

*Mikrobielle Dynamik und Holzabbau:  
Eine ökologische Analyse der  
Wechselwirkungen zwischen  
Bodengemeinschaften und verbauten  
Holzelementen im Wein- und Obstbau*

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin  
der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)  
an der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften  
der Universität Bayreuth

vorgelegt von

*Sandra Barbara Lasota*

aus *Northeim*

Bayreuth, 2023



Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von August 2012 bis Mai 2023 an der Hochschule Coburg für angewandte Wissenschaften unter Betreuung von Herrn Professor Dr. Matthias Noll angefertigt.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.).

Dissertation eingereicht am: 02.05.2023

Zulassung durch die Promotionskommission: 10.05.2023

Wissenschaftliches Kolloquium: 14.11.2023

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Cyrus Samimi

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Matthias Noll	(Gutachter)
Prof. Dr. Martin Obst	(Gutachter)
Prof. Dr. Tillmann Lüders	(Gutachter)
Prof. Dr. Andreas Römpf	(Vorsitz)
Prof. Dr. Claus Bässler	







Die vorliegende Arbeit ist als Monographie verfasst.

Teile der Arbeit sind bereits in den folgenden Publikationen erschienen:

*Copper in wood preservatives delayed wood decomposition and shifted soil fungal but not bacterial community composition*

S. Lasota, I. Stephan, M. A. Horn, W. Otto, M. Noll, *Appl Environ Microbiol.*, **2019**, 6; 85(4): e02391-18.

**DOI:** 10.1128/AEM.02391-18

*Copper containing wood preservatives shifted bacterial and fungal community compositions in pine sapwood in two field sites*

M. Noll, C. Buettner, S. Lasota, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **2019**, 142, 26-35.

**DOI:** 10.1016/j.ibiod.2019.04.007







## **I. Inhaltsverzeichnis**

I.	Inhaltsverzeichnis .....	i
II.	Abkürzungsverzeichnis .....	iv
III.	Kurzfassung.....	vi
IV.	Abstract .....	viii
1.	Einleitung .....	1
1.1.	Mikrobielle Gemeinschaften im Ökosystem Boden .....	1
1.2.	Obst- und Weinanbaugebiete .....	2
1.3.	Chemisch geschütztes Holz in Erdkontakt.....	4
1.3.1.	Zuordnung für Holz und Holzprodukte.....	4
1.3.2.	Richtlinien bei Holzschutzmitteln.....	6
1.3.3.	Holzschutzmittel.....	7
1.3.3.1.	Anorganische Biozide als Holzschutzmittelkomponenten.....	9
1.3.3.2.	Organische Biozide als Holzschutzmittelkomponenten.....	10
1.4.	Schwermetallkontamination in Obst- und Weinbau .....	12
1.5.	Ökosystemfunktion .....	13
1.5.1.	Ökosystemfunktion der Pilze beim Holzabbau .....	13
1.5.2.	Ökosystemfunktion der Bakterien beim Holzabbau .....	15
1.6.	Techniken zur Erfassung der mikrobiellen Gemeinschaft .....	18
1.7.	Ziele dieser Arbeit .....	21
2.	Material & Methoden .....	24
2.1.	Labor-Inkubationsstudie - Standorte und Bodenproben .....	24
2.1.1.	Bodeneigenschaften .....	24
2.1.2.	Schutzmittelbehandlung der Holzprüfkörper – Labor-Inkubationsstudie.....	26
2.1.3.	Versuchsaufbau und Bodenprobenahme .....	27
2.1.4.	Techniken zur Erfassung des Holzabbaus.....	28
2.2.	Freilandstudie .....	28
2.2.1.	Schutzmittelbehandlung der Holzprüfkörper - Freilandstudie.....	29
2.2.2.	Probenahme .....	30
2.3.	Extraktion von Nukleinsäuren – Standortböden .....	31
2.4.	Extraktion von Nukleinsäuren – Labor-Inkubations- und Freilandstudie.....	32
2.5.	Next Generation Sequenzierung.....	33

## Inhaltsverzeichnis

---

2.5.1.	NGS der Standortböden mit Roche/454 GS-FLX+ Titanium .....	33
2.5.2.	NGS von Boden- und Holzproben aus Labor-Inkubations- und Freilandstudien mittels Illumina MiSeq V3 .....	35
2.6.	Quantifizierung der pilzlichen und bakteriellen Genkopien durch quantitative Polymerase-Kettenreaktion .....	37
2.7.	Statistische Auswertung .....	38
2.8.	Zugangsnummer der veröffentlichten Nukleotidsequenzen.....	39
3.	Ergebnisse .....	40
3.1.	Standortspezifische Analyse der mikrobiellen Bodengemeinschaften an fünf Standorten.....	40
3.2.	Korrelation zwischen Holzschutzmittelzusammensetzung, Holzabbaurate und mikrobieller Gemeinschaftsstruktur .....	43
3.2.1.	Wirkung verschiedener Holzschutzmittel auf den mikrobiellen Abbau von Holzprüfkörpern .....	43
3.2.2.	Einfluss der Holzschutzmittelzusammensetzung auf die Abundanz pilzlicher und bakterieller Genkopienzahl .....	45
3.2.3.	Dynamik der pilzlichen Gemeinschaftsstruktur im Boden .....	48
3.2.4.	Dynamik der bakteriellen Gemeinschaftsstruktur im Boden .....	53
3.3.	Auswirkungen kupferhaltiger Holzschutzmittel auf die mikrobielle Gemeinschaftsstruktur entlang des Gradienten von der Boden-Holz-Grenzfläche bis ins Holzinne .....	57
3.3.1.	Quantitative Veränderungen der pilzlichen und bakteriellen Genkopien entlang des Gradienten von der Boden-Holz-Grenzfläche zum Holzinneren.....	57
3.3.2.	Veränderung der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft durch den Einsatz kupferhaltiger Holzschutzmittel .....	61
4.	Diskussion .....	71
4.1.	Auswirkungen von Holzschutzmittelformulierungen auf die mikrobielle Gemeinschaftsstruktur im Holz.....	71
4.2.	Dynamik der saprotrophen Gemeinschaft während des Holzabbaus.....	74
4.3.	Holz und die Unterschiede in der phylogenetischen Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften .....	81
4.4.	Der Einfluss von Kupfer auf die mikrobielle Gemeinschaft und den Abbau von geschütztem Holz .....	85
4.4.1.	Kupfertolerante Mikroorganismen ermöglichen den Abbau von geschütztem Holz in Labor-Inkubationsstudien.....	86
4.4.2.	Auswirkungen von Kupfer auf die mikrobielle Gemeinschaft im Holz im Rahmen von Freilandstudien.....	88

## Inhaltsverzeichnis

---

5. Zusammenfassung .....	92
6. Ausblick .....	95
Literaturverzeichnis.....	97
Danksagung .....	122
Anhang .....	123
A. Mikrobielle Gemeinschaft der Standorte .....	123
B. Mikrobielle Gemeinschaft aus den Labor-Inkubationsstudien .....	125
C. Mikrobielle Gemeinschaft aus den Freilandstudien.....	137
(Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen.....	143

## II. Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	<u>a</u> nalysis of <u>v</u> ariance = Varianzanalyse
BAC	<u>B</u> enzalkonium <u>c</u> hlorid
BPR	<u>B</u> iozidprodukt <u>r</u> ichtlinie
CA	<u>c</u> orrespondence <u>a</u> nalysis = Korrespondenzanalyse
CCA	<u>c</u> anonical <u>c</u> orrespondence <u>a</u> nalysis= Kanonische Korrespondenzanalyse
CG	Mitteldeutschland
Cu-HDO	Bis-(N-Cyclohexyldiazoniumdioxy)-Kupfer
CuTriQAC	Kupfer, Triazol und Quaternäre Ammoniumverbindungen
DDAC	<u>D</u> idecyl <u>d</u> imethyl <u>a</u> mmonium <u>c</u> hlorid
DEPC	<u>D</u> iethylpyro <u>c</u> arbonat
DGUV	<u>D</u> eutsche <u>G</u> esetzliche <u>U</u> nfall <u>v</u> ersicherung
DIN	Deutsches Institut für Normung e.V.
DNA	<u>D</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid = Desoxyribonukleinsäure
<i>E</i>	Effizienz
<i>H'</i>	Shannon-Diversitätsindex
HT1	erste Holztiefe (1 mm im Holz)
HT2	zweite Holztiefe (7 mm im Holz)
IC	<u>i</u> norganic <u>c</u> arbon = anorganischer Kohlenstoff
IPBC	3- <u>I</u> od-2- <u>p</u> ropinyl <u>b</u> utyl <u>c</u> arbat
ITS	<u>i</u> nternal <u>t</u> ranscribed <u>s</u> pacers
MOE	<u>m</u> odulus of <u>e</u> lasticity = Elastizitätsmodul
NCBI	<u>N</u> ational <u>C</u> enter for <u>B</u> io <u>t</u> echnology <u>I</u> nformation
NF	Nordfrankreich
NG	Norddeutschland
NGS	<u>N</u> ext- <u>G</u> eneration- <u>S</u> equencing
OTU	<u>o</u> perational <u>t</u> axonomic <u>u</u> nit = operativ-taxonomische Einheit
PCB	polychlorierte <u>B</u> iphenyle
PCR	<u>p</u> olymerase <u>c</u> hain <u>r</u> eaction = Polymerase-Kettenreaktion
PO	Portugal
qPCR	<u>q</u> uantitative <u>p</u> olymerase <u>c</u> hain <u>r</u> eaction = quantitative Polymerase-Kettenreaktion
Quats	Quaternäre Ammoniumverbindungen

## Abkürzungsverzeichnis

---

REACH	<u>R</u> egistration, <u>E</u> valuation, <u>A</u> uthorisation of <u>C</u> hemicals = Registrierung, Bewertung und Zulassung von Chemikalien
RNA	<u>r</u> ibonucleic <u>a</u> cid = Ribonukleinsäure
rRNA	<u>r</u> ibosomal <u>r</u> ibonucleic <u>a</u> cid = ribosomale Ribonukleinsäure
SF	Südfrankreich
TN	<u>t</u> otal <u>n</u> itrogen = Gesamtstickstoff
TOC	<u>t</u> otal <u>o</u> rganic <u>c</u> arbon = gesamter organischer Kohlenstoff
TriQAC	Triazol und Quaternäre Ammoniumverbindungen

### III. Kurzfassung

Kupferbasierte Schutzmittel werden routinemäßig im Holz- und Pflanzenschutz eingesetzt, was zu einer Anreicherung kupfertoleranter mikrobieller Gemeinschaften im Boden führt. Diese mikrobiellen Prozesse derartiger Gemeinschaften können die Wirksamkeit von Holzschutzmitteln beeinträchtigen und den Holzabbau fördern, was erhebliche Schäden an verbauten Holzpfehlern verursachen kann. Um die Auswirkung von Holzschutzmitteln auf die Zusammensetzung der Pilz- und Bakteriengemeinschaften im umgebenden Boden zu untersuchen, wurden Inkubationsstudien sowohl im Labor als auch im Freiland konzipiert. In den Laborstudien wurden fünf verschiedene Bodenmilieus aus dem Wein- und Obstbau aus Nord- und Mitteleuropa sowie Nord- und Südfrankreich und Portugal über mehrere Wochen hinweg unter standardisierten Bedingungen untersucht. Holzprüfkörper aus Kiefernspiltholz wurden entweder mit Wasser (H<sub>2</sub>O) als Kontrolle oder mit verschiedenen biozidbasierten Formulierungen imprägniert, darunter Kupfer (Cu), eine Mischung aus Kupfer, Triazolen und quaternären Ammoniumverbindungen (CuTriQAC), sowie eine Mischung aus Triazolen und quaternären Ammoniumverbindungen (TriQAC). Die Holzprüfkörper wurden 8, 16, 24 und 32 Wochen lang im Boden jedes Standorts inkubiert und Bodenproben wurden sowohl an der Grenzfläche zwischen Boden und Holz als auch ohne Holzkontakt entnommen. Der Einfluss der mikrobiellen Bodengemeinschaft auf die Holzprüfkörper wurde anhand des Masseverlustes und des Elastizitätsmoduls (MOE) untersucht. In den Freilandstudien wurden imprägnierte Holzprüfkörper aus Kiefernholz für 17 und 36 Wochen an zwei Feldstandorten (Norddeutschland und Mitteleuropa) mit unterschiedlicher Geschichte des Einsatzes kupferhaltiger Schutzmittel inkubiert. Die Holzprüfkörper wurden vor der Ausbringung entweder mit CuTriQAC, Cu oder H<sub>2</sub>O als Kontrolle imprägniert. Zur Analyse der räumlichen Auflösung im Holz wurden zusätzlich zu den Bodenproben Holzproben in zwei Tiefen (1 mm und 7 mm von der Außenseite) der Holzprüfkörper entnommen. Die Zusammensetzung der Pilz- und Bakteriengemeinschaft wurde mittels quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) und Amplikonsequenzierung der pilzlichen ITS-Gen-Region sowie des bakteriellen 16S rRNA-Gens untersucht.

Die Zusammensetzung der Pilz- und Bakteriengemeinschaft unterschied sich in den Laborstudien signifikant zwischen den Standorten, während die mikrobielle Diversität trotz dieser Unterschiede vergleichbare Holzabbauraten verursachte. Die Behandlung mit Holzschutzmitteln hatte einen signifikanten Einfluss auf die Pilzgemeinschaft, während die bakterielle Gemeinschaft weniger betroffen war. Die häufigsten Pilzgattungen wiesen lignin- und / oder celluloseabbauenden Eigenschaften auf sowie die Fähigkeit, eine Vielzahl organischer Verbindungen abzubauen. In Anwesenheit von Cu- und CuTriQAC-Behandlungen nahm die relative Abundanz der Trichocomaceae-Familie zu, was auf kupfertolerante Pilze hinweist. Zeitliche Veränderungen in der Pilzgemeinschaft korrelierten mit einem Anstieg des Masseverlustes. Cu- und CuTriQAC-behandeltes Holz zeichnete sich im Vergleich zu H<sub>2</sub>O- und TriQAC-behandeltem Holz durch einen geringeren Masseverlust, ein geringeres MOE und weniger Pilz- und Bakteriengenenkopien während der Inkubationszeit aus. Diese Behandlungen ermöglichten somit einen effektiveren Schutz des Holzes vor mikrobiellen Abbauprozessen, unabhängig von der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden. An allen Standorten waren

potenziell holzabbauende sowie kupfertolerante Mikroorganismen vorhanden, die den Holzabbau begünstigen könnten.

Die Freilandstudien bestätigten, dass die Pilz- und Bakteriendiversität von der Boden-Holz-Grenzfläche bis in beide Holztiefen abnimmt, insbesondere bei den kupferhaltigen Behandlungen. Trotz dieser Abnahme blieben im Holz Pilze und Bakterien vorhanden, die sowohl Holz als auch Biozide abbauen könnten und potenziell gegen Schwermetalle tolerant sind. Die dominierenden Pilze gehörten überwiegend zu den Sordariomyceten, während die dominierenden Bakteriengattungen in den Cu- und CuTriQAC-Behandlungen diazotroph waren. Unterschiede zwischen Nord- und Mitteldeutschland wurden hinsichtlich der räumlich-zeitlichen Besiedlung im Holz sowie der Genkopienzahl beobachtet. In der Boden-Holz-Grenzfläche und in der ersten Holztiefe der Cu-Behandlung stiegen die Genkopienzahlen von Pilzen und Bakterien im Vergleich zur H<sub>2</sub>O-Behandlung an. In CuTriQAC-behandeltem Holz verringerten sich die Genkopienzahlen von Pilzen und Bakterien in einer Tiefe von 1 mm, während sie in einer Tiefe von 7 mm nur für Pilze abnahmen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Cu- und CuTriQAC-behandeltes Holz eine Selektion auf bestimmte mikropilzliche Ascomycota und definierte Bakteriengattungen ausübt. Zudem hatte die Pilz- und Bakteriengemeinschaft in Mitteldeutschland eine höhere Anzahl von Genkopien im geschützten Holz.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Cu- und CuTriQAC-behandelte Holzprüfkörper einen effektiven Schutz gegen mikrobiellen Abbau bieten, unabhängig von der Herkunft der mikrobiellen Gemeinschaften im Boden. Diese Studien zeigen auch, dass potenziell holzabbauende und kupfertolerante Mikroorganismen in jedem Standort vorhanden sind, was auf eine langfristige Herausforderung für den Einsatz kupferhaltiger Schutzmittel hinweist. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass zukünftige Strategien zur Bekämpfung des mikrobiellen Holzabbaus möglicherweise alternative Ansätze zur gezielten Bekämpfung spezifischer Mikroorganismen erfordern.

## IV. Abstract

Copper-based preservatives are routinely used in wood and plant protection, which leads to an accumulation of copper-tolerant microbial communities in the soil. These microbial processes of such communities can impair the effectiveness of wood preservatives and promote wood degradation, which can cause significant damage to installed wood piles. To investigate the effect of wood preservatives on the composition of fungal and bacterial communities in the surrounding soil, incubation studies were designed both in the laboratory and in the field. In the laboratory studies, five different soil environments from vineyards and orchards in northern and central Germany, northern and southern France and Portugal were investigated over several weeks under standardised conditions. Wood test specimens made of pine sapwood were impregnated either with water (H<sub>2</sub>O) as a control or with different biocide-based formulations, including copper (Cu), a mixture of copper, triazoles and quaternary ammonium compounds (CuTriQAC), and a mixture of triazoles and quaternary ammonium compounds (TriQAC). The wood test specimens were incubated for 8, 16, 24 and 32 weeks in the soil at each site and soil samples were taken both at the soil-wood interface and without wood contact. The influence of the microbial soil community on the wood test specimens was analysed on the basis of mass loss and modulus of elasticity (MOE). In the field studies, impregnated pine wood test specimens were incubated for 17 and 36 weeks at two field sites (northern Germany and central Germany) with different histories of application of copper-containing preservatives. The wood test specimens were impregnated with either CuTriQAC, Cu or H<sub>2</sub>O as a control prior to application. In addition to the soil samples, wood samples were taken at two depths (1 mm and 7 mm from the outside) of the wood test specimens to analyse the spatial dissolution in the wood. The composition of the fungal and bacterial community was analysed by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and amplicon sequencing of the fungal ITS region and the bacterial 16S rRNA gene.

The composition of the fungal and bacterial community differed significantly between the sites in the laboratory studies, while the microbial diversity caused comparable rates of wood degradation despite these differences. Treatment with wood preservatives had a significant effect on the fungal community, while the bacterial community was less affected. The most common fungal genera exhibited lignin and/or cellulose degrading properties as well as the ability to degrade a variety of organic compounds. In the presence of Cu and CuTriQAC treatments, the relative abundance of the Trichocomaceae family increased, indicating copper-tolerant fungi. Temporal changes in the fungal community correlated with an increase in mass loss. Cu- and CuTriQAC-treated wood was characterised by lower mass loss, lower MOE and fewer fungal and bacterial gene copies during the incubation period compared to H<sub>2</sub>O- and TriQAC-treated wood. These treatments thus enabled more effective protection of the wood from microbial degradation processes, regardless of the microbial community in the soil. Potentially wood-degrading and copper-tolerant microorganisms that could favour wood degradation were present at all sites.

The field studies confirmed that fungal and bacterial diversity decreases from the soil-wood interface to both wood depths, especially in the copper-containing treatments. Despite this decrease, fungi and bacteria that could degrade both wood and biocides and are potentially tolerant to heavy metals remained present in the wood. The dominant fungi were predominantly

## Abstract

---

Sordariomycetes, while the dominant bacterial genera in the Cu and CuTriQAC treatments were diazotrophic. Differences between northern and central Germany were observed with respect to spatio-temporal colonisation in the wood and gene copy number. In the soil-wood interface and in the first wood depth of the Cu treatment, gene copy numbers of fungi and bacteria increased compared to the H<sub>2</sub>O treatment. In CuTriQAC-treated wood, gene copy numbers of fungi and bacteria decreased at a depth of 1 mm, while they decreased at a depth of 7 mm for fungi only. These results indicate that Cu- and CuTriQAC-treated wood exerts selection on certain microfungus Ascomycota and defined bacterial genera. In addition, the fungal and bacterial community in central Germany had a higher number of gene copies in the protected wood.

In summary, Cu- and CuTriQAC-treated wood test specimens provide effective protection against microbial degradation, regardless of the origin of the microbial communities in the soil. These studies also show that potentially wood-degrading and copper-tolerant microorganisms are present in every site, indicating a long-term challenge for the use of copper-containing preservatives. The results suggest that future strategies to combat microbial wood degradation may require alternative approaches to target specific microorganisms.



# 1. Einleitung

## 1.1. Mikrobielle Gemeinschaften im Ökosystem Boden

Die Zusammensetzung und Vielfalt der mikrobiellen Bodengemeinschaft kann durch eine ganze Reihe von biotischen und abiotischen Faktoren beeinflusst werden (Buckley & Schmidt, 2002; Fierer & Jackson, 2006). Die außergewöhnliche räumliche Heterogenität, die mehrphasige Beschaffenheit (Gas, Wasser, Feststoff) und die komplexen chemischen und biologischen Eigenschaften des Bodenlebensraums tragen zur bestehenden, mikrobiellen Vielfalt bei (Daniel, 2005). Die globale anthropogene Verschmutzung hat zur Anhäufung einer Vielzahl von organischen und anorganischen Substanzen in der Umwelt geführt, die sowohl für die menschliche Gesundheit als auch für unberührte Ökosysteme schädlich sind (Desai *et al.*, 2010). Mikrobielle Gemeinschaften sind dafür bekannt, kontaminierte Standorte zu besiedeln und haben die Fähigkeit, diese schwerabbaubaren anthropogenen Substanzen umzusetzen (Galvão *et al.*, 2005; Desai *et al.*, 2010). Die anthropogene Landnutzung beeinflusst indirekt die Zusammensetzung und Funktion der mikrobiellen Gemeinschaft durch physische Bodenbearbeitung sowie den Einsatz von Düngemitteln und Pestiziden im Vergleich zu Böden ohne Landnutzung (Wakelin *et al.*, 2008; Jesus *et al.*, 2009; Jakobs-Schönwandt *et al.*, 2010; Nacke *et al.*, 2011). Der Einsatz von Pestiziden verursacht Veränderungen in der Zusammensetzung und Funktion der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden in Bezug auf die Inaktivierung von pestizid- und pestizid-Metabolit-sensitiven Mikroorganismen und die Stimulation von pestizidabbauenden Mikroorganismen (Gianfreda & Rao, 2008; Liu *et al.*, 2011; Dallinger & Horn, 2014). Solche Pestizide können die Bodenfruchtbarkeit und Bodengesundheit sowie die landwirtschaftliche Qualität des Ökosystems direkt oder indirekt beeinträchtigen (Joergensen & Emmerling, 2006; Lo, 2010; Verma *et al.*, 2014). In diesem Zusammenhang wurde festgestellt, dass der pH-Wert des Bodens signifikant mit Veränderungen in der Zusammensetzung der Gemeinschaft einhergeht (Lauber *et al.*, 2009). Von allen untersuchten Boden- und Standortvariablen ist der pH-Wert des Bodens bei weitem der beste Indikator für bakterielle Artenvielfalt und Gemeinschaftsgröße im Boden (Fierer & Jackson, 2006). Die Bedeutung des Boden-pH wurde weiter bestätigt, jedoch zeigen neuere Studien, dass dessen Einfluss je nach betrachteter mikrobieller Gruppe variieren kann. Bahram *et al.* (2018) fanden, dass der pH-Wert zwar ein starker Prädiktor für bakterielle Diversität ist, aber weniger Einfluss auf die pilzliche Diversität hat. Auch andere Faktoren wie Bodentemperatur, Feuchtigkeit und Nährstoffverfügbarkeit (Fierer *et al.*, 2012) sowie die Bodentextur, der Gehalt an organischem Kohlenstoff und die Sauerstoffkonzentration (Hansel *et al.*, 2008) können die mikrobielle Struktur im Boden beeinflussen. Metagenomische Untersuchungen der mikrobiellen Gemeinschaften im Boden ermöglichen eine detaillierte Charakterisierung des Bodenmikrobioms in Abhängigkeit von Nutzung, Fruchtbarkeit und Verschmutzungsgrad (Sazykina *et al.*, 2022). Unter Verschmutzung wird dabei die Belastung des Bodens mit organischen Schadstoffen wie polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen sowie anorganischen Schadstoffen wie Schwermetallen und potenziell toxischen Elementen verstanden. Diese Schadstoffe gelangen über verschiedene Wege in den Boden und wirken sich negativ auf die Biodiversität und Zusammensetzung der mikrobiellen

Gemeinschaft aus (Reiß *et al.*, 2021). Zumeist wird die Konzentration dieser Schadstoffe, wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, häufig mittels chromatographischer Verfahren, wie der Hochleistungsflüssigchromatographie, bestimmt, während Schwermetalle und andere organische Elemente über Röntgenfluoreszenzspektrometrie erfasst werden (Sazykina *et al.*, 2022).

Diese Analysen liefern wichtige Informationen über die Biodiversität und die taxonomische Zusammensetzung in verschiedenen Bodenproben. Sie werden auch dazu beitragen, operationelle taxonomische Einheiten zu identifizieren, die als Indikatoren für den Grad der anthropogenen Belastung, die Widerstandsfähigkeit und die biologische Sicherheit von Böden dienen können.

### 1.2. Obst- und Weinanbaugebiete

Sowohl der Obst- als auch der Weinbau sind Teile der anthropogenen Landnutzung. Die Bewirtschaftung besteht in der Regel aus einer Kombination von Unkrautbekämpfungsmaßnahmen, einschließlich des Einsatzes von Pflanzenschutzmitteln und der Verwendung von Deckpflanzen (Tourte *et al.*, 2008). Der langjährige und häufige Einsatz von Fungiziden auf Kupferbasis, insbesondere im Weinbau zur Bekämpfung von Mehltau (Ballabio *et al.*, 2018), hat zu einer Kupferanreicherung in der Oberflächenschicht von Böden geführt (Runjić & Čustović, 2017).



Abbildung 1 Holzpfähle und –stützen im Obst- und Weinbau. Linke Abbildung: Apfelplantage; Rechte Abbildung: Weinbau.

Der langfristige Einsatz kupferhaltiger Fungizide im Obst- und Weinbau führt zu einer signifikanten Akkumulation von Kupfer in der oberen Bodenschicht. Untersuchungen in europäischen Weinbergregionen zeigen typische Kupfergehalte von bis zu  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  im Boden, welche durch Bodenparameter wie hohen pH-Wert und organische Substanz verstärkt werden (Droz *et al.*, 2021). Vor allem die Böden von Wein- und Obstbaugebieten können einen Kupfergehalt von mehr als  $1500 \text{ mg kg}^{-1}$  aufweisen (Strumpf *et al.*, 2009), was wahrscheinlich auf den Einsatz von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln und von geschützten Holzpfählen und –stützen mit kupferhaltigen Substanzen zurückzuführen ist (Abbildung 1).

Geringe bioverfügbare Mengen an Kupfer im Boden können die mikrobielle Population in Bezug auf die gesamte Biomasse, Vielfalt und Aktivität beeinflussen (Malkomes, 2010a).

Keiblinger *et al.* (2018) fanden heraus, dass kupferhaltige Fungizide die mikrobielle Biomasse und die Enzymaktivität im Boden reduzieren, aber insbesondere kupfertolerante Pilzgattungen gefördert werden. Die Veränderungen der Pilzgemeinschaft wurden stark durch die Bodeneigenschaften und die Bioverfügbarkeit von Kupfer beeinflusst (Keiblinger *et al.*, 2018). Der langjährige Einsatz von kupferhaltigen Fungiziden (z.B. mit Raten von 16 – 48 kg Kupfer ha<sup>-1</sup>) hat nachweislich zu einer mikrobiellen Gemeinschaft geführt, die sich durch eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen Schwermetalle auszeichnet (Ranjard *et al.*, 2008). Die langfristige Kupferexposition führt zu einer Verschiebung in der mikrobiellen Gemeinschaftsstruktur, wobei kupfertolerante Arten selektiv begünstigt werden. Nunes *et al.* (2016) beobachteten eine Zunahme der relativen Häufigkeit von Vertretern der bakteriellen Ordnungen Acidobacteria und Nitrospira in kupferbelasteten Weinbergböden, während die Abundanz von Verrucomicrobia, Proteobacteria und Actinobacteria abnahm. Diese Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung können funktionelle Konsequenzen für den Boden haben, insbesondere in Bezug auf Nährstoffkreisläufe und organische Stoffumsetzung.



Abbildung 2 Beschädigter Holzpfahl führt aufgrund mikrobiellen Abbaus des Holzes zu Ernteverlusten.

Basierend auf Gesprächen mit einem Hersteller von Holzschutzmitteln wurde bekannt, dass Besitzer von bewirtschafteten Obstplantagen und Weinbergen unzufrieden mit der nicht ausreichenden Wirksamkeit von Holzschutzmitteln auf installierten Holzpfählen auf dem Feld waren (Abbildung 2). Solche kontaminierten Flächen sind prädestiniert für Untersuchungen, um Einblicke in die kupfertolerante mikrobielle Gemeinschaft als auch in die Ursachen von Frühschäden am Holz zu gewinnen. Zu diesem Zweck wurden für diese Arbeit mehrere Standorte in Europa mit bekanntem Ausfall von Holzpfählen aufgesucht, um ein breites Spektrum an klimatischen, terrestrischen und ökologischen Parametern abzudecken. Dazu wurden drei bewirtschaftete Felder aus Weinbergen in Portugal, Nord- und Südfrankreich sowie eine Apfelplantage in Norddeutschland genutzt. Um eine Kontrollfläche für Untersuchungen zur Verfügung zu haben, wurde ein naturbelassener Boden in Mitteldeutschland ausgewählt, der nicht mit Pestiziden oder Bioziden belastet war und somit eine unbeeinträchtigte, mikrobielle Gemeinschaft enthielt.

## 1.3. Chemisch geschütztes Holz in Erdkontakt

### 1.3.1. Zuordnung für Holz und Holzprodukte

Im Obst- und Weinbau sind Holzpfähle als Stütz- und Gerüstpfähle weit verbreitet. Holz als Baumaterial hat nachhaltige Vorteile gegenüber anderen Materialien, da es aus nachwachsenden Rohstoffen stammt, bei der Herstellung weniger Treibhausgase erzeugt und einen langfristigen Speicher für atmosphärischen Kohlenstoff bietet (Morrell, 2016; Ramage *et al.*, 2017; Marais *et al.*, 2020). Die Nachhaltigkeit von Holz, auch wenn sie eine seiner positivsten Eigenschaften ist, stellt jedoch auch eine Herausforderung dar, schließlich ist die natürliche Widerstandsfähigkeit von Holz im direkten Bodenkontakt einer Vielzahl von biotischen und abiotischen Faktoren ausgesetzt. Zu den klimatischen abiotischen Abbaufaktoren von Holz gehören z. B. die Einwirkung von Sonnenlicht, Feuchtigkeit, Niederschlag und Temperatur, sowie die Verbindung, die diese Faktoren mit den physiologischen Anforderungen der biotischen Abbaufaktoren (Pilze, Bakterien, Insekten) haben (Marais *et al.*, 2020). Im Boden liegendes Holz ist mit einer permanenten bis semipermanenten Feuchtigkeit konfrontiert und steht somit im direkten Kontakt mit holzabbauenden Organismen wie Pilzen und Bakterien, die zu Abbaubedingungen wie Auslaugung und Entgiftung von Holzschutzmitteln beitragen (Kartal *et al.*, 2006). Der industrielle Holzschutz zielt darauf ab, diesen natürlichen Verfall zu verlangsamen, indem biozide Komponenten in das Holz eingebracht werden. Aus diesem Grund müssen Holz oder Holzprodukte, bevor sie im Obst- und Weinbau eingesetzt werden, unter Berücksichtigung der Einbausituation der Gebrauchsklasse (DIN 68800-1) zugeordnet werden. Ausschlaggebend dafür sind die Holzfeuchte im Gebrauchszustand und die in DIN EN 335 definierten allgemeinen Gebrauchsbedingungen (Tabelle 1).

Tabelle 1 Zusammenfassung der Gebrauchsklassen und der entsprechenden Schadorganismen für Holz und Holzprodukte (DIN EN 335).

Gebrauchs- klasse	Allgemeine Gebrauchssituation	Gefährdung durch:		
		Pilze	Käfer	Termiten
1	Innenbereich, trocken	nein	ja	ja
2	Innenbereich oder unter Dach, nicht der Witterung ausgesetzt. Möglichkeit der Kondensation	ja	ja	ja
3	Außenbereich ohne Erdkontakt, der Witterung ausgesetzt 3.1 eingeschränkt feuchte Bedingungen 3.2 anhaltend feuchte Bedingungen	ja	ja	ja
4	Außenbereich, in Kontakt mit Erde oder Süßwasser	ja	ja	ja
5	Dauerhaft oder regelmäßig in Salzwasser eingetaucht	ja	ja	ja

Im Obst- und Weinbau werden u.a. nachhaltig erzeugte und in großen Mengen verfügbare Holzarten heimischer Nadelhölzer als Stützmaterial für den Außenbereich eingesetzt (Deutscher Holzschutzverband für Außenholzprodukte e. V. (DHV)), die somit der Gebrauchsklasse vier zugeordnet werden. Gemäß DIN EN 350 können entweder natürlich

## Einleitung

---

dauerhafte Holzarten wie z.B. Robinie (*Robinia pseudoacacia* L.), Eiche (*Quercus robur* L. (Stieleiche) bzw. *Quercus petraea* (Traubeneiche)) oder Edelkastanie (*Castanea sativa* Mill.) verwendet werden. Unter natürlicher Dauerhaftigkeit versteht man die Eigenschaft einer Holzart, einem Befall durch Holzschädlinge ohne zusätzliche Maßnahmen zu widerstehen. Alternativ können Holzarten wie Fichte (*Picea abies*) und Kiefer (*Pinus sylvestris*) verwendet werden, die den Einsatz von Holzschutzmitteln erfordern. Hierbei ist die Dauerhaftigkeit und Tränkbarkeit der verschiedenen Holzarten entscheidend für die Anwendung (definiert in DIN EN 350)

Die Klassifizierung der natürlichen Dauerhaftigkeit einer Holzart gegenüber holzerstörenden Pilzen (Basidiomyceten-Fäulnispilze und Moderfäule-Mikropilze) umfasst fünf Dauerhaftigkeitsklassen (DIN EN 350):

- Dauerhaftigkeitsklasse 1 - sehr dauerhaft
- Dauerhaftigkeitsklasse 2 - dauerhaft
- Dauerhaftigkeitsklasse 3 - mäßig dauerhaft
- Dauerhaftigkeitsklasse 4 - wenig dauerhaft
- Dauerhaftigkeitsklasse 5 - nicht dauerhaft

Die Dauerhaftigkeitsklassen beziehen sich ausschließlich auf das Kernholz (innere Zone des Holzes, die im stehenden Baum keine lebenden Zellen oder Saft mehr enthält). Splintholz (äußere Zone des Holzes, die im stehenden Baum keine lebenden Zellen mehr enthält und Saft trägt) wird immer als nicht dauerhaft angesehen. Das Kernholz der Fichte hat im Erdkontakt und ohne chemische Holzschutzmaßnahmen eine zu erwartende Nutzungsdauer von drei bis fünf Jahren (Deutscher Holzschutzverband für Außenholzprodukte e. V. (DHV)) und ist hinsichtlich seiner Widerstandsfähigkeit gegen holzerstörende Pilze wenig dauerhaft (Dauerhaftigkeitsklasse 4). Fichtenholz ist somit ungeschützt oder unbehandelt nicht sehr witterungsbeständig (Wolman Wood and Fire Protection GmbH). Im Gegensatz dazu hat das Kernholz der Kiefer ohne chemische Holzschutzmaßnahmen eine Nutzungsdauer von drei bis acht Jahren im Erdkontakt und ist wenig bis mäßig dauerhaft gegen holzerstörende Pilze (Dauerhaftigkeitsklasse 3 - 4).

