pimper reverse (518r)	0,625

Tab. A 5: Herstellung Mastermix für die ddPCR (Bakterien)

Reagenz	µl/Anatz
EvaGreen Supermix	12,50
PCR H ₂ O	6,62
Primer forward (338f)	0,44
Primer reverse (518r)	0,44
DNA-Template	2,0

Tab. A 6: Zusammensetzung 869 Medium (pH-Wert=7)

Inhaltsstoff	Einwaage [g] pro Liter
CaCl ₂ 2H ₂ O	0,035
Glukose D+	0,1
NaCl	0,5
Trypton	1,0
Hefeextrakt	0,5
Agar	15,0
Aqua deion.	1000 ml

Tab. A 7: Zusammensetzung TSA-Nährmediums (pH-Wert=7)

Inhaltsstoff	Einwaage [g] pro Liter
Fertignährmedium (Sigma-Aldrich)	40,0
Agar	10,0
a. deion	1000 ml

Tab. A 8: Zusammensetzung Casein-Stärke-Nährmedium (pH-Wert=7)

Inhaltsstoff	Einwaage [g] pro Liter
CaCO ₃	0,02
Casein	0,3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01
KH ₂ PO ₄	2,0
KNO ₃	2,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,05
NaCl	2,0
Stärke	10,0
Agar	15,0
a deion.	1000 ml

Tab. A 9: Protokoll zur Oberflächensterilisation der Wurzeln

1.	Wurzeln gut waschen, sollte keine Erde mehr an den Wurzeln kleben
2.	Wurzeln in Falcon überführen, mit sterilem a. deion auffüllen und 5 Minuten am Überkopfschüttler Stufe 4 schütteln
3.	Steriles A. deion ausleeren, erneut mit sterilem a. deion auffüllen
4.	20 Sekunden im Ultraschallbad beschallen
5.	Wurzeln 5 Minuten auf Zellstoff auflegen, abtupfen, damit sie trocknen – Wurzeln in Petrischalen geben und Gewicht auf 0,125 g bringen.
6.	Danach mit den Wurzeln unter den Flow und von den sterilen Petrischalen mit einer Pinzette in sterile Falcons überführen.
7.	Ca. 40 ml EtOH [96 %] ins sterile Falcon leeren, 20 Sekunden, in dieser Zeit werden die Falcons zweimal händisch über den Kopf gedreht.
8.	Ethanol ausleeren
9.	Ca. 40 ml EtOH [70 %] ins sterile Falcon leeren, 2 Minuten einwirken lassen, dabei das Falcon alle 15 Sekunden einmal händisch über den Kopf drehen
10.	Ethanol ausleeren
11.	Ca. 40 ml NaClO [2,5 %] in die Falcons einfüllen, 10 Minuten am Überkopfschüttler Stufe 1 schütteln.
12.	NaClO ausleeren
13.	Wurzeln in ein frisches steriles Falcon überführen

14.	Ca. 40 ml EtOH [70 %] ins sterile Falcon leeren, 2 Minuten einwirken lassen, dabei das Falcon alle 15 Sekunden einmal händisch über den Kopf drehen
15.	Waschschritt: ca. 40 ml steriles a. deion in Falcon leeren, einmal kurz über den Kopf drehen und Wasser ausschütten.
16.	Schritt 15 wiederholen 2x wiederholen
17.	Ca. 15-20 ml steriles a. deion in Falcon leeren, und das Waschwasser in ein neues steriles Falcon überführen
18.	100 µl des letzten Waschschrittes werden auf TSA ausplattiert, und bei 20 °C mind. 72h inkubiert.

Tab. A 10: Herstellung Mastermix für die colony PCR von Bakterien. BSA wurde durch PCR H₂O ersetzt. Die Angaben gelten pro Ansatz

Lösung	µl/Ansatz
Red Taq DNA Polymerase	12,50
PCR H ₂ O	11,25
Primer forward (27f)	0,625
Primer reverse (1492r)	0,625

Tab. A 11: Herstellung Mastermix für die colony PCR von Pilzen. BSA wurde durch PCR H₂O ersetzt. Die Angaben gelten pro Ansatz

Lösung	µl/Ansatz
Red Taq DNA Polymerase	12,50
PCR H ₂ O	11,25
Primer forward (ITS1)	0,625
Primer reverse (ITS4)	0,625

Tab. A 12: Herstellung 2 %-iges Agarosegel

Agarose	0,6 g
0,5 x TE-Puffer	30 ml

Tab. A 13: Gepoolte Proben für die Amplicon- Sequenzierung. Die Proben wurden für Bacteria und Fungi gleich gepoolt.

Pool-Name	Proben	DNA-Konzentration [ng/µl]	Volumen für Pool [µl]
F1	Alpina_dry1	15,0	5,0
	Alpina_dry2	3,71	20,22

F2	Alpina_dry3	8,1	9,26
	Alpina_dry4	8,3	9,04
F3	Alpina_dry5	10,0	7,5
	Alpina_dry6	18,0	4,17
F4	Alpina_wet1	16,0	4,69
	Alpina_wet2	5,4	13,89
F5	Alpina_wet3	9,1	8,24
	Alpina_wet4	6,7	11,19
F6	Alpina_wet5	22,0	3,41
	Alpina_wet6	19,0	3,95
F7	Pumper_dry1	22,0	3,418
	Pumper_dry2	4,93	15,21
F8	Pumper_dry3	2,35	21,28
	Pumper_dry4	12,0	8,33
F9	Pumper_dry5	3,83	20,891
	Pumper_dry6	1,89	21,16
F10	Pumper_wet1	4,57	16,41
	Pumper_wet2	3,41	21,99
F11	Pumper_wet3	1,94	20,62
	Pumper_wet4	6,2	16,13
F12	Pumper_wet5	3,32	22,59
	Pumper_wet6	7,1	10,56

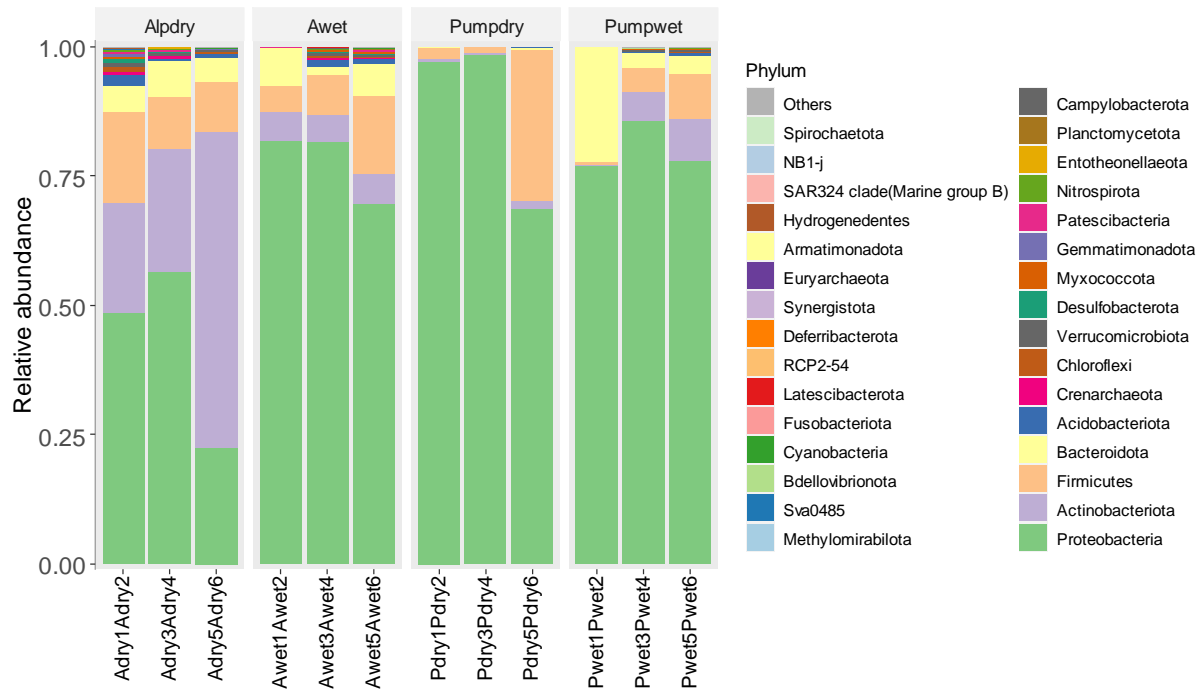


Abb. A 1: Relative Abundanz der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Phylum) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.

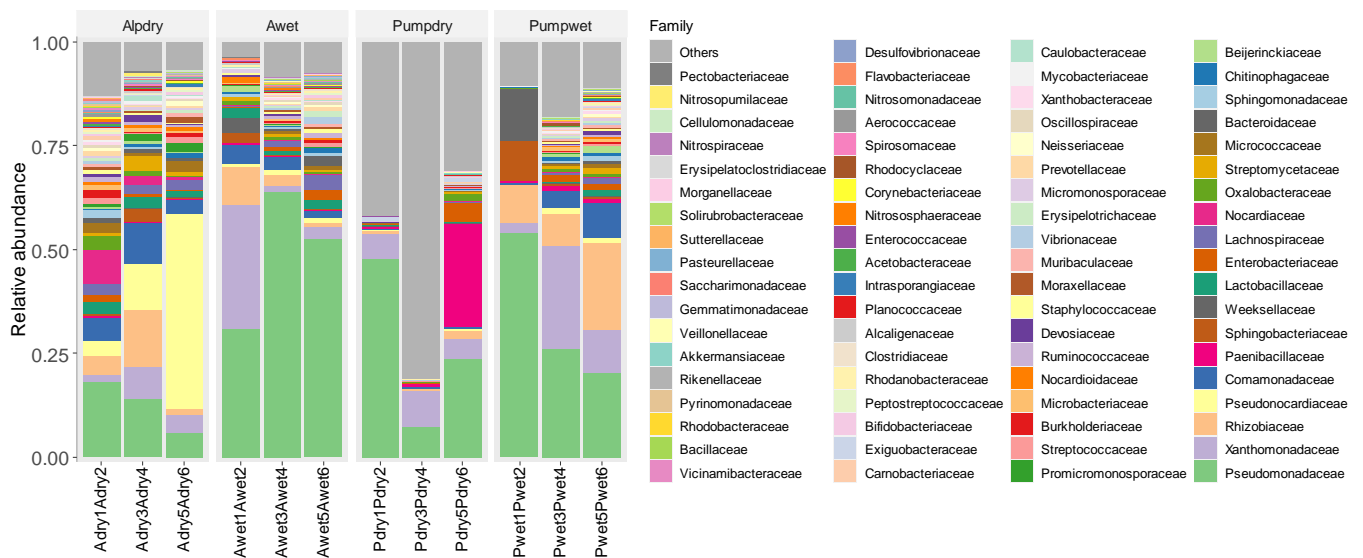


Abb. A 2: Relative Abundanz der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Familie) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.

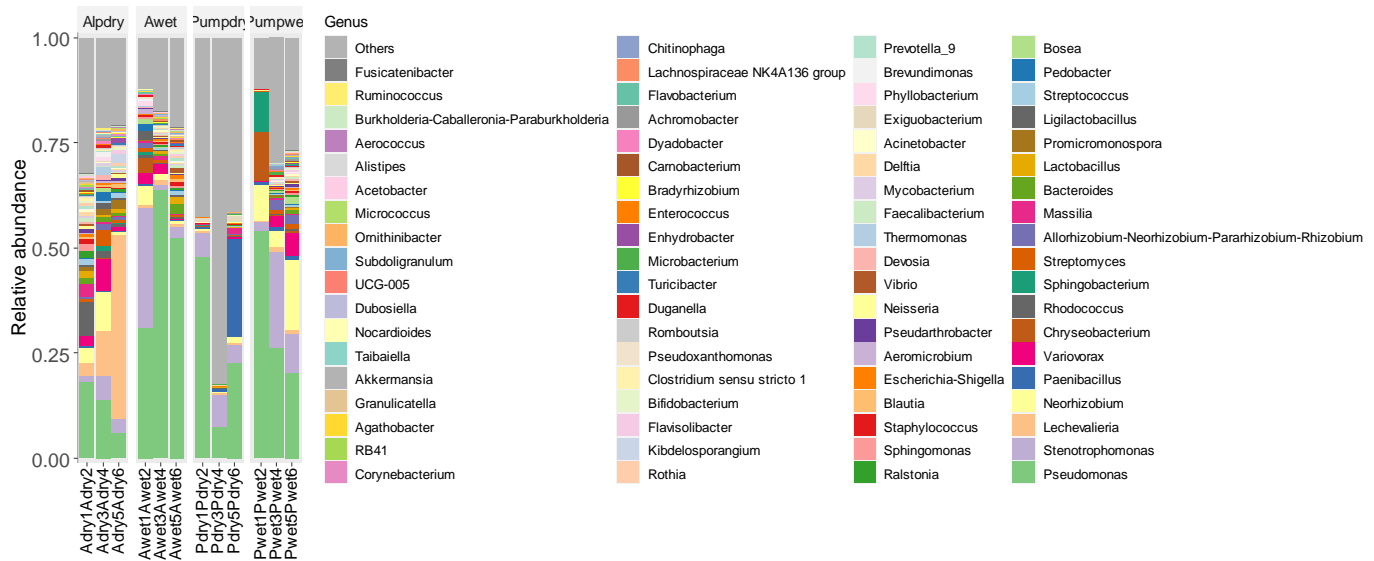


Abb. A 3: Relative Abundanz der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Gattung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.