Die Tränkbarkeit ist die Leichtigkeit, mit der eine Flüssigkeit (z.B. ein Holzschutzmittel) in das Holz eindringen kann und wird in vier Tränkbarkeitsklassen nach DIN EN 350 eingeteilt:

- Tränkbarkeitsklasse 1 - leicht tränkbar
- Tränkbarkeitsklasse 2 - mäßig tränkbar
- Tränkbarkeitsklasse 3 - schwer tränkbar
- Tränkbarkeitsklasse 4 - sehr schwer tränkbar

Demnach ist das Kernholz der Fichte schwer bis sehr schwer zu imprägnieren (Tränkbarkeitsklasse 3 - 4), während das Splintholz leichter zu imprägnieren ist (Wolman Wood and Fire Protection GmbH). Das Splintholz der Kiefer ist zwar sehr empfindlich gegen Bläue (holzverfärbende Pilze) (Deutscher Holzschutzverband für Außenholzprodukte e. V. (DHV)), lässt sich aber leicht imprägnieren (Tränkbarkeitsklasse 1) (DIN EN 350), während das Kernholz schwer bis sehr schwer zu imprägnieren ist (Tränkbarkeitsklasse 3 - 4).

In der Regel unterscheiden sich die biologische Dauerhaftigkeit und die Tränkbarkeit von Splint- und Kernholz durch eine höhere Dauerhaftigkeit des Kernholzes und eine bessere Tränkbarkeit des Splintholzes.

### 1.3.2. Richtlinien bei Holzschutzmitteln

Wie bereits erwähnt, sind Maßnahmen zum Schutz des Holzes, wie z.B. Holzschutzmittel, notwendig, um den Abbau des Holzes deutlich zu verzögern und eine langfristige Gebrauchsdauer der behandelten Holzprodukte sicherzustellen. Um das Holz wirksam zu schützen, müssen Holzschutzmittel tief in das Holz eingebracht werden. Für die Anwendung von Holzschutzmitteln gibt es verschiedene Verfahren, die sich hinsichtlich des technischen Aufwands und der erreichbaren Eindringtiefe (DIN 68800-3) deutlich unterscheiden. Im Bereich der Gebrauchsklasse 4 sind ausschließlich Druckverfahren (Kesselvakuumdruk-Imprägnierung, Doppelvakuum-Imprägnierung) anzuwenden, vorzugsweise unter der Verwendung von Rundholz aus leicht imprägnierbaren Holzarten (z. B. Kiefer).

In Europa verwaltet die Europäische Chemikalienagentur die Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung von Chemikalien (REACH-Verordnung) (Stirling & Temiz, 2014). Die Verordnung vereinheitlicht das Chemikalienrecht europaweit und erhöht den Wissensstand über Gefahren und Risiken, die von Chemikalien ausgehen können. Die in Europa verwendeten Wirkstoffe werden durch die Biozid-Produkte-Verordnung (BPR 528/2012) geregelt. Die Zulassung und das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten werden in Europa durch die Richtlinie 98/8/EG geregelt (Kretschmar *et al.*, 2009). Diese Biozid-Richtlinie wurde durch das Biozid-Gesetz (Juni 2002) in deutsches Recht umgesetzt.

Zur Beurteilung der Wirksamkeit eines Holzschutzmittels im Erdkontakt (nach DIN EN 335, Gebrauchsklasse 4) im Vergleich zu einem Referenzmittel wird ein Freilandverfahren angewendet (DIN EN 252). Für jede Prüfung wird Kiefern-Splintholz verwendet und die Bestimmung des Festigkeitsverhaltens der imprägnierten Holzstäbe erfolgt durch Messung des Elastizitätsmoduls (MOE). Der Festigkeitsverlust der Holzstäbe ist ein Indikator für die Leistungsfähigkeit eines Holzschutzmittels über die Zeit des Prüfverfahrens.

Da Freilandversuche zum Nachweis des Abbaus von Holzschutzmittel-geschütztem Holz in Erdkontakt zeitintensiv sind (bis zu Jahrzehnten), wurden zeitraffende, klimatisierte Erdinkubationsversuche etabliert (DIN V ENV 807). Somit wird unter Laborbedingungen die Grenze der Wirksamkeit gegen Moderfäule und andere im Boden lebende Mikroorganismen bestimmt. Als Infektionsquelle (Mischung aus natürlich vorkommenden Pilzen und Bakterien) wird die natürliche Mikroflora eines Erdsustrates genutzt. Dieses Verfahren bereitet eine Prüfung zur Beurteilung der Qualität eines Holzschutzmittels vor. Das Prinzip der DIN V ENV 807 beinhaltet eine Untersuchung von Holzprüfkörpern mit definierten Dimensionen (100 mm (longitudinal) × 10 mm × 5 mm), die mit einer bestimmten Konzentration des zu prüfenden Holzschutzmittels getränkt sind, von der angenommen wird, dass sie den Schutz des Holzes während der Prüfdauer gewährleisten.

### 1.3.3. Holzschutzmittel

Im Verlauf der Geschichte wurden vielfältige Schutztechnologien und -verfahren entwickelt und implementiert, um den biologischen Abbau von Holz durch verschiedene Schadorganismen effektiv zu hemmen und so die Dauerhaftigkeit und Nutzungsdauer von Holzprodukten signifikant zu erhöhen (van Niekerk *et al.*, 2021). Die Auswahl der Holzschutzmittel ist abhängig von der Gebrauchsklasse und muss die Anforderungen an Holzschutzmittel mit Zulassung nach Biozid-Produkte-Verordnung erfüllen. In der Gebrauchsklasse 4 muss das Holzschutzmittel vorbeugend wirksam gegen Insekten und Pilze (Fäulnisschutz) sein sowie das Holz, das der Witterung sowie extremer Beanspruchung ausgesetzt ist, schützen. Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheitsbedenken haben viele Regierungen dazu veranlasst, die Verwendung von Holzschutzmitteln zu regulieren (Coggins, 2008). Die EU-Verordnungen (gemäß der Biozid-Produkte-Richtlinie) haben ein neues System eingeführt, das den Markt für Schutzmittel und behandeltes Holz stark verändert hat. Darüber hinaus verfügt die EU über ein Regulierungsverfahren (REACH-Verordnung), das auf einzelne Stoffe und Produkte angewendet werden kann. Die Verwendung von Chrom-Kupfer-Arsenat, Kreosot und anderen wirksamen Holzschutzmitteln wurde aufgrund der starken Toxizität für Boden und Wasser durch Auswaschung von Chemikalien und der nachgewiesenen gesundheitlichen Folgen der Exposition und der schwierigen Entsorgung von stark behandeltem Holz eingestellt oder eingeschränkt (Barbero-López *et al.*, 2018). So wurden Substanzen, die von der Holzschutzmittelindustrie in Europa seit vielen Jahren verwendet wurden, vom Markt genommen, sodass nur noch wenige Mittel für den Holzschutz zur Verfügung stehen.

Einschränkungen bei bestehenden Produkten führten zu Holzschutzmitteltypen, die Marktlücken füllen sollten, wie z. B. kupferorganische Schutzmittel, wasserverdünnbare Mikroemulsionskonzentrate mit organischen Fungiziden und Insektiziden sowie farbige Schutzmittel auf Wasser- und Lösungsmittelbasis für den Do-it-yourself-Markt (Coggins, 2008).

Bei der Verwendung von wässrigen Holzschutzmitteln für Holzprodukte der Gebrauchsklasse 4 kann entweder Pilz- und/oder Insektenbefall verhindert oder bekämpft werden ((DGUV Information 209-043, 2009); Tabelle 2). Zum Einsatz kommen biozide Wirkstoffe, die als Salze oder organische Wirkstoffe im Holzschutzmittel enthalten sind und als Salzlösungen, Konzentrate, Emulsionen oder als gebrauchsfertige Produkte angeboten werden. Holzschutzmittel auf Wasserbasis haben sich in den letzten Jahren durchgesetzt, da sie geruchsneutral sind und das behandelte Holz eine trockene Oberfläche hat, die überstrichen werden kann (Lebow, 2004).

## Einleitung

Tabelle 2 Zusammensetzung wässriger Holzschutzmittel (Stand: Holzschutzmittelverzeichnis April 2009; (DGUV Information 209-043, 2009); P = gegen Pilze vorbeugend wirksam, Iv = gegen Insekten vorbeugend wirksam, W = auch für Holz, das der Witterung ausgesetzt ist, jedoch nicht im ständigen Erdkontakt und nicht im ständigen Wasserkontakt steht, E = auch für Holz, das extremer Beanspruchung ausgesetzt ist (im ständigen Erd- und/oder Wasserkontakt sowie bei Schmutzablagerungen in Rissen und Fugen), Ib = Insektenbekämpfung am verbauten Holz, M = Bekämpfung von Hausschwamm im Mauerwerk). \* = Diese Produkte enthalten Chrom (VI)-Verbindungen, die eine krebserzeugende Wirkung besitzen. Sie sind kein biozider Wirkstoff im Rahmen der Biozid-Richtlinie, sondern nur Hilfsstoff zur Fixierung.

Holzschutzmitteltyp	Wirkstoffe	Wirksamkeit
<b>Vorbeugend wirksame Holzschutzmittel</b>		
<b>B-Salze</b>	Bor-Verbindungen	P, Iv
<b>CK-Salze*</b>	Kupfer-Verbindungen	P, Iv, W, E
<b>CKB-Salze*</b>	Kupfer-Bor-Verbindungen	P, Iv, W, E
<b>Quat-Präparate</b>	Quaternäre Ammoniumverbindungen	P, Iv
<b>Quat-Bor-Präparate</b>	Quaternäre Ammonium- Bor- Verbindungen	P, Iv, W
<b>Chromfreie Kupfer- Präparate</b>	Kupfer-Verbindungen (Cu- HDO), Bor-Verbindungen, Quaternäre Ammoniumverbindungen, Triazole	P, Iv, W, E
<b>Wässrige Holzschutzmittel mit organischen Wirkstoffen</b>	Quaternäre Ammoniumverbindungen, Triazole, Pyrethroide u.a.	P, Iv, W
<b>Bekämpfend wirksame Holzschutzmittel</b>		
<b>B-Präparate</b>	Bor-Verbindungen	Ib / M
<b>Quat-Bor-Präparate</b>	Quaternäre Ammonium- Bor- Verbindungen	M
<b>Wässrige Holzschutzmittel mit organischem Wirkstoff</b>	Pyrethroide (Permethrin), Flufenoxuron	Ib Primär bekämpfend wirksam, aber auch vorbeugend

Fungizide werden im Holzschutz zur Bekämpfung von Schimmel, Bläue und Fäulnis eingesetzt, die durch Basidiomyceten und Moderfäule verursacht werden (Stirling & Temiz, 2014). Die Wirkung einiger Fungizide kann auf der Hemmung extrazellulärer Prozesse holzerstörender Pilze beruhen. Weitere häufige Wirkmechanismen sind die Störung der Zellmembran (z.B. durch quaternäre Ammoniumverbindungen), die Inaktivierung von Enzymen (z.B. durch Borate), die Hemmung der Zellteilung (z.B. durch Carbendazim), die Hemmung der Atmung (z.B. durch Kupfer) und die Hemmung der Lipidsynthese (z.B. durch Triazole) (Reinprecht, 2010; Stirling & Temiz, 2014). Insektizide sind zur Bekämpfung von Termiten weit verbreitet, können aber auch zum Schutz des Holzes vor anderen Insekten wie Ameisen und Käfern eingesetzt werden. Formulierungen, die zur Bekämpfung von Insekten verwendet werden, können eine repellierende und/oder insektizide Wirkung haben. Repellentien sind typischerweise flüchtige Verbindungen, die von Insekten wahrgenommen und gemieden werden. Die meisten der im Holzschutz eingesetzten Insektizide beeinflussen entweder den Wasserhaushalt (z.B. durch Borate) oder das Nervensystem (z.B. durch

Permethrin) (Stirling & Temiz, 2014). Einige wenige Wirkstoffe sind sowohl gegen Pilze als auch gegen Insekten wirksam. Um für den Einsatz in einer Holzschutzmittelformulierung priorisiert zu werden, müssen die Verbindungen wirksam und kosteneffizient sein und den derzeit geltenden Gesundheits- und Umweltbestimmungen entsprechen.

Der Holzschutz befindet sich durch strengere Vorschriften und neue Forschungserkenntnisse in einer Phase des Wandels. Neben klassischen biozidhaltigen Holzschutzmitteln werden zunehmend umweltfreundliche Alternativen entwickelt, die den Biozideinsatz reduzieren.

Ätherische Öle aus Pflanzen enthalten bioaktive Stoffe mit antimikrobiellen Eigenschaften, die Holz vor Pilzen, Insekten und Bakterien schützen (Broda 2020; Hou *et al.*, 2022). Besonders Eukalyptus-, Teebaum- und Nelkenöl hemmen Holzerfall und Termitenbefall (Antonelli *et al.*, 2020; Broda 2020). Allerdings sind ihr großflächiger Einsatz wegen hoher Kosten, Flüchtigkeit und möglicher Gesundheitsrisiken eingeschränkt (Khademibami & Bobadilha, 2022). Trotz dieser Einschränkungen bieten ätherische Öle ein großes Potenzial für umweltfreundliche Holzschutzanwendungen.

Barbero-López *et al.* (2021) verglichen biobasierte Chemikalien mit herkömmlichen Holzschutzmitteln hinsichtlich Wirksamkeit, Bindung ans Holz, Umwelttoxizität und Auswaschung toxischer Stoffe. Getestet wurden u.a. Pyrolysedestillate von Baumrinde, Tanninauszüge (Colatan GT10) und Prozessrückstände aus der Verleimung von Hartholzfurnieren. Diese wurden mit kommerziellem Kieferöl und einem kupferbasierten Holzschutzmittel verglichen. Colatan GT10 zeigte eine ähnliche Schutzwirkung wie kommerzielle Mittel. Bei ausgewaschenen Proben verringerte sich die Leistung biobasierter Mittel jedoch deutlich. Viele biobasierte Substanzen wiesen geringere Umwelttoxizität auf, einige Pyrolysedestillate aber höhere. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der ökotoxikologischen Bewertung biobasierter Holzschutzstoffe, da ohne eine effektive Bindung an das Holz deren negative Umweltwirkungen höher sein könnten als bei traditionellen Mitteln.

Zelinka *et al.* (2020) untersuchten, wie der Grad der Acetylierung die Holzfeuchte und den Pilzbefall beeinflusst. Die Acetylierung ist ein weit verbreitetes Verfahren, das Holz durch Feuchtereduktion widerstandsfähiger gegen Fäulnis macht. Sie variierten in Tests die Bodenfeuchte, um zu klären, ob der Schutz nur durch weniger Feuchtigkeit oder auch durch zusätzliche fungizide Effekte entsteht. Obwohl ein Zusammenhang zwischen Feuchte und Masseverlust gefunden wurde, ließ sich der Effekt der Acetylierung nicht klar vom Einfluss der Pilzaktivität trennen. Die Ergebnisse zeigen, dass Pilze aktiv Feuchtigkeit transportieren und dadurch die bisherigen Modelle zur Feuchteerzeugung nicht vollständig erklären können. Die Studie vertieft somit das Verständnis der Rolle der Feuchte bei der Braunfäule an acetyliertem Holz.

### 1.3.3.1. Anorganische Biozide als Holzschutzmittelkomponenten

Anorganische Verbindungen werden seit langem zum bewährtem Schutz von Holz verwendet, da sie über ein breites Wirkungsspektrum verfügen und relativ beständig gegen Abbau sind (Stirling & Temiz, 2014). Der Zusatz von Co-Bioziden verstärkt die Wirkung gegen bestimmte Organismengruppen, die gegen den Hauptwirkstoff widerstandsfähig sind (z.B. kupfertolerante Pilze).

Bor kommt typischerweise in Form von Borsäure-Salzen oder -Ethern in Holzschutzmitteln vor (Freeman *et al.*, 2009; Stirling & Temiz, 2014). Borate haben eine geringe Toxizität für Säugetiere und sind wirksam gegen eine Vielzahl von Insekten, einschließlich Termiten, sowie gegen Pilze, wenn auch weniger wirksam gegen Schimmelpilze (Freeman *et al.*, 2009; Jin *et al.*, 2012). Mohamad-Nasir *et al.* (2019) führten Untersuchungen zur Haltbarkeit ausgewählter malaysischer Holzarten durch, die mit Dinatrium-Oktaborat-Tetrahydrat behandelt wurden (Khademibami & Bobadilha, 2022). Die Ergebnisse zeigten, dass dieses Holzschutzmittel alle getesteten Proben zuverlässig gegen Termiten und Weißfäulepilze schützt. Borate wurden auch als Alternativbehandlung zu Kreosot für Eisenbahnschwellen eingesetzt, wobei eine Vorbehandlung mit Boraten im Einsatz oder beim Lufttrocknen Holzfäulnis verhindern kann (Lloyd *et al.*, 2020). Boratverbindungen werden jedoch nicht im Holz fixiert und können leicht ausgelaugt werden (Schiopu & Tiruta-Barna, 2012).

Kupfer wird im Holzschutz in vielen Formen und Formulierungen eingesetzt (Freeman & McIntyre, 2008; Stirling & Temiz, 2014) und ist bei zahlreichen Formulierungen das bevorzugte Biozid. Mehrere Hersteller lösen Kupfer in Ammoniak- oder Aminlösungen und formulieren mit Co-Bioziden, um kupfertolerante Pilze zu kontrollieren. Die Rolle von Kupfer als Fungizid und Termitizid kann auf die Erzeugung von hochaktiven freien Radikalen, die Proteine und Desoxyribonukleinsäure (DNA) schädigen, zurückgeführt werden (Zhang, 1999; Stirling & Temiz, 2014). Als potenzielle Bindungsstellen für Kupfer kommen Karbonsäuregruppen in Hemicellulose, phenolische Gruppen in Lignin und alkoholische Hydroxylgruppen in Cellulose in Betracht. Darüber hinaus ist Kupfer wirksam gegen eine Vielzahl von Pilzen, einschließlich Moderfäule, hat aber nur minimale Auswirkungen auf einige kupfertolerante Basidiomyceten. Diese toleranten Pilze entgiften Kupfer durch Komplexierung mit Oxalsäure, die als Teil des Zerfallsprozesses entsteht (Green & Clausen, 2005; Stirling & Temiz, 2014). Sporen von kupfertoleranten Pilzen, die an die Holzoberfläche gelangen, produzieren keine Oxalsäure und sind daher anfällig für Kupfer (Choi *et al.*, 2002; Woo & Morris, 2010; Stirling & Temiz, 2014). Kupfer in Kombination mit N-Cyclohexyl-Diazeniumdioxid (Cu-HDO) ist ein vielseitiges Mittel im Holzschutz, das auf Sulfhydrylgruppen essenzieller Aminosäuren von Pilzen einwirkt und die Denaturierung von Proteinen verursacht (Schiopu & Tiruta-Barna, 2012).

Aufgrund des Verbots herkömmlicher Holzschutzmittel wie Chrom-Kupfer-Arsenat besteht ein anhaltender Bedarf an ungiftigen Alternativen (Khademibami & Bobadilha, 2022). Ziel ist es, die Holzschutznutzung weiter zu verbessern und synthetische sowie anorganische Verbindungen durch organische Biozide oder natürliche Holzschutzmittel zu ersetzen (Broda, 2020).

### 1.3.3.2. Organische Biozide als Holzschutzmittelkomponenten

Im Bereich des Holzschutzes werden häufig Kombinationen organischer Biozide eingesetzt, um die Wirksamkeit gegen ein breiteres Spektrum von Pilzen und Insekten zu gewährleisten (Stirling & Temiz, 2014). Allerdings können organische Biozide im Holz nicht nur durch Auslaugung, sondern auch durch biologischen Abbau, UV-Licht, Verdunstung und chemischen Abbau abgereichert werden (Freeman *et al.*, 2006; Stirling & Temiz, 2014).

Mehrere quaternäre Ammoniumverbindungen (Quats) werden im Holzschutz verwendet, darunter Didecyldimethylammoniumchlorid (DDAC) und Benzalkoniumchlorid (BAC) (Stirling & Temiz, 2014). Quats sind membranaktive Substanzen, die mit der Zellwand und der äußeren Membran sowie mit der Zellmembran der bakteriellen Zelle interagieren (Ortega Morente *et al.*, 2013). Bei Bakterien binden sie irreversibel an Phospholipide und Proteine der Zellmembran, was zur Freisetzung von zytoplasmatischen Materialien führt. Zwar sind Quats aktiv gegen Insekten, Pilze und Bakterien, benötigen aber oft relativ hohe Konzentrationen und sind für den alleinigen Einsatz in der Regel nicht ausreichend (Stirling & Temiz, 2014). Aufgrund ihrer begrenzten Penetrationstiefe im Holz können sie nur oberflächlich appliziert werden (Raimond *et al.*, 2022), weshalb weitere Forschungen notwendig ist, um die Effizienz der Vakuumimprägnierung zu verbessern; derzeit werden Quats hauptsächlich als Co-Biozide in alkalischen Kupfer-Quat-Holzschutzmitteln eingesetzt, um zusätzlichen Schutz gegen kupfertolerante Pilze und Insekten zu gewährleisten (Lee & Cooper, 2011). Des Weiteren sind Quats ideale organische Biozid-Partner von Kupfer, da sie stabile Komplexe bilden und nach der Imprägnierung mit Holzlignin und Cellulose in einen unlöslichen Zustand übergehen (Jin & Preston, 1991).

Die Verwendung von Triazolen in Holzschutzmitteln ist im Allgemeinen hochwirksam gegen Basidiomyceten, aber weniger wirksam gegen Moderfäule (Stirling & Temiz, 2014). Propiconazol und Tebuconazol sind Triazol-Fungizide, die in einigen organischen Lösungsmitteln löslich, in Wasser jedoch nur schwer löslich sowie im Holz stabil und auswaschungsbeständig sind (Kirker & Lebow, 2021). Beide Substanzen wirken auf ähnliche Weise, indem sie die 14a-Demethylase hemmen und dadurch die Ergosterolsynthese über eine Blockade des Cytochrom P450 unterbinden (Adam *et al.*, 2009). Dadurch wird die Bildung von Ergosterol, einem wichtigen Bestandteil der Zellmembran von Pilzen, verhindert und die Membran des Pilzes kann nicht vollständig und stabil gebildet werden (Sehnm *et al.*, 2009). Um die Wirksamkeit gegen bestimmte Pilze zu verbessern und das Wirkungsspektrum zu erweitern, werden Triazole häufig mit anderen Bioziden wie Quats oder IPBC und mit Hilfsstoffen wie Aminoxiden formuliert (Stirling & Temiz, 2014). Darüber hinaus kann Tebuconazol von einigen Bodenbakterien, Hausschwamm und Schimmelpilzen effizient abgebaut werden (Obanda & Schupe, 2009). Ebenfalls finden synthetische Insektizide, wie Pyrethroide, zu denen Permethrin und Cypermethrin gehören, in Holzschutzmitteln Verwendung (Stirling & Temiz, 2014). Pyrethroide wirken gegen das Nervensystem von Insekten, indem sie die Ansteuerung der spannungsabhängigen Natriumkanäle verlangsamen und so zu einer anhaltenden Membrandepolarisation der Motoneuronen führen (Adam *et al.*, 2009).

Die Sicherstellung des Langzeitschutzes von Holz ist das primäre Ziel eines Holzschutzmittels. Einige Pilze und Bakterien sind in der Lage, Schutzverbindungen zu widerstehen und somit Holz langsamer abzubauen (Clausen, 1996). Entsprechend sollte das Holzschutzmittel auch der Entgiftung durch Pilze und Bakterien standhalten. Aus diesem Grund sollen Holzschutzmittel aus einer Kombination von Wirkstoffen mit einem breiten Spektrum gegen eine Vielzahl von holzschädigenden Organismen zusammengesetzt sein (Lebow, 2004). Da die Holzschutzindustrie ihre Produkte von chrom-, kupfer- und arsenhaltigen Holzschutzmitteln zu Holzschutzmitteln auf Kupferbasis in Kombination mit organischen Bioziden weiterentwickelt

hat (Jakobs-Schönwandt *et al.*, 2010), hat dies zum Schutz vor kupfertoleranten Organismen beigetragen (Lebow, 2004). Da Kupfer ein hervorragendes Fungizid ist, eine relativ geringe Toxizität für Säugetiere aufweist und kostengünstig ist, wird es als primäres Biozid in Holzschutzmitteln eingesetzt (Lebow, 2004). Durch die Zugabe von Quats, die starke bakterizide Eigenschaften aufweisen (McDonnell & Russell, 1999), und Triazol-Fungiziden entsteht ein wirksames Biozidsystem auf Kupferbasis, dessen einzelne Komponenten den Abbau des Holzes durch bodenlebende Mikroorganismen synergistisch verzögern können. Somit bietet eine Kombination aus organischen Bioziden und Kupfer eine lange Haltbarkeit von Holz mit und ohne Bodenkontakt im Vergleich zur natürlichen Haltbarkeit von ungeschütztem Holz (Lebow, 2004). Daher werden Biozidsysteme auf Kupferbasis vor allem für Holzpfähle zur Sicherung von Rebstöcken und Obstbäumen eingesetzt. In dieser Arbeit werden kupferbasierte Holzschutzmittelformulierungen mit organischen Bioziden (Quats und Triazole) gegen den Holzabbau durch Pilze und Bakterien eingesetzt. Die verwendeten Holzschutzmittelformulierungen basieren entweder nur auf Kupfer (Cu), nur auf organischen Bioziden (TriQAC) oder aus einer Kombination aus beiden (CuTriQAC).

### 1.4. Schwermetallkontamination in Obst- und Weinbau

Schwermetalle sind in allen Böden in unterschiedlichen Konzentrationen mit meist sehr langen Verweilzeiten allgegenwärtig (Jovanović *et al.*, 2015). Ihr Ursprung im Boden kann aus geologischen und anthropogenen Quellen wie industrieller Produktion, Verkehr, Landwirtschaft und Bewässerung stammen (Hu *et al.*, 2013). Insbesondere in den landwirtschaftlich genutzten Böden trägt der übermäßige Einsatz von synthetischen Düngemitteln und Pestiziden zur Akkumulation verschiedener Arten von Schwermetallen bei (Micó *et al.*, 2006). Diesbezüglich ist bekannt, dass der Gesamtverbrauch an Pestiziden in Deutschland bei 27.585,49 Tonnen pro Jahr lag (Verma *et al.*, 2014). Dabei finden vor allem kupferhaltige Präparate in der Landwirtschaft weltweit großen Einsatz. Im Jahr 2000 gelangten 3.185 Tonnen Kupfer über Wirtschaftsdünger (63,7 %), verwerteten Klärschlamm (12,6 %), atmosphärischer Deposition (11,8 %) und Pflanzenschutzmittel (8,2 %) in deutsche Böden (Hillenbrand *et al.*, 2005; Jänsch & Römbke, 2009). Als Pflanzenschutzmittel wird Kupfer z.B. zur Bekämpfung von Falschem Mehltau an Weinreben und Hopfen oder zur Bekämpfung der Kraut- und Knollenfäule an Kartoffeln eingesetzt (Strumpf *et al.*, 2011b; Strumpf *et al.*, 2011a). Das Metall zeichnet sich durch mehrere agronomisch vorteilhafte Eigenschaften aus: Es verfügt über eine hohe Wirksamkeit selbst bei Niederschlägen, besitzt eine vergleichsweise geringe akute Toxizität gegenüber terrestrischen Wirbeltieren und ist zudem kostengünstig in der Anwendung (Tamm *et al.*, 2015; Speiser *et al.*, 2018; Lamichhane *et al.*, 2018; Tamm *et al.*, 2022).

Kupfer ist ein essenzielles Spurenelement, das je nach Konzentration auch eine toxische Wirkung auf lebende Organismen hat und die mikrobielle Aktivität in vielen Umgebungen, einschließlich des Bodens, beeinflusst (Malkomes, 2010b). Dieses Schwermetall ist nicht abbaubar, persistiert oder reichert sich über einen langen Zeitraum im Boden an (Malkomes, 2010a). Dabei reichen die Kupfergehalte in unbelasteten Böden von 2 – 100 mg kg<sup>-1</sup> bis zu 142 und 276 mg kg<sup>-1</sup> (Kratz *et al.*, 2009). Die langfristige Anwendung von Kupfer kann weitreichende Auswirkungen auf mikrobielle Gemeinschaften haben. So führte die

Langzeitanwendung kupferhaltiger Fungizide (16 und 48 kg Kupfer ha<sup>-1</sup> zu einer konstanten Zusammensetzung der mikrobiellen Bodengemeinschaft, die durch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber Schwermetallen gekennzeichnet war (Ranjard *et al.*, 2008). Demnach können sowohl metalltolerante Populationen die Bakteriengemeinschaft dominieren (Piotrowska-Seget & Kozdrój, 2008) als auch Pilze eine Resistenz gegen Kupfer aufweisen und in für andere Organismen toxischen Konzentrationen wachsen (Gadd & Griffiths, 1980).

Die Reduzierung des Einsatzes von Kupfer-basierten Pflanzenschutzmitteln und das Ziel eines schrittweisen Ausstiegs haben in der europäischen Politik sowie im ökologischen Landbau hohe Priorität (Tamm *et al.*, 2022). Ein vollständiger Verzicht auf Kupferfungizide würde aktuell jedoch bei zahlreichen Kulturen wie Oliven, Wein und Mandeln zu erheblichen Ertragseinbußen führen.

### 1.5. Ökosystemfunktion

Ökosysteme sind dynamisch, und mikrobielle Gemeinschaften müssen, um zu überleben, ökologische Funktionen trotz Umweltveränderungen aufrechterhalten, sich von radikalen Umweltveränderungen erholen und sich an eine sich ständig verändernde Umwelt anpassen (Jurburg & Salles, 2015). Die grundlegendsten Funktionen umfassen sämtliche Bereiche von der Atmung und dem Nährstoffkreislauf bis hin zur Bildung organischer Substanzen und dem Schutz vor Pflanzenkrankheiten (Crowley, 2008). Das Verständnis der Funktionsweise von Ökosystemen ist ein wichtiger Schwerpunkt ökologischer Studien. Diese kann entweder kurzfristig bewertet werden, indem das Ausmaß des Prozesses von Interesse ist, oder langfristig, indem die Wahrscheinlichkeit gemessen wird, dass sie angesichts von Umweltveränderungen erhalten bleibt (Jurburg & Salles, 2015). Als Redundanz bezeichnet man eine Eigenschaft ökologischer Systeme, bei der eine Funktion von mehreren Arten in einem Ökosystem ausgeführt wird. Diese Eigenschaft kann besonders wichtig für das hochdynamische mikrobielle System des Bodens sein, wo die Diversität extrem sein kann, aber notwendig ist, um Umweltveränderungen abzuf puffern und die Aufrechterhaltung der Funktion zu gewährleisten. Dabei resultiert eine funktionelle Redundanz aus der funktionellen Klassifizierung der Individuen, basierend auf ihrem Beitrag zur Ökosystemfunktion und nicht auf ihrer Phylogenie.

Eine Vielzahl von Ökosystemfunktionen beeinflusst Totholz (Harmon *et al.*, 1986; Cornwell *et al.*, 2009; Kahl *et al.*, 2017), das bekanntermaßen eine wichtige strukturelle Komponente von Wäldern (Bauhus *et al.*, 2009; Kahl *et al.*, 2017) und eine kritische Ressource für holzbewohnende Organismen ist (Lonsdale *et al.*, 2008; Rondeux & Sanchez, 2010; Stokland *et al.*, 2012; Kahl *et al.*, 2017). In diesem Zusammenhang kann der Holzabbau durch Unterschiede im Vorhandensein von Organismen und deren Aktivität beeinflusst werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wird die Ökosystemfunktion von Pilzen und Bakterien im Zusammenhang mit dem Holzabbau kurz vorgestellt.

#### 1.5.1. Ökosystemfunktion der Pilze beim Holzabbau

Die Diversität und die enzymatischen Aktivitäten von Mikroorganismen, vor allem von Pilzen, bilden die Grundlage für Nahrungsnetze in Holz und Streu (Stokland *et al.*, 2012; Hoppe *et al.*,

2016). Die Mineralisierung von Totholz erhöht die Zugänglichkeit von Kohlenhydraten für andere Organismen wie nicht-ligninolytische Pilze, Bakterien oder Arthropoden (Stokland *et al.*, 2012). In terrestrischen Ökosystemen sind höhere Pilze aufgrund ihres vorherrschenden Myzelwachstums die wichtigste Destruenten-Gruppe im Zusammenhang mit dem Holzabbau (Zhou & Ingram, 2000) und verfügen über die volle enzymatische Kapazität zum Abbau von Cellulose, Hemicellulosen und Lignin (van der Wal *et al.*, 2013; van der Wal *et al.*, 2015). Abhängig von der Art des Holzabbaus werden sie als Weiß-, Braun- und Moderfäulepilze klassifiziert.

Weißfäulepilze bauen alle strukturellen Bestandteile des Holzes entweder gleichzeitig oder nacheinander ab. Sie sind die einzigen bekannten Organismen, die in der Lage sind, Lignin vollständig abzubauen. Zur Oxidation des Ligninpolymers scheiden sie eine Reihe extrazellulärer oxidativer Enzyme wie Laccase, Manganperoxidase und/oder Mangan-unabhängige Peroxidasen aus (Hofrichter *et al.*, 2010; Hoppe *et al.*, 2016). Braunfäulepilze modifizieren das Lignin nur während des Abbaus von Cellulose und Hemicellulose (van der Wal *et al.*, 2015). Lignin wird hierbei durch einen Mechanismus oxidiert, der auf Hydroxylradikalen beruht, die durch die Fenton-Reaktion erzeugt werden (Jellison *et al.*, 1997; Martínez *et al.*, 2005; Hatakka & Hammel, 2011; Hoppe *et al.*, 2016). Moderfäulepilze bauen die Cellulose- und Hemicellulosefraktionen nur in der zentralen Schicht der sekundären Zellwände ab (Schwarze, 2007). Darüber hinaus tritt Moderfäule in nassem Holz auf und macht das Holz durch Hydrolyse eines Teils der Cellulose weich, jedoch mit geringer oder keiner Auswirkung auf das Lignin (van der Wal *et al.*, 2015). Weiß-, Braun- und Moderfäulepilze können alle an im Boden genutztem Holz vorkommen, aber diese Fäulnisarten können erheblich variieren, nicht nur in der Häufigkeit und räumlichen Verteilung, sondern auch in Kombinationen von einem Standort zum anderen (Edlund & Nilsson, 1998; Brischke *et al.*, 2013; Marais *et al.*, 2020). Die Geschwindigkeit der Fäulnis hängt stark von der Fäulnisart ab, wobei die im Boden vorherrschende Moderfäule in der Regel langsamer abläuft als Weiß- und Braunfäule.