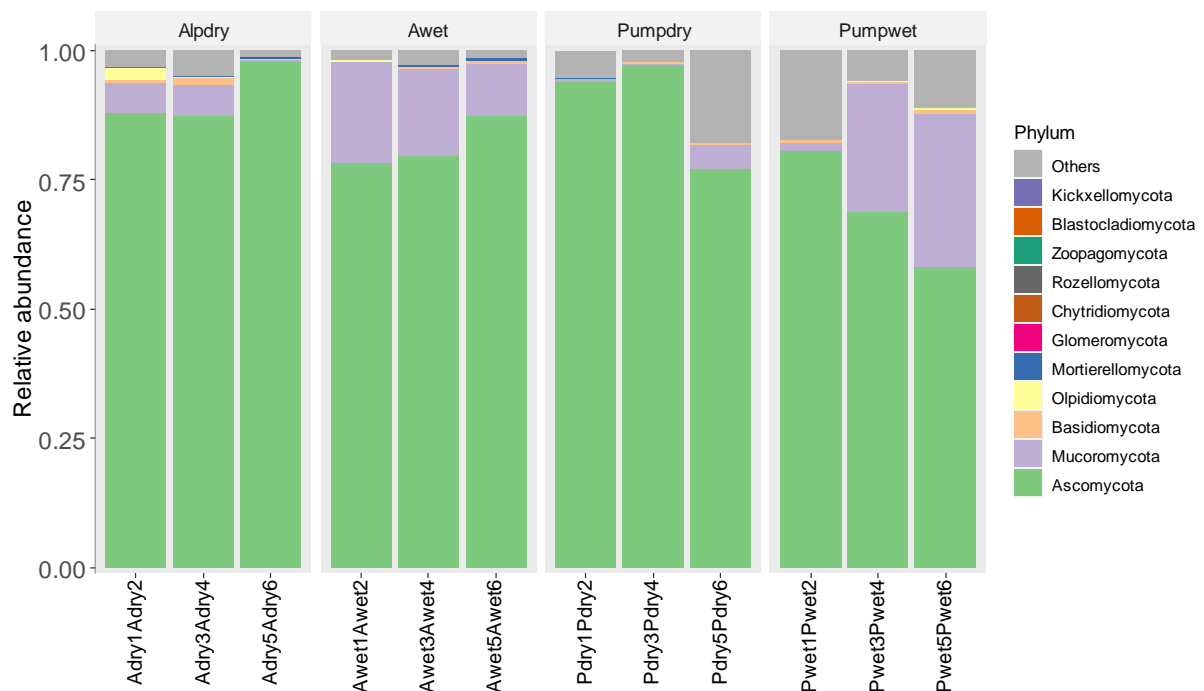


Abb. A 4: Relative Abundanz der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Phylum) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.

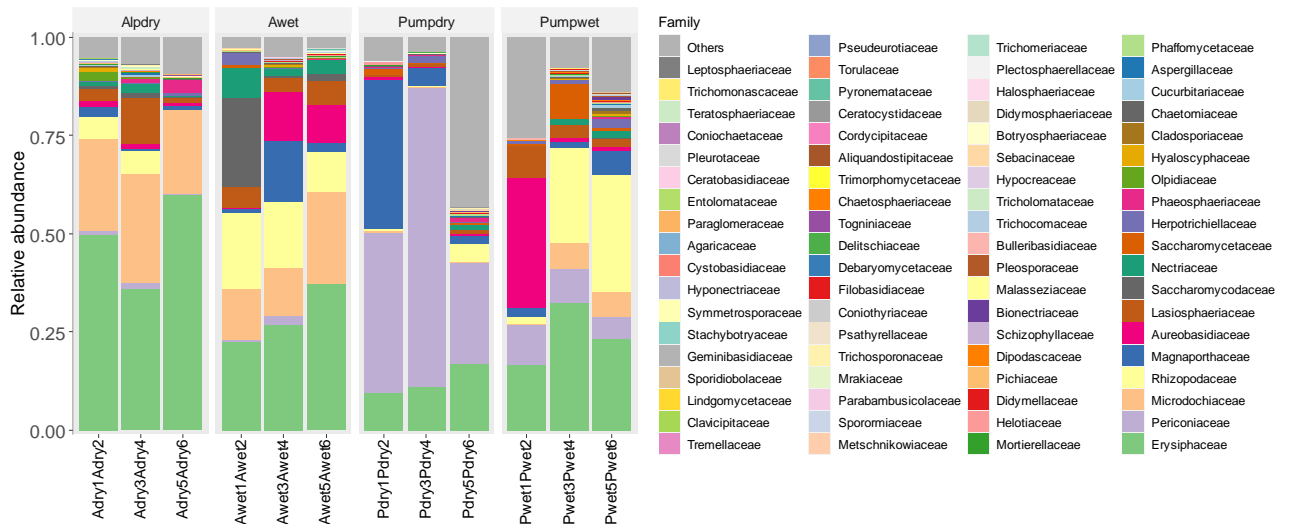


Abb. A 5: Relative Abundanz der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Familie) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.