Zu den ökologischen funktionellen Gruppen von saproxylichen Pilzen gehören auch opportunistische Pilze und Bakterien, die als frühe Besiedler von Holz auf leicht zugänglicher (Hemi-)Cellulose und einfach löslichen Substraten wachsen (van der Wal *et al.*, 2013; van der Wal *et al.*, 2015). In ähnlicher Weise sind Endophyten Teil der holzbewohnenden Pilzgemeinschaft, die nach dem Absterben des Baumes fortbestehen und die frühen Stadien des Holzabbaus einleiten (Purahong *et al.*, 2019). Eine bereits etablierte Pilzart kann die Besiedlung von Nachfolgearten hemmen, aber auch fördern (Heilmann-Clausen & Boddy, 2005). Der Home Field Advantage besagt, dass bestimmte Zersetzer einen Heimvorteil beim Abbau einheimischer gegenüber fremder Streu an einem bestimmten Standort haben (Purahong *et al.*, 2019). Dies führt zu effizienteren Abbauraten von Pflanzenmaterial, wenn die Streu in der Nähe der Pflanzen, von denen sie stammt, abgebaut wird, als an einem anderen Standort, z. B. unter einem Baum einer anderen Art. Purahong *et al.* (2019) bestätigten somit die Home Field Advantage-Hypothese auch für Totholz, da die Abbaurate der mikrobiellen Gemeinschaften am Heimatstandort aufgrund der Spezialisierung, durch die darüber liegende Pflanzengemeinschaft beschleunigt wurde. Die positiven oder negativen Auswirkungen auf später etablierte Pilze können sowohl von der Veränderung der chemischen Umgebung durch die Produktion von Antibiotika als auch von der physikalischen Modifikation des Holzes abhängen (Niemelä *et al.*,

1995; van der Wal *et al.*, 2015). Auch die vorbeugende Konkurrenz durch den Verbrauch leicht abbaubarer Substrate und die Belegung von Raum innerhalb des Holzes führt ebenfalls zu einer begrenzten Verfügbarkeit von Substraten für sekundär kolonisierende Pilze (Payne *et al.*, 2000; Boddy, 2001; van der Wal *et al.*, 2015). Daher können die Identität und die Interaktionen der vorherrschenden Arten den Besiedlungserfolg der später eintreffenden Arten beeinflussen. Wenn zwei oder mehr holzabbauende Pilze das Holz besiedeln konnten, setzen sich die konkurrierenden Interaktionen fort (van der Wal *et al.*, 2015). Dies kann auch die Abbauraten beeinflussen, indem die Pilze mehr Ressourcen in die Produktion von Sekundärmetaboliten investieren als in Wachstum und Zersetzung (Woodward *et al.*, 2008; van der Wal *et al.*, 2015). Aus diesem Grund können die Zusammensetzung der Pilzarten und ihre Wechselwirkungen einen starken Einfluss auf den Holzabbau in allen Zersetzungsstadien haben.

Das im Außenbereich verwendete Holz ist anfällig für Fäulnis, daher wird es mit speziellen wässrigen Holzschutzmitteln behandelt (Zelinka *et al.*, 2019). Fast alle handelsüblichen Schutzmittel auf Wasserbasis, die derzeit auf dem Markt sind, sind auf die Toxizität von Kupfer zurückzuführen (Lebow, 2010; Zelinka *et al.*, 2019). Während Kupfer für viele Holzfäulepilze fungizid ist, sind bestimmte Pilze, wie z.B. Braunfäulepilze, kupfertolerant und haben die Fähigkeit, Kupfer zu immobilisieren und die Bioverfügbarkeit zu verringern (Tang *et al.*, 2013; Zelinka *et al.*, 2019). Sie scheiden in kupferbehandeltem Holz hohe Mengen an Oxalat aus (Clausen & Green, 2003; Green III & Clausen, 2003; Zelinka *et al.*, 2019), wodurch toxische Kupferionen inaktiviert werden. Somit können kupfertolerante Pilze nicht nur schutzmittelbehandeltes Holz angreifen und strukturelle Schäden an behandelten Holzbauteilen verursachen, sondern auch Kupfer tolerieren, was allgemein als Wettbewerbsvorteil angesehen wird.

Darüber hinaus haben Pilze verschiedene Mechanismen entwickelt, um den toxischen Wirkungen von Bioziden und Kupfer zu widerstehen, die in der Landwirtschaft und Industrie eingesetzt werden. Diese Resistenzmechanismen sind entscheidend für das Überleben von Pilzen in Umgebungen mit hohen Konzentrationen dieser Verbindungen.

Um gegen Biozide resistent zu werden, wenden Pilze mehrere Strategien an. Ein primärer Mechanismus ist die Veränderung der Zielstelle, wodurch die Wirksamkeit des Biozids verringert wird. So können beispielsweise Mutationen im *ERG11*-Gen, das für das Zielenzym von Azolfungiziden kodiert, bei *Candida*-Arten zu Resistenz führen (Paul *et al.*, 2022). Ein weiterer wichtiger Mechanismus ist die Hochregulierung von Effluxpumpen wie ABC-Transportern, die Biozide aktiv aus Pilzzellen ausschleusen.

Ebenso verfügen Pilze über mehrere Mechanismen, um überschüssiges Kupfer in der Zelle zu kontrollieren und so eine Kupfertoxizität zu vermeiden (Moraes *et al.*, 2023). Dazu zählen (i) die Synthese von Metallothioneinen, die als Kupferchelatoren fungieren, (ii) die Speicherung von Kupfer in Vesikeln, (iii) der Kupfer-Efflux aus der Zelle sowie (iv) das Stoppen der Kupferaufnahme.

### 1.5.2. Ökosystemfunktion der Bakterien beim Holzabbau

Bakterien sind die am häufigsten vorkommende Gruppe von Bodenmikroorganismen und spielen eine wichtige Rolle bei den Funktionen des Waldökosystems und der Erhaltung der Bodenqualität (Nacke *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2014). Der Boden bietet eine vielfältige Quelle

potenzieller Besiedler für Holz im Bodenkontakt und ist wahrscheinlich der Hauptherkunftsort für Bakterien im Holz (Johnston *et al.*, 2016). Der Bodentyp dient als Hinweis auf die bakterielle Zusammensetzung im Holz (Sun *et al.*, 2014). Totholz ist eine wichtige strukturelle Komponente in Waldökosystemen, die Lebensraum und Nahrung für verschiedene Organismen bietet und an zahlreichen Ökosystemfunktionen beteiligt ist, einschließlich Kohlenstoffbindung und Nährstoffkreislauf (Hoppe *et al.*, 2015). Bakterien gehören zu den ersten Organismen, die Totholz besiedeln und insbesondere die leicht abbaubaren und zugänglichen Substrate verstoffwechseln (Boer & van der Wal, 2008; Sun *et al.*, 2014).

Greaves (1971) entwickelte als Erster ein Konzept für eine funktionelle Klassifizierung holzbewohnender Bakterien anhand des Abbaus und teilte diese in vier Gruppen ein:

- I. Bakterien, die die Permeabilität beeinflussen, ohne seine strukturelle Integrität zu beeinträchtigen
- II. Bakterien, mit der Fähigkeit zum Holzabbau
- III. Bakterien, die als integrale synergistische Mitglieder der gesamten Mikroflora wirken, um den Holzabbau zu fördern
- IV. Bakterien, die als Antagonisten zu anderen Bakterien wirken können, indem sie Antibiotika produzieren, die für andere Mikroorganismen schädlich sind

Diese Klassen behalten auch heute noch ihre Relevanz, stellen aber eine Herausforderung dar, wenn es um die Beziehung zwischen den generierten taxonomischen Informationen aus einer breit angelegten Sequenzierung einer Gesamtprobe und den funktionellen Fähigkeiten auf feiner Ebene geht (Johnston *et al.*, 2016). Zusätzlich zu der Klassifizierung existieren auch noch Erosionsbakterien, die die sekundären Zellwandschichten angreifen können, indem sie die Cellulose und Hemicellulosen abbauen, aber einen verholzten Rückstand hinterlassen (Kirker *et al.*, 2012a). Ebenso wie Tunnelbakterien, die kleine Tunnel erzeugen, die Mittellamelle schwächen und in begrenztem Umfang Lignin abbauen (Daniel *et al.*, 1987).

Viele Bakterien bevorzugen leicht zugängliche, niedermolekulare Verbindungen, die während des frühen Zerfalls von Holz vorhanden sind oder durch Pilzaktivität freigesetzt werden (Boer & van der Wal, 2008; Johnston *et al.*, 2016). Unter einer solchen Annahme wäre zu erwarten, dass Bakterien zu Beginn des Holzabbaus am zahlreichsten sind und erst dann durch Pilze verdrängt werden, wenn die leicht verfügbaren Verbindungen aufgebraucht sind und sich die Pilze im Holz etabliert haben (Clausen, 1996; Johnston *et al.*, 2016). Die absolute Anzahl der Bakterien kann jedoch beibehalten oder sogar erhöht werden, allerdings findet eine Verschiebung statt, bei der die Bakterien an die Koexistenz mit Pilzen angepasst sind und sich von den Abbauprodukten der Pilze ernähren. Dabei variiert die Bakteriengemeinschaft in Abhängigkeit vom Zerfallszustand des Holzes, wobei die Bakterienvielfalt mit zunehmendem Abbau des Holzes steigt (Hoppe *et al.*, 2015). Darüber hinaus besitzt eine Gemeinschaft aus verschiedenen Bakterien im Holz eine größere Zersetzungsfähigkeit als einzelne Arten (Schmidt & Liese, 1994; Johnston *et al.*, 2016). Nichtsdestotrotz dürfte der gesamte bakterielle Holzabbau im Vergleich zu Pilzen vernachlässigbar gering bleiben, da Pilze aufgrund ihrer Größe und ihres besseren Materialzugangs die Möglichkeit haben, Holz schneller abzubauen. Zudem ist die bakterielle Diversität im Holz weitaus geringer als im Boden (Hervé *et al.*, 2014;

Sun *et al.*, 2014) und wird stark von der darunter liegenden Bodenart und den physikalisch-chemischen Parametern des Holzes beeinflusst (Kielak *et al.*, 2016).

Bakterien im Holz können Pilze potenziell begünstigen, indem sie Metaboliten produzieren, die als Wachstumsfaktoren für Pilze wirken (Clausen, 1996; Sun *et al.*, 2014). Ein positiver Einfluss auf die Aktivität von Pilzen kann auch durch Bakterien hervorgerufen werden, die Cellulase- und Pektinase-Enzyme produzieren, wodurch die Zugänglichkeit von Substraten für den Pilz erhöht wird (Boer *et al.*, 2005). Ebenso können Wachstumsfaktoren wie Vitamine von Bakterien im Austausch für einige der leicht verfügbaren und abbaubaren Kohlenstoffquellen, die von Pilzenzymen freigesetzt werden, bereitgestellt werden (Kielak *et al.*, 2016). Eine durchgeführte Studie deutet darauf hin, dass eine kommensale Beziehung zwischen holzbewohnenden Pilzen und stickstofffixierenden Bakterien besteht (Hoppe *et al.*, 2014; Hoppe *et al.*, 2015; Purahong *et al.*, 2019). Dabei wird angenommen, dass die stickstofffixierenden Bakterien zusätzlichen Stickstoff für die Pilze bereitstellen, damit diese Fruchtkörper produzieren können. Da Totholz jedoch sehr stickstoffarm ist, hat sich gezeigt, dass holzbewohnende Bakterien den Holzabbau durch Pilze durch N-Fixierung fördern (Tláskal *et al.*, 2021). Weitere Hinweise wurden auf mögliche mutualistische Wechselwirkungen zwischen Pilzen und methylo trophen stickstofffixierenden Bakterien geliefert, die Methanol verbrauchen, das ein Nebenprodukt des enzymatischen Ligninabbaus ist (Merrill & Cowling, 1966; Dedysh *et al.*, 2001; Vorob'ev *et al.*, 2009; Hoppe *et al.*, 2015).

Die Koexistenz von Pilzen und Bakterien im Holz kann auch zu Konflikten führen, da beide um die gleichen Substrate konkurrieren (Johnston *et al.*, 2016). So können Bakterien Produkte entfernen, die bei der Zersetzung durch extrazelluläre Enzyme von Pilzen entstehen. Des Weiteren können sowohl Pilze als auch Bakterien die andere Gruppe als Nahrungsressource betrachten. Abgestorbene Bakterienzellen stellen eine wertvolle Stickstoffquelle dar (Clausen, 1996), die im Holz in sehr geringen Konzentrationen vorkommt. Das Vorhandensein von funktionell äquivalenten cellulolytischen Systemen in Bakterien und Pilzen impliziert, dass im Boden eine Konkurrenz um Cellulose auftreten kann (Boer *et al.*, 2005). Aerobe cellulolytische Pilze und Bakterien produzieren frei diffundierbare extrazelluläre Cellulase-Enzymsysteme, die aus Endoglucanasen, Exoglucanasen und  $\beta$ -Glucosidasen bestehen, die bei der Umwandlung von Cellulose in Glukose synergistisch wirken (Lynd *et al.*, 2002; Mansfield & Meder, 2003; Boer *et al.*, 2005). Die Konkurrenz zwischen Pilzen und Bakterien im Holz ist möglicherweise ähnlich wie die im Boden, allerdings scheint das Ergebnis der Konkurrenz vom pH-Wert der Umgebung abhängig zu sein (Rousk *et al.*, 2010; Johnston *et al.*, 2016). Da Pilze bei niedrigem pH-Wert und Bakterien bei höherem pH-Wert vorherrschen, ist dies ein interessanter Faktor angesichts der Tatsache, dass Pilze im Allgemeinen durch ihr Wachstum und ihren Metabolismus den pH-Wert im Holz senken (Boer *et al.*, 2005; Boer *et al.*, 2010; Johnston *et al.*, 2016).

Umweltveränderungen, wie z.B. die Bodenkontamination mit Kupfer, wirken selektiv gegen kupfersensitive Individuen (Carlisle & Clements, 2005; Liu *et al.*, 2018). Dies führt zu Artenverlusten und potenziellen Kaskadeneffekten auf die Ökosystemfunktion. In diesem Zusammenhang fanden Li *et al.* (2015) heraus, dass eine Kupferkontamination zu langfristigen signifikanten Veränderungen in der bakteriellen Abundanz und Zusammensetzung sowie zu erheblichen Verlusten in der Diversität führen kann. Solche taxonomischen Veränderungen könnten zu Veränderungen wichtiger funktioneller Kapazitäten aufgrund der

Kupferkontamination führen, wie z.B. eine konsequente Verringerung der mikrobiellen Biomasseproduktion. Im Allgemeinen ist die schwermetallvermittelte Toxizität auf die Inaktivierung von Enzymen, die Beeinträchtigung von Membranen, die Interaktion mit Nukleinsäuren, die Veränderung des Nährstofftransports und der Substratverfügbarkeit zurückzuführen (Liu *et al.*, 2018). Die Hemmung von Enzymen, Zellmembranen und Nukleinsäuren durch Schwermetalle wird durch die Bindung der Metalle an Enzymproteine, Membranproteine und Nukleasen verursacht, wodurch deren Struktur verändert wurde (Yadav *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2018), was letztlich zum Verlust der Zytotoxizität führt. Etwas anders verhält es sich beim Einsatz von Kupfer in Holzschutzmitteln, da Bakterien in der Lage sind, viele organische Holzschutzmittel abzubauen (Kirker *et al.*, 2012a) sowie bestimmte pilzhemmende Verbindungen zu entgiften, insbesondere in behandeltem Holz (Clausen, 1996; Johnston *et al.*, 2016). Einige Bakterien können auch die Kupferkomponente der Schutzmittel aus dem Holz auslaugen, was zu einem Kupferverlust von bis zu 80 % führt (Crawford & Clausen, 1999; Kirker *et al.*, 2012a). Sobald die Schutzmittel durch Bakterien abgebaut sind, besteht die Möglichkeit des Eindringens anderer Mikroorganismen, vor allem von Fäulnispilzen, die ansonsten hätte verhindert werden können.

Bakterien nutzen verschiedene Resistenzmechanismen gegen Biozide, die in sechs Hauptkategorien eingeteilt werden können: Enzymproduktion zur Inaktivierung, Veränderungen der Membranpermeabilität, Schutz oder Veränderung des Zielmoleküls, Überexpression des Ziels, Zielersatz und Effluxpumpen, die mikrobiell toxischen Substanzen aus der Zelle transportieren (Van Camp *et al.*, 2020; Darby *et al.*, 2023; Lorusso *et al.*, 2022). Effluxpumpen spielen eine besondere Rolle, da sie nicht nur Biozide, sondern auch andere toxische Substanzen wie Kupferionen aus der Zelle befördern (Wand & Sutton, 2022). Dies führt zu einer Kreuzresistenz, die Bakterien sowohl gegen antimikrobielle Mittel als auch gegen Metalle wie Kupfer widerstandsfähiger machen. Der kontinuierliche Einsatz von antimikrobiellen Substanzen und die damit verbundene Selektion resistenter Stämme verbunden mit dem horizontalen Gentransfer führen zur Ansammlung mehrerer dieser Resistenzmechanismen und zur Entstehung multiresistenter Bakterien beigetragen (Lorusso *et al.*, 2022).

Das Verständnis dieser Resistenzmechanismen ist entscheidend für die Entwicklung wirksamer Strategien zur Bekämpfung von Bakterien und Pilzen sowohl in der Landwirtschaft als auch im klinischen Bereich. Zukünftige Forschung sollte sich darauf konzentrieren, die molekularen Grundlagen dieser Mechanismen aufzuklären und neue Ansätze zur Überwindung der Resistenz zu erforschen.

### **1.6. Techniken zur Erfassung der mikrobiellen Gemeinschaft**

Frühere Forschungsprojekte zur Bestimmung der Zusammensetzung natürlicher mikrobieller Gemeinschaften waren durch traditionell angewandte Methoden begrenzt (Ward *et al.*, 1990). Laut Schätzungen können 99 % der natürlich vorkommenden Mikroorganismen nicht mit Standardmethoden kultiviert werden (Amann *et al.*, 1995; Su *et al.*, 2012). Zudem sind die Kulturmethoden ungeeignet, um die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft zu untersuchen (Ward *et al.*, 1990). In den letzten 20 Jahren wurde eine Reihe von Methoden

entwickelt, die eine direkte oder kulturunabhängige Untersuchung von Mikroorganismen aus der Umwelt ermöglichen (Su *et al.*, 2012).

Zur Charakterisierung der phylogenetischen, taxonomischen und funktionellen Struktur von mikrobiellen Zusammensetzungen hat sich die Analyse von Nukleinsäure als sehr effektiv erwiesen (Blazewicz *et al.*, 2013). Alle Organismen haben DNA-Sequenzen in ihrem Genom, die für ribosomale RNAs (rRNAs) kodieren (Hamby & Zimmer, 1992). Die Omnipräsenz der rRNA in der gesamten Natur und die Entwicklung von Techniken für die schnelle Bestimmung machen die rRNA zu einem guten Werkzeug für die Entschlüsselung evolutionärer Beziehungen.

Sequenzveränderungen können als Maß für die phylogenetische Unterscheidung zweier Organismen angesehen werden, da die rRNA-Gene strukturell hoch konserviert sind (Fuchs, 2007). Für die phylogenetische Charakterisierung sowie taxonomische Gliederung von Bakterien werden die universell vorhandenen und in ihrer Sequenz ausreichend konservierten 16S rRNA-Gene der kleinen ribosomalen Untereinheit genutzt (Madigan *et al.*, 2013 // 2015). Zur Charakterisierung von Pilzen kann dazu äquivalent die eukaryotische 18S-rRNA verwendet werden (Fuchs, 2007). Häufiger wird jedoch die zur 18S-rRNA benachbarte ITS-Gen-Region (engl. *internal transcribed spacer*) für phylogenetische Analysen benutzt. Die ITS-Gen-Regionen sind flankiert von hochkonservierten Regionen mit geeigneten Komplementärsequenzen für universelle Oligonukleotide für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (Ihrmark *et al.*, 2012).

Die Verwendung der PCR ermöglicht die qualitative Beschreibung einer mikrobiellen Biodiversität innerhalb einer Umwelt, jedoch erwies sich die qualitative Bestimmung der Genkopienzahl als problematisch (Reysenbach *et al.*, 1992; Suzuki & Giovannoni, 1996; Polz & Cavanaugh, 1998; Smith *et al.*, 2006). Hingegen ist die quantitative PCR (qPCR) ein vielversprechendes Werkzeug für schnelle, reproduzierbare und akkurate Schätzungen der Dynamik einer mikrobiellen Gemeinschaft, in der Regel durch die Analyse des amplifizierten 16S rRNA Gens (Ward *et al.*, 1990; Nyssönen *et al.*, 2006; Desai *et al.*, 2010). Das Prinzip dieser Vervielfältigungsmethode für Nukleinsäuren beruht auf dem der herkömmlichen PCR. Zusätzlich wird bei der qPCR mit Hilfe von Fluoreszenz-Messungen die Quantifizierung der Ausgangs-DNA während eines PCR-Zyklus erfasst (Nyssönen *et al.*, 2006; Desai *et al.*, 2010). Zum Nachweis können entweder Hybridisierungs sonden (TaqMan molecular beacons mit Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer) oder DNA interkalierende Farbstoffe wie SYBR Green verwendet werden. Für TaqMan-Sonden ist das Vorhandensein einer zusätzlichen konservierten Stelle innerhalb der kurzen Amplikonsequenz erforderlich (Smith & Osborn, 2009). Die Identifizierung von drei konservierten Regionen innerhalb einer kurzen Region ist nicht immer möglich, insbesondere dann nicht, wenn Primer/Sonden-Kombinationen auf divergierende Gensequenzen ausgerichtet sind. Bei verschiedenen Sequenzen ist die Synthese verschiedener Sonden erforderlich.

Eine bekannte Konzentration eines DNA-Standards (linearisiertes Plasmid oder genomische DNA) wird in jedem qPCR-Lauf verwendet, damit eine Standardkurve zur Quantifizierung der unbekannt mikrobiellen Zielgene angefertigt werden kann.

Für das Verständnis der funktionellen und ökologischen Biodiversität wird die Genomanalyse von komplexen Umweltproben zu einem wichtigen Instrument (Shokralla *et al.*, 2012). In diesem Zusammenhang ist die Next-Generation-Sequencing (NGS)-Technologie ein

leistungsfähiges Instrument zur Untersuchung mikrobieller Gemeinschaften. Je nach Plattform und Reagenzien ist es derzeit möglich, bis zu 300 und 500 Zyklen (d.h. Nukleotide) von Sequenzdaten auf HiSeq- oder MiSeq-Plattformen zu erhalten. Der Sequenzierdurchsatz mit MiSeq ist in der Lage, 8,5 Gbp bei 250-nt Reads (d.h. 17 Millionen *read* -Paare) zu erzeugen. Die MiSeq-Plattform bietet ein großes Potenzial für 16S rRNA-Sequenzierungsstudien, da längere Sequenz-Lesevorgänge generiert werden und die Ausführung und Kosten in Bezug auf die Bedürfnisse des einzelnen Benutzers überschaubar sind (Caporaso *et al.*, 2012; Kozich *et al.*, 2013).

Der Stand der Technik in der Analyse komplexer biologischer Proben ist weit fortgeschritten und eröffnet die Möglichkeit, spezifische Fragen mit Hilfe von "omics"-Technologien zu beantworten. Dabei kann das gesamte Genom eines Organismus mittels "Genomics" sequenziert werden (Desai *et al.*, 2010), d.h. die DNA kann als Träger der genetischen Information identifiziert werden. Anhand der "Metagenomics" können nicht nur einzelne Organismen, sondern auch die Genome einer ganzen mikrobiellen Gemeinschaft in einer bestimmten Umgebung charakterisiert werden. Mit dieser Methode ist es möglich, bisher nicht kultivierbare Mikroorganismen zu untersuchen und detaillierte und neue Erkenntnisse zu gewinnen (Martín *et al.*, 2006). Metagenomische Ansätze ermöglichen die Untersuchung sowohl der funktionellen als auch der strukturellen Vielfalt mikrobieller Gemeinschaften im Boden (Lahlali *et al.*, 2021; Dubey *et al.*, 2020). NGS bzw. High-Throughput Sequencing hat großes Potenzial gezeigt, die verborgene Diversität dieser Gemeinschaften aufzudecken. High-Throughput Sequencing erlaubt kosteneffiziente und hochpräzise Analysen spezifischer Lebensräume, wodurch sich die Forschungsmethodik grundlegend wandelt und enorme Datenmengen generiert werden (Lahlali *et al.*, 2021; Wei *et al.*, 2018). Die wesentliche Einschränkung kultivierungsabhängiger Studien wird dadurch überwunden, da die DNA-Extrakte direkt aus der Umweltprobe gewonnen werden (Desai *et al.*, 2010). Somit wird theoretisch die Gesamtmenge der Genome einer mikrobiellen Gemeinschaft dargestellt, die in dem betreffenden Ökosystem vorhanden ist.

In den letzten Jahren haben sich die "omics"-Technologien rasant weiterentwickelt und ermöglichen immer tiefere Einblicke in komplexe biologische Systeme. Besonders im Bereich der Metagenomik wurden bedeutende Fortschritte erzielt. Die Einführung von Nanoporen-Sequenzieretechnologien erlaubt nun die Sequenzierung langer DNA-Fragmente direkt aus Umweltproben (Nicholls *et al.*, 2019), was die Assemblierung von Metagenomen und die Zuordnung von Genen zu spezifischen Organismen erheblich verbessert. Zudem kombinieren neuere Studien Metagenomik mit Metatranskriptomik und Metaproteomik, um ein umfassenderes Bild der mikrobiellen Aktivität in verschiedenen Ökosystemen zu gewinnen. Diese Multi-omics-Ansätze ermöglichen Einblicke in die tatsächlich exprimierten Gene und Proteine unter spezifischen Umweltbedingungen (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018). Fortschritte in der Bioinformatik, insbesondere durch den Einsatz von maschinellem Lernen und künstlicher Intelligenz, haben die Analyse und Interpretation von Metagenom-Daten revolutioniert (Wani *et al.*, 2022), was genauere taxonomische Zuordnungen und funktionelle Annotation von Genen ermöglicht. Darüber hinaus gewinnt die funktionelle Charakterisierung von Metagenomen zunehmend an Bedeutung. Durch die Expression von Umwelt-DNA in Wirtszellen lassen sich neue Enzyme und bioaktive Substanzen entdecken (Ngara & Zhang,

2018). Nannipieri *et al.* (2020) betonten, dass eine integrierte Anwendung von Metagenomik, Genexpressionsanalysen und klassischen Kultivierungsmethoden den präzisesten Ansatz zur Erforschung der Funktion mikrobieller Gemeinschaften im Boden darstellt (Lahlali *et al.*, 2021).

### 1.7. Ziele dieser Arbeit

Die mikrobiellen Gemeinschaften im Boden von Obst- und Weinanbaugebieten tragen wesentlich zur Bodenqualität bei und sind daher auch essenziell für einen guten Ernteertrag. Dieser Ertrag ist jedoch abhängig vom Pestizideinsatz, der wiederum das Bodenmikrobiom beeinflusst. Das Bodenmikrobiom ist in seiner Diversität und Quantität entscheidend für Ökosystemfunktionen, die bereits auf verschiedenen räumlichen Skalen bewertet wurden (Bahram *et al.*, 2018; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018; Egidi *et al.*, 2019), deren Übertragung auf die hier beschriebene Situation aber noch aussteht. Die Struktur und Zusammensetzung des Bodenmikrobioms wird durch den geografischen Standort und die Landnutzung geprägt (Coller *et al.*, 2019), aber nur wenige Studien haben bisher die Auswirkungen von kupferhaltigen Pestiziden aus Holzschutzmitteln auf die Diversität der Bodengemeinschaft und Ökosystemfunktionen beschrieben. Demnach fehlt ein generalisierbarer Überblick über die Mechanismen der mikrobiellen Bodengemeinschaften, die den Abbau von mit Holzschutzmitteln behandeltem Holz durchführen. Daher ist es notwendig, den Einfluss von Holzschutzmitteln zu untersuchen, um die Auswirkungen auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Bodengemeinschaft und die Interaktion im Zusammenhang mit dem Holzabbau besser zu verstehen. In diesem Kontext werden verschiedene Holzschutzmittelformulierungen gegen den Holzabbau durch Pilze und Bakterien eingesetzt und in ihrer Wirkung verglichen. Neben dem üblicherweise verwendeten Kupfer werden organische Biozide wie Quats und Triazole eingesetzt, um das Wirkungsspektrum zu erweitern. So wurden Holzschutzmittelformulierungen verwendet, die entweder nur auf Kupfer (Cu), nur auf organischen Bioziden (TriQAC) oder einer Kombination aus beiden (CuTriQAC) basieren, sowie eine Wasserkontrolle (H<sub>2</sub>O). Zur Charakterisierung der Besiedlung von Pilzen auf Holzpfählen, die mit kupferhaltigen Holzschutzmitteln behandelt waren, wurden zunächst einfache Prüfverfahren, wie die Bestimmung des Masseverlustes und der Änderungen des dynamischen Elastizitätsmoduls (Machek *et al.*, 2004), eingesetzt. Die Charakterisierung von Pilzen und Bakterien in behandeltem Holz wurde durch molekularbiologische Methoden erweitert, z.B. durch „Community-Fingerprinting“-Methoden wie den terminalen Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (Kirker *et al.*, 2012b), die heutzutage nicht mehr dem Stand der Technik entsprechen. Ziel dieser Arbeit ist es daher, "omics"-Technologien als leistungsfähiges Werkzeug zur Identifizierung von Pilzen und Bakterien in Umweltproben mit bekannten Holzschutzmittel-Prüfverfahren zu koppeln.

**Diese Basis führt zu den folgenden Hypothesen in Böden von Obst- und Weinanbaugebieten:**

1. *Kupferhaltige Holzschutzmittelformulierungen reduzieren den mikrobiellen Holzabbau und verändern die mikrobielle Gemeinschaftsstruktur im Vergleich zu ungeschütztem Holz während der Inkubationszeit im Boden.*
  - i. *Kupferhaltige Holzschutzmittelformulierungen reduzieren den Masseverlust von Holz im Vergleich zur Wasserkontrolle am effektivsten.*
  - ii. *Die Genkopienzahl von Pilzen und Bakterien in Kupfer-geschütztem Holz wird signifikant reduziert im Vergleich zur Wasserkontrolle.*
  - iii. *Die Alpha-Diversität gemäß Shannon-Index der Pilzgemeinschaft in Kupfer-geschütztem Holz ist nach der Inkubationszeit geringer als in ungeschütztem Holz (Wasserkontrolle), während sich die bakterielle Alpha-Diversität (Shannon-Index) nicht signifikant unterscheidet.*
  - iv. *Die zeitliche Abfolge der dominanten mikrobiellen Gattungen unterscheidet sich signifikant zwischen Kupfer-geschütztem Holz und ungeschütztem Holz (Wasserkontrolle).*
2. *Die taxonomische Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft beeinflusst signifikant die Abbauraten von Holzschutzmittel-geschütztem Holz.*
  - i. *Die saprotrophe Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft unterscheidet sich signifikant zwischen den fünf untersuchten Standorten gemessen an der relativen Abundanz der dominanten saprotrophen Gattungen.*
  - ii. *Die relative Abundanz kupfertoleranter Mikroorganismen korreliert positiv mit der Abbaugeschwindigkeit von geschütztem Holz.*
3. *Die phylogenetische Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft unterscheidet sich signifikant zwischen Kupfer-geschütztem Holz und ungeschütztem Holz sowie zwischen der Boden-Holz-Grenzfläche und dem Holzinneren nach der Inkubation im Freiland.*
  - i. *Die Diversität saprotropher Mikroorganismen ist in Kupfer-geschütztem Holz geringer als in ungeschütztem Holz, und höher an der Boden-Holz-Grenzfläche als im Holzinneren.*

- ii. *Das Vorkommen und die relative Abundanz von Mikroorganismen, die als kupfertolerant beschrieben worden sind, sind in Kupfer-geschütztem Holz im Vergleich zu ungeschütztem Holz höher.*

Für diese Studie wurden drei biologische Replikate von fünf unabhängigen Standorten (Nord- und Mitteldeutschland, Nord- und Südfrankreich sowie Portugal) entnommen und anschließend einer bodenkundlichen Untersuchung unterzogen. Dies beinhaltete Untersuchungen der Parameter pH-Wert, Carbonatgehalt, Glühverlust, gesamter organischer Kohlenstoff, gesamter gebundener Stickstoff, Korngrößenverteilung und eine Analyse der vorhandenen Elemente. Zur Klärung der **Hypothese 1 und 2** wurden Labor-Inkubationsstudien mit Bodenproben aus diesen Freilandflächen durchgeführt, um die Abhängigkeit der Diversität von der Holzabbaurate unter standardisierten Bedingungen zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurden Holzprüfkörper mit vier Behandlungen (H<sub>2</sub>O, Cu, TriQAC und CuTriQAC) imprägniert und auf halber Länge in jedem der fünf Böden eingegraben. Für jede Behandlung und Bodenherkunft wurden zu jedem der vier Zeitpunkte (nach 8, 16, 24 und 32 Wochen) vier Holzprüfkörper entnommen (insgesamt 320 Holzprüfkörper), die Biegeelastizität gemessen und der Gewichtsverlust bestimmt, um frühe Befallstadien zu dokumentieren und den Fortschritt des Holzabbaus zu verfolgen. Zusätzlich wurden pro Zeitpunkt und Herkunft des Bodens Bodenproben von der Boden-Holz-Grenzfläche am Holzprüfkörper sowie Referenzbodenproben ohne Kontakt zum Holzprüfkörper entnommen.

Im Hinblick auf die Übertragbarkeit der Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen wurden an zwei Standorten (Nord- und Mitteldeutschland) Untersuchungen im Freiland durchgeführt. Dazu wurden Holzprüfkörper unter gleichen klimatischen Bedingungen, aber mit unterschiedlichen Bodenparametern im Feld platziert, um die **Hypothese 3** zu klären. Die Holzprüfkörper wurden mit drei Behandlungsweisen (H<sub>2</sub>O, Cu und CuTriQAC) imprägniert und in jedem der beiden Böden wurden zu zwei Zeitpunkten (nach 17 und 36 Wochen) vier Holzprüfkörper entnommen (insgesamt 48 Holzprüfkörper). Zusätzlich wurden pro Zeitpunkt und Bodenherkunft Bodenproben von der Boden-Holz-Grenzfläche am Holzprüfkörper sowie Referenzbodenproben ohne Kontakt zum Holzprüfkörper entnommen. Damit Unterschiede in der räumlichen Auflösung der mikrobiellen Gemeinschaft im Holz untersucht werden konnten, wurden die Holzprüfkörper in zwei Tiefen (1 und 7 mm im Holz) beprobt.

Um sicherzustellen, dass die Ergebnisse vergleichbar waren, wurden durchgängig die gleichen molekularbiologischen Techniken verwendet. Zur Bestimmung der taxonomischen Struktur sowohl der pilzlichen als auch der bakteriellen Zusammensetzung des Bodenmikrobioms und zur Untersuchung der relativen Effekte von Standort und Holzbehandlung wurden DNA-Extraktion und Amplikonsequenzierung aller Proben durchgeführt und zudem die mikrobielle Gemeinschaft mittels qPCR quantifiziert.

## 2. Material & Methoden

### 2.1. Labor-Inkubationsstudie - Standorte und Bodenproben

Im Oktober 2012 wurden Bodenproben von fünf Standorten in Europa entnommen, die sich in Klima und Landnutzung unterschieden. Für diese Standorte war bekannt, dass die Standfestigkeit von mit Holzschutzmittel-geschütztem Holz, z.B. Weinbergpfähle, gering war. Drei verschiedene Weinberge in Nordfrankreich (NF), Südfrankreich (SF) und Portugal (PO) sowie eine Apfelplantage in Norddeutschland (NG), die alle in der Vergangenheit mit Kupfer behandelt worden waren, dienten als Standorte. Ein standardisierter Rasen in Mitteldeutschland (CG) wurde als fünfter Standort ausgewählt, wobei dem Boden vor der Aussaat des Rasens (englischer Rasen) Holzspäne beigemischt wurden. Auf dieser Versuchsfläche wurden in der Vergangenheit weder Biozide noch kupferbasierte Behandlungen angewendet.



Abbildung 3 Probenahme zur Charakterisierung der verschiedenen Standortböden. Linkes Bild: Südfrankreich, rechtes Bild: Portugal.