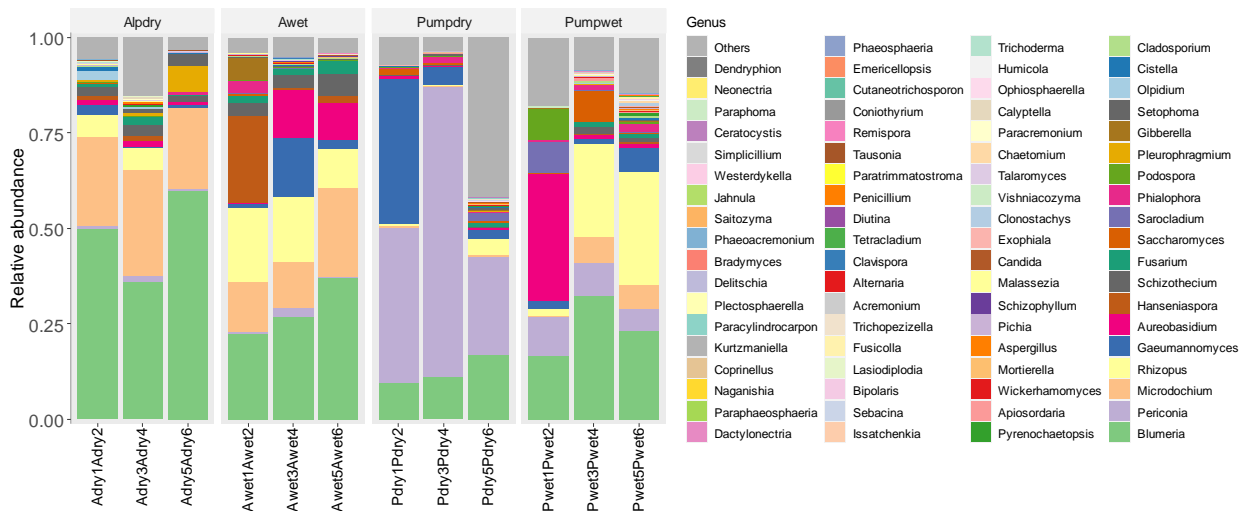


Abb. A 6: Relative Abundanz der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Gattung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.

Literaturverzeichnis

- Abarenkov, K., Zirk, A., Piirmann, T., Pöhönen, R., Ivanov, F., Nilsson, R. H., & Kõljalg, U. (2021). *UNITE general FASTA release for Fungi*. UNITE Community.
- Adams, P. D., & Klopper, J. W. (2002). Effect of host genotype on indigenous bacterial endophytes of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). In *Plant and Soil* (Vol. 240).
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221(December 2018), 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Amelung, W., Blume, H.-P., Fleige, H., Horn, R., Kandeler, E., Kögel-Knabner, I., Kretzschmar, R., Stahr, K., & Wilke, B.-M. (2018). *Scheffer Schachtschabel: Lehrbuch der Bodenkunde ebook | Weltbild.ch*.
- Anderson, J. P. E., & Domsch, K. H. (1973). Quantification of bacterial and fungal contributions to soil respiration. *Archiv Für Mikrobiologie*, 93(2), 113–127. <https://doi.org/10.1007/BF00424942>
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505–511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43. <https://doi.org/10.1128/mmmbr.00019-15>
- Barnard, R. L., Osborne, C. A., & Firestone, M. K. (2013). Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *The ISME Journal*, 7(11), 2229–2241. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.104>
- Beckers, B., op de Beeck, M., Thijs, S., Truyens, S., Weyens, N., Boerjan, W., & Vangronsveld, J. (2016). Performance of 16s rDNA Primer Pairs in the Study of Rhizosphere and Endosphere Bacterial Microbiomes in Metabarcoding Studies. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00650>
- Beskrovnyaya, P., Fakhri, D., Morneau, I., Hashimi, A., Bello, D. G., Xing, S., Nanci, A., Huan, T., & Tocheva, E. I. (2021). *No Endospore Formation Confirmed in Members of the Phylum Proteobacteria*. <https://doi.org/10.1128/AEM>
- Bodenhorn, N., Horton, M. W., & Bergelson, J. (2013). Bacterial Communities Associated with the Leaves and the Roots of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056329>
- Boer, W. de, Folman, L. B., Summerbell, R. C., & Boddy, L. (2005). Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 795–811. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.11.005>

- Bogati, K., & Walczak, M. (2022). The Impact of Drought Stress on Soil Microbial Community, Enzyme Activities and Plants. *Agronomy*, *12*(1), 189. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010189>
- Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Münch, P. C., Weiman, A., Dröge, J., Pan, Y., McHardy, A. C., & Schulze-Lefert, P. (2015). Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell Host and Microbe*, *17*(3), 392–403. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.01.011>
- Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, R. und W. (2023). *Getreideanbau und Getreidearten in Österreich*. <https://info.bml.gv.at/impressum.html>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, *13*(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N., & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(supplement_1), 4516–4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>
- Carroll, G. (1995). Forest endophytes: pattern and process. *Canadian Journal of Botany*, *73*(S1), 1316–1324. <https://doi.org/10.1139/b95-393>
- Chelius, M. K., & Triplett, E. W. (2001). The Diversity of Archaea and Bacteria in Association with the Roots of *Zea mays* L. *Microbial Ecology*, *41*(3), 252–263. <https://doi.org/10.1007/s002480000087>
- Compant, S., van der Heijden, M. G. A., & Sessitsch, A. (2010). Climate change effects on beneficial plant-microorganism interactions. *FEMS Microbiology Ecology*, no-no. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00900.x>
- Dastogeer, K. M. G. (2018). Influence of fungal endophytes on plant physiology is more pronounced under stress than well-watered conditions: a meta-analysis. *Planta*, *248*(6), 1403–1416. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2982-y>
- Davis, N. M., Proctor, D. M., Holmes, S. P., Relman, D. A., & Callahan, B. J. (2018). Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data. *Microbiome*, *6*(1), 226. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0605-2>
- de Vries, F. T., Griffiths, R. I., Bailey, M., Craig, H., Girlanda, M., Gweon, H. S., Hallin, S., Kaisermann, A., Keith, A. M., Kretzschmar, M., Lemanceau, P., Lumini, E., Mason, K. E., Oliver, A., Ostle, N., Prosser, J. I., Thion, C., Thomson, B., & Bardgett, R. D. (2018). Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks. *Nature Communications*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05516-7>
- de Vries, F. T., & Shade, A. (2013). Controls on soil microbial community stability under climate change. *Frontiers in Microbiology*, *4*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00265>

- Dojka, M. A., Hugenholtz, P., Haack, S. K., & Pace, N. R. (1998). Microbial Diversity in a Hydrocarbon- and Chlorinated-Solvent-Contaminated Aquifer Undergoing Intrinsic Bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3869–3877. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.10.3869-3877.1998>
- Eevers, N., Gielen, M., Sánchez-López, A., Jaspers, S., White, J. C., Vangronsveld, J., & Weyens, N. (2015). Optimization of isolation and cultivation of bacterial endophytes through addition of plant extract to nutrient media. *Microbial Biotechnology*, 8(4), 707–715. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12291>
- el Mansy, S. M., Nouh, F. A. A., Mousa, M. K., & Abdel-Azeem, A. M. (2020). *Endophytic Fungi: Diversity, Abundance, and Plant Growth-Promoting Attributes* (pp. 21–59). https://doi.org/10.1007/978-3-030-45971-0_2
- El-Sayed, A. S. A., Moustafa, A. H., Hussein, H. A., El-Sheikh, A. A., El-Shafey, S. N., Fathy, N. A. M., & Enan, G. A. (2020). Potential insecticidal activity of *Sarocladium strictum*, an endophyte of *Cynanchum acutum*, against *Spodoptera littoralis*, a polyphagous insect pest. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24(February), 101524. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101524>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2015). *Healthy soils are the basis for healthy food production*.
- Fundus Agricultura Alpina. (2022). *Montafoner Pumpergerste*. <https://fundus-agricultura.wiki/?p=4733>
- Galperin, M. Y., Mekhedov, S. L., Puigbo, P., Smirnov, S., Wolf, Y. I., & Rigden, D. J. (2012). Genomic determinants of sporulation in *Bacilli* and *Clostridia*: towards the minimal set of sporulation-specific genes. *Environmental Microbiology*, 14(11), 2870–2890. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02841.x>
- Gamboa, M. A., Laureano, S., & Bayman, P. (2002). Measuring diversity of endophytic fungi in leaf fragments: Does size matter? *Mycopathologia*, 156(1), 41–45. <https://doi.org/10.1023/A:1021362217723>
- Geng, S. M., Yan, D. H., Zhang, T. X., Weng, B. S., Zhang, Z. B., & Qin, T. L. (2015). Effects of drought stress on agriculture soil. *Natural Hazards*, 75(2), 1997–2011. <https://doi.org/10.1007/s11069-014-1409-8>
- Golparyan, F., Azizi, A., & Soltani, J. (2018). Endophytes of *Lippia citriodora* (Syn. *Aloysia triphylla*) enhance its growth and antioxidant activity. *European Journal of Plant Pathology*, 152(3), 759–768. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1520-x>
- Gray, S. B., & Brady, S. M. (2016). Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology*, 419(1), 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.023>

- Grover, M., Ali, Sk. Z., Sandhya, V., Rasul, A., & Venkateswarlu, B. (2011). Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 1231–1240. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0572-7>
- Gupta, R. S. (2000). The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 367–402. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00547.x>
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., & Kloepper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10), 895–914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/membr.00050-14>
- Hartmann, M., Brunner, I., Hagedorn, F., Bardgett, R. D., Stierli, B., Herzog, C., Chen, X., Zingg, A., Graf-Pannatier, E., Rigling, A., & Frey, B. (2017). A decade of irrigation transforms the soil microbiome of a semi-arid pine forest. *Molecular Ecology*, 26(4), 1190–1206. <https://doi.org/10.1111/mec.13995>
- Helander, M., Wäli, P., Kuuluvainen, T., & Saikkonen, K. (2006). Birch leaf endophytes in managed and natural boreal forests. *Canadian Journal of Forest Research*, 36(12), 3239–3245. <https://doi.org/10.1139/x06-176>
- HUANG, Y. hong. (2018). Comparison of rhizosphere and endophytic microbial communities of Chinese leek through high-throughput 16S rRNA gene Illumina sequencing. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(2), 359–367. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61731-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61731-3)
- Hussain, S., Quadir, T., Khaliq, A., Ashraf, U., Parveen, A., Saqib, M., & Rafiq, M. (2019). Plant Science Today species. *Plant Science Today*, 6(4), 147–150.
- Illmer, P., Präg, N., & Rzehak, T. (2021). *Bodenmikrobiologie - Übung*.
- Illmer, P., & Schinner, F. (1997). Influence of aluminum on motility and swarming of *Pseudomonas* sp. and *Arthrobacter* sp. *FEMS Microbiology Letters*, 155(1), 121–124. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(97\)00376-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(97)00376-5)
- Johnson, D., Booth, R. E., Whiteley, A. S., Bailey, M. J., Read, D. J., Grime, J. P., & Leake, J. R. (2003). Plant community composition affects the biomass, activity and diversity of microorganisms in limestone grassland soil. *European Journal of Soil Science*, 54(4), 671–678. <https://doi.org/10.1046/j.1351-0754.2003.0562.x>

- Khare, E., Mishra, J., & Arora, N. K. (2018). Multifaceted interactions between endophytes and plant: Developments and Prospects. *Frontiers in Microbiology*, 9(NOV), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02732>
- Kruys, Å., Eriksson, O. E., & Wedin, M. (2006). Phylogenetic relationships of coprophilous Pleosporales (Dothideomycetes, Ascomycota), and the classification of some bitunicate taxa of unknown position. *Mycological Research*, 110(5), 527–536. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.03.002>
- Lane, D. J. (1991). *16S/23S rRNA sequencing*.
- Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., & White, J. F. (2018). Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 66(4), 268–276. <https://doi.org/10.1111/lam.12855>
- Lingfei, L., Anna, Y., & Zhiwei, Z. (2005). Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. *FEMS Microbiology Ecology*, 54(3), 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.04.011>
- Liu, C., Cui, Y., Li, X., & Yao, M. (2021). *microeco* : an R package for data mining in microbial community ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(2). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa255>
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2017). Inner plant values: Diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8(DEC), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
- Lugtenberg, B. J. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(12), fiw194. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw194>
- Mahalingam, R., & Bregitzer, P. (2019). Impact on physiology and malting quality of barley exposed to heat, drought and their combination during different growth stages under controlled environment. *Physiologia Plantarum*, 165(2), 277–289. <https://doi.org/10.1111/ppl.12841>
- McLaren, M. R., & Callahan, B. J. (2021). *Silva 138.1 prokaryotic SSU taxonomic training data formatted for DADA2 [Data set]*. .
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Miedaner, T. (2014). Kulturpflanzen. In *Kulturpflanzen*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55293-9>
- Mokhele, B., Zhan, X., Yang, G., & Zhang, X. (2012). Review: Nitrogen assimilation in crop plants and its affecting factors. In *Canadian Journal of Plant Science* (Vol. 92, Issue 3, pp. 399–405). Agricultural Institute of Canada. <https://doi.org/10.4141/CJPS2011-135>
- Moore, F. P., Barac, T., Borremans, B., Oeyen, L., Vangronsveld, J., van der Lelie, D., Campbell, C. D., & Moore, E. R. B. (2006). Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: The characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation.