Die obere Streu wurde von jeder Probenahmestelle entfernt. Danach wurde der Boden aus dem A-Horizont an zufällig bestimmten Stellen an jedem Standort gesammelt (Abbildung 3). Anschließend wurde der Boden durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 4 mm aufbereitet. Zunächst wurden einzelne Proben in 50 ml Zentrifugenröhrchen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) überführt, unmittelbar nach der Probenahme mit flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur Lagerung auf Eis gekühlt transportiert. Außerdem wurden an jedem Standort zehn Kilogramm Boden entnommen und bis zur Lagerung gekühlt auf Eis transportiert.

#### 2.1.1. Bodeneigenschaften

Von der Bundesanstalt für Materialforschung und-prüfung wurden für jeden Standort pH-Wert (DIN EN ISO 10390), Carbonatgehalt (DIN EN ISO 10693), Glühverlust (DIN 18128), Korngrößenverteilung (DIN EN ISO 18123) und Elementarzusammensetzung (DIN EN ISO 11885; DIN ISO 11466) analysiert. Darüber hinaus wurde der gesamte organische Kohlenstoff (*total organic carbon* = TOC) und der Anteil an anorganischem Kohlenstoff (*inorganic*

## Material & Methoden

*carbon* = IC) nach DIN EN 1484 bestimmt. Zusätzlich wurde für jeden Standort in Triplikaten der Gesamtstickstoff (*total nitrogen* = TN; DIN EN 12260) ermittelt.

Tabelle 3 Bodenparameter von fünf verschiedenen Standorten.

Parameter	Wert am Standort:				
	Nord- deutschland (NG)	Mittel- deutschland (CG)	Nord- frankreich (NF)	Süd- frankreich (SF)	Portugal (PO)
<b>Landnutzungsart</b>	Apfelplantage	Bearbeitete Rasenfläche	Weinberg	Weinberg	Weinberg
<b>pH-Wert</b>	4,9	6,0	7,0	6,3	4,4
<b>Carbonatgehalt [Gew.-%]</b>	0,2	0,3	0,3	0,2	0,1
<b>Glühverlust [Gew.-%]</b>	12,5	10,8	3,6	2,4	3,4
<b>TOC-Gehalt [mg/l]</b>	104,9	166,9	54,2	20,4	11,7
<b>TN-Gehalt [mg/l]</b>	26,6	13,2	3,9	3,2	2,5
<b>C-zu-N Verhältnis</b>	4,0	14,0	17,4	7,4	5,1
<b>Al [mg/kg]</b>	47.000	56.200	35.750	38.750	47.300
<b>Cu [mg/kg]</b>	60	18	119	51	25
<b>Fe [mg/kg]</b>	35,900	39,750	35,000	32,300	40,450
<b>Mn [mg/kg]</b>	827	1,220	1,040	393	387
<b>Zn [mg/kg]</b>	102	103	61	78	78
<b>Niederschlag (mm) (durchschnittlicher Jahresniederschlag 2012-2014)</b>	710	1,096	829	353	822
<b>Maximale Tagestemperatur (°C) (Mittelwert 2012- 2014)</b>	13,5	8,8	17,2	17,3	18,8
<b>Korngrößenverteilung [Gew.-%]</b>					
<b>Sand</b>	8,8	10,6	9,2	26,1	14,0
<b>Schluff</b>	70,2	51,2	58,0	7,6	45,9
<b>Ton</b>	2,0	1,2	1,2	0,2	1,0

Jeder Standort war durch sehr spezifische mikrobielle Bedingungen des Habitats gekennzeichnet. Norddeutschland und Portugal zeichnen sich durch einen stark sauren pH-Wert aus, Mitteldeutschland und Südfrankreich durch einen schwach sauren pH-Wert und Nordfrankreich durch einen neutralen pH-Wert (Tabelle 3). Anhand der Analyse des Carbonatgehalts sind alle Böden carbonatarm. Ein hoher Glühverlust kann auf leicht verfügbare organische Substanz zurückgeführt werden, was im Einklang mit dem erhöhten Glühverlust von Böden aus Nord- und Mitteldeutschland steht, bei denen die Analyse einen hohen Anteil an Fremdbestandteilen (Mulch) als Ergebnis aufwies. Hohe TOC- und TN-Gehalte wurden in den Böden Nord- und Mitteldeutschlands festgestellt. Die TOC-Gehalte unterschieden sich zwischen den fünf Standorten deutlich. Die Grenzwerte der Schwermetalle in den Böden der Standorte wurden nicht überschritten.

Mit der Charakterisierung der Standortböden wurde eine gute Grundlage für die folgenden Labor-Inkubationsstudien geschaffen. So wurden wichtige Bodenparameter erfasst und ein Überblick über die abiotischen Faktoren gegeben.

### 2.1.2. Schutzmittelbehandlung der Holzprüfkörper – Labor-Inkubationsstudie

Holzprüfkörper (100 mm (longitudinal) × 10 mm × 5 mm) aus Kiefernspiltholz (*Pinus sylvestris* L.) wurden mehrere Tage gedarrt (103 °C), im Exsikkator über Silikagel (VWR International, Darmstadt, Deutschland) abgekühlt, exakt im Darrzustand gewogen und bis zur Imprägnierung über dem Trocknungsmittel verschlossen gelagert.

Tabelle 4 Holzschutzmittelbehandlungen und Dosierung zur Behandlung der Holzprüfkörper. Die Bezeichnung der jeweiligen Holzschutzmittelbehandlungen wurde als Nomenklatur der Holzprüfkörper korrespondierend übernommen.

Holzschutzmittelbehandlung (Bezeichnung) <sup>a</sup>	Aufnahmemenge (kg m <sup>-3</sup> Holz) <sup>b</sup>		
	Kupfer	Triazole	quaternäre Ammoniumverbindungen
Kupfer Triazole quaternäre Ammoniumverbindungen (CuTriQAC)	0,48 (0,0923)	0,0185 (0,0036)	0,24 (0,0462)
Triazole quaternäre Ammoniumverbindungen (TriQAC)		0,0185 (0,0036)	0,24 (0,0462)
Kupfer (Cu)	0,48 (0,0923)		
Wasser (H <sub>2</sub> O)			

<sup>a</sup> Die Cu-Behandlung erfolgte mit dem Holzschutzmittel Korasit CC (Kurt Obermeier GmbH & Co. KG, Bad Berleburg-Raumland, Deutschland), während die CuTriQAC und TriQAC Formulierungen zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie nicht als kommerzielle Holzschutzmittel verfügbar waren.

<sup>b</sup> Der Massenanteil bezogen auf das Gewicht des Holzes ist in Klammern angegeben.

Die Holzprüfkörper wurden im Vorvakuum (30 min, 100 mbar) und Druck (90 min, 9-10 bar) mit Wasser (H<sub>2</sub>O) oder verschiedenen Bioziden imprägniert, die entweder eine Mischung aus Kupfer, Triazolen und quaternären Ammoniumverbindungen (CuTriQAC), eine Mischung aus Triazolen und quaternären Ammoniumverbindungen (TriQAC) oder nur Kupfer (Cu) enthielten (Tabelle 4). Für jeden Boden und für insgesamt vier Bewertungsintervalle wurden jeweils vier Holzprüfkörper mit den Holzschutzmittelbehandlungen sowie mit Wasser imprägniert.

Nach der Trocknung und Klimatisierung bei 20 °C und 65 % rel. Luftfeuchtigkeit wurden die imprägnierten Holzprüfkörper unmittelbar gewogen, um den Masseverlust nach der Entnahme aus der Labor-Inkubationsstudie zu berechnen. Der Ansatz für eine beschleunigte Alterung war ein zweiwöchiges Auswaschen der Holzprüfkörper mit den Testformulierungen (einschließlich der Wasserkontrolle) wie in der DIN EN 84 beschrieben. Die Holzprüfkörper wurden unter Vakuum gesetzt und anschließend für zwei Stunden in demineralisiertes Wasser getaucht, gefolgt von einer Diffusion in demineralisiertem Wasser für 14 Tage (20 °C, 65 % Luftfeuchtigkeit) und hinterher für 14 Tage getrocknet (20 °C, 65 % Luftfeuchtigkeit).

### 2.1.3. Versuchsaufbau und Bodenprobenahme

Die Böden der fünf Standorte wurden auf eine Wasserhaltekapazität von 95 % eingestellt und für jeden Standort acht Kilogramm Boden in je zwei Kunststoffboxen mit Deckel gefüllt. Die Holzprüfkörper mit den Testformulierungen (einschließlich Wasserkontrolle) wurden nach DIN V ENV 807 in die verschiedenen Böden platziert. So wurde der potenzielle Abbau von Holz für jeden Boden und die Wirksamkeit der Testformulierungen gegen die mikrobielle Gemeinschaft unter kontrollierten Laborbedingungen simuliert. In jede Box wurden für jede Behandlung 8 Holzprüfkörper vertikal appliziert (vgl. Abbildung 4a). Jeder Boden wurde als Duplikat angelegt. Damit wurden insgesamt 320 Holzprüfkörper bei einer Temperatur von  $27 \pm 2$  °C und einer relativen Luftfeuchte von  $70 \pm 5$  % bei Dunkelheit inkubiert. Zur Analyse erfolgte die Probenahme zu vier unterschiedlichen Zeitpunkten 8, 16, 24 und 32 Wochen nach Beginn der Inkubation.

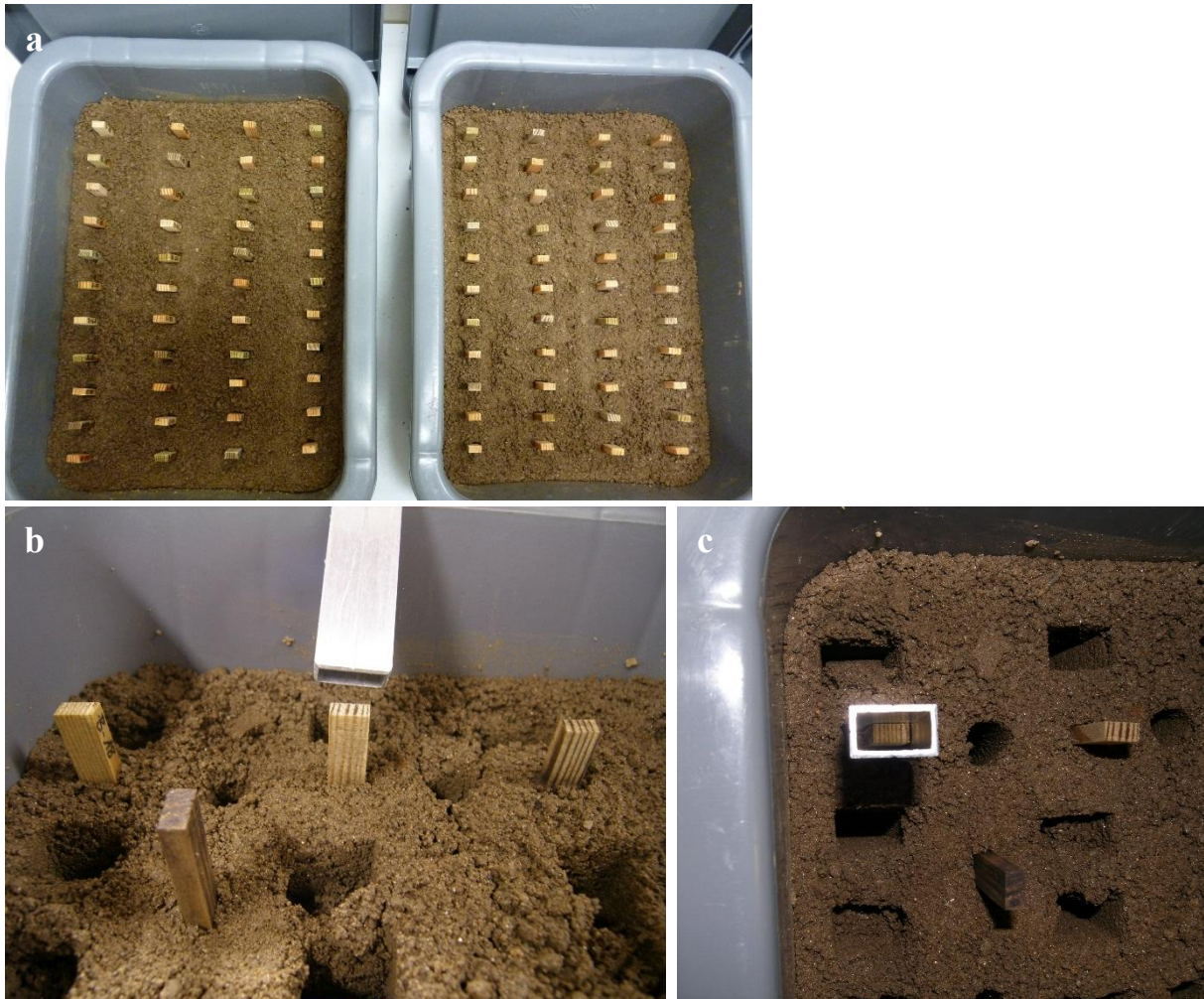


Abbildung 4 Darstellung der Bestückung der Kunststoffboxen mit Boden und Holzprüfkörpern (a) sowie der standardisierten Probenahme des Bodens an der Grenzfläche zwischen Holzprüfkörper und assoziiertem Boden (b + c).

An der Grenzfläche zwischen Holzprüfkörper und assoziiertem Boden wurde eine standardisierte Probenahme des Bodens durchgeführt (Abbildung 4b und Abbildung 4c). Zu diesem Zweck wurde eine Hohlform (Innenmaß  $17 \text{ mm} \times 8 \text{ mm}$ ) über den Holzprüfkörper gesetzt, um eine Bodenprobe aus der unmittelbaren Umgebung jedes Holzprüfkörpers zu

entnehmen. Darüber hinaus wurden in zehn Replikaten pro Bodenstandort und Inkubationszeit Referenzbodenproben ohne Holzkontakt gesammelt. Alle Bodenproben wurden in 2 ml Reaktionsgefäßen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) bis zur Lagerung bei - 20 °C auf Eis gekühlt.

### 2.1.4. Techniken zur Erfassung des Holzabbaus

Der Masseverlust wurde durch Differenzwägung der Gesamtmasse der Holzprüfkörper vor und nach den Labor-Inkubationsstudien bestimmt. Darüber hinaus wurden die eingesetzten Holzprüfkörper durch Biegen auf Biegeelastizität untersucht. Mit diesen materialwissenschaftlichen Techniken konnte der mögliche Verlauf des Holzabbaus verfolgt und dokumentiert werden. Dementsprechend ist der Masseverlust ein Maß für die Wirksamkeit des verwendeten Holzschutzmittels. Je kleiner der Gewichtsverlust, desto effektiver ist der Holzschutz.

Nachdem der anhaftende Boden als Probe von den Holzprüfkörpern entnommen wurde, wurde der Holzprüfkörper trocken gereinigt, das Feuchtgewicht bestimmt und die Holzprüfkörper über Nacht bei Raumtemperatur in demineralisiertes Wasser getaucht, um den Holzfeuchtegehalt oberhalb der Fasersättigung zu gewährleisten. An dieser Stelle hat der Feuchtigkeitsgehalt des Holzprüfkörpers keinen Einfluss auf die Elastizität. Bevor das statistische MOE durch Biegen mittels TIRAtest 2805 (TIRA GmbH, Schalkau, Deutschland) bestimmt werden konnte, wurden die Holzprüfkörper mit einem weichen Zelltuch getrocknet. Auf der Prüfmaschine wurden Biegeversuche zur Bestimmung der Festigkeit von Holzproben durchgeführt. Aus der aufgewendeten Kraft und der daraus resultierenden Durchbiegung der Probe wird das statische MOE als Festigkeitsmaß bestimmt. Um Frischholzproben und biologisch stark abgebaute Proben gleichermaßen mit einem universellen Verfahren prüfen zu können, wurde ein Verfahren gewählt, das auf der Auswertung der Erhöhung der Kraft-Durchbiegungskurve basiert. Der lineare Bereich wird durch das Bestimmen des Maximums des gleitenden Anstieges während der Messung definiert. Nach der MOE-Messung wurden die Holzprüfkörper 18 bis 24 Stunden bei 103 °C +/- 2 °C im Trocknungsofen gedarrt, in einem Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und anschließend gewogen. Zusätzliche Bestimmungen des MOE der Holzprüfkörper wurden vor der Labor-Inkubationsstudie durchgeführt, um den ursprünglichen MOE-Wert zu erfassen. Nach der MOE-Messung wurden die Holzprüfkörper über Nacht in der Klimakammer erneut getrocknet und anschließend in der Kunststoffbox platziert, damit die Labor-Inkubationsstudie beginnen konnte.

## 2.2. Freilandstudie

Unter Freilandbedingungen war zu prüfen, ob die unter kontrollierten Bedingungen im Laborversuch erzielten Ergebnisse noch Gültigkeit besaßen. Da sich vor allem in den Ergebnissen des Masseverlusts und Biegeelastizitätsmoduls herausstellte, dass die kupferhaltigen Holzschutzmittelbehandlungen am wirksamsten gegen den Angriff von Pilzen und Bakterien waren, wurden für den Freilandversuch neue Holzschutzmittelformulierungen zusammengestellt. Der Masseverlust und die Biegeelastizität der Holzproben wurden bereits in den Laborversuchen untersucht. Es kann davon ausgegangen werden, dass vergleichbare

Ergebnisse in den Freilandstudien erzielt werden, sodass diese Daten nicht für das Freiland erhoben wurden. Aus dem Laborversuch wurden Nord- und Mitteldeutschland als Standorte für den Freilandversuch zum Vergleich ausgewählt. Die Auswahl basierte auf der Tatsache, dass Nord- und Mitteldeutschland die aussagekräftigsten Standorte waren, nicht nur im Hinblick auf die Anzahl der erhaltenen Genkopien, sondern auch, weil sie auf eine vielfältige und spannende mikrobielle Gemeinschaft hinwiesen. Die Bodenparameter beider Standorte wurden bereits während der Standortcharakterisierung erfasst. Der Standort in Norddeutschland wurde seit Beginn des 14. Jahrhunderts für den Apfelanbau genutzt, wobei die Plantagengröße im 17. und 19. Jahrhundert erweitert wurde (Kaiser & Schürmann, 2009). Nach dem Ersten Weltkrieg wurden in Norddeutschland kupferhaltige Pflanzendünger und kupferhaltige Holzschutzmittel ausgebracht (Kaiser & Schürmann, 2009), während der Standort in Mitteldeutschland ohne vorherige Schutzmaßnahmen war. Hierbei handelt es sich um einen standardisierten Rasen, bei dem vor der Aussaat des Rasens Holzspäne in den Boden eingearbeitet wurden (englischer Rasen). Im Hinblick auf den Standort in Norddeutschland hat die Untersuchung des Masseverlusts zudem erwiesen, dass dort im Vergleich zu Mitteldeutschland eine geringere Fähigkeit für den Holzabbau vorhanden war.

### 2.2.1. Schutzmittelbehandlung der Holzprüfkörper - Freilandstudie

Kiefernspiltholzproben (*Pinus sylvestris* L.) wurden aus Kiefern hergestellt, die in der Nähe von Warstein (Nordrhein-Westfalen, Deutschland) gefällt wurden. Kiefernspiltholzproben (Größe: 360 mm × 20 mm × 20 mm (Länge × Breite × Höhe)) wurden mehrere Tage lang in der Trockenkammer (103 °C) getrocknet, über einem Trockenmittel (Silicagel, VWR International, Darmstadt, Deutschland) abgekühlt, im kammergetrockneten Zustand genau gewogen und dann vor der Behandlung in einem Exsikkator gelagert.

Tabelle 5 Holzschutzmittelbehandlungen und Dosierung zur Behandlung der Holzprüfkörper. Die Bezeichnung der jeweiligen Holzschutzmittelbehandlungen wurde als Nomenklatur der Holzprüfkörper korrespondierend übernommen.

<b>Holzschutzmittelbehandlung (Bezeichnung)</b>	<b>Aufnahmemenge (kg m<sup>-3</sup> Holz)<sup>a</sup></b>		
	<b>Kupfer</b>	<b>Triazole</b>	<b>quaternäre Ammoniumverbindungen</b>
Kupfer Triazole quaternäre Ammoniumverbindungen (CuTriQAC) <sup>b</sup>	1,5 (0,288 %)	0,054 (0,011 %)	1,34 (0,258 %)
Kupfer (Cu) <sup>c</sup>	1,5 (0,288 %)		
Wasser (H <sub>2</sub> O)			

<sup>a</sup> Der Massenanteil bezogen auf das Gewicht des Holzes ist in Klammern angegeben.

<sup>b</sup> Die CuTriQAC-Formulierungen waren zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie nicht als kommerzielle Holzschutzmittel erhältlich. Preventol A20 einschließlich Tebuconazol und Triadimefon sowie Benzalkoniumchlorid wurden von der Lanxess AG (Köln, Deutschland) bezogen, während Kupfer (II)-sulfat von Sigma Aldrich (Taufkirchen, Deutschland) bezogen wurde.

<sup>c</sup> Kupfer (II)-sulfat wurde von Sigma Aldrich bezogen.

Jede Probe wurde entweder mit Wasser (H<sub>2</sub>O) als Referenz, CuTriQAC- oder Cu-Behandlung imprägniert (Tabelle 5). Um die Wirkung von Kupfer zu untersuchen und zu vergleichen,

wurden die Wirkstoffe jeweils in der gleichen Konzentration mit unterschiedlichen Formulierungen eingesetzt. Zudem wurden die Holzprüfkörper mit einer geringeren Kupferkonzentration (1,5 kg Kupfer pro 1 m<sup>3</sup> Holz und entsprechenden organischen Wirkstoffen) wie in der Praxis üblich behandelt, da ein schneller mikrobieller Befall erwünscht war. Für den Imprägnierprozess wurde ein Vorvakuum von 100 mbar (30 min) und ein Druck von 9-10 bar (90 min) verwendet. Das Trocknen, Sterilisieren und Klimatisieren der Holzproben wurden zuvor beschrieben. Die behandelten Holzproben wurden in jeden Standort eingesetzt. Insgesamt wurden 48 Holzprüfkörper (zwei Standorte [NG, CG] × drei Behandlungen [CuTriQAC, Cu, H<sub>2</sub>O, Tabelle 5] × zwei Inkubationszeiten [nach 17 und 36 Wochen Inkubation] × vier Wiederholungsmessungen) 180 mm tief im Boden vergraben. Im Juli 2014 wurden 32 Holzprüfkörper pro Standort eingebaut und insgesamt 16 Referenzbodenproben (zwei Bodenstandorte × zwei Inkubationszeiten × vier Wiederholungsmessungen) an den Stellen genommen, an denen die Holzprüfkörper eingebaut wurden.



Abbildung 5 Versuchsfelder der Freilandstudie. (a) Holzprüfkörper zwischen den Obstbaumreihen auf der Obstplantage in Norddeutschland; (b) standardisiertes Feld für die Holzprüfkörper in Mitteldeutschland.

Da es sich um eine Obstplantage in Norddeutschland handelte, wurden die Holzprüfkörper zwischen den langen Obstbaumreihen platziert (Abbildung 5a). Auf dem standardisierten Feld in Mitteldeutschland wurden die Holzprüfkörper in einem Quadrat an der vorgesehenen Stelle angeordnet (Abbildung 5b).

### 2.2.2. Probenahme

Nach 17 (November 2014) bzw. 36 Wochen (März 2015) Inkubation wurde Boden ohne Holzkontakt (als Referenz) und Boden an den jeweiligen Holzprüfkörpern (Boden-Holz-Grenzfläche) entnommen und in konischen Zentrifugenröhrchen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) überführt. 300-900 mg Boden war an der Boden-Holz-Grenzfläche angelagert, und die Bodenproben wurden durch Mischen mit einem Löffel am

Feldstandort homogenisiert. Jede Bodenprobe und jeder Holzprüfkörper wurde anschließend am Feldstandort mit flüssigem Stickstoff schockgefroren. Sowohl die Bodenproben als auch die Holzprüfkörper wurden unter gekühlten Bedingungen in das Labor transportiert. Jeder Holzprüfkörper wurde mit einem Hobel (Proxxon S.A., Wecker, Luxemburg) unter gekühlten Bedingungen längs aufgeschnitten, und es wurden 1 mm und 7 mm tiefe Fraktionen im Holz beprobt. Die resultierenden Sägespäne- und Bodenproben wurden für die anschließende Nukleinsäureextraktion bei -20 °C gelagert.

### 2.3. Extraktion von Nukleinsäuren – Standortböden

Drei Nukleinsäure-Extraktionsmethoden und -Verfahren zur Gewinnung von DNA wurden auf die Bodenproben aus den fünf Standorten angewendet. Die Bodenproben wurden mit einer bekannten Konzentration von Bakterien (hier: *Escherichia coli* K12 (DSM 423)) angereichert, um die Extraktionseffizienz der folgenden drei Extraktionsverfahren zu überprüfen. Diese Bodenproben wurden dann nach dem jeweiligen Extraktionsverfahren behandelt. Ihre Extraktionseffizienz wurde in Bezug auf hohe Reinheit, hohe DNA-Ausbeute und hohes Molekulargewicht durch Gelelektrophorese untersucht. Die drei Extraktionsverfahren werden im Folgenden beschrieben.

Die Phenol-Chloroform-Extraktion ist eine häufig verwendete Methode zur Gewinnung reiner DNA (Noll *et al.*, 2005). Für den Zellaufschluss wurden 250 mg der Bodenprobe in ein 2 ml Schraubdeckelröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) mit ca. 0,6 g Zirkoniumperlen ( $\varnothing$  0,7 mm; Roth, Karlsruhe, Deutschland) und 700  $\mu$ l TPM-Puffer (4 °C, siehe Tabelle 6) gegeben und bei 5,0 m/s für 40 s in einem Homogenisator (FastPrep®-24, MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA) lysiert. Nach Zentrifugation (21.913 x g, 5 min, 4 °C; Heraeus Multifuge X1R, Thermo Scientific) und Abnahme des Überstandes (überführt in 500  $\mu$ l 4 °C kaltes Phenol) erfolgte eine zweite Lyse. Dafür wurde das verbleibende Bodenpellet mit 200  $\mu$ l TPM-Puffer, 100  $\mu$ l NaPO<sub>4</sub>-Puffer (siehe Tabelle 6), 50  $\mu$ l SDS-Lösung (20 %) und 250  $\mu$ l Aqua-Phenol (65 °C) vermengt, erneut bei 5,0 m/s für 40 s homogenisiert und anschließend abzentrifugiert (21.913 x g, 5 min, 4 °C).

Tabelle 6 Zusammensetzung von Puffern, die bei der Phenol-Chloroform-Extraktion zur Gewinnung von DNA verwendet wurden.

Bezeichnung	Zusammensetzung
TPM-Puffer (pH 7,0)	50 mM Tris-HCl (pH 7,0), 20 mM MgCl <sub>2</sub> , 1,7 % (w/v) Polyvinylpyrrolidon K25
NaPO <sub>4</sub> -Puffer (pH 5,6)	200 mM NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 200 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>

In der Folge wurden die beiden Überstände kombiniert, zuerst 10 min lang bei 65 °C und dann 5 min lang bei -80 °C inkubiert und anschließend zentrifugiert (21.913 x g, 5 min, 4 °C). Eine klare Trennung der organischen von der wässrigen Phase wurde durch Zentrifugation erreicht, was es einfacher machte, die obere wässrige Phase abzunehmen und auf Eis aufzubewahren. Die wässrige Nukleinsäurelösung wurde mit dem gleichen Volumen Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol (25:24:1, v/v) versetzt, gemischt und zur erneuten Phasentrennung zentrifugiert (21.913 x g, 5 min, 4 °C). Wiederum war eine klare Trennung der Phasen zu erkennen. Eine denaturierte weiße Ansammlung von Proteinen und mikrobiellen Zellfragmenten war an der

Grenzlinie zwischen den Phasen zu sehen. 500 µl der oberen Phase wurde dann intensiv mit 1 ml Polyethylenglykol (30 %, w/v) und 2 µl Glykogen (35 mg/ml) vermischt und bei 21.913 x g und 4 °C für mindestens 30 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und das Nukleinsäurepellet an der Wand des Reaktionsgefäßes zweimal mit 500 µl eiskaltem 70 %igem Ethanol (absolut) gewaschen (21.913 x g, 10 min, 4 °C). Nach sorgfältiger Entfernung des Ethanols wurde das Nukleinsäurepellet unter sterilen Bedingungen getrocknet, anschließend in 50 µl RNase-freiem H<sub>2</sub>O (Diethylpyrocarbonat behandelt (DEPC-behandelt)) aufgenommen und bei -20 °C bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Die Nukleinsäureextraktion mit dem PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolation Kit und dem NukleoSpin<sup>®</sup> Soil-Genomic DNA from soil wurde nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt.

Auf der Grundlage der Menge der isolierten DNA, deren Molekulargewicht und des Anteils an co-extrahierten hemmenden Substanzen wurde entschieden, welches Verfahren und welche Methode zur Isolierung der DNA für welchen Boden verwendet werden sollte. Für Boden aus Südfrankreich wurde das PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolation Kit eingesetzt. Das NukleoSpin<sup>®</sup> Soil Kit wurde für die DNA-Isolierung von Boden aus Nordfrankreich und Norddeutschland verwendet. Die Phenol-Chloroform-Extraktion war für den Boden aus Mitteldeutschland geeignet. Da es schwierig war, DNA aus Bodenproben aus Portugal zu isolieren, wurden zwei Methoden verwendet und zusammengeführt (PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolation Kit und Phenol-Chloroform-Extraktion). Durch die Zusammenführung der DNA-Extrakte aus den beiden unterschiedlichen Extraktionsmethoden konnte die erfolgreiche Amplifikation der isolierten DNA mittels PCR für die Bodenproben aus Portugal das bestmögliche Ergebnis erzielen (Verhältnis 1:2, Phenol-Chloroform-Extrakt: PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolat).

### 2.4. Extraktion von Nukleinsäuren – Labor-Inkubations- und Freilandstudie

Hinsichtlich der Menge der isolierten DNA, ihres Molekulargewichts und des Anteils an co-extrahierten inhibitorischen Substanzen wurde aus den unter 2.3 getesteten Kits das PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolation Kit von MO BIO (MO BIO Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) für die Bearbeitung von Bodenproben ausgewählt. Die DNA der gesamten mikrobiellen Gemeinschaft wurde aus 250 mg Boden pro Bodenprobe isoliert, entweder aus der Grenzfläche zwischen Holzprüfkörper und assoziiertem Boden oder aus Referenzbodenproben ohne Holzkontakt, wie vom Hersteller angegeben. Die gewonnenen DNA-Extrakte sollten frei von Verunreinigungen sein und keine störenden Proteine und organischen Verbindungen wie Huminsäuren oder Huminstoffe aus Bodenproben enthalten, die die nachfolgenden molekularbiologischen Analysen (qPCR, NGS) stören könnten. Huminsäuren oder Huminstoffe sind essenzielle Bodenbestandteile, die DNA-modifizierende Enzyme während der PCR-Amplifikation hemmen (Wintzingerode *et al.*, 1997).

Somit konnte die DNA aus allen Standorten (NG, CG, NF, SF, PO) isoliert werden, allerdings mit unterschiedlichen DNA-Ausbeuten. Um jedoch Verzerrungen der Ergebnisse durch unterschiedliche Extraktionsmethoden zu vermeiden und die Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurde für alle Böden die gleiche Extraktionsmethode gewählt. So können unterschiedliche Ausbeuten auf eine variierende Menge jedes abundanten Mikroorganismus zurückgeführt werden. Die DNA-Extrakte wurden bei -20 °C bis zur qPCR und NGS gelagert.

Aus den verschiedenen Holzproben wurde genomische DNA mit dem NucleoSpin® Plant II (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) Kit isoliert. Zur Vorbereitung der DNA-Extraktion wurden die Sägespäne aus den beiden Holz tiefen mit flüssigem Stickstoff, Handmörser und Pistill homogenisiert. Jeweils 20 mg des Lyophilisats wurden mit 0,6 g Zirkoniaperlen ( $\varnothing$  0,7 mm; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland), 400  $\mu$ l PL1 Puffer (aus NucleoSpin® Plant II) und 300  $\mu$ l nukleasefreiem Wasser (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) in 2 ml Mikro-Schraub röhren mit Schraubverschluss (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) kombiniert. Die Holzprobe wurde anschließend mit dem FastPrep®-24 (MP Biomedicals, Santa Ana, California, USA) bei 4,0 m/s für 40 s aufgeschlossen. Nach der Lyse der Holzprobe wurde der Vorgang gemäß Herstellerangaben durch Zugabe von 10  $\mu$ l der RNase A Lösung und Inkubation der Suspension bei 65 °C für 10 min fortgesetzt. Schließlich wurden die DNA-Extrakte bis zur weiteren Verarbeitung bei 20 °C gelagert.

### 2.5. Next Generation Sequenzierung

Die taxonomische Zusammensetzung der pilzlichen und bakteriellen Boden- und Holzgemeinschaften wurde mit NGS analysiert. Das pilzliche ITS-Gen (engl. *internal transcribed spacer*) sowie das bakterienspezifische 16S rRNA-Gen und damit die phylogenetische Vielfalt der Mikroorganismen konnten untersucht werden.

#### 2.5.1. NGS der Standortböden mit Roche/454 GS-FLX+ Titanium

Sequenzdaten wurden aus Bodenproben zur Standortcharakterisierung erfasst. Die abundanten Mikroorganismen wurden durch Amplikonsequenzierung der pilzlichen ITS-Sequenz und des bakteriellen 16S rRNA-Gens bestimmt, um die Gattung zu identifizieren. Auf diese Weise konnte die Struktur (vorhanden / wie oft vorhanden) und Zusammensetzung (welche taxonomischen Gruppen) der Pilze sowie die bakterielle Diversität für den jeweiligen Standort aufgelöst und verglichen werden. Zu diesem Zweck wurden gemischte DNA-Extrakte hergestellt, indem die erzeugten DNA-Extrakte in Bezug auf den Standort zu einer Probe vereinigt wurden. Je nach DNA-Ausbeute der Extrakte wurden zwischen 20 und 120 ng (jeweils 2  $\mu$ l) aus 14 Bodenextrakten aus Norddeutschland entnommen und zu einer Probe kombiniert, 15 Bodenextrakte aus Mitteldeutschland, 13 Bodenextrakte aus Nordfrankreich und 15 Bodenextrakte aus Südfrankreich, 28 Bodenextrakte aus Portugal wurden zu einer Probe im Verhältnis 1:2 (Phenol-Chloroform-Extrakt zu PowerSoil® DNA Isolat) kombiniert. Insgesamt fünf gemischte DNA-Extrakte wurden zur NGS mittels Roche/454 GS-FLX+ Titanium eingeschickt, das von einem externen Unternehmen (LGC Genomics GmbH, Berlin) durchgeführt wurde.

## Material & Methoden

Tabelle 7 Übersicht der verwendeten Oligonukleotide für die NGS sowie die qPCR. IUPAC Nukleotid Code: A = Adenin, C = Cytosin, G = Guanin, T = Thymin, R = A oder G, M = A oder C, N = jede beliebige Base, W = A oder T, H = A oder C oder T, V = A oder C oder G, K = G oder T.