- Systematic and Applied Microbiology*, 29(7), 539–556.
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.11.012>
- Murphy, B. R., Doohan, F. M., & Hodkinson, T. R. (2014). Fungal endophytes of barley roots. In *Journal of Agricultural Science* (Vol. 152, Issue 4, pp. 602–615). Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/S0021859613000348>
- Muyzer, G., de Waal, E. C., & Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(3), 695–700.
<https://doi.org/10.1128/aem.59.3.695-700.1993>
- Nair, D. N., & Padmavathy, S. (2014a). Impact of Endophytic Microorganisms on Plants, Environment and Humans. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/250693>
- Nair, D. N., & Padmavathy, S. (2014b). Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/250693>
- Naylor, D., & Coleman-Derr, D. (2018). Drought Stress and Root-Associated Bacterial Communities. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02223>
- Newton, A. C., Flavell, A. J., George, T. S., Leat, P., Mullholland, B., Ramsay, L., Revoredo-Giha, C., Russell, J., Steffenson, B. J., Swanston, J. S., Thomas, W. T. B., Waugh, R., White, P. J., & Bingham, I. J. (2011). Crops that feed the world 4. Barley: a resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security. *Food Security*, 3(2), 141–178. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0126-3>
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J., & Setlow, P. (2000). Resistance of *Bacillus* Endospores to Extreme Terrestrial and Extraterrestrial Environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3), 548–572. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.548-572.2000>
- Ottow, J. C. G. (2006). Mikrobiologie von Böden. In *Handbuch der Mikrobiologie* (Vol. 1999, Issue December).
- Pham, V. H. T., & Kim, J. (2012). Cultivation of unculturable soil bacteria. *Trends in Biotechnology*, 30(9), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.05.007>
- Porrás-Alfaro, A., & Bayman, P. (2011). Hidden Fungi, Emergent Properties: Endophytes and Microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1), 291–315.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081831>
- Praeg, N., Schachner, I., Schuster, L., & Illmer, P. (2021). Carbon-dependent growth, community structure and methane oxidation performance of a soil-derived methanotrophic mixed culture. *FEMS Microbiology Letters*, 368(2), 1–12. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa212>
- Raphael, J. P. A., Calonego, J. C., Milori, D. M. B. P., & Rosolem, C. A. (2016). Soil organic matter in crop rotations under no-till. *Soil and Tillage Research*, 155, 45–53.
<https://doi.org/10.1016/j.still.2015.07.020>

- Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (2011). Living inside plants: Bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4), 435–443. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.004>
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*.
- Setlow, P. (2007). I will survive: DNA protection in bacterial spores. *Trends in Microbiology*, 15(4), 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.02.004>
- Shakya, M., Gottel, N., Castro, H., Yang, Z. K., Gunter, L., Labbé, J., Muchero, W., Bonito, G., Vilgalys, R., Tuskan, G., Podar, M., & Schadt, C. W. (2013). A Multifactor Analysis of Fungal and Bacterial Community Structure in the Root Microbiome of Mature *Populus deltoides* Trees. *PLoS ONE*, 8(10), e76382. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076382>
- Shi, Y., Yang, H., Zhang, T., Sun, J., & Lou, K. (2014). Illumina-based analysis of endophytic bacterial diversity and space-time dynamics in sugar beet on the north slope of Tianshan mountain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(14), 6375–6385. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5720-9>
- Sohrabi, M., Samsampour, D., & Bagheri, A. (2023). Molecular Identification of Fungal Endophytes of Medicinal Plant *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad as a Medicinal Plant: Role of Tissue Type and Sampling Location on the Diversity. *Molecular Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12033-022-00630-w>
- Somova, L. A., & Pechurkin, N. S. (2001). Functional, regulatory and indicator features of microorganisms in man-made ecosystems. *Advances in Space Research*, 27(9), 1563–1570. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(01\)00247-2](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(01)00247-2)
- Sun, L., Qiu, F., Zhang, X., Dai, X., Dong, X., & Song, W. (2008). Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Microbial Ecology*, 55(3), 415–424. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9287-1>
- Tiroler Saatbaugenossenschaft. (2022). *No Title*. <https://www.tiroler-saatbau.at/sommergetreide/>
- Tufail, M. A., Ayyub, M., Irfan, M., Shakoor, A., Chibani, C. M., & Schmitz, R. A. (2022). Endophytic bacteria perform better than endophytic fungi in improving plant growth under drought stress: A meta-comparison spanning 12 years (2010–2021). *Physiologia Plantarum*, 174(6). <https://doi.org/10.1111/ppl.13806>
- Van Der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(3), 296–310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>

- Vardharajula, S., Zulfikar Ali, S., Grover, M., Reddy, G., & Bandi, V. (2011). Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.535178>
- Vielba-Fernández, A., Polonio, Á., Ruiz-Jiménez, L., de Vicente, A., Pérez-García, A., & Fernández-Ortuño, D. (2020). Fungicide Resistance in Powdery Mildew Fungi. *Microorganisms*, 8(9), 1431. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091431>
- Vries, F. T., & Wallenstein, M. D. (2017). Below-ground connections underlying above-ground food production: a framework for optimising ecological connections in the rhizosphere. *Journal of Ecology*, 105(4), 913–920. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12783>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). AMPLIFICATION AND DIRECT SEQUENCING OF FUNGAL RIBOSOMAL RNA GENES FOR PHYLOGENETICS. In *PCR Protocols* (pp. 315–322). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Wickham, H. (2016). *Data Analysis* (pp. 189–201). https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_9
- Winkler, M., Illmer, P., Querner, P., Fischer, B. M., Hofmann, K., Lamprecht, A., Praeg, N., Schied, J., Steinbauer, K., & Pauli, H. (2018). Side by side? Vascular plant, invertebrate, and microorganism distribution patterns along an alpine to nival elevation gradient. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 50(1). <https://doi.org/10.1080/15230430.2018.1475951>
- Yang, L., Schröder, P., Vestergaard, G., Schloter, M., & Radl, V. (2020). Response of Barley Plants to Drought Might Be Associated with the Recruiting of Soil-Borne Endophytes. *Microorganisms*, 8(9), 1414. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091414>
- Younas, T., Umer, M., Gondal, A. H., Aziz, H., & Khan, M. S. (2022). A Comprehensive Review on Impact of Microorganisms on Soil and Plant and Plant Tasaddaq Younas. *Comprehensive Review on Impact of Microorganisms on Soil and Plant, Journal of Bioresource Management*, 9(2). <https://corescholar.libraries.wright.edu/jbm>
- Zhang, Y., Crous, P. W., Schoch, C. L., & Hyde, K. D. (2012). Pleosporales. *Fungal Diversity*, 53(1), 1–221. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0117-x>