Zielgen	Bezeichnung	Sequenz 5' → 3'	Quelle
pilzliches ITS-Gen	ITS1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	Gardes & Bruns, 1993
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White <i>et al.</i> , 1990; Toju <i>et al.</i> , 2012
bakterielles 16S rRNA- Gen	fITS7	GTGARTCATCGAATCTTTG	Ihrmark <i>et al.</i> , 2012
	GM3	AGAGTTTGATCMTGGC	Muyzer <i>et al.</i> , 1993; Klindworth <i>et al.</i> , 2013
	926R	CCGTCAATTCMTTTGAGTTT	Muyzer <i>et al.</i> , 2004; Klindworth <i>et al.</i> , 2013
	Eub341F	CCTACGGGAGGCAGCAG	Muyzer <i>et al.</i> , 1993; Zaprasis <i>et al.</i> , 2010
	Eub534R	ATTACCGCGGCTGCTGG	Muyzer <i>et al.</i> , 1993; Zaprasis <i>et al.</i> , 2010
	341F	TCCTACGGGNGGCWGCAG	Klindworth <i>et al.</i> , 2013; Stewardson <i>et al.</i> , 2015
	785R	TGACTACHVGGGTATCTAAKCC	Klindworth <i>et al.</i> , 2013; Stewardson <i>et al.</i> , 2015

Folglich wurde das Oligonukleotid-Primer Paar ITS1F und ITS4 (Tabelle 7) für die Amplifikation des pilzlichen ITS-Gens verwendet, während das Oligonukleotid-Primer Paar GM3 und 926R (Tabelle 7) für die bakterielle 16S rRNA-Gen Amplifikation verwendet wurde. Zu den Aufgaben von LGC Genomics gehörten die Qualitätskontrolle der eingesandten DNA-Extrakte, die PCR einschließlich Insertion der Roche/454 Tag-Sequenzen, die Probenvorbereitung und Qualitätskontrolle, die DNA-Sequenzierung mit Roche/454 GS-FLX+ Titanium (bidirektional) (Roche Diagnostics Corporation, Branford, Connecticut, USA) und die Lieferung von Amplikonanalysen. Alle Analyseschritte wurden mit QIIME Virtual Box Version 1.7.0 mit verschiedenen Skripten durchgeführt, wie in der Übersicht des QIIME-Handbuches erläutert (<http://qiime.org/tutorials/tutorial.html>). Die Analyse der ITS-Daten von Pilzen wurde mit Hilfe des QIIME-Analyse-Guides durchgeführt (<http://nbviewer.ipython.org/urls/raw.github.com/qiime/qiime/master/examples/ipynb/Fungal-ITS-analysis.ipynb>). Die Version 12\_10 der Greengenes Datenbank wurde von der QIIME-Ressourcenseite verwendet: [http://qiime.org/home\\_static/dataFiles.html](http://qiime.org/home_static/dataFiles.html) (McDonald *et al.*, 2012; Werner *et al.*, 2012).

Zunächst wurden die Sequenzen demultiplext und qualitätsgefiltert, wobei strenge Parameter für Barcode-Länge, Fehlertoleranz und Qualitätsindizes angewandt wurden. Die Auswahl der operativen taxonomischen Einheiten (*operational taxonomic units*, OTUs) erfolgte für 16S rRNA-Sequenzen mittels geschlossener Referenzmethode und für ITS-Sequenzen mittels offener Referenzmethode, jeweils mit einem Ähnlichkeitsschwellenwert von 97% unter Verwendung des UCLUST-Algorithmus (v1.2.22q, (Edgar, 2010). Für die 16S-Analyse wurden zusätzliche Schritte durchgeführt, einschließlich eines Mehrfachalignments der repräsentativen Sequenzen mit PyNast (Caporaso *et al.*, 2010a), Chimärendetektion und -entfernung mittels ChimeraSlayer-Algorithmus (Haas *et al.*, 2011), sowie taxonomische Zuordnung unter Verwendung der Greengenes-Datenbank und RDP Classifier 2.2 (Wang *et al.*, 2007) mit einem Mindestvertrauenswert von 0,8. Nach der Filterung des Alignments zur

Entfernung von Lücken und hochvariablen Positionen wurden die Gemeinschaften nach taxonomischer Zusammensetzung zusammengefasst. Abschließend erfolgte die Berechnung der Alpha-Diversität mittels Rarefaction-Analyse mit verschiedenen Sequenziefen.

### 2.5.2. NGS von Boden- und Holzproben aus Labor-Inkubations- und Freilandstudien mittels Illumina MiSeq V3

Für die Sequenzierung der Bodenproben aus den Labor-Inkubationsstudien wurden die vier biologischen Replikate pro Holzschutzmittelbehandlung (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC und Cu), Zeit (nach 8, 16, 24 und 32 Wochen Inkubation) und Standort (NG, CG, NF, SF und PO) der extrahierten Bodenproben zu einer Probe zusammengefasst. Zusätzlich wurden zehn Referenzbodenproben (pro Zeit und Standort) zu vier Proben kombiniert. Insgesamt 125 gemischte DNA-Extrakte wurden an LGC Genomics zur Amplikonsequenzierung geschickt. Die extrahierten Boden- und Holzproben aus den Freilandstudien wurden ebenfalls zu einer Probe vereinigt, indem ihre vier biologischen Replikate pro Behandlung (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC und Cu), Zeit (nach 17 und 36 Wochen Inkubation) und Standort (NG und CG) zusammengefasst wurden. Zusätzlich wurden 96 Referenzbodenproben (pro Zeit und Standort) zu sechs Proben zusammengefasst. Insgesamt 54 gemischte DNA-Extrakte wurden an LGC Genomics zur Amplikonsequenzierung geschickt.

Zielsequenzen für die jeweilige Diversität und Sequenzabundanz der eingeschickten Proben wurden durch das pilzliche ITS-Gen und das bakterielle 16S rRNA-Gen charakterisiert. Folglich wurde das Oligonukleotid-Primer Paar fITS7 und ITS4 (Tabelle 7) für die Amplifikation der pilzlichen ITS Regionsequenz verwendet, während das Oligonukleotid-Primer Paar 341F-785R (Tabelle 7) für die bakterielle 16S rRNA-Gen Amplifikation verwendet wurde.

Die eingeschickten Proben wurden zunächst von einem externen Unternehmen (LGC Genomics GmbH, Berlin, Deutschland) amplifiziert und anschließend mit der Illumina-Sequenzierertechnologie (Illumina MiSeq V3, San Diego, CA, USA) sequenziert. Die Amplifikation wurde von der LGC Genomics GmbH inklusive *tagging* und Adapter-Ligation durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden spezielle Adapter an den Enden der zu sequenzierenden DNA-Fragmente ligiert, um eine NGS Bibliothek aufzubauen (Liu *et al.*, 2012b). Für die Clustergenerierung wurde die Bibliothek auf eine Durchflusszelle geladen, in der die DNA-Fragmente mit der Oberfläche der Durchflusszelle hybridisieren. Jedes gebundene DNA-Fragment wird durch Brückenamplifikation vervielfacht, was zu einzelnen Clustern mit vervielfältigten klonalen DNA-Fragmenten führt. Nach der Clustergenerierung wurde die 300-bp *paired-end*-Sequenzierung mit dem Illumina MiSeq V3 System der LGC Genomics GmbH vorgenommen.

Die bioinformatische Analyse der mikrobiellen Gemeinschaften umfasste eine umfangreiche Datenvorverarbeitung und anschließende getrennte Analysen für prokaryotische 16S rRNA-Gen- und pilzliche ITS-Gen-Sequenzen. Zunächst wurden die Rohdaten demultiplext (bcl2fastq Conversion Software 1.8.4, Illumina, San Diego, CA, USA), sortiert und qualitätsgefiltert, wobei strenge Parameter für Barcode-Erkennung, Adapterentfernung und Oligonukleotidnachweis angewandt wurden. Für das Demultiplexing ermöglichte die Software eine Fehlanpassung (*mismatch*) von 1 bis maximal 2 Basenpaaren im Barcode, sofern der

Abstand zwischen allen Barcodes dies zuließ. Bei der Sortierung der *reads* mit Inline-Barcodes wurde ebenfalls eine Fehlanpassung von höchstens 1 Basenpaar toleriert. Barcodesequenzen wurden nach der Sortierung von den *reads* entfernt, während *reads* mit fehlenden oder einseitigen Barcodes sowie entgegengesetzten Barcodepaaren verworfen wurden.

Die Adaptersequenzen wurden von allen *reads* entfernt, wobei *reads* mit einer Endlänge von weniger als 100 Basen nach dem Trimmen ausgeschlossen wurden, um die Datenqualität zu sichern. Für den Nachweis und das Abschneiden von Oligonukleotiden wurden bis zu drei Fehlanpassungen pro Oligonukleotid erlaubt. Es musste mindestens jeweils ein Oligonukleotid-*forward-reverse*- oder *reverse-forward*-Paar in den Sequenzfragmenten vorhanden sein. Erkennt die Pipeline Oligonukleotiddimere, wurden die äußeren Kopien dieser Oligonukleotide entfernt. Anschließend erfolgte eine Drehung der Sequenzfragmente in *forward-reverse* Orientierung, nachdem die Oligonukleotidsequenzen entfernt worden waren.

Die vorverarbeiteten Sequenzen wurden dann mittels BBMerge 35.43 kombiniert. Für die 16S rRNA-Gen-Analyse erfolgte die OTU-Auswahl mit Mothur 1.35.1 (Schloss *et al.*, 2009), einschließlich Qualitätsfilterung. Sequenzen wurden entfernt, wenn sie mehrdeutige Basen mit homopolymeren Abschnitten von mehr als 8 Basen oder einen durchschnittlichen Phred-Qualitätsscore von unter 35 enthielten. Es wurde ein Alignment gegen die 16S Mothur-Silva SEED r119 -Referenzdatenbank durchgeführt. Kurze Alignments wurden nach verkürzten oder unspezifischen PCR-Produkten gefiltert. Es wurde ein Sequenz-Subsampling auf 40.000 Sequenzen pro Probe sowie eine Sequenzierungsfehlerreduktion durch Preclustering in Mothur durchgeführt. Chimären wurden mit dem UCHIME-Algorithmus (Edgar, 2010; Edgar *et al.*, 2011) entfernt. Die taxonomische Klassifizierung der auf dem 16S rRNA-Gen basierenden Sequenzen anhand der Silva-Referenzklassifikation (Quast *et al.*, 2013) und die Entfernung von Sequenzen aus anderen taxonomischen Königreichen erfolgte auf der Grundlage eines Identitätsniveaus von 97 %. Somit wurden die OTUs auf 97% Identitätsebene gruppiert und mittels NCBI BLAST+ 2.2.29 (Altschul *et al.*, 1990) annotiert. Die ITS Gen-Analyse folgte einem ähnlichen Arbeitsablauf, verwendete jedoch CD-HIT-EST (Fu *et al.*, 2012) für die Gruppierung und die UNITE-Datenbank (Version 6) für die taxonomische Zuordnung auf der Grundlage einer 97%igen Identität. Für beide Datensätze wurde eine Diversitätsanalyse mit QIIME 1.9.0 (Caporaso *et al.*, 2010b) durchgeführt, einschließlich der Erstellung von OTU-Tabellen und der Berechnung der Alpha-Diversität.

Insgesamt wurden  $0,64 \times 10^6$  Sequenzen des pilzlichen ITS-Gens und  $2,85 \times 10^6$  Sequenzen des 16S rRNA-Gens aus den Labor-Inkubationsstudien identifiziert. Im Gegensatz dazu wurden aus den Freilandstudien insgesamt  $1,05 \times 10^6$  Sequenzen des pilzlichen ITS-Gens und  $1,03 \times 10^6$  Sequenzen des 16S rRNA-Gens identifiziert. Aus den Datensätzen beider Studien wurden daraufhin Phyla und Familien ausgewählt, die jeweils mehr als 2 % der OTUs pro DNA-Extrakt repräsentierten, an einem Standort mindestens dreimal vorhanden waren und von denen mindestens die vorherige taxonomische Ebene bekannt sein musste. Dies entspricht dem Reich für das Phylum und der Ordnung für die Familie. Die übrigen Phyla und Familien waren weniger stark vertreten (u.a. < 2 %). Daraus resultierten vier Pilz- und 14 Bakterien-Phyla sowie 35 Pilz- und 39 Bakterien-Familien für die Labor-Inkubationsstudien und vier Pilz- und 10 Bakterien-Phyla sowie 25 Pilz- und 29 Bakterien-Familien für die Freilandstudien. Die Mittelwerte aller Standorte wurden berechnet und grafisch dargestellt, indem die relative Abundanz aller Behandlungen und Inkubationszeiten zu einem Standort gemittelt wurde.

Darüber hinaus wurden OTUs abgeleitet, die potenziell mit dem Holzabbau assoziiert sind. So wurden ausgewählte Pilz- und Bakterientaxa hervorgehoben, die sich während der Inkubationszeit in ihrer relativen Abundanz signifikant verändert haben (Labor-Inkubationsstudien: Tabelle B 1 bis Tabelle B 10 im Anhang; Freilandstudien: Tabelle C 1 bis Tabelle C 4 im Anhang).

### 2.6. Quantifizierung der pilzlichen und bakteriellen Genkopien durch quantitative Polymerase-Kettenreaktion

Mit dem Oligonukleotid-Primer Paar fITS7 und ITS4 (Tabelle 7) wurden die Pilz-basierten Genkopien der ITS DNA Region quantifiziert (Schoch et al., 2012). Die Pilz ITS qPCR wurde in 20  $\mu$ l Reaktionsgemischen durchgeführt, mit 1  $\mu$ l DNA-Extrakt (in einer 1:10 Verdünnung), 1,5  $\mu$ M des *forward*-Oligonukleotid-Primers, 0,3  $\mu$ M des *reverse*-Oligonukleotid-Primers, 1  $\times$  TaqMaster PCR enhancer (5-Prime, Hamburg, Germany), 1  $\times$  iTaq™ universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, München, Germany) und nukleasefreiem Wasser (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany) (Tabelle 8). Für den CFX96™ *Thermocycler* CFX96™ Real-Time System (Bio-Rad) wurden folgende Reaktionsbedingungen bestimmt: initiale 2-minütige Denaturierung bei 96 °C, gefolgt von 50 Zyklen mit 15 s Denaturierung bei 96 °C, Annealing bei 53,4 °C für 30 s und Elongation bei 72 °C für 60 s. Der finale Elongationsschritt wurde bei 72 °C für 6 min durchgeführt.

Außerdem wurde eine qPCR durchgeführt, um die gesamte Bakterienpopulation mit der qPCR-Methode zu quantifizieren, in Anlehnung an Zaprasis *et al.* (2010). Diese Methode wurde für alle extrahierten Bodenproben mit dem Oligonukleotid-Primer Paar Eub341F und Eub534R durchgeführt (Tabelle 7). Die 16S rRNA Gen qPCR wurde in 25  $\mu$ l Reaktionsgemischen durchgeführt, bestehend aus 1  $\mu$ l DNA-Extrakt (in einer 1:10 Verdünnung), 0,3  $\mu$ M Oligonukleotid-Primer, 1  $\times$  TaqMaster PCR enhancer (5-Prime), 1  $\times$  iTaq™ universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad) und nukleasefreiem Wasser (Carl Roth GmbH) (Tabelle 8). Für den CFX96™ *Thermocycler* (Bio-Rad) wurden folgende Reaktionsbedingungen definiert: initiale 8-minütige Denaturierung bei 95 °C, gefolgt von 45 Zyklen mit 40 s Denaturierung bei 95 °C, Annealing bei 55 °C für 30 s und Elongation bei 72 °C für 15 s. Der finale Elongationsschritt wurde bei 72 °C für 5 min durchgeführt.

Tabelle 8 Zusammensetzung des Master-Mix zur Quantifizierung der pilzlichen und bakteriellen Genkopien mittels qPCR.

Master-Mix (in $\mu$ l)	Endkonzentration (20 $\mu$ l)
iTaq™ universal SYBR® Green supermix (2x)	1 x
Forward Oligonukleotid Primer	0,3 $\mu$ M/ $\mu$ l (16S) bzw. 1,5 $\mu$ M/ $\mu$ l (ITS)
Reverse Oligonukleotid Primer	0,3 $\mu$ M/ $\mu$ l
5x TaqMaster PCR enhancer	1 x
Nukleasefreies Wasser	ad
DNA-Extrakt	1 $\mu$ l

Als Standard wurden bekannte Konzentrationen von *Aspergillus terreus* (DSM 1958) und *Escherichia coli* K12 (DSM 423) verwendet, die mit dem PowerSoil™ DNA isolation Kit von MO BIO extrahiert wurden. Die Anzahl der pilzlichen und bakteriellen Genkopien wurde durch

Vergleich der Ct-Werte mit der Standardkurve der seriell verdünnten (10-fache Verdünnungen in Triplikaten) genomischen DNA (gDNA) berechnet. Die gDNA-Konzentrationen pro qPCR von *A. terreus* und *E. coli* Standard lagen im Bereich von  $5 \times 10^{11}$  bis  $5 \times 10^3$  bzw.  $5 \times 10^{12}$  bis  $5 \times 10^3$  Genkopien. Die Kopiennummern der ITS-Gen-Region und des 16S rRNA-Gens auf den Genomen von *A. terreus* und *E. coli* waren eins bzw. sieben, wie sie in NCBI-Nukleotidsequenzdatenbanken gefunden wurden. Alle Reaktionen wurden in Triplikaten in 96-well-Platten in einem *Thermocycler* durchgeführt. Als Negativkontrollen dienten nukleasefreie Reaktionsgemische ohne DNA-Extrakt. Mehrere Verdünnungen wurden gleichzeitig verwendet, um den Einfluss von Inhibitoren in der qPCR-Studie zu überprüfen. Der *Thermocycler* berechnete automatisch den Ct-Wert und die Effizienz (*E*). Die DNA-Extrakte wurden in einer 1:10 Verdünnung verwendet, basierend auf der Berechnung des Ct-Wertes und der *E* sowie einer ausreichenden DNA-Konzentration und dem minimalen Einfluss von PCR-Inhibitoren.

### 2.7. Statistische Auswertung

Folgende statistische Methoden wurden verwendet, um signifikante Unterschiede im Masseverlust, MOE und der Anzahl der pilzlichen und bakteriellen Genkopien zwischen verschiedenen Behandlungen, Inkubationszeiten und Standorten zu identifizieren.

Die Verteilungseigenschaften der Datensätze wurden mit dem Shapiro-Wilk Test bestimmt, wie von Armougom *et al.* (2009) beschrieben. Die zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) wurde für die Proben der Labor-Inkubationsstudie mit der ANOVA -Funktion von R durchgeführt (R Core Team), die auf der linearen Modellfunktion *lm* verwendet wurde, um die statistische Signifikanz aller beobachteten Unterschiede in der MOE, den Gewichtsverlustmessungen und den Pilz- sowie Bakteriengenkopienzahlen zu bestimmen ( $P \leq 0.05$ ). Die dreifache ANOVA wurde mit Origin 2019 (OriginLab, Northampton, MA) durchgeführt, um die statistische Signifikanz aller beobachteten Unterschiede in der pilzlichen ITS-Gen-Region sowie der bakteriellen 16S rRNA-Gen-Kopienzahl der Proben aus den Freilandstudien zu bestimmen ( $P \leq 0.05$ ). Diversitätsindizes wurden für die Labor-Inkubationsstudien mit Canoco 4.5 (Microcomputer Power, Ithaca, NY, USA) berechnet. Diversitätsindizes für die Freilandstudie wurden mithilfe des R-Pakets *vegan* (Oksanen *et al.*, 2017) berechnet, wie an anderer Stelle beschrieben (Buettner & Noll, 2018). Explorative statistische Analysen wurden mit der Korrespondenzanalyse (CA) durchgeführt, und die relativen Häufigkeiten der OTU-Zusammensetzung wurden wie von Noll *et al.* (2005) beschrieben berechnet. Die CA wurde mit relativer Abundanz von  $\geq 2$  % der Sequenz der pilzlichen ITS-Gen-Region und der bakteriellen 16S rRNA-Gene mit Canoco 4.5 durchgeführt und mit Origin 6.1 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA) visualisiert. Um den Einfluss von Umweltvariablen auf die Zusammensetzung der Pilz- und Bakteriengemeinschaften zu testen, wurden kanonische Korrespondenzanalysen (CCA) wie an anderer Stelle beschrieben (Noll *et al.*, 2005) eingesetzt. Um Tests auf unabhängige Effekte zu erhalten, wurde der Einfluss jeder Umweltvariablen (z.B. Standort) nach Adjustierung für den Effekt anderer Umweltvariablen (z. B. Inkubationszeit) und umgekehrt sowie der der Interaktion getestet, indem die zu eliminierende Effekte als Kovariablen in der CCA angegeben wurden. Der Effekt jeder Umweltvariablen und ihrer Interaktion auf die Summe aller

kanonischen Eigenwerte wurde mit Hilfe von Monte-Carlo-Permutationstests, die in Canoco verfügbar sind, unter Verwendung von 9.999 Wiederholungsläufen getestet, um die Signifikanz der Spurenwerte zu bewerten, wie zuvor erläutert (Verdonschot & Ter Braak, Cajo J. F., 1994).

Die Kombination aus ANOVA und CCA eignet sich besonders für komplexe mikrobielle Gemeinschaftsdaten, da ANOVA die Varianz spezifischer Faktoren oder Behandlungen (z.B. Standort, Holzschutzmittel) getrennt quantifizieren kann und so klare Gruppenunterschiede erlaubt (Paliy O & Shankar V, 2016). Die CCA ist für ökologische Daten konzipiert, in denen Arten häufig unimodal auf Umweltgradienten reagieren, und ermöglicht die direkte Einbindung von Umweltvariablen zur Erklärung der Gemeinschaftszusammensetzung. Dadurch lassen sich Einflüsse einzelner Umweltfaktoren auf die mikrobielle Gemeinschaft explizit modellieren und gemeinsam mit den Arten in einem gemeinsamen Ordinationsraum darstellen (Seuradge *et al.*, 2017; Khomich *et al.*, 2021).

PERMANOVA ist ein distanzbasiertes Verfahren zur Prüfung von Gruppenunterschieden und liefert im Gegensatz zur CCA keine integrierte Ordination von Arten und Umweltvariablen. CCA liefert hingegen eine niedrigdimensionale, graphische Darstellung, in der Proben, Arten und Umweltvariablen gemeinsam visualisiert werden und ökologische Gradienten sowie Trennungen zwischen Behandlungen gut erkennbar sind (Paliy O & Shankar V, 2016; Seuradge *et al.*, 2017; Khomich *et al.*, 2021). Zudem wird CCA in zahlreichen mikrobiellen und bodenökologischen Studien als bewährtes Werkzeug zur Analyse komplexer, multivariater ökologischer Datensätze eingesetzt, insbesondere bei starker natürlicher Variabilität (Paliy O & Shankar V, 2016; Seuradge *et al.*, 2017).

Obwohl die PERMANOVA in vielen ökologischen Studien eine beliebte Wahl ist, bietet die Kombination von ANOVA und CCA in unserem spezifischen Fall eine umfassendere und nuanciertere Analyse der komplexen Beziehungen innerhalb mikrobieller Gemeinschaften. Diese Methode ermöglicht es uns, sowohl die Varianz in einzelnen Faktoren als auch die multivariate Struktur und Umweltbeziehungen zu untersuchen, was für unser Verständnis der mikrobiellen Ökologie im untersuchten System von entscheidender Bedeutung ist.

### **2.8. Zugangsnummer der veröffentlichten Nukleotidsequenzen**

Die pilzliche ITS Gen-Region und die 16S rRNA-Gensequenzen der Labor-Inkubationsstudie wurden in der NCBI Nukleotidsequenz-Datenbank unter der Zugangsnummer PRJNA31584646 und die Gensequenzen der Freilandstudie unter der Zugangsnummer PRJNA517415 hinterlegt. Die Nukleotid-Datenbank ist eine Sammlung von Sequenzen aus verschiedenen Quellen. Genome, Gene und Transkriptions-Sequenzdaten bilden eine Grundlage für die biomedizinische Forschung und Entdeckung.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Standortspezifische Analyse der mikrobiellen Bodengemeinschaften an fünf Standorten

Zur umfassenden Standortcharakterisierung wurden die mikrobiellen Bodengemeinschaften der einzelnen Standorte mittels Amplikonsequenzierung analysiert. Dabei wurden sowohl die pilzliche ITS-Gen-Region als auch das bakterielle 16S rRNA-Gen sequenziert, um ein detailliertes Bild der taxonomischen Zusammensetzung auf Gattungsebene zu erhalten. Durch den Vergleich der gewonnenen Daten konnten standortspezifische Unterschiede in der Struktur und Diversität der mikrobiellen Gemeinschaften aufgedeckt werden. Diese Analyse lieferte wertvolle Einblicke in die komplexen ökologischen Zusammenhänge der Bodenmikrobiota an den untersuchten Standorten und bildet eine solide Grundlage für die weiterführenden Studien.

Aus den zehn untersuchten Proben wurden insgesamt 68.725 Sequenzen mit einer durchschnittlichen Länge von ca. 600 Basen gewonnen, von denen 52.178 den ITS-Gen-Sequenzen und 16.547 den 16S rRNA-Genen zugeordnet wurden. Die Diversität in Funktion zur Anzahl der einzelnen Individuen der Pilz- und Bakteriengemeinschaft wurde für die fünf Standorte bestimmt. 6.779 verschiedene OTUs (3.101 Pilze und 3.678 Bakterien) und 834 verschiedene Gattungen (375 Pilz- und 459 Bakteriengattungen), deren Zusammensetzung in jedem Boden spezifisch war, konnten zugeordnet werden.

## Ergebnisse

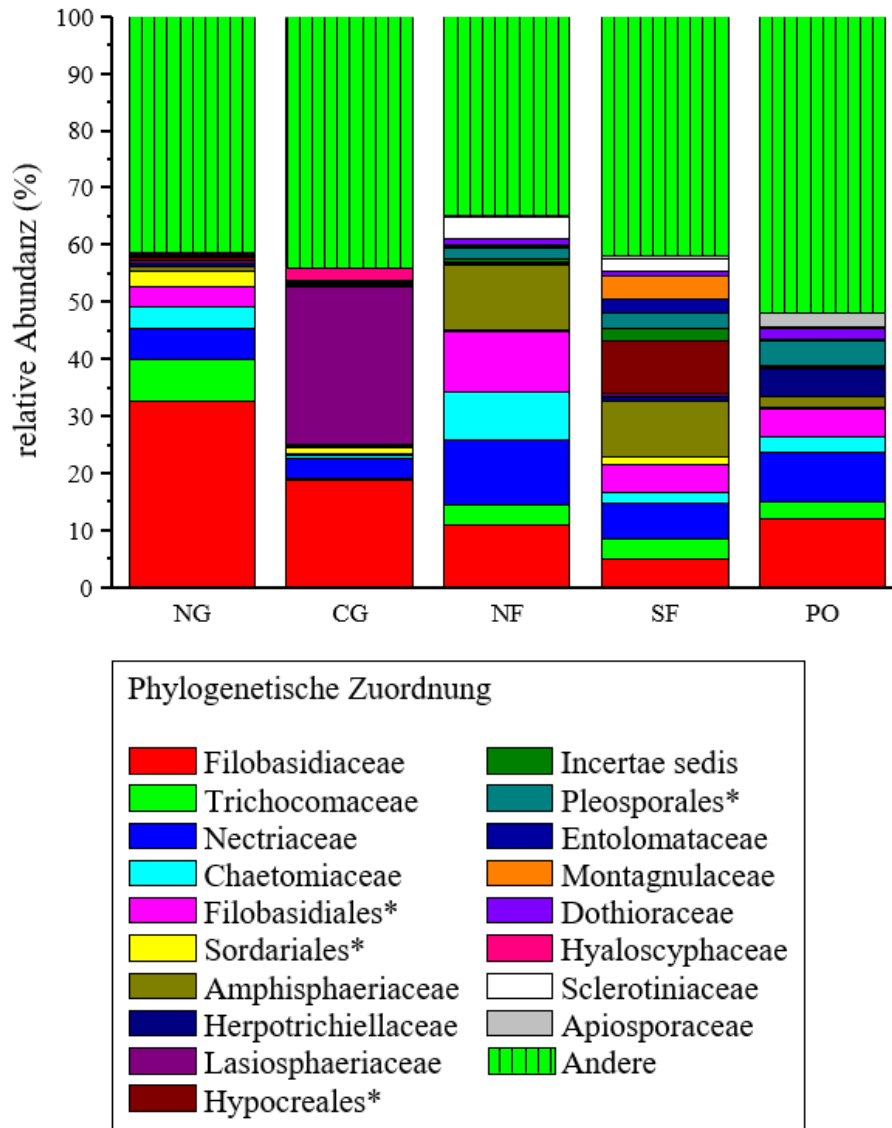


Abbildung 6 Zuordnung der abundanten pilzlichen OTUs zu den jeweiligen taxonomischen Familien der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal). Insgesamt wurden 52.178 verschiedene Sequenzen analysiert und auf 7070 Sequenzen pro Probe normiert ( $n = 2$ ). Die Legende fasst die Farbkennung der Familien zusammen. Die mit \* gekennzeichneten unbekannt Familien wurden ihrer Ordnung zugewiesen, eine tiefere taxonomische Auflösung war nicht möglich. Unter „Andere“ wurden Familien aufgeführt, deren Prozentsatz der relativen Abundanz  $\leq 2\%$  entsprach.

Innerhalb des gesamten Datensatzes der klassifizierbaren Sequenzen konnten neun Pilz- und 27 Bakterien-Phyla zugeordnet werden. Die dominierenden Pilz-Phyla aller Standorte waren Ascomycota und Basidiomycota (Abbildung A 1). Die dominierenden Bakterien-Phyla aller Standorte waren Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria und Chloroflexi (Abbildung A 2).

Bei der Zuordnung der abundanten Pilz-OTUs zu den jeweiligen taxonomischen Familien wurde die höchste relative Abundanz für Norddeutschland der Familie Filobasidiaceae zugeordnet (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**), die zum Phylum der Basidiomycota gehören. Demgegenüber wurde die höchste relative Abundanz in Mitteldeutschland der Familie Lasiosphaeriaceae zugewiesen. Nord- und Südfrankreich sowie Portugal verzeichnen eine ähnliche Verteilung der Familien.

## Ergebnisse

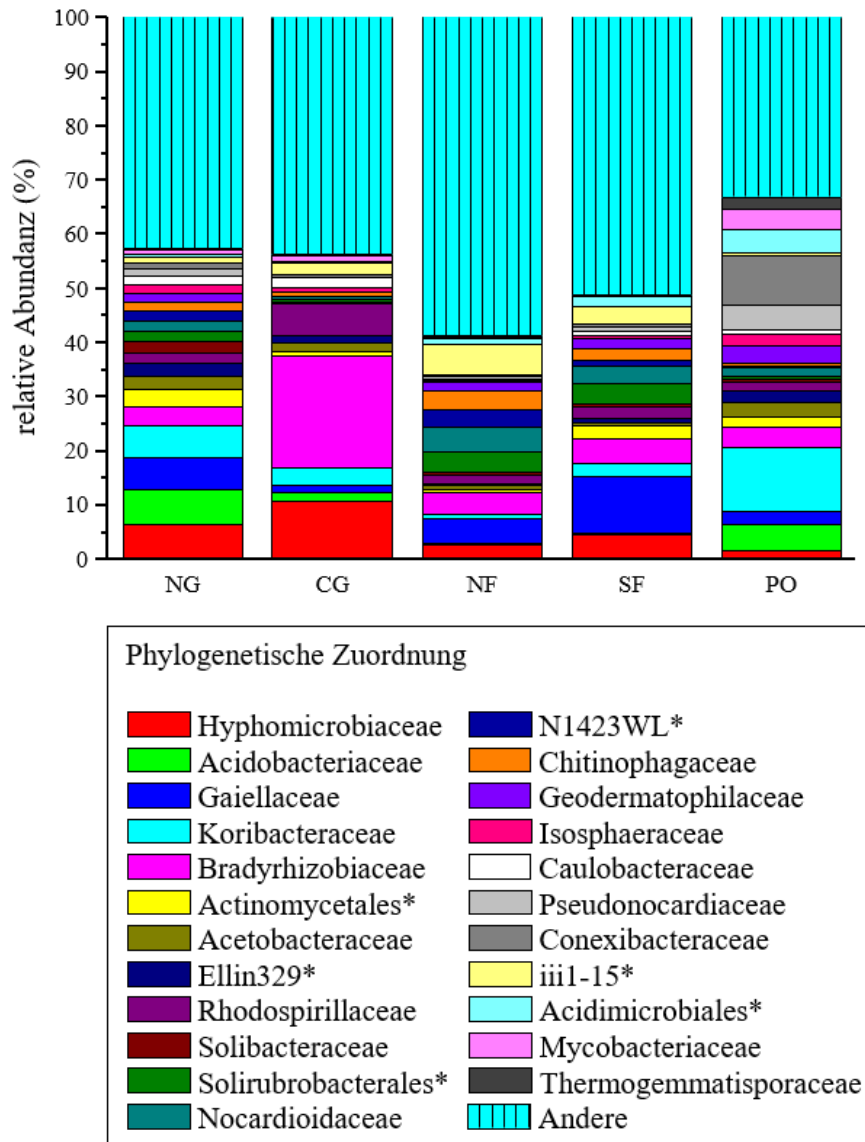


Abbildung 7 Zuordnung der abundanten bakteriellen OTUs zu den jeweiligen taxonomischen Familien der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal). Insgesamt wurden 16.547 verschiedene Sequenzen analysiert und auf 657 Sequenzen pro Probe normiert ( $n = 2$ ). Die Legende fasst die Farbkennung der Familien zusammen. Die mit \* gekennzeichneten unbekannt Familien wurden ihrer Ordnung zugewiesen, eine tiefere taxonomische Auflösung war nicht möglich. Unter „Andere“ wurden Familien aufgeführt, deren Prozentsatz der relativen Abundanz  $\leq 2\%$  entsprach.

Nord- und Mitteldeutschland hatten die höchste relative Abundanz für die Familie Hyphomicrobiaceae (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Darüber hinaus ist Mitteldeutschland durch die höchste relative Abundanz der Bradyrhizobiaceae gekennzeichnet. Nord- und Südfrankreich waren in der Verteilung der Bakterienfamilien sich ähnlich und Portugal hatte eine abweichende Verteilung der Familien hinsichtlich der relativen Abundanz.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Böden der verschiedenen Standorte die gleichen dominanten Pilz- und Bakterientaxa enthielten, aber die Vielfalt zwischen den Standorten unterschied sich auf der taxonomischen Ebene der Familien erheblich. Auf Familienebene der Pilze unterschied sich Norddeutschland von Mitteldeutschland, während Nord- und Südfrankreich sowie Portugal eine ähnliche Verteilung der Pilz-Familien hatten. Bei den

Bakterien unterschied sich Mitteldeutschland und Portugal von den anderen Standorten in der Zuordnung der relativen Abundanz von Familien aber nicht in der Vielfalt der Familien.

### **3.2. Korrelation zwischen Holzschutzmittelzusammensetzung, Holzabbaurate und mikrobieller Gemeinschaftsstruktur**

Unter kontrollierten Bedingungen wurde der Abbau von chemisch geschütztem Holz unter Laborbedingungen in den Böden der fünf Standorte (NG, CG, NF, SF und PO) und nach einer Inkubationszeit von 8, 16, 24 und 32 Wochen in Anlehnung an die Norm DIN V ENV 807 untersucht. Zum Einsatz kamen Holzprüfkörper, die mit den Holzschutzmittelbehandlungen CuTriQAC, TriQAC, Cu sowie einer H<sub>2</sub>O-Kontrolle imprägniert waren (Tabelle 4).

#### **3.2.1. Wirkung verschiedener Holzschutzmittel auf den mikrobiellen Abbau von Holzprüfkörpern**

Im Verlauf der 32-wöchigen Inkubationszeit nahm der Masseverlust signifikant zu und war unabhängig von der Herkunft des Bodens (Abbildung 8). Die Zunahme des Masseverlusts wurde signifikant von den Holzschutzmittelbehandlungen und der Inkubationszeit beeinflusst ( $F$ -Wert durch zweiseitige ANOVA = 22,916;  $P < 2,2 \times 10^{-16}$ ). Ein nahezu identischer Masseverlust wurde zwischen den mit H<sub>2</sub>O- und TriQAC-behandelten Holzprüfkörper und den CuTriQAC- und Cu-Formulierungen beobachtet. Allerdings war der Masseverlust bei H<sub>2</sub>O- und TriQAC-behandelten Holzprüfkörpern signifikant höher als bei CuTriQAC- und Cu-behandelten Hölzern. Somit wiesen die CuTriQAC- und Cu-behandelten Hölzer den niedrigsten Abbau auf (Abbildung 8). Die Holzprüfkörper, die mit der TriQAC-Behandlung imprägniert waren, wurden ähnlich stark abgebaut wie die H<sub>2</sub>O-behandelten Holzprüfkörper. Darüber hinaus verzeichnete die mikrobielle Gemeinschaft der Böden aus Norddeutschland und Nordfrankreich eine geringe Fähigkeit für den Holzabbau (maximaler Masseverlust von 13 % nach 32 Wochen).