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Schematische Darstellung des überdachten Versuchsfeldes in Brennbichl, Imst. Das Feld wurde in 4 Parzellen aufgeteilt, jede Parzelle war 2 x 1,5 m groß und wurde anhand eines Bewässerungsschemas (siehe Tabelle 1) bewässert. ... 9
- Abb. 2: Flussdiagramm zur Erstellung der Verdünnungsreihe für die Kultivierung der cfu aus dem Boden. 14
- Abb. 3: Schematische Darstellung der Oberflächensterilisation der Wurzeln der Gerste..... 23
- Abb. 4: Schematische Darstellung zur Erstellung der Verdünnungsreihe der gemörserten Wurzel und anschließende Kultivierung auf TSA und Casein-Stärke-Nährmedium. 24

Abb. 5: Trockensubstanz [TS g/g] des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot der Trockensubstanz des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 29

Abb. 6: Organische Substanz (OS) [g/g TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik rechts unten handelt es sich um einen Boxplot der organischen Substanz des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 30

Abb. 7: Maximale Wasserhaltefähigkeit [g H₂O/g TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot der maximalen Wasserhaltefähigkeit des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 31

Abb. 8: pH-Wert (-log H⁺) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik rechts unten handelt es sich um einen Boxplot zum pH-Wert des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 32

Abb. 9: Leitfähigkeit [μ S/cm] des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot der Leitfähigkeit des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 33

Abb. 10: Ammoniumgehalt [μ g/g TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum Ammoniumgehalt des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 34

Abb. 11: Nitratgehalt [μ g/g TS] der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum Nitratgehalt des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). 35

Abb. 12: Gelöster Gesamtkohlenstoff (TC [μ g/g TS]) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum gelösten Gesamtkohlenstoff des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime). .. 36

Abb. 13: Gelöster organischer Kohlenstoff (DOC [μ g/g TS]) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum gelösten

organischen Kohlenstoff des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).	37
Abb. 14: Stickstoffgehalt (TN [$\mu\text{g/g TS}$]) der Bodenproben in Abhängigkeit der angepflanzten Gerstensorten Alpina und Pumper und des Bewässerungsregimes. Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links unten handelt es sich um einen Boxplot zum Stickstoffgehalt des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).	38
Abb. 15: Gesamtkeimzahl [$\log \text{cfu/g TS}$] im Boden der Versuchsfelder in Abhängigkeit von den angebauten Gerstensorten (Alpina und Pumper), Bewässerungsregime (unbewässert=Dürre, bewässert) und verwendetem Nährmedium (Sabouraud-Maltose-Agar, Stärke-Nährmedium, Bodenextrakt-Nährmedium). Grafik aus einer multifaktoriellen ANOVA, Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede an (Tukey HSD, $p < 0.05$).	39
Abb. 16: Mikrobielle Biomasse (Cmic [$\mu\text{g C/g TS}$]) des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik rechts unten handelt es sich um einen Boxplot der mikrobiellen Biomasse des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).	40
Abb. 17: Basalatmung (BR) [$\mu\text{g CO}_2/\text{g TS}$] des Bodens beider Gerstensorten (Alpina und Pumper). Dargestellt sind Boxplots (Median, Quartile 25-75 %, Whiskers=Interquartile Range), Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach mehrfaktorieller Anova, Insert: T-Test, $p < 0.05$). Bei der eingefügten Grafik links oben handelt es sich um einen Boxplot zur Basalatmung des Bodens außerhalb des überdachten Untersuchungsfeldes (=Kontrolle für Bewässerungsregime).	41
Abb. 18: Gesamtkeimzahl [$\log \text{cfu/g TS}$] der oberflächensterilisierten Wurzeln der Gerste auf drei verschiedenen Nährmedien (Casein-Stärke-Nährmedium (CS), 869 und TSA) mit und ohne Zugabe eines Pflanzenextrakts. Grafik aus einer multifaktoriellen ANOVA, Streumaß=95 %-iges Konfidenzintervall, Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede an (Tukey HSD, $p < 0.05$).	44
Abb. 19: Abundanz an Prokaryoten [$\log \text{copies/g FG}$] in Abhängigkeit vom verwendeten Pflanzenmaterial und Extraktionskit, siehe 2.5.4.1. Die Zahlen in den Balken entsprechen den Zahlen aus Tab. 17. 1=Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 2= Wurzel (Pumper) mit N_2 zerkleinert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 3= ganze Wurzel (Alpina), extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 4= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 7= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel)	46
Abb. 20: Relative Abundanz [%] der Prokaryoten (taxlevel=Klasse). Ergebnisse aus der Amplicon-Sequenzierung zum Vorversuch der Extraktionskit 2.5.4.1. Die Zahlen in den Balken entsprechen den Zahlen aus Tab. 17. 1=Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 2= Wurzel (Pumper) mit N_2 zerkleinert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 3= ganze Wurzel (Alpina), extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 4= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 5=Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel), 6= Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil, 7= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel).....	47
Abb. 21: Diversitätsindices (a: Observed, b: Shannon. c: Simpson) der prokaryotischen, endophytischen Gemeinschaft aus verschiedenen Pflanzenteilen und in Abhängigkeit des DNA-Extraktionskits (Vorversuch der Extraktionskits 2.5.4.1). Die Zahlen in den Balken entsprechen den Zahlen aus Tab. 17. 1=Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 2= Wurzel (Pumper) mit N_2 zerkleinert, extrahiert mit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), 3= ganze Wurzel (Alpina), extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 4= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit DNeasy Plant Pro (Qiagen), 5=Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel), 6= Stängel (Alpina), extrahiert mit NucleoSpin Soil, 7= Wurzel (Pumper) gemörsert, extrahiert mit NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel).....	48

Abb. 22: Abundanz kultivierbarer Mikroorganismen [log cfu/g FG] aus den Wurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) in Abhängigkeit der zwei Nährmedien (TSA und Casein-Stärke-Nährmedium) und der Bewässerung (bewässert/unbewässert). Grafische Darstellung aus einer mehrfaktoriellen ANOVA; Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey HSD nach mehrfaktorieller ANOVA). FG=Frischgewicht.	49
Abb. 23: Relative Abundanz [%] der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Klasse) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.	52
Abb. 24: Relative Abundanz [%] der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Ordnung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.	53
Abb. 25: Diversitätsindices (Observed, Shannon, Simpson) der bakteriellen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach one-way Anova, $p < 0.05$).	54
Abb. 26: Venn-Diagramm der prokaryotischen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert).	55
Abb. 27: Relative Abundanz [%] der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Klassen) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.	56
Abb. 28: Relative Abundanz [%] der pilzlichen Gemeinschaft (taxlevel=Ordnung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.	57
Abb. 29: Artenreichtum (observed) und Diversitätsindices (Shannon- und Simpson Index) der Pilz-Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Tukey-HSD nach one-way Anova, $p < 0.05$).	58
Abb. 30: Venn-Diagramm der pilzlichen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) in Abhängigkeit des Wasserregimes. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert).	59