## Ergebnisse

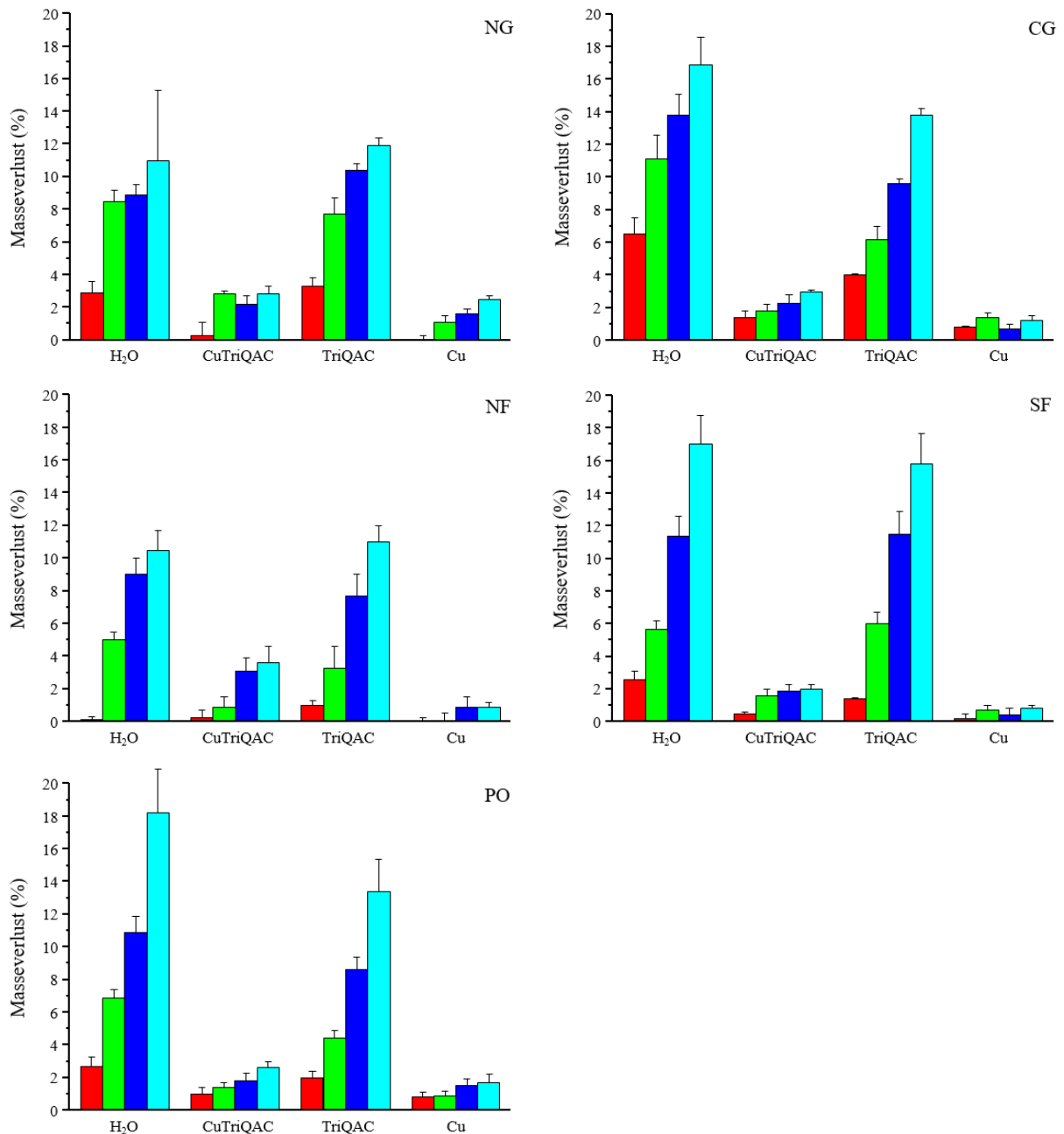


Abbildung 8 Prozentualer Masseverlust der Holzprüfkörper aller Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC und Cu) und Standorte während der Inkubationszeit gemessen, Balkenfarbe zeigt die Inkubationszeit an (rot, 8 Wochen; grün, 16 Wochen; blau, 24 Wochen; türkis, 32 Wochen). Fehlerbalken zeigen Standardfehler an (n = 4). Die Herkunft der Proben wird durch die Länderkürzel angegeben (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal).

Je mehr ein Holzprüfkörper abgebaut wurde, desto mehr hatte sich das MOE verringert. Die Abnahme des MOE wurde signifikant von den Holzschutzmittelbehandlungen und der Inkubationszeit beeinflusst ( $F$ -Wert durch zweiseitige ANOVA = 29,163;  $P < 2,2 \times 10^{-16}$ ). Die Verringerung der MOE war bei den kupferhaltigen Holzschutzmittelbehandlungen (CuTriQAC und Cu) geringer als bei den anderen Behandlungen (H<sub>2</sub>O und TriQAC) (Abbildung 9). Dementsprechend wurde bei den H<sub>2</sub>O und TriQAC-behandelten Holzprüfkörpern im Vergleich zu CuTriQAC- und Cu-behandelten Holzprüfkörpern eine Verringerung der MOE um bis zu 75 % festgestellt. Unabhängig von der Herkunft des Bodens korrelierte die Abnahme des MOE mit dem Masseverlust der Holzprüfkörper (vgl. Abbildung 9 mit Abbildung 8).

## Ergebnisse

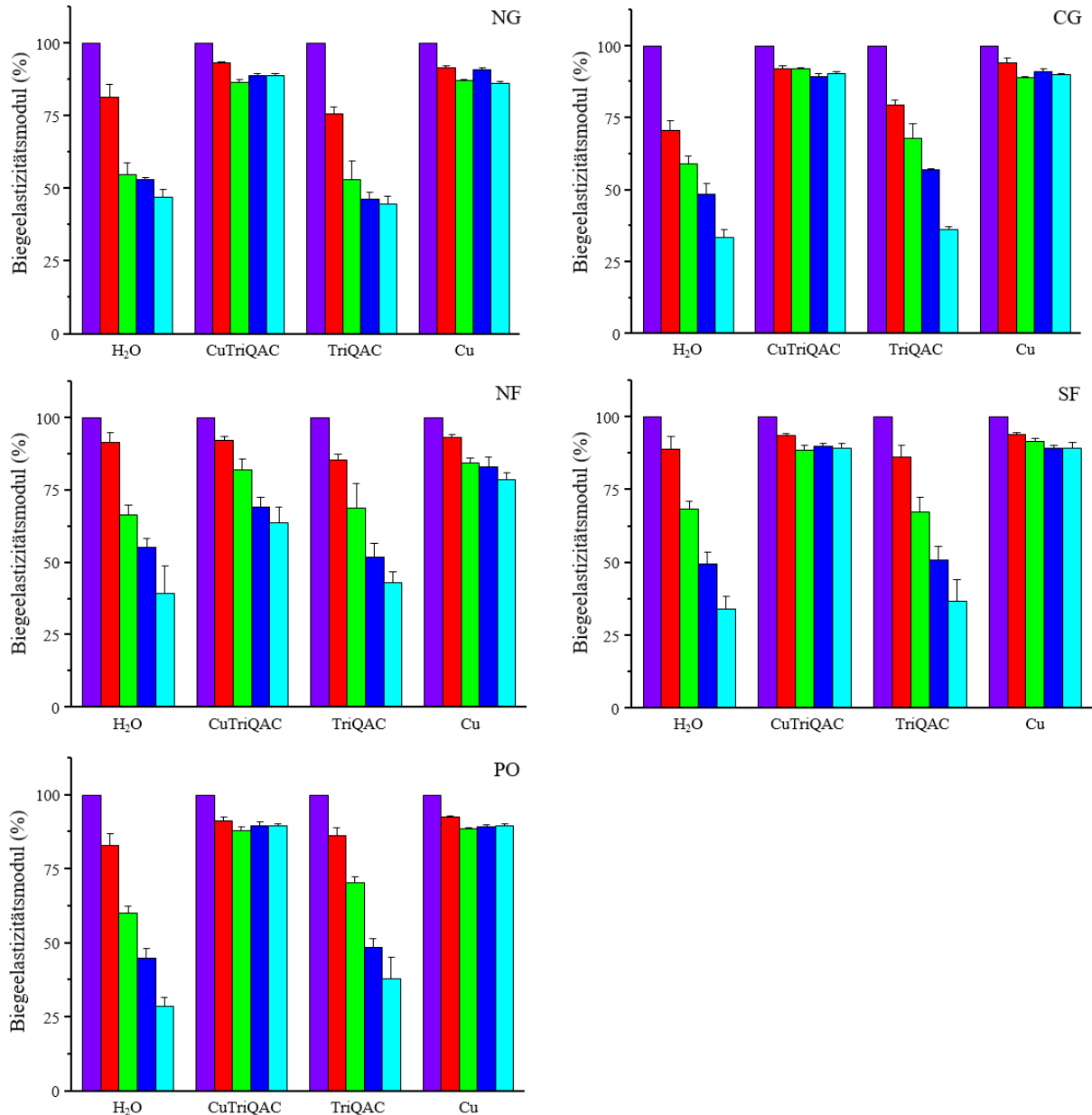


Abbildung 9 Prozentuale Verluste des Biegeelastizitätsmoduls (MOE) von Holzprüfkörpern aus allen Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC und Cu) und Standorten während der Inkubationszeit gemessen, Balkenfarbe bezieht sich auf die Inkubationszeit (violett, 0 Wochen; rot, 8 Wochen; grün, 16 Wochen; blau, 24 Wochen; türkis, 32 Wochen). Fehlerbalken zeigen Standardfehler an (n = 4). Die Herkunft der Proben wird durch die Länderkürzel angegeben (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal).

### 3.2.2. Einfluss der Holzschutzmittelzusammensetzung auf die Abundanz pilzlicher und bakterieller Genkopienzahl

Die Anzahl der Genkopien der pilzlichen ITS-Gen-Region nahm während der Inkubationszeit signifikant zu (F-Wert durch einseitige ANOVA = 8,0946 und  $P = 3,285 \times 10^{-5}$ ) und unterschieden sich signifikant zwischen den Standorten (F-Wert durch einseitige ANOVA = 6,8263;  $P = 2,798 \times 10^{-5}$ ). Eine signifikant höhere Pilz-basierte Genkopienzahl wurde bei der H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlung in Nord- und Mitteldeutschland im Vergleich zur CuTriQAC- und Cu- Behandlung (Abbildung 10) nachgewiesen. Die Anzahl der Pilz-basierten

## Ergebnisse

Genkopien in Südfrankreich war bei allen Behandlungen höher als in den Referenzproben und während der Inkubationszeit wurde bei den H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlungen eine Zunahme der Pilz-basierten Genkopien und bei der CuTriQAC-Behandlung eine Abnahme der Pilz-basierten Genkopien beobachtet. Gegenüber der H<sub>2</sub>O-Behandlung wurden bei der CuTriQAC-Behandlung signifikant weniger Pilz-basierte Genkopien im Boden aus Portugal nachgewiesen.

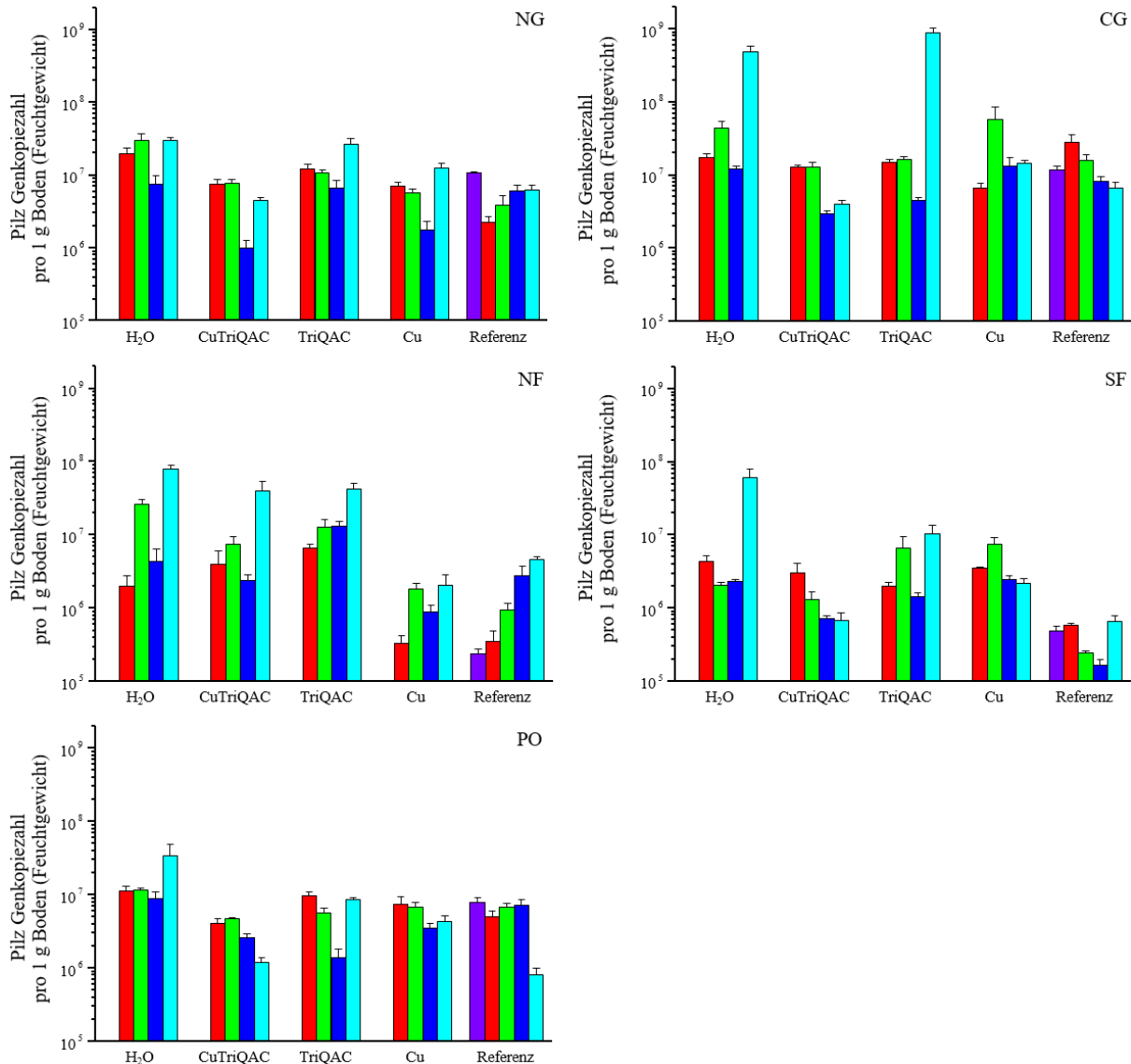


Abbildung 10 Anzahl der Pilz-basierten Genkopien aller Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC, Cu und Referenz) und Standorte, die im Laufe der Inkubationszeit gemessen wurden. Die Balkenfarbe bezieht sich auf die Inkubationszeit (rot, 8 Wochen; grün, 16 Wochen; blau, 24 Wochen; türkis, 32 Wochen). Fehlerbalken zeigen Standardfehler an (n = 4). Die Herkunft der Proben wird durch die Länderkürzel angegeben (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal).

## Ergebnisse

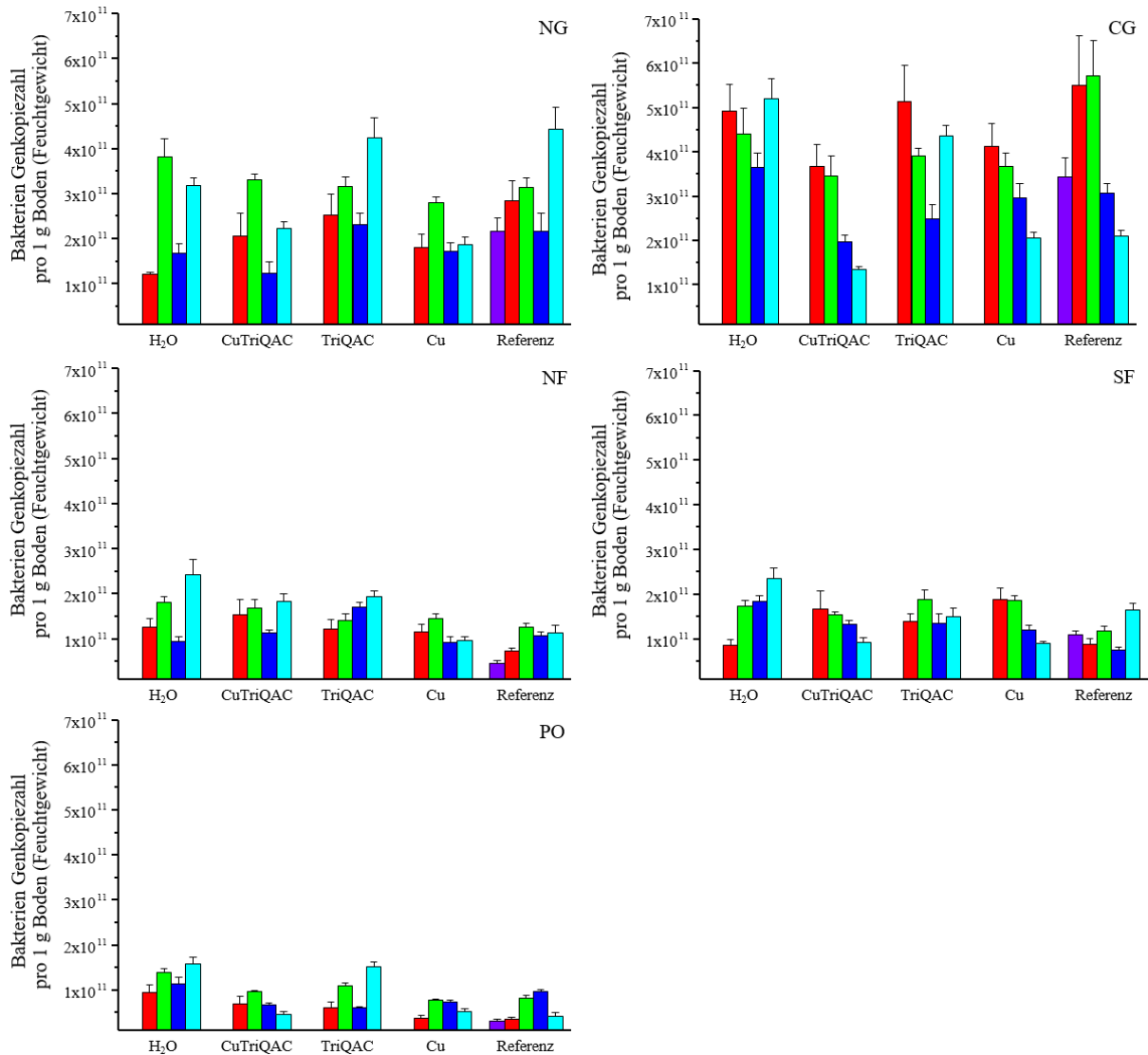


Abbildung 11 Anzahl der Bakterien Genkopien aller Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC, Cu und Referenz) und Standorte gemessen während der Inkubationszeit. Die Balkenfarbe bezieht sich auf die Inkubationszeit (rot, 8 Wochen; grün, 16 Wochen; blau, 24 Wochen; türkis, 32 Wochen). Fehlerbalken zeigen Standardfehler an (n = 4). Die Herkunft der Proben wird durch die Länderkürzel angegeben (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal).

Die Anzahl der Genkopien der bakteriellen 16S rRNA-Gene nahm während der Inkubationszeit signifikant zu ( $F$ -Wert durch einseitige ANOVA = 3,3922 und  $P = 0,0183$ ). Für die Böden aus Portugal, Nord- und Südfrankreich wurden im Vergleich zu den Böden aus Nord- und Mitteldeutschland weniger bakterielle Genkopien nachgewiesen (Abbildung 11). Darüber hinaus wurden keine größeren Unterschiede in der Anzahl der Bakterien-Genkopien zwischen den Behandlungen aller Standorte festgestellt. Die Anzahl der bakteriellen Genkopien war in Norddeutschland bei der CuTriQAC- und Cu-Behandlung im Vergleich zu den Referenzproben geringer. In Mitteldeutschland wurde im Beobachtungszeitraum ein Rückgang der Anzahl an Bakterien-Genkopien bei der CuTriQAC- und Cu-Behandlung festgestellt, der im Vergleich zur H<sub>2</sub>O-Behandlung signifikant geringer ausfiel.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass es keinen eindeutigen Trend in dem Effekt der Behandlungen auf die Pilze und Bakterien gab. Darüber hinaus waren die Werte der Referenzproben sowohl für die Pilz- als auch für die bakterielle Genkopienzahl während der Inkubationszeit inhomogen. Kein signifikanter Unterschied der Genkopienzahl wurde

zwischen der H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlung während des Beobachtungszeitraums festgestellt. Hinsichtlich der Anzahl der Pilz-basierten Genkopien der Cu- und CuTriQAC-Behandlungen im Vergleich zur H<sub>2</sub>O-Behandlung kann festgehalten werden, dass bei kupferhaltigen Holzschutzmittelbehandlungen eine geringere Anzahl von Genkopien nachgewiesen wurde. Allerdings ist das Ergebnis in Bezug auf die Referenzproben des Bodens fragwürdig, da die Anzahl der Pilz-basierten Genkopien der Cu- und CuTriQAC-Behandlungen mit den Referenzproben vergleichbar oder höher war.

### 3.2.3. Dynamik der pilzlichen Gemeinschaftsstruktur im Boden

An allen untersuchten Standorten dominierten die pilzlichen Phyla Ascomycota, Basidiomycota, und Zygomycota (Abbildung B 1). Die Verteilung der abundanten Familien variierte stark zwischen den Standorten (Abbildung 12). In Nord- und Mitteldeutschland waren folgende Taxa vorherrschend: die Ordnung Tremellales (Incertae sedis auf Familienebene), sowie die Familien Filobasidiaceae, Mortierellaceae und Trichocomaceae. Diese Familien wurden hauptsächlich durch die Gattungen *Cryptococcus*, *Mortierella* und *Penicillium* repräsentiert. Zusätzlich wurden die Familie Annulatascaceae (Gattung *Conlarium*), nicht klassifizierte Chaetosphaeriaceae und die Familie Chaetomiaceae (Gattung *Chaetomium*) identifiziert. In Nordfrankreich dominierte die Familie der Microascaceae mit einer hohen relativen Abundanz von 47 %, vorwiegend vertreten durch die Gattungen *Pseudallescheria* und *Scedosporium*. Südfrankreich zeichnete sich durch die Präsenz der Familie Pluteaceae aus, repräsentiert durch die Gattung *Pluteus*.

## Ergebnisse

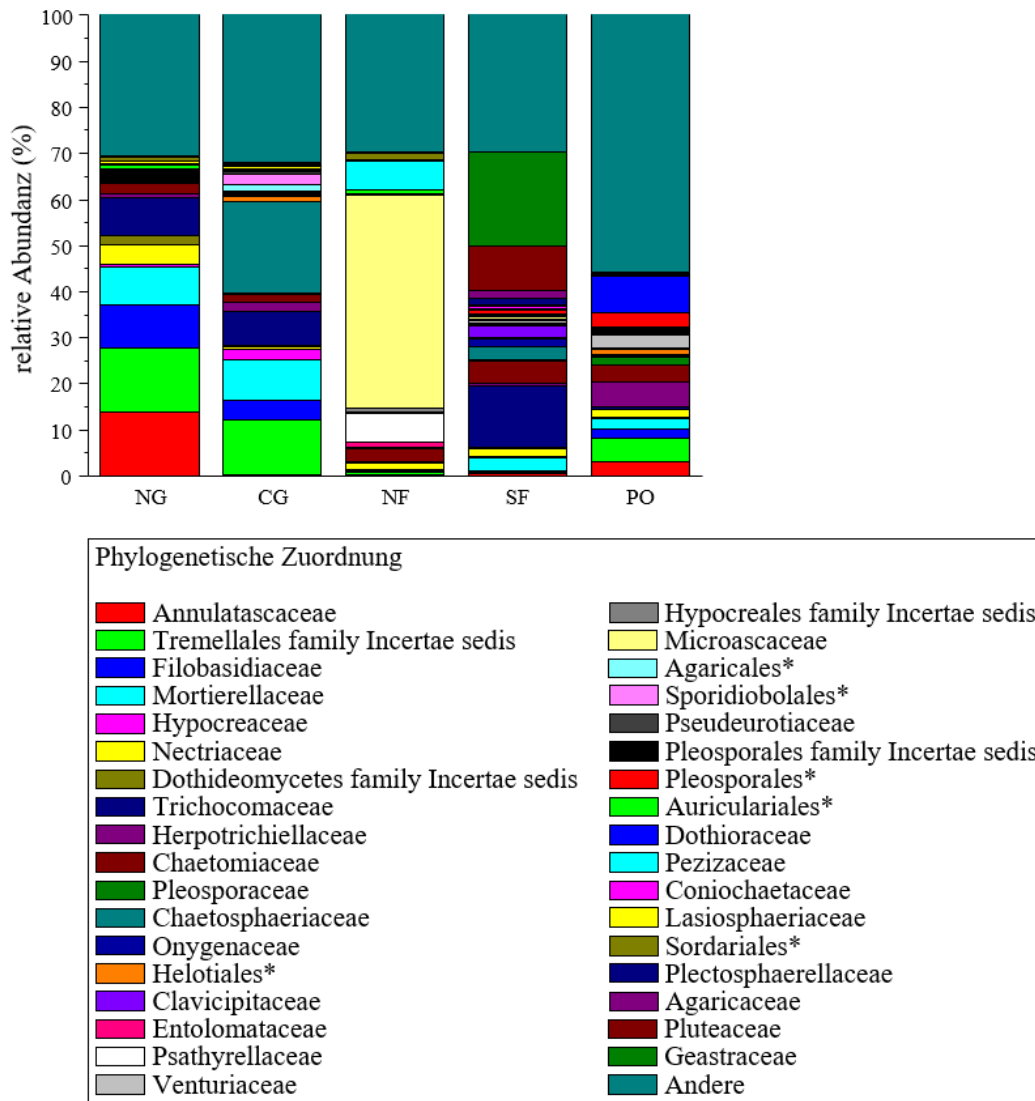


Abbildung 12 Verteilung der abundanten pilzlichen OTUs zu den jeweiligen taxonomischen Familien der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal) aus den Erdinkubationsversuchen. Insgesamt wurden  $6,4 \times 10^5$  Sequenzen analysiert und auf 557 Sequenzen pro Proben normiert ( $n = 21$ ). Die Legende fasst die Farbkennung der Familien zusammen. Die mit \* gekennzeichneten unbekannt Familien wurden ihrer Ordnung zugewiesen, eine tiefere Auflösung war nicht möglich. Unter „Andere“ wurden OTUs aufgeführt, deren Vorkommen  $\leq 3$  in einem Standort war, deren Prozentsatz entweder der relativen Abundanz  $\leq 2\%$  entsprach oder deren Ordnung nicht klassifiziert wurde.

Pilz-OTUs mit potenzieller Beteiligung am Holzabbau könnten eine höhere relative Abundanz an der Boden-Holz-Grenzfläche im Vergleich zum Referenzboden aufweisen. Anhand dieser Annahme wurden folgende Gattungen ausgewählt: *Chaetomium*, unkl. Chaetosphaeriaceae, *Conlarium*, *Pluteus*, *Pseudallscheria* und *Scedosporium*.

Die Gattung *Chaetomium* zeigte eine erhöhte relative Abundanz bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung in Portugal sowie bei der CuTriQAC-Behandlung in Norddeutschland und Nordfrankreich (Tabelle B 5, Tabelle B 1,

Tabelle B 3 im Anhang). In Mitteldeutschland wurde eine Zunahme der relativen Abundanz nicht klassifizierter Chaetosphaeriaceae an Holzprüfkörpern ohne Kupferzusatz (H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlung) beobachtet (Tabelle B 2 im Anhang). Die Gattung *Conlarium* wies in Norddeutschland (Tabelle B 1 im Anhang) und Portugal (Tabelle B 5 im Anhang) eine höhere

relative Abundanz bei den Behandlungen ohne Kupfer (H<sub>2</sub>O und TriQAC) auf. In Südfrankreich zeigte die Gattung *Pluteus* eine erhöhte Abundanz bei den H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlungen (Tabelle B 4 im Anhang). In Nordfrankreich waren die Gattungen *Pseudallescheria* und *Scedosporium* sowohl bei Behandlungen mit als auch ohne Kupferzusatz präsent, wobei *Scedosporium* besonders hohe relative Abundanz aufwies (

Tabelle B 3 im Anhang).

Darüber hinaus wurden Pilztaxa identifiziert, deren relative Abundanz während der Inkubationszeit bei Cu- und/oder CuTriQAC-Behandlung erhöht waren. Einige Pilz-OTUs zeigten standortübergreifend eine erhöhte relative Abundanz in kupferhaltigen Behandlungen. Ein standortspezifischer Vergleich der kupferhaltigen Behandlungen hatte gezeigt, dass an allen Standorten - unabhängig von der Inkubationszeit - Vertreter der Gattungen *Cryptococcus*, *Mortierella* und *Penicillium* sowie nicht klassifizierte Mitglieder der Familie Trichocomaceae vorkamen. Folgende spezifische Beobachtungen wurden gemacht:

Bei der CuTriQAC-Behandlung wurde in Mitteldeutschland (Tabelle B 2 im Anhang) und Südfrankreich (Tabelle B 4 im Anhang) eine Zunahme der relativen Abundanz nicht klassifizierter Chaetomiaceae beobachtet. In Südfrankreich nahm die relative Abundanz nicht klassifizierter Trichocomaceae und *Penicillium* bei kupferhaltigen Behandlungen (Cu und CuTriQAC) zu. Die Gattung *Penicillium* zeigte nach 16 Wochen Inkubation in der CuTriQAC-Behandlung eine hohe Abundanz (50,92 %), die anschließend wieder abnahm (Tabelle B 4 im Anhang). In Nord- und Mitteldeutschland stieg die relative Abundanz der Gattung *Penicillium* während der Inkubationszeit bei der Cu-Behandlung an (Tabelle B 1 und Tabelle B 2 im Anhang). In Portugal wurde eine Zunahme der relativen Abundanz der Gattung *Veronaeopsis* bei der Cu-Behandlung beobachtet (Tabelle B 5 im Anhang). In Norddeutschland zeigte die Gattung *Fusarium* eine Zunahme der relativen Abundanz bei der CuTriQAC-Behandlung (Tabelle B 1 im Anhang).

Diese Beobachtungen deuten auf mögliche Zusammenhänge zwischen den genannten Pilzgattungen und dem Holzabbau sowie auf unterschiedliche Reaktionen auf Kupferexposition hin. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um diese Zusammenhänge zu bestätigen und die genauen Mechanismen aufzuklären.

## Ergebnisse

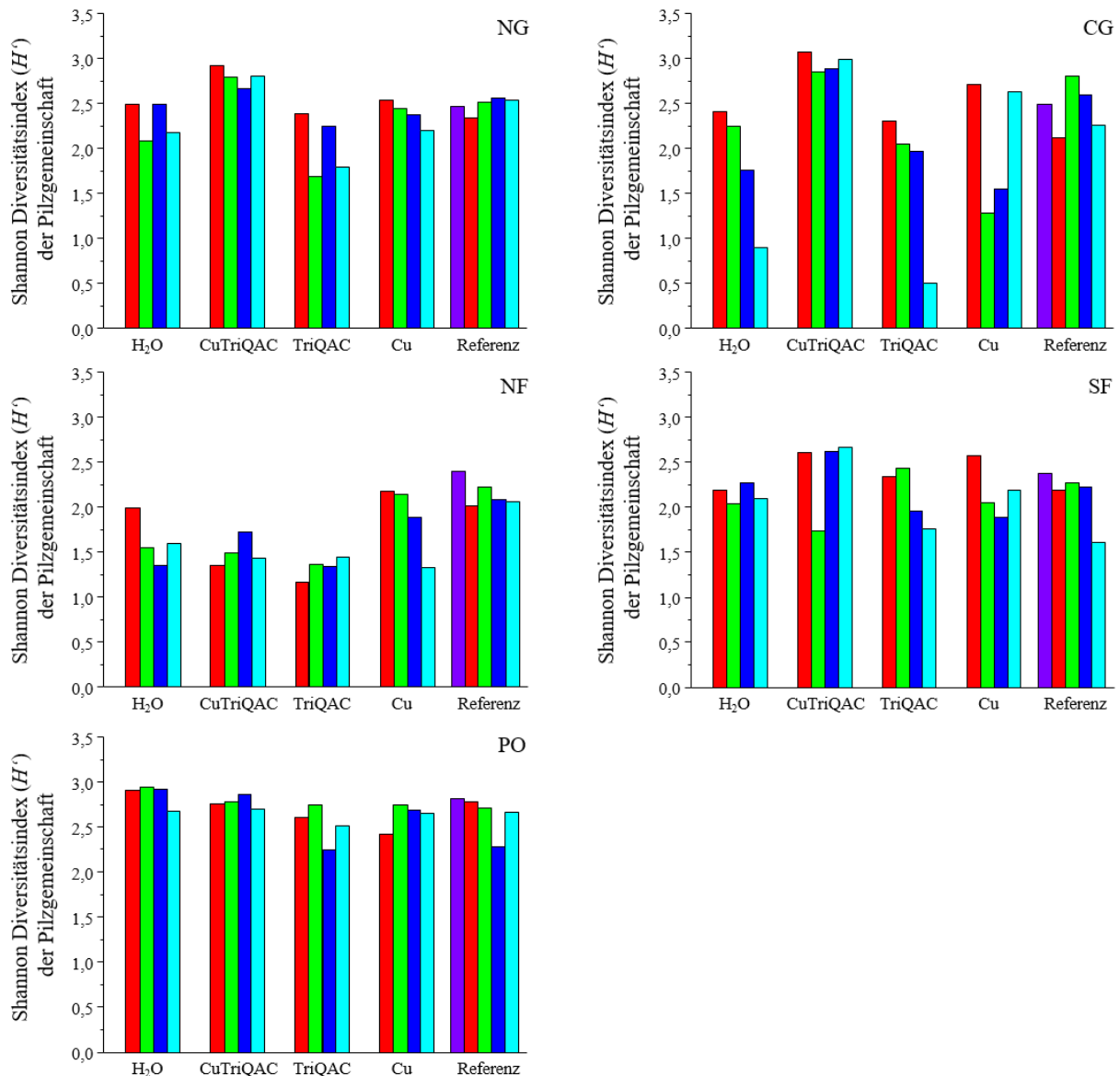


Abbildung 13 Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) von Pilz-OTUs zur Beurteilung der Vielfalt der Gattungen. Abgeleitet von den fünf Standorten (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal) und vier Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC, Cu und Referenz) während der Inkubationszeit. Die Balkenfarbe zeigt die Inkubationszeit an (violett, 0 Wochen, rot, 8 Wochen; grün, 16 Wochen; blau, 24 Wochen; türkis, 32 Wochen).

Der Shannon-Diversitätsindex  $H'$  der Pilzgemeinschaften als Teil der Alpha-Diversität (Abbildung 13) zeigte eine heterogene Verteilung und variierte sowohl zwischen den Behandlungen als auch zwischen den Standorten. Im Vergleich zum Referenzboden zeigte sich, dass die Behandlungen je nach Zu- oder Abnahme des  $H'$ -Wertes einen positiven oder negativen Einfluss auf die Diversität hatten, wobei hier sowohl Artenreichtum als auch Gleichverteilung berücksichtigt wurden. Die Cu-Behandlung zeigte den stärksten Einfluss auf die Diversität während der Inkubationszeit. Auch die Standorte selbst beeinflussten die Diversität: Nordfrankreich wies im Vergleich zu den anderen Standorten geringere Shannon-Diversitätswerte in den Behandlungen auf, während Portugal eine der höchsten und konstantesten Diversitäten zeigte.

## Ergebnisse

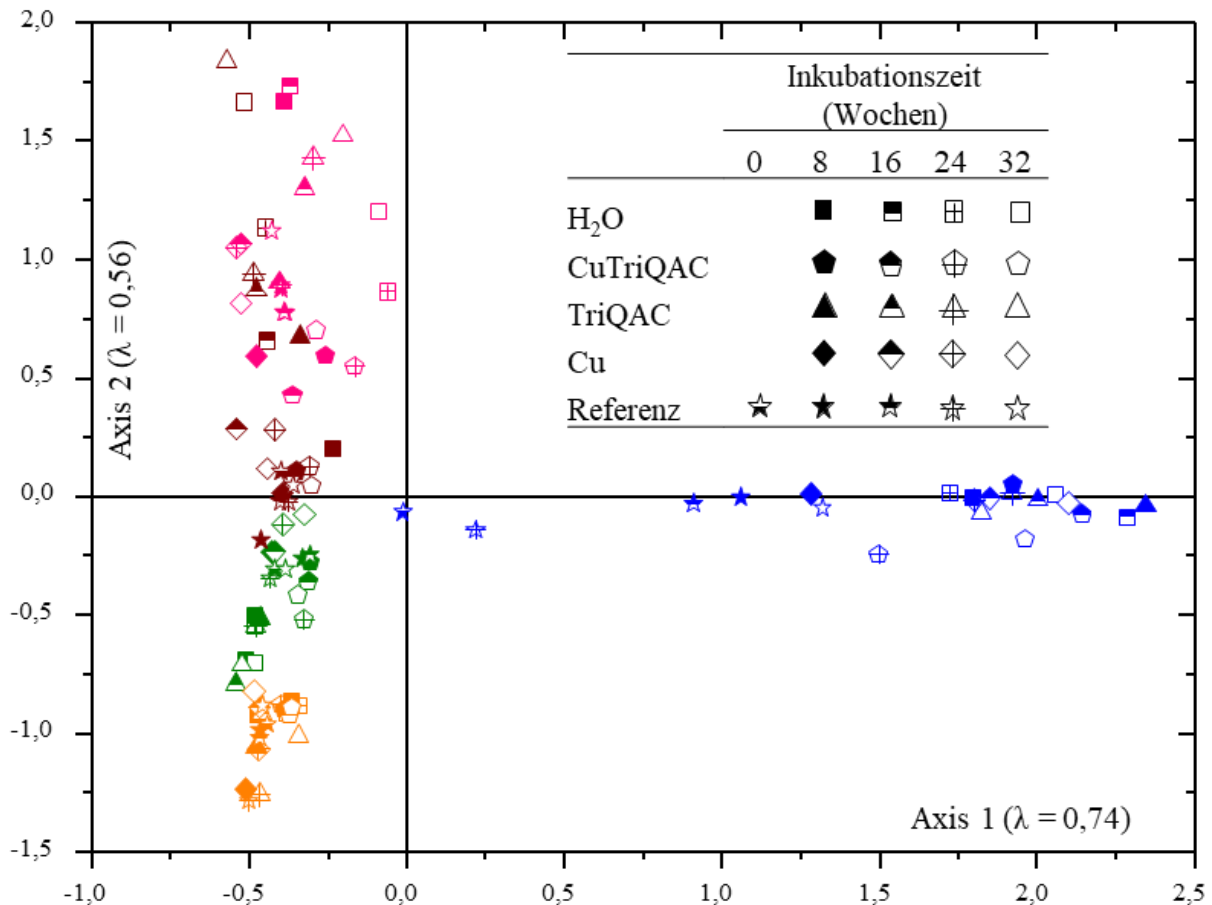


Abbildung 14 Korrespondenzanalyse der pilzlichen ITS-Sequenz basierten Gemeinschaftsstruktur der fünf Standorte (grün, NG: Norddeutschland; braun, CG: Mitteldeutschland; blau, NF: Nordfrankreich; pink, SF: Südfrankreich; orange, PO: Portugal), fünf Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC, Cu und Referenz) und fünf Probenahmezeiten (0, 8, 16, 24 und 32 Wochen). Die Legende fasst die Symbole der Behandlungen und Inkubationszeit zusammen. Eigenwerte sind auf den Achsen der Abbildungen angegeben.

Die Analyse der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft als Teil der Beta-Diversität (Abbildung 14) hatte signifikante Einflüsse durch die Behandlung mit Holzschutzmitteln ( $F$ -Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 2,988 und  $P = 0,0004$ ) und durch die verschiedenen Standorte ( $F$ -Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 8,119 und  $P = 0,0001$ ). Besonders ausgeprägte Veränderungen der Pilzgemeinschaft während der Inkubationszeit wurden in Süd-, Nordfrankreich und Mitteldeutschland beobachtet. In Mitteldeutschland zeigte sich eine zeitliche Veränderung der Pilzgemeinschaft bei der H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlung. Im Gegensatz dazu veränderte sich die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft in Norddeutschland und Portugal unter Laborbedingungen nicht. Die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft wurde sowohl von den Standorten als auch von der Inkubationszeit signifikant beeinflusst ( $F$ -Wert durch zweiseitige ANOVA = 6,8843 und  $P = 5,354 \times 10^{-11}$ ). Zudem wurde eine signifikante zeitliche Verschiebung der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft festgestellt ( $F$ -Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 1,657 und  $P = 0,0342$ ).

Diese Ergebnisse deuten auf komplexe Wechselwirkungen zwischen Holzschutzmittelbehandlungen, Standortfaktoren und zeitlichen Veränderungen in Bezug auf die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaften hin. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die genauen Mechanismen und ökologischen Implikationen dieser Interaktionen zu verstehen.

### 3.2.4. Dynamik der bakteriellen Gemeinschaftsstruktur im Boden

Die bakterielle Gemeinschaftsstruktur aller untersuchten Standorte wurde während der gesamten Inkubationszeit von folgenden dominanten Phyla geprägt: Actinobacteria, Proteobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria, Kandidatentaxa TM7, Firmicutes, Planctomycetes, Gemmatimonadetes und Bacteroidetes (Abbildung B 2). Die relative Abundanz dieser bakteriellen Phyla unterschied sich auf Phylumebene nicht zwischen den Standorten. Auf Familienebene hingegen waren deutliche standortspezifische Unterschiede in der Verteilung der relativen Abundanz erkennbar, wobei die Mehrheit der Familien den Acidobacteria zugeordnet werden konnte (Abbildung 15). Die Standorte in Nord- und Mitteldeutschland sowie Portugal wiesen ähnliche Muster in der Abundanz der Bakterienfamilien auf, unterschieden sich jedoch deutlich von den Standorten in Nord- und Südfrankreich.

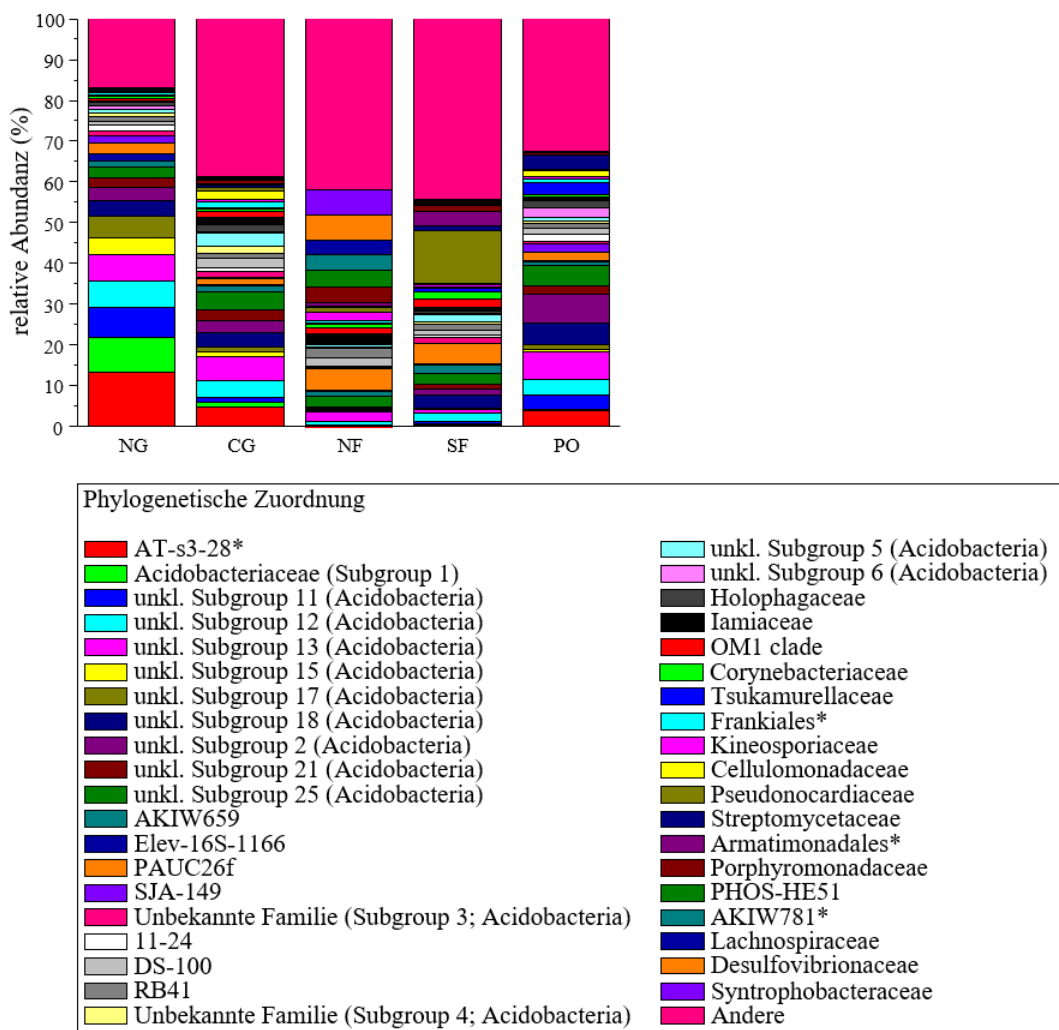


Abbildung 15 Verteilung der abundanten bakteriellen OTUs zu den jeweiligen taxonomischen Familien der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal) aus den Erdinkubationsversuchen. Insgesamt wurden  $2,85 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 7155 Sequenzen pro Probe normiert ( $n = 21$ ). Die Legende fasst die Farbkennung der Phyla zusammen. Die mit \* gekennzeichneten unbekannt Familien wurden ihrer Ordnung zugewiesen, eine tiefere taxonomische Auflösung war nicht möglich. Unter „Andere“ wurden OTUs aufgeführt, deren Vorkommen  $\leq 3$  in einem Standort war, deren Prozentsatz entweder der relativen Abundanz  $\leq 2\%$  entsprach oder deren Ordnung nicht klassifiziert wurde.

Bei der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Bakterien-OTUs und Holzabbau wurde die relative Abundanz der Bakterien an der Boden-Holz-Grenzfläche mit der im Referenzboden verglichen. Im Gegensatz zu den pilzlichen OTUs zeigten die meisten bakteriellen OTUs keine erhöhte relative Abundanz an der Boden-Holz-Grenzfläche im Vergleich zum Referenzboden. Eine Ausnahme bildete die Gattung *Anaeromyxobacter* in Nordfrankreich, die während der Inkubationszeit bei allen Behandlungen, insbesondere bei der Cu-Behandlung, eine höhere Abundanz aufwies (Tabelle B 8 im Anhang).

Folgende Bakteriengattungen zeigten sowohl an der Boden-Holz-Grenzfläche als auch in den Referenzbodenproben vergleichsweise hohe Werte der relativen Abundanz:

In Norddeutschland zeigten die Gattungen *Bacillus* und *Acidothermus* eine konsistente Präsenz über alle Behandlungen hinweg. *Bacillus* wies eine relative Abundanz zwischen 2 % bis 7 % auf, während *Acidothermus* mit 8 % bis 19 % relativer Abundanz vertreten war (Tabelle B 6 im Anhang). Die Proben aus Mitteldeutschland zeigten eine Dynamik der Gattung *Acidothermus*. Hier wurde eine zunehmende relative Abundanz dieser Gattung speziell bei den kupferhaltigen Behandlungen (CuTriQAC und Cu) im Verlauf der Inkubationszeit beobachtet (Tabelle B 7 im Anhang). In Südfrankreich dominierte die Gattung *Micrococcus* mit einer hohen relativen Abundanz über alle untersuchten Behandlungen hinweg (Tabelle B 9 im Anhang). Die Proben aus Nordfrankreich zeichneten sich durch eine stabile Präsenz der Gattung *Ramlibacter* aus. Diese Gattung zeigte eine konstante relative Abundanz von unter 10 % bei allen durchgeführten Behandlungen (Tabelle B 8 im Anhang). In Portugal wurde bei der nicht klassifizierte Gattung *D111* eine zunehmende relative Abundanz während der Inkubationszeit, unabhängig von der Art der Behandlung, beobachtet (Tabelle B 10 im Anhang). Die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft zeigte während der Inkubationszeit und der verschiedenen Behandlungen geringere Veränderungen als die der Pilzgemeinschaft (vergleiche Abbildung 14 mit Abbildung 17).

Diese standortspezifischen Beobachtungen unterstreichen die Variabilität der bakteriellen Gemeinschaften in Abhängigkeit von geografischen und möglicherweise auch klimatischen Faktoren sowie ihre unterschiedlichen Reaktionen auf die angewandten Behandlungen. Zur Quantifizierung der Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaften auf Gattungsebene in den untersuchten Proben wurde auch hier der Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) verwendet.

## Ergebnisse

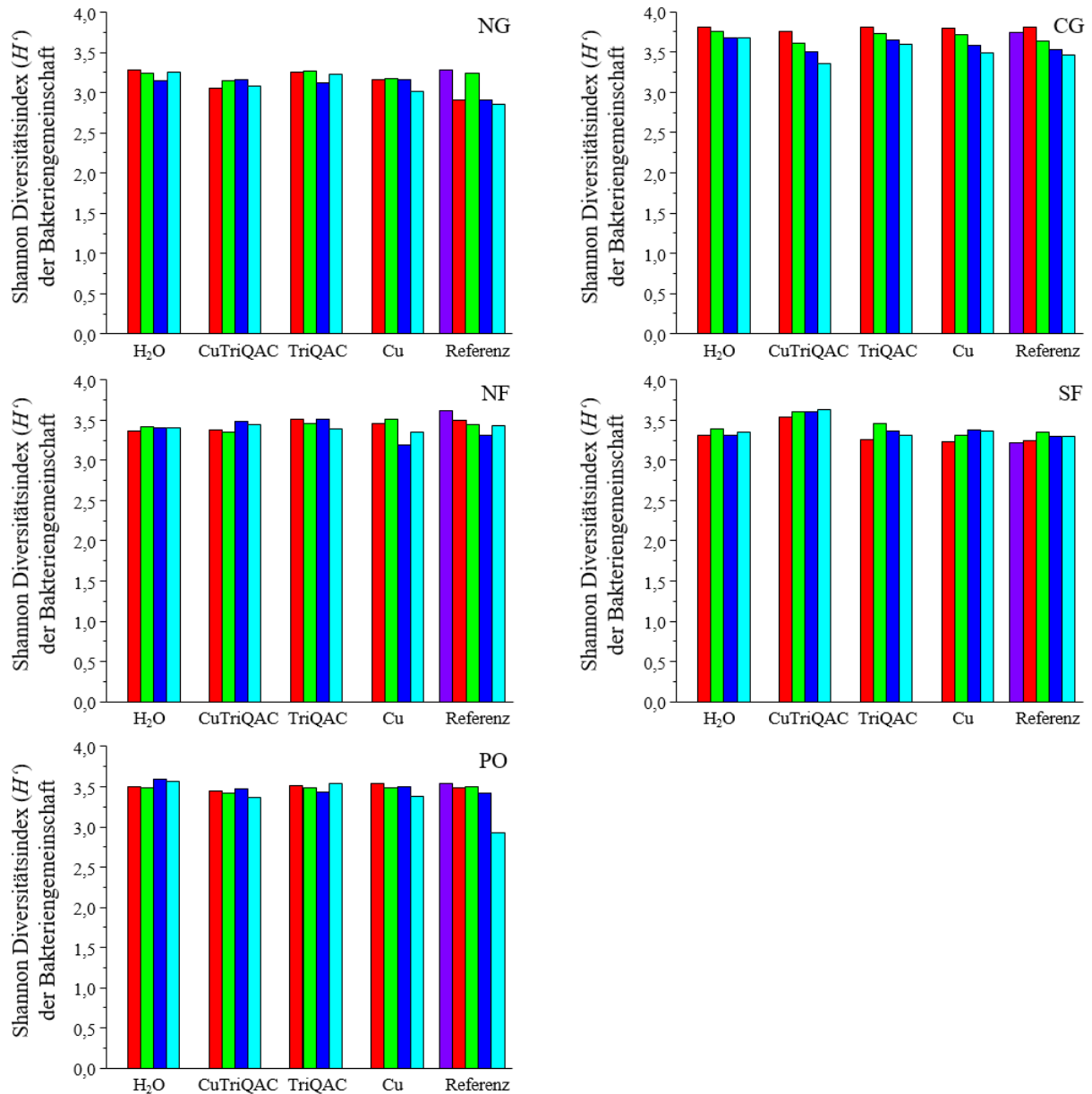


Abbildung 16 Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) von bakteriellen OTUs zur Beurteilung der Artenvielfalt. Abgeleitet von den fünf Standorten (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal) und vier Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC, Cu und Referenz) während der Inkubationszeit. Die Balkenfarbe bezieht sich auf die Inkubationszeit (violett, 0 Wochen, rot, 8 Wochen; grün, 16 Wochen; blau, 24 Wochen; türkis, 32 Wochen).

Im Vergleich zur Pilzgemeinschaft zeigte die Bakteriengemeinschaft eine gleichmäßigere Verteilung der Diversität über die verschiedenen Standorte während der Inkubationszeit. Zudem schien die Bakteriengemeinschaft weniger stark auf die Behandlungen mit Holzschutzmitteln zu reagieren (Abbildung 16).

## Ergebnisse

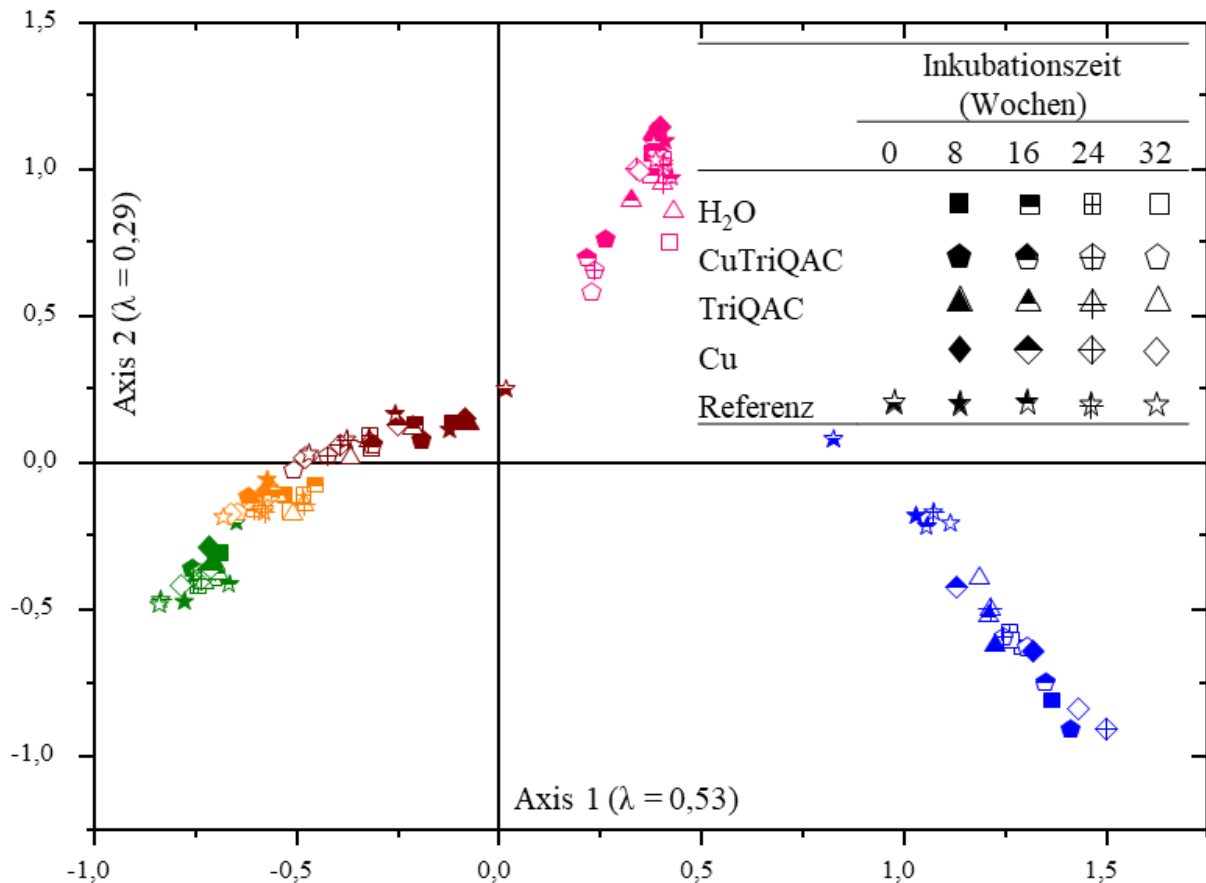


Abbildung 17 Korrespondenzanalyse der bakteriellen 16S rRNA-Gen basierten Gemeinschaftsstruktur der fünf Standorte (grün, NG: Norddeutschland; braun, CG: Mitteldeutschland; blau, NF: Nordfrankreich; pink, SF: Südfrankreich; orange, PO: Portugal), fünf Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, TriQAC, Cu und Referenz) und fünf Probenahmezeiten (0, 8, 16, 24 und 32 Wochen). Die Legende fasst die Symbole der Behandlungen und Inkubationszeit zusammen. Eigenwerte sind auf den Achsen der Abbildungen angegeben.

Die Analyse der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft zeigte signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Standorten ( $F$ -Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 21,249 und  $P = 0,0001$ ) (Abbildung 17). Interessanterweise hatte die Behandlung mit Holzschutzmitteln keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft ( $F$ -Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 1,461 und  $P = 0,1785$ ). Eine zweiseitige ANOVA hatte gezeigt, dass sowohl die Standorte als auch die Inkubationszeit einen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft hatten ( $F$ -Wert durch zweiseitige ANOVA = 2,9925 und  $P = 0,0006$ ). Bei der Betrachtung der Ähnlichkeiten zwischen den Bakteriengemeinschaften fiel auf, dass die Gemeinschaften in Nord- und Mitteldeutschland sowie Portugal größere Ähnlichkeiten aufwiesen als jene in Nord- und Südfrankreich. In Nordfrankreich wurden Veränderungen in der bakteriellen Zusammensetzung während der Inkubationszeit beobachtet. In Südfrankreich zeigte sich bei der CuTriQAC-Behandlung eine abweichende Entwicklung der bakteriellen Zusammensetzung im Vergleich zu den anderen Behandlungen. Trotz dieser beobachteten Veränderung zeigte die statistische Analyse keine signifikante Verschiebung der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft über die Zeit ( $F$ -Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 1,631 und  $P = 0,1316$ ).

Diese Ergebnisse deuten auf komplexe Wechselwirkungen zwischen Standortfaktoren und zeitlichen Einflüssen auf die Bakteriengemeinschaften hin, während der Einfluss der

Holzschutzmittelbehandlungen weniger ausgeprägt zu sein scheint. Weitere Untersuchungen könnten dazu beitragen, die zugrundeliegenden Mechanismen dieser Beobachtungen besser zu verstehen.

Die Analyse der mikrobiellen Gemeinschaften hatte unterschiedliche Muster für Pilze und Bakterien aufgezeigt. Die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaften zeigte signifikante Unterschiede sowohl zwischen den Standorten als auch in Reaktion auf die Behandlung der Holzprüfkörper. Im Gegensatz dazu wies die Bakteriengemeinschaft zwar deutliche standortspezifische Unterschiede auf, zeigte aber keine statistisch signifikanten Veränderungen in Bezug auf die Holzprüfkörperbehandlungen. Die beobachteten Unterschiede in den mikrobiellen Gemeinschaftsstrukturen zwischen den Standorten deuten auf die Bedeutung lokaler Umweltfaktoren hin. Die Ergebnisse der Korrespondenzanalyse (CA) stimmten mit den beobachteten Verteilungsmustern der Pilze und Bakterien überein.

### **3.3. Auswirkungen kupferhaltiger Holzschutzmittel auf die mikrobielle Gemeinschaftsstruktur entlang des Gradienten von der Boden-Holz-Grenzfläche bis ins Holzinne**

Ziel der Freilandstudien war es zu überprüfen, ob Holzschutzmittel einen ähnlichen Effekt wie in den Laborversuchen auf die Diversität der einheimischen Pilz- und Bakteriengemeinschaften haben. Durch die Probenahme der Holzprüfkörper in Höhe der Bodenkontaktzone am äußeren Rand und in verschiedenen Holztiefen waren Aussagen in der räumlichen Auflösung der abbauaktiven Pilze und Bakterien möglich.

#### **3.3.1. Quantitative Veränderungen der pilzlichen und bakteriellen Genkopien entlang des Gradienten von der Boden-Holz-Grenzfläche zum Holzinne**

Zu Beginn der Freilandstudien war die Anzahl der Pilz-basierten Genkopien im Referenzboden vergleichbar mit der Anzahl der Pilz-basierten Genkopien, die in den Labor-Inkubationsstudien für die Standorte Nord- und Mitteldeutschland ermittelt wurden. Dies deutet darauf hin, dass ähnliche Ausgangsbedingungen vorlagen (vgl. Abbildung 18 I und Abbildung 10).

## Ergebnisse

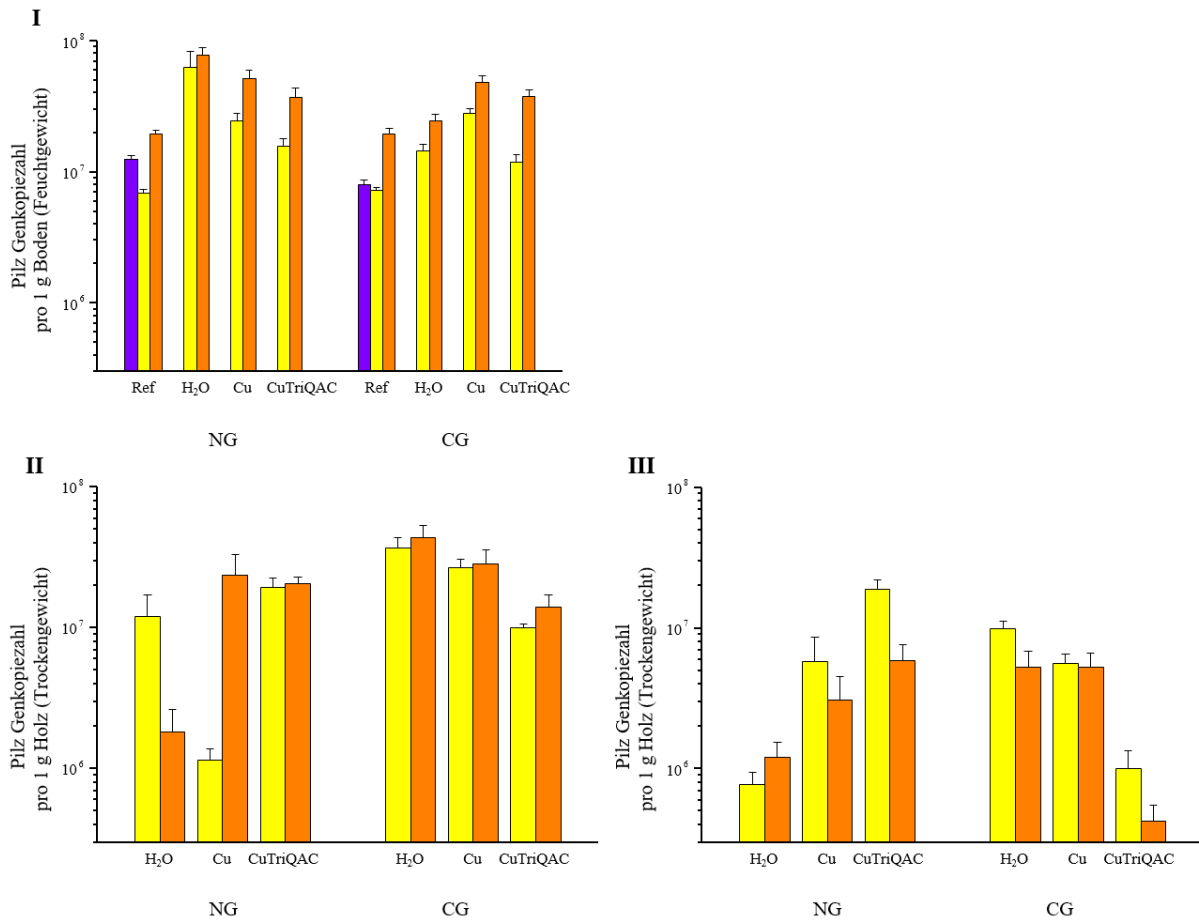


Abbildung 18 Pilzliche Genkopiezahl der Bodenproben (I, Boden-Holz-Grenzfläche) sowie in der ersten (II, 1 mm tangential in das Splintholz) und zweiten Holztiefe (III, 7 mm tangential in das Splintholz). Ref: Referenzboden. Behandlungen: H<sub>2</sub>O, Cu, CuTriQAC; Standorte: NG: Norddeutschland, CG: Mitteldeutschland; Zeitraum: 0 (violett), 17 (gelb) und 36 (orange) Wochen Inkubation; Fehlerbalken zeigen Standardfehler (n = 4).

Das Vorhandensein von Holz führte in Norddeutschland zu einem signifikanten Anstieg der Pilz-basierten Genkopien an der Boden-Holz-Grenzfläche im Vergleich zum Referenzboden ohne Holzkontakt ( $P < 0,001$ ), während in Mitteldeutschland kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte ( $P > 0,05$ ). Die Referenzböden wiesen die geringste Anzahl von Pilz-basierten Genkopien auf, die während der Inkubationszeit anstieg. In den Böden aus Nord- und Mitteldeutschland war die Anzahl der Pilz-basierten Genkopien ähnlich und erhöhte sich während der Cu-Behandlung an (Abbildung 18 I). In Norddeutschland wurde die höchste Anzahl an Pilz-basierten Genkopien bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung ermittelt. Nach 17 Wochen Inkubation waren die Pilz-basierten Genkopien in der H<sub>2</sub>O-Behandlung in Norddeutschland signifikant höher als in Mitteldeutschland ( $P < 0,001$ ). Im Vergleich dazu zeigte die Cu- und CuTriQAC-Behandlung während der Inkubationszeit einen Anstieg der Pilz-basierten Genkopien, jedoch blieb die Anzahl geringer als bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung. In Mitteldeutschland nahm die Anzahl der Pilz-basierten Genkopien während der Inkubationszeit sowohl in allen Behandlungen als auch im Referenzboden zu. Zudem wurde bei den kupferhaltigen Holzschutzmitteln eine höhere Anzahl von Pilz-basierten Genkopien im Vergleich zur H<sub>2</sub>O-Behandlung festgestellt.

In der ersten Holztiefe (1 mm im Holz) waren die Pilz-basierten Genkopien im Cu-behandeltem Holz für beide Standorte nicht signifikant reduziert ( $P > 0,05$ ). In Norddeutschland wurde ein Anstieg der Anzahl der Pilz-basierten Genkopien bei der Cu-Behandlung und ein Rückgang bei

der H<sub>2</sub>O-Behandlung beobachtet (Abbildung 18 II). In Mitteldeutschland wurde im CuTriQAC-behandelte Holz während der Inkubationszeit eine signifikant niedrigere Anzahl an Pilz-basierten Genkopien im Vergleich zu H<sub>2</sub>O-behandeltem Holz festgestellt ( $P < 0,01$ ). Bei den kupferhaltigen Behandlungen wurden im Vergleich zur H<sub>2</sub>O-Behandlung weniger Pilz-basierten Genkopien nachgewiesen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass in der Cu-Behandlung mehr Pilz-basierten Genkopien festgestellt wurden als in der CuTriQAC-Behandlung. Die CuTriQAC-Behandlung zeigte einen synergistischen Effekt von Kupfer in Kombination mit den Co-Bioziden, was zu einer geringeren Anzahl an Pilz-basierten Genkopien führte.

In der zweiten Holztiefe (7 mm im Holz) wurden im Vergleich zur ersten Holztiefe weniger Pilz-basierte Genkopien nachgewiesen (Abbildung 18 III). Die Pilz-basierten Genkopien verringerte sich signifikant in der CuTriQAC-Behandlung in Nord- und Mitteldeutschland ( $P < 0,001$ ), während in den Cu-Behandlungen keine signifikante Veränderung festgestellt wurde ( $P > 0,05$ ) im Vergleich zum H<sub>2</sub>O-behandeltem Holz an beiden Standorten. In Norddeutschland wurde in der zweiten Holztiefe während der Inkubationszeit bei allen kupferhaltigen Behandlungen eine Abnahme der Pilz-basierten Genkopien beobachtet. Ähnlich wie in der ersten Holztiefe wiesen die H<sub>2</sub>O-Behandlungen die geringste Anzahl an Pilz-basierten Genkopien auf. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die kupferhaltigen Behandlungen, insbesondere die CuTriQAC-Behandlung, eine Wirkung auf die Pilz-basierten Genkopien haben.