Abbildungsverzeichnis Anhang

Abb. A 1: Relative Abundanz der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Phylum) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.	77
---	----

Abb. A 2: Relative Abundanz der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Familie) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.	77
Abb. A 3: Relative Abundanz der bakteriellen Gemeinschaft (taxlevel=Gattung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse geben die Parallelen an.	78
Abb. A 4: Relative Abundanz der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Phylum) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.	78
Abb. A 5: Relative Abundanz der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Familie) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.	79
Abb. A 6: Relative Abundanz der Pilz-Gemeinschaft (taxlevel=Gattung) in den Pflanzenwurzeln beider Gerstensorten (Alpina und Pumper) abhängig vom Bewässerungsregime. Alpdry (Alpina unbewässert), Awet (Alpina bewässert), Pumpdry (Pumper unbewässert), Pumpwet (Pumper bewässert). Die Proben wurden laut Tab. A 13 im Anhang gepoolt. Die Zahlen in der Beschriftung auf der x-Achse der geben die Parallelen an.	79

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Bewässerungsschema des überdachten Versuchsfelds. Die bewässerte Behandlung entspricht dabei einem normalen Niederschlag, die unbewässerte (=wenig bewässert) Behandlung sollte eine Dürre hervorrufen.	9
Tab. 2: Herstellung der Standards aus den Stocklösungen (Ammoniumchlorid und Natriumnitrat, jeweils 100 mg C bzw. N/l) für die Ammonium- und Nitrat Bestimmung mittels CFA (Skalar, NL).	12
Tab. 3: Herstellung der Standards aus den Stocklösungen [C/N] für die Messungen TC/TN und DOC.	13
Tab. 4: Einwaage des Bodens aufgeteilt in die Gerstensorten Pumper und Alpina und deren unterschiedliche Bewässerung. Die Bodenproben Alpina und Pumper „außen“ wurden außerhalb der Überdachung genommen.	15
Tab. 5: Verschiedene Varianten zum Versuch der Oberflächensterilisation des Stängels der Gersten.	16
Tab. 6: Temperaturprofil für die Vervielfältigung der extrahierten DNA aus dem Stängel der Gerste	17
Tab. 7: Verschiedene Varianten zur Oberflächensterilisation der Wurzeln	18
Tab. 8: Getestete Nährmedien für die Kultivierung von Endophyten jeweils mit (✓) und ohne (×) Pflanzenextrakt. Die Inhaltsstoffe der Nährmedien zeigen die Tabellen A 6,7,8 im Anhang.	19
Tab. 9: DNA-Extraktion aus Wurzeln/Stängel der Gerstensorten Pumper und Alpina mittels unterschiedlicher DNA-Extraktionskits. Die Gerstensorten wurden vor der Extraktion unterschiedlich behandelt (siehe Spalte Behandlung).	20
Tab. 10: Verschiedene Extraktionskits inkl. Information zur Ausgabe der Anleitungen für die DNA-Extraktion.	20
Tab. 11: Temperaturprofil der ddPCR zur Amplifikation von Bakterien in den oberflächensterilen Wurzeln/Stängel der Gerste	21
Tab. 12: Temperaturprofil der Endpunkt-PCR zur Amplifikation von Bakterien.	22
Tab. 13: Temperaturprofil der colony-PCR für Bakterien.	26
Tab. 14: Temperaturprofil der colony-PCR für Pilze.	26

Tab. 15: Varianten (V1-V4) der Protokolle zur Oberflächensterilisation (siehe 2.4.1) des Stängels der Gerste inkl. erzielten cfu-Gehalte im Waschwasser am Ende der Oberflächensterilisation auf TSA-Nährmedium. Legende: +++ >30 cfu pro Platte, ++ 10-30 cfu pro Platte, + < 10 cfu pro Platte, n.d. nicht durchgeführt.....	42
Tab. 16: Verschiedene Protokolle (V1-V4) zur Oberflächensterilisation der Wurzeln der Gerste und die cfu des ausgespatelten Waschwassers auf dem TSA-Nährmedium. Legende: +++ >30 cfu pro Platte, ++ 10-30 cfu pro Platte, + < 10 cfu pro Platte	43
Tab. 17: DNA-Extraktion aus Stängel/Wurzeln der Gerstensorten Pumper und Alpina mit unterschiedlichen DNA-Extraktionskits. Die Gerstensorten wurden vor der Extraktion unterschiedlich behandelt (siehe Spalte Behandlung). DNA-Konzentrationen wurden fluorometrisch ermittelt (Quantus).....	45
Tab. 18: Gram-Färbung und Sanger-Sequenzierung (16S rRNA) der mikrobiellen Endophyten (Reinkultur-Isolate aus den Wurzeln).....	50

Tabellenverzeichnis Anhang

Tab. A 1: Zusammensetzung Bodenextrakt-Nährmedium (Illmer & Schinner, 1997). Bodenextrakt-Herstellung siehe Punkt 2.3.1. (pH- Wert=7)	72
Tab. A 2: Zusammensetzung Sabaroud-4 % Maltose Agar (pH-Wert=5,6 ±0,2).....	72
Tab. A 3: Zusammensetzung Stärke-Nährmedium (pH-Wert=7)	72
Tab. A 4: Herstellung Mastermix für die Endpunkt PCR von Bakterien.	73
Tab. A 5: Herstellung Mastermix für die ddPCR (Bakterien).....	73
Tab. A 6: Zusammensetzung 869 Medium (pH-Wert=7)	73
Tab. A 7: Zusammensetzung TSA-Nährmediums (pH-Wert=7)	73
Tab. A 8: Zusammensetzung Casein-Stärke-Nährmedium (pH-Wert=7)	74
Tab. A 9: Protokoll zur Oberflächensterilisation der Wurzeln	74
Tab. A 10: Herstellung Mastermix für die colony PCR von Bakterien. BSA wurde durch PCR H ₂ O ersetzt. Die Angaben gelten pro Ansatz	75
Tab. A 11: Herstellung Mastermix für die colony PCR von Pilzen. BSA wurde durch PCR H ₂ O ersetzt. Die Angaben gelten pro Ansatz	75
Tab. A 12: Herstellung 2 %-iges Agarosegel	75
Tab. A 13: Gepoolte Proben für die Amplicon- Sequenzierung. Die Proben wurden für Bacteria und Fungi gleich gepoolt. ...	75