## Ergebnisse

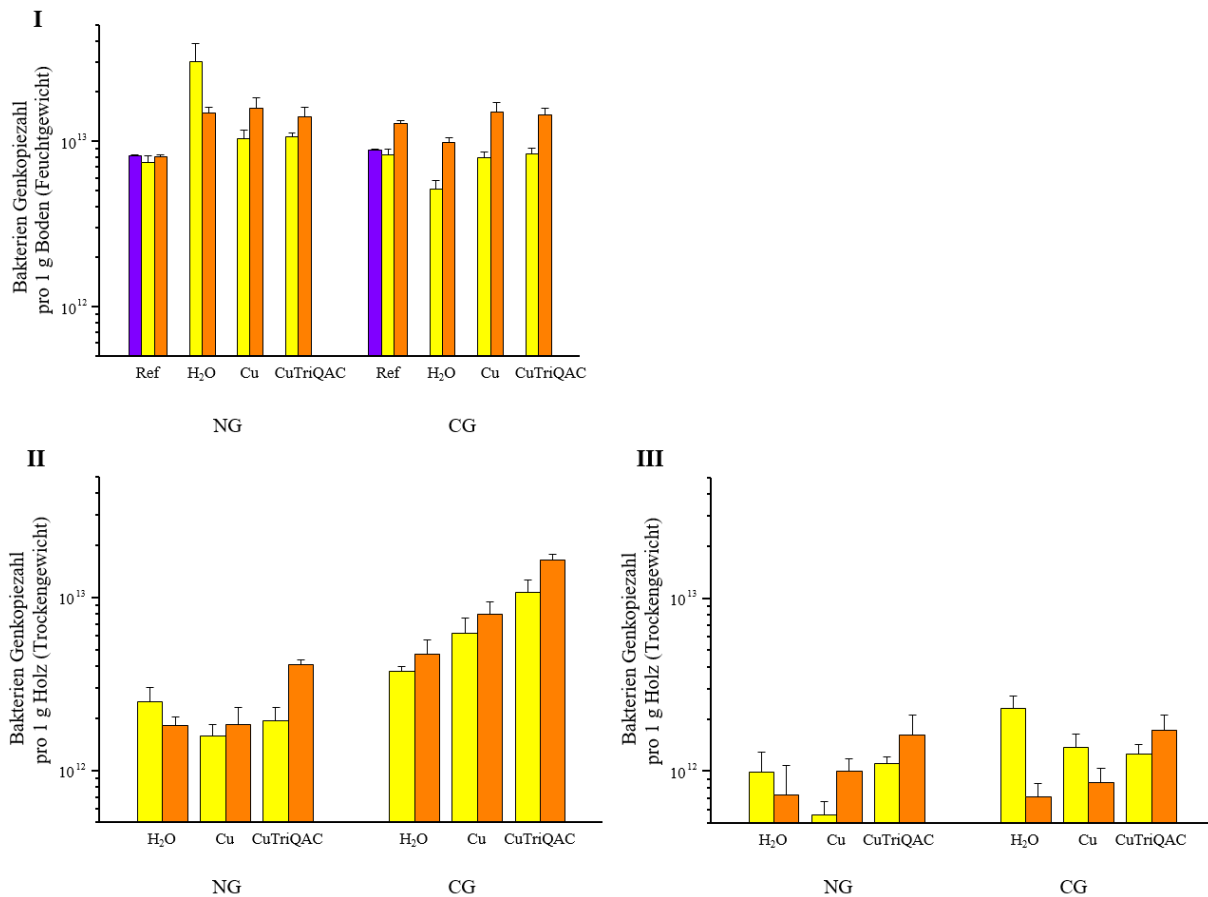


Abbildung 19 Bakterien Genkopiezahl der Bodenproben (I, Boden-Holz-Grenzfläche) sowie in der ersten (II, 1 mm tangential in das Splintholz) und zweiten Holztiefe (III, 7 mm tangential in das Splintholz). Ref: Referenzboden. Behandlungen: H<sub>2</sub>O, Cu, CuTriQAC; Standorte: NG: Norddeutschland, CG: Mitteldeutschland; Zeitraum: 0 (violett), 17 (gelb) und 36 (orange) Wochen Inkubation; Fehlerbalken zeigen Standardfehler (n = 4).

Zu Beginn der Freilandstudie waren die bakteriellen Genkopien im Boden in Nord- und Mitteldeutschland um eine Zehnerpotenz höher als in den Laborversuchen (vgl. Abbildung 19, I mit Abbildung 11). Die Anzahl der bakteriellen Genkopien im Boden ohne Holzkontakt und ohne Schutzmittelbehandlung blieb in Norddeutschland während der Inkubationszeit konstant (Abbildung 19 I). Das Vorhandensein von Holz führte in Norddeutschland zu einem signifikanten Anstieg der bakteriellen Genkopiezahlen an der Grenzfläche zwischen Boden und Holz im Vergleich zum Boden ohne Holzkontakt ( $P < 0,001$ ), während in Mitteldeutschland kein signifikanter Unterschied festgestellt wurde ( $P > 0,05$ ). Die Anzahl der bakteriellen Genkopien nahm während der H<sub>2</sub>O-Behandlung im Laufe der Zeit ab, erreichte jedoch nach 17 Wochen in Norddeutschland die höchste Anzahl und war signifikant höher als in Mitteldeutschland ( $P < 0,001$ ). In Mitteldeutschland stieg die Anzahl der bakteriellen Genkopien während der Inkubationszeit für alle Behandlungen sowie für den Referenzboden an, was darauf hindeutet, dass der Einfluss der Behandlungen möglicherweise geringer war als in Norddeutschland.

In der ersten Holztiefe wurden in Mitteldeutschland durchschnittlich mehr als doppelt so viele bakterielle Genkopien nachgewiesen wie in Norddeutschland (Abbildung 19 II). In Norddeutschland wiesen die Cu- und H<sub>2</sub>O-Behandlung eine vergleichbare Anzahl an bakteriellen Genkopien auf. In Mitteldeutschland waren bei den kupferhaltigen Behandlungen mehr bakterielle Genkopien nachweisbar als bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung, was nicht auf einen

schützenden Effekt der Behandlungen hinweist. Bei der CuTriQAC-Behandlung wurde an beiden Standorten und in beiden Holztiefen ein Anstieg der bakteriellen Genkopien festgestellt. In der zweiten Holztiefe wurden in Norddeutschland durchschnittlich 60 % weniger bakterielle Genkopien nachgewiesen als in der ersten Holztiefe, während der Wert in Mitteldeutschland bei 80 % lag (Abbildung 19 III). Zudem zeigten die bakteriellen Genkopien in mit kupferhaltigen Holzschutzmitteln behandeltem Holz in beiden Regionen keine Unterschiede im Vergleich zu den mit H<sub>2</sub>O behandelten Holzproben.

Insgesamt wurden sowohl im Boden als auch im Holz mehr Bakterien als Pilz-basierte Genkopien nachgewiesen. In den Bodenproben stieg die Anzahl der Pilz-basierten und bakteriellen Genkopien während der Inkubationszeit an. In der ersten Holztiefe war die Anzahl der Pilz-basierten und bakteriellen Genkopien in Nord- und Mitteldeutschland höher als in der zweiten Holztiefe. Abgesehen von wenigen Ausnahmen wurden keine signifikanten Veränderungen in der Anzahl der Genkopien festgestellt.

Die Pilze und Bakterien in den Bodenproben aus Mitteldeutschland wiesen am Ende des Freilandversuchs eine höhere Anzahl an Genkopien auf als die Proben aus der H<sub>2</sub>O-Behandlung. Im Holz hingegen war die Anzahl der Pilz-basierten Genkopien in den kupferhaltigen Behandlungen, insbesondere bei der CuTriQAC-Behandlung, in beiden Holztiefen niedriger als in der H<sub>2</sub>O-Behandlung. Dies legt nahe, dass die kupferhaltigen Behandlungen im Holz einen stärkeren Einfluss auf die mikrobielle Gemeinschaft in Mitteldeutschland hatten. In Norddeutschland hingegen waren in den Holztiefen mehr Pilz-basierten Genkopien in den kupferhaltigen Behandlungen nachweisbar als in der H<sub>2</sub>O-Behandlung, was kein einheitliches Muster für den Einfluss der Behandlungen erkennen lässt. Ähnlich wie bei den Ergebnissen aus den Laborversuchen zeigt sich auch in den Freilandversuchen kein klarer Trend hinsichtlich der Wirksamkeit der eingesetzten Behandlungen. Daher ist es sinnvoll, nicht nur die qPCR-Ergebnisse und die damit verbundenen Genkopien zu betrachten, sondern die mikrobielle Diversität genauer zu untersuchen. Dies ermöglicht eine umfassendere Analyse der taxonomischen Zusammensetzung und der taxonomischen Vielfalt der Pilz- und Bakteriengemeinschaften, um den Einfluss der Holzschutzmittelbehandlungen besser zu verstehen.

### **3.3.2. Veränderung der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft durch den Einsatz kupferhaltiger Holzschutzmittel**

In Nord- und Mitteldeutschland dominierten die drei Pilz Phyla Ascomycota, Basidiomycota und Zygomycota (Abbildung C 1). Die Analyse der Verteilung der Pilzfamilien zeigte deutliche Unterschiede sowohl zwischen Boden und Holz als auch zwischen Nord- und Mitteldeutschland (Abbildung 20).

## Ergebnisse

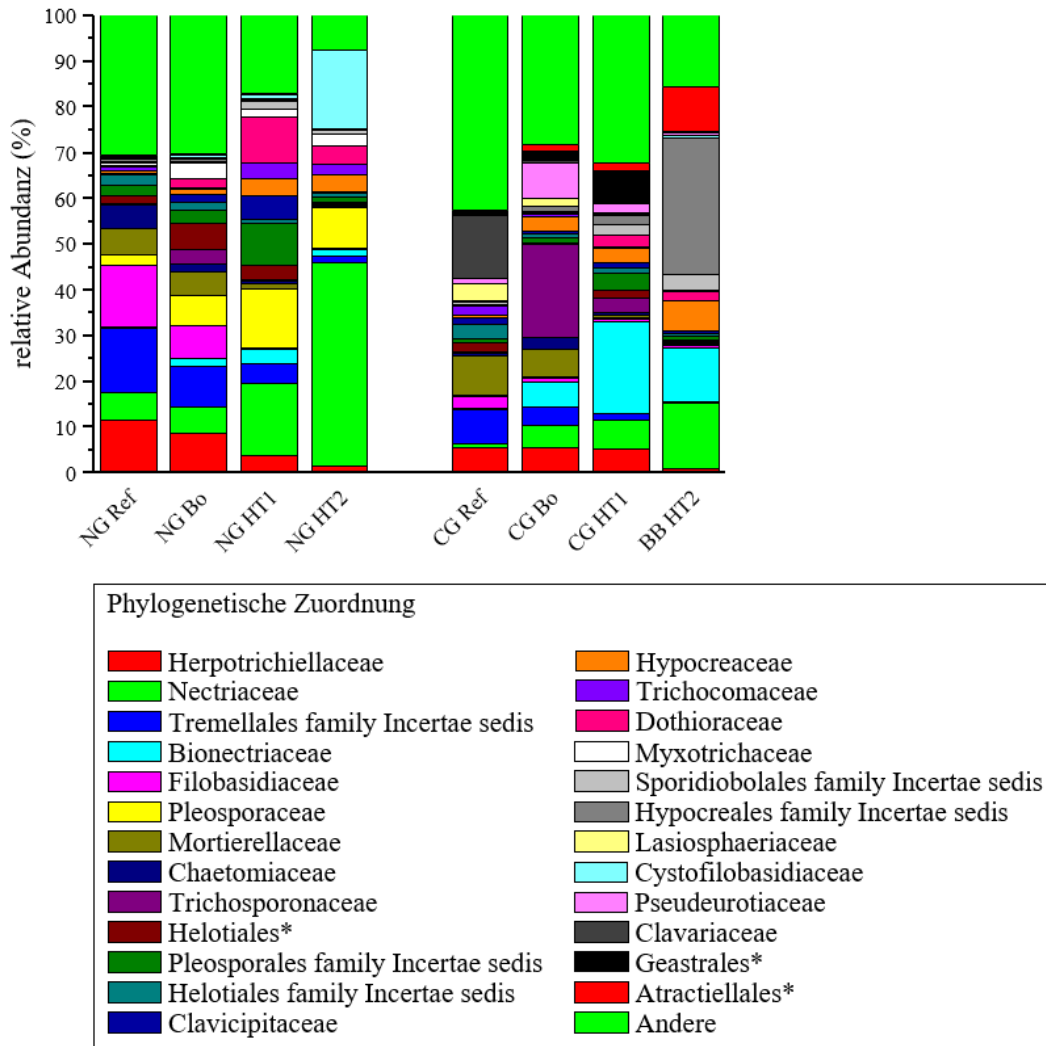


Abbildung 20 Verteilung der abundanten Pilz OTUs zu den jeweiligen taxonomischen Familien der beiden Standorte (NG: Norddeutschland, CG: Mitteldeutschland) aus den Freilandstudien. Die Proben unterscheiden sich wie folgt: Ref = Referenzboden (ohne Kontakt zu Holz und Behandlung, n = 3), Bo = Bodenprobe (Boden-Holz-Grenzfläche, n = 6), HT1 = erste Holztiefe (1 mm tangential in das Splintholz, n = 6), HT2 = zweite Holztiefe (7 mm tangential in das Splintholz, n = 6). Insgesamt wurden  $1,05 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 1455 Sequenzen pro Proben normiert. Die Legende fasst die Farbkennung der Familien zusammen. Die mit \* gekennzeichneten unbekannteren Familien wurden ihrer Ordnung zugewiesen, eine tiefere Auflösung war nicht möglich. Unter „Andere“ wurden OTUs aufgeführt, deren Vorkommen  $\leq 3$  in einem Standort war, deren Prozentsatz entweder der relativen Abundanz  $\leq 2\%$  entsprach oder deren Ordnung nicht klassifiziert wurde.

In Norddeutschland war die relative Abundanz der Familie Nectriaceae, zu der auch die Gattung *Fusarium* gehört, in beiden Holzstufen (HT1: 16%; HT2: 45%) höher als im Boden (durchschnittlich 6%). In Mitteldeutschland wurde in beiden Holzstufen (HT1: 20%; HT2: 12%) eine höhere relative Abundanz der Familie Bionectriaceae, die die Gattung *Clonostachys* umfasst, im Vergleich zum Boden festgestellt. Zudem wurde in der Boden-Holz-Grenzfläche in Mitteldeutschland eine hohe relative Abundanz der Familie Trichosporonaceae mit der Gattung *Trichosporon* festgestellt, während in der zweiten Holzstiefe die Familie incertae sedis innerhalb der Ordnung Hypocreales mit der Gattung *Ilyonectria* dominant war.

Die Mitglieder der Pilzgemeinschaft mit höherer relativer Abundanz setzten sich hauptsächlich aus saprotrophen Gattungen zusammen. In den Bodenproben von der Boden-Holz-Grenzfläche in Norddeutschland wurde die Gattung *Alternaria* nach 17 Wochen Inkubation in der H<sub>2</sub>O-Behandlung mit einer relativen Abundanz von 24,2% nachgewiesen (Tabelle C 1 im Anhang), die am Ende der Freilandstudie auf 0,0% zurückging. In Norddeutschland war die Gattung

*Alternaria* in beiden Holztielen in hoher und konstanter relativer Abundanz vorhanden (Tabelle C 1 im Anhang), insbesondere in Holzprüfkörpern, die mit kupferhaltigen Mitteln behandelt wurden. In der zweiten Holztiefe der CuTriQAC-Behandlung nahm die relative Abundanz während der Inkubationszeit zu. Im Gegensatz dazu war die Gattung *Alternaria* in den Bodenproben aus Mitteldeutschland nicht nachweisbar. Die Gattungen *Exophiala* und *Cryptococcus*, die zur Familie Filobasidiaceae und zur Familie incertae sedis innerhalb der Ordnung Tremellales gehören, wurden während der Inkubationszeit in Norddeutschland bei allen Behandlungen sowie im Referenzboden nachgewiesen (Tabelle C 1 im Anhang). Diese Gattungen wurden im Boden häufiger nachgewiesen als im Holz. In Mitteldeutschland waren zudem auch Vertreter der Gattungen *Cryptococcus* (Ordnung Tremellales, Familie incertae sedis) und *Exophiala* in allen Bodenproben vorhanden (Tabelle C 2 im Anhang).

Die Gattung *Aureobasidium* war in Norddeutschland hauptsächlich in der ersten Holztiefe in allen Holzbehandlungen mit höherer relativer Abundanz vorhanden, mit Ausnahme der zweiten Holztiefe bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung. Bei der Cu-Behandlung fielen insbesondere die Gattungen *Fusarium* und *Mrakia* durch höhere relative Abundanzen auf. Die Gattung *Mrakia* war in der zweiten Holztiefe ausschließlich bei der Cu-Behandlung in hoher und über die Zeit zunehmender relativer Abundanz nachweisbar. Im Gegensatz dazu wurde die Gattung *Fusarium* bei allen Behandlungen beobachtet, wobei die höchste relative Abundanz in der zweiten Holztiefe bei der Cu-Behandlung festgestellt wurde.

Die Gattung *Pochonia* wurde in Norddeutschland während der CuTriQAC-Behandlung in der ersten Holztiefe nachgewiesen, wobei die relative Abundanz während der Inkubationszeit anstieg. Zudem wurde für die nicht klassifizierte Gattung der Familie Nectriaceae in der zweiten Holztiefe eine hohe relative Abundanz während der CuTriQAC- und Cu-Behandlungen beobachtet. Beide Gattungen gehören zur Klasse der Sordariomycetes. Vertreter der Gattung *Trichoderma* wurden ebenfalls in Nord- und Mitteldeutschland bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung in der zweiten Holztiefe nachgewiesen.

In Mitteldeutschland waren die Gattungen *Pseudeurotium* und *Trichosporon* vor allem im Boden und in den kupferhaltigen Holzprüfkörpern nachweisbar, jedoch nicht im Referenzboden (Tabelle C 2 im Anhang). Bei der nicht klassifizierten Gattung Bionectriaceae wurde während der Inkubationszeit in der ersten Holztiefe eine Zunahme der relativen Abundanz bei der CuTriQAC-Behandlung beobachtet. Die relative Abundanz der Gattungen *Clonostachys* und *Ilyonectria* war hauptsächlich bei den kupferhaltigen Behandlungen in Mitteldeutschland vorhanden und nahm mit zunehmender Holztiefe zu. Die Gattung *Ilyonectria* war während der Cu- und der CuTriQAC-Behandlung in der zweiten Holztiefe in hoher relativer Abundanz nachweisbar, wobei diese im Laufe der Inkubation anstieg. Beide Gattungen, *Clonostachys* und *Ilyonectria*, gehören zur Ordnung der Hypocreales.

## Ergebnisse

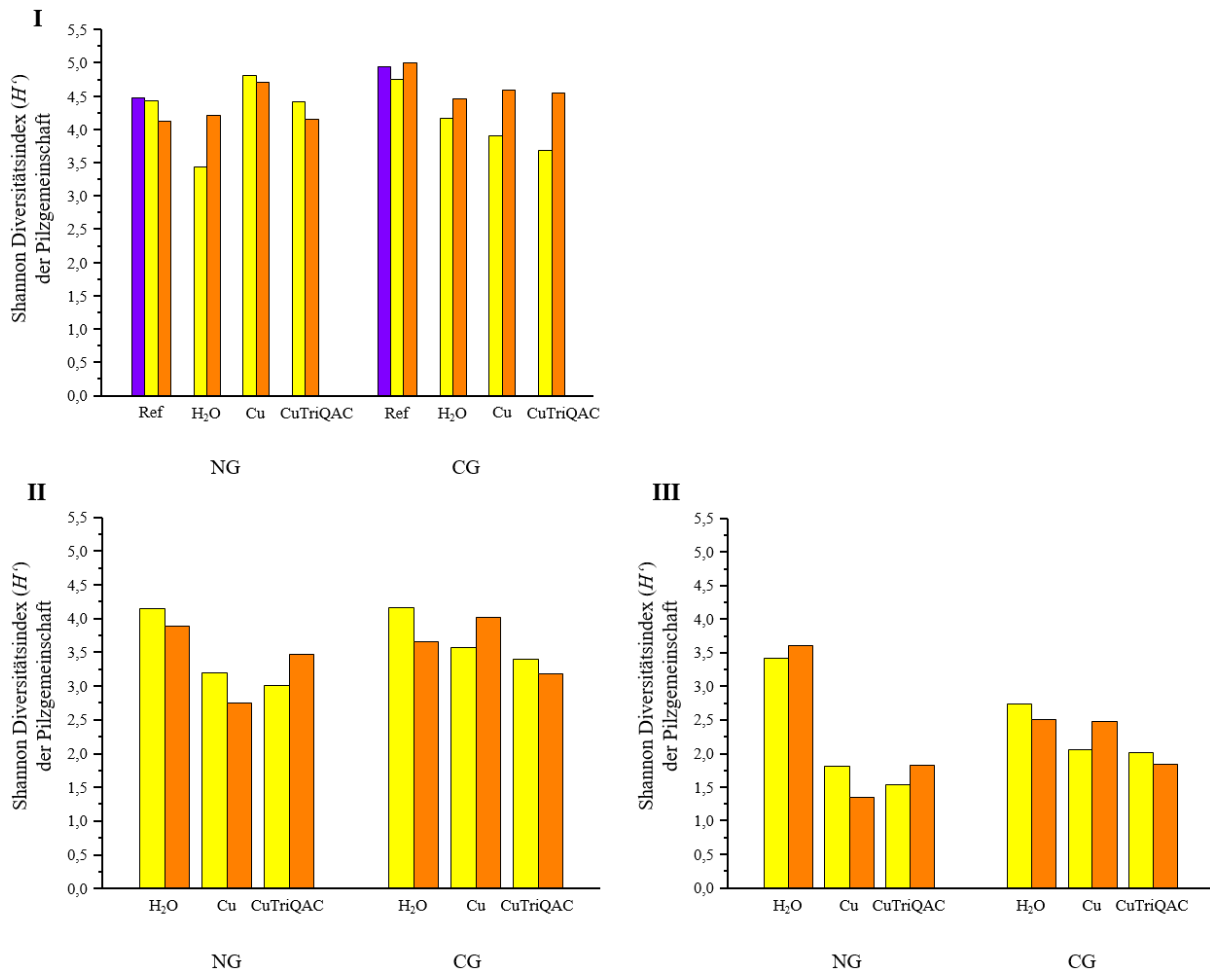


Abbildung 21 Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) der Pilz OTUs zur Beurteilung der Artenvielfalt. Abgeleitet aus den beiden Standorten (NG: Norddeutschland und CG: Mitteldeutschland), drei Behandlungen (Cu, CuTriQAC, H<sub>2</sub>O) und drei Probenarten (I = Boden [Referenzboden und Boden-Holz-Grenzfläche]; II = 1. Holztiefe [1 mm tangential in das Splintholz]; III = 2. Holztiefe [7 mm tangential in das Splintholz]) im Zeitverlauf. Ref: Referenzboden. Balkendiagramme zeigen die Inkubationszeiten (violett, 0 Wochen; gelb, 17 Wochen; orange, 36 Wochen).

Der Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) der Pilzgemeinschaft war in den Bodenproben höher als in den beiden Holz tiefen (Abbildung 21). In Norddeutschland sank der  $H'$ -Wert im Referenzboden und bei der Cu-Behandlung während der Inkubationszeit (Abbildung 21 I), während er in Mitteldeutschland in allen Behandlungen und im Referenzboden anstieg. In der ersten Holz tiefen nahm der Index in Norddeutschland bei der Cu- und H<sub>2</sub>O-Behandlung ab, stieg jedoch bei der CuTriQAC-Behandlung an (Abbildung 21 II). Mit Ausnahme der Cu-Behandlung, die unverändert blieb, nahm der Index in Mitteldeutschland ab. In der zweiten Holz tiefen zeigten sich Standortunterschiede (Abbildung 21 III): In Norddeutschland war der  $H'$ -Wert - mit Ausnahme der H<sub>2</sub>O-Behandlung - geringer als in Mitteldeutschland. Bei der Cu-Behandlung fiel er in Norddeutschland ab, während er in Mitteldeutschland zunahm.

## Ergebnisse

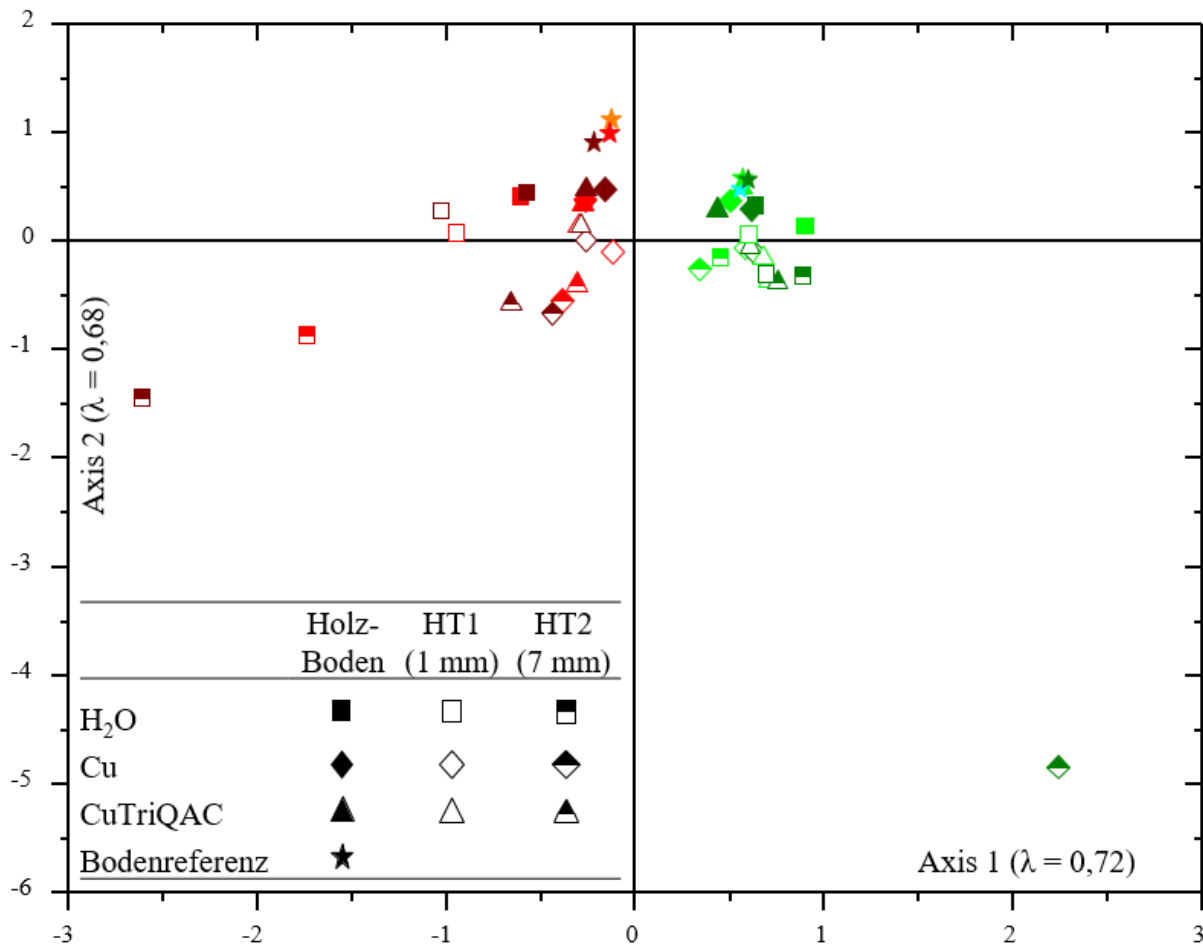


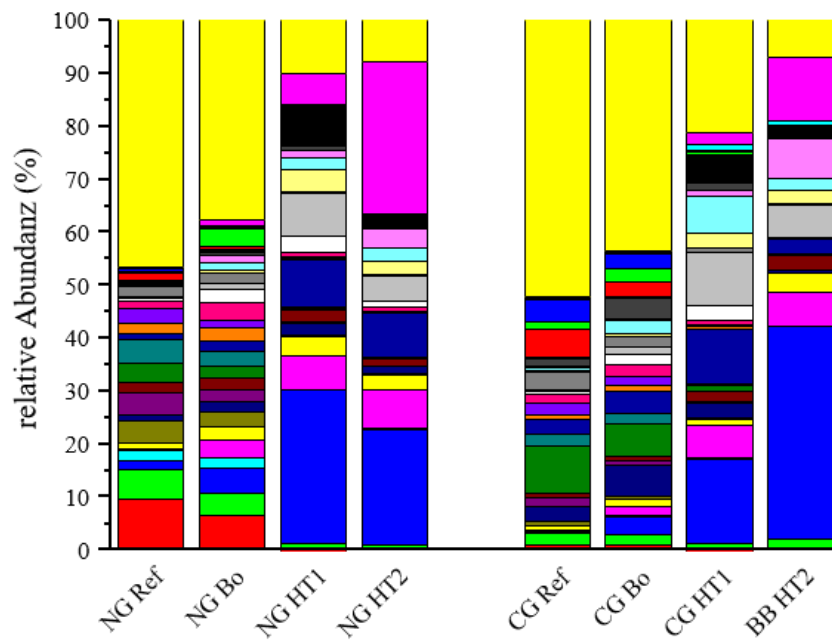
Abbildung 22 Korrespondenzanalyse der pilzlichen ITS-Sequenz basierten Gemeinschaftsstruktur der beiden Standorte (grüne Farbfamilie, Norddeutschland; rote Farbfamilie, Mitteldeutschland), drei Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, Cu und Referenzboden) während der Inkubationszeit (0 Wochen = türkis oder orange; 17 Wochen = hellgrün oder rot; 36 Wochen = dunkelgrün oder braun). Die Legende fasst die Symbole der Behandlungen und Probenart zusammen. Eigenwerte sind auf den Achsen der Abbildungen angegeben.

Die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft unterschied sich zwischen Nord- und Mitteldeutschland (Abbildung 22), wobei die räumlich-zeitliche Entwicklung in Mitteldeutschland ausgeprägter war als in Norddeutschland. Zwischen den Boden- und Holzproben aus Norddeutschland wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Eine Verschiebung der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft wurde vor allem in den Boden- und Holzproben der H<sub>2</sub>O-Behandlung in Mitteldeutschland beobachtet, jedoch nicht in Norddeutschland.

### 3.3.3. Veränderung der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft durch den Einsatz kupferhaltiger Holzschutzmittel

Deutliche Unterschiede in der Verteilung der bakteriellen Phyla wurden zwischen den Bodenproben und Holzstiefen in Nord- und Mitteldeutschland festgestellt (Abbildung C 2). In den beiden Holzstiefen dominierte das Phylum Proteobacteria mit einer hohen relativen Abundanz, während in den Bodenproben verschiedene andere Phyla nachgewiesen wurden. Die folgenden bakteriellen Phyla waren hauptsächlich in den Bodenproben aus Nord- und Mitteldeutschland vorhanden: Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi und Planctomycetes.

## Ergebnisse



### Phylogenetische Zuordnung

<span style="color: red;">■</span> Acidothermaceae	<span style="color: magenta;">■</span> Microbacteriaceae
<span style="color: green;">■</span> Acidobacteriaceae (Subgroup 1)	<span style="color: white;">■</span> Caulobacteraceae
<span style="color: blue;">■</span> Sphingomonadaceae	<span style="color: gray;">■</span> Sphingomonadales*
<span style="color: cyan;">■</span> Geodermatophilaceae	<span style="color: darkgray;">■</span> Hyphomicrobiaceae
<span style="color: magenta;">■</span> Sphingobacteriaceae	<span style="color: yellow;">■</span> Burkholderiaceae
<span style="color: yellow;">■</span> Xanthomonadaceae	<span style="color: lightblue;">■</span> Comamonadaceae
<span style="color: olive;">■</span> Gemmatimonadaceae	<span style="color: pink;">■</span> Oxalobacteraceae
<span style="color: darkblue;">■</span> Chitinophagaceae	<span style="color: black;">■</span> Cytophagaceae
<span style="color: purple;">■</span> Gaiellales*	<span style="color: black;">■</span> Methylobacteriaceae
<span style="color: brown;">■</span> Acetobacteraceae	<span style="color: red;">■</span> DA101 soil group
<span style="color: green;">■</span> Planctomycetaceae	<span style="color: green;">■</span> Flavobacteriaceae
<span style="color: teal;">■</span> unbekannte Familie (Subgroup 3)	<span style="color: blue;">■</span> Subgroup 6*
<span style="color: darkblue;">■</span> Bradyrhizobiaceae	<span style="color: cyan;">■</span> Rhodospirillaceae
<span style="color: orange;">■</span> Rhizobiales Incertae Sedis	<span style="color: magenta;">■</span> Pseudomonadaceae
<span style="color: purple;">■</span> WD2101 soil group*	<span style="color: yellow;">■</span> Andere

Abbildung 23 Verteilung der abundanten bakteriellen OTUs auf die jeweiligen taxonomischen Familien der beiden Standorte (NG: Norddeutschland, CG: Mitteldeutschland) aus den Freilandstudien. Die Proben unterscheiden sich wie folgt: Ref = Referenzboden (ohne Kontakt zu Holz und Behandlung, n = 3), Bo = Bodenprobe (Boden-Holz-Grenzfläche, n = 6), HT1 = erste Holztiefe (1 mm tangential in das Splintholz, n = 6), HT2 = zweite Holztiefe (7 mm tangential in das Splintholz, n = 6). Insgesamt wurden  $1,03 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 8420 Sequenzen pro Proben normiert. Die Legende fasst die Farbgebung der Familien zusammen. Die mit \* gekennzeichneten unbekannt Familien wurden ihrer Ordnung zugewiesen, eine tiefere Auflösung war nicht möglich. Unter „Andere“ wurden OTUs aufgeführt, deren Vorkommen  $\leq 3$  in einem Standort war, deren Prozentsatz entweder der relativen Abundanz  $\leq 2\%$  entsprach oder deren Ordnung nicht klassifiziert wurde.

Die Unterschiede zwischen Boden und Holz nahmen zu, während die Verteilung der Bakterienfamilien in den Holztiefen von Nord- und Mitteldeutschland vergleichbar blieb (Abbildung 23). In den Bodenproben war die Verteilung der relativen Abundanz der Bakterienfamilien in Nord- und Mitteldeutschland homogen und wies keine nennenswerten Abweichungen auf. Die Familien Sphingomonadaceae, zu denen hauptsächlich die Gattungen *Sphingomonas* und *Sphingobium* gehören, sowie die Bradyrhizobiaceae mit der Gattung

*Bradyrhizobium* waren in beiden Holztiefen in Nord- und Mitteldeutschland in höherer relativer Abundanz vertreten. Auch die Familie Pseudomonadaceae mit der Gattung *Pseudomonas* wurde in der zweiten Holztiefe in höherer relativer Abundanz nachgewiesen.

In Nord- und Mitteldeutschland wiesen die Bodenproben von der Boden-Holz-Grenzfläche hinsichtlich der Verteilung der Bakterien keine auffälligen Unterschiede auf (Tabelle C 3 und Tabelle C 4 im Anhang). Eine genauere Betrachtung der relativen Abundanz der bakteriellen Gemeinschaftszusammensetzung hatte gezeigt, dass sechs Gattungen sowohl in Nord- als auch in Mitteldeutschland in hoher Abundanz vorhanden waren. Diese Gattungen traten vorwiegend bei den Cu- und CuTriQAC-Behandlungen in beiden Holztiefen auf.

In der ersten Holztiefe war die Gattung *Methylobacterium* in höherer relativer Abundanz vertreten. Die Gattung *Pseudomonas* trat vor allem in der zweiten Holztiefe auf, wobei die relative Abundanz während der Inkubationszeit abnahm. In Mitteldeutschland dominierten die Cu- und CuTriQAC-Behandlungen durch Mitglieder der Gattungen *Herminiimonas*, *Pedobacter*, *Sphingobium* und *Variovorax*. In der Cu-Behandlung in Norddeutschland wurde hingegen *Mucilaginibacter* nachgewiesen. Für die Gattung *Pedobacter* wurde insbesondere in Mitteldeutschland eine Zunahme der relativen Abundanz bei den kupferhaltigen Behandlungen während der Inkubationszeit beobachtet. Auch die Gattungen *Sphingomonas* und die nicht klassifizierten Bradyrhizobiaceae zeigten bei den kupferhaltigen Behandlungen eine Zunahme der relativen Abundanz. In Mitteldeutschland wurde für *Sphingomonas* eine Zunahme der relativen Abundanz in der zweiten Holztiefe bei den Cu- und H<sub>2</sub>O-Behandlungen festgestellt (Tabelle C 4 im Anhang). Mit Ausnahme der Gattung *Pedobacter*, die zum Phylum Bacteroidetes gehört, wurden die anderen fünf Gattungen dem Phylum der Proteobacteria zugeordnet. Im Gegensatz dazu war das H<sub>2</sub>O-behandelte Holz in Nord- und Mitteldeutschland von Mitgliedern der Gattungen *Burkholderia*, *Luteibacter* und auch *Sphingomonas* geprägt. In Mitteldeutschland waren zusätzlich von *Acidisoma*, *Bradyrhizobium* und *Rahnella* vorhanden, während in Norddeutschland *Pseudomonas* und nicht klassifizierte Bradyrhizobiaceae dominierten.

## Ergebnisse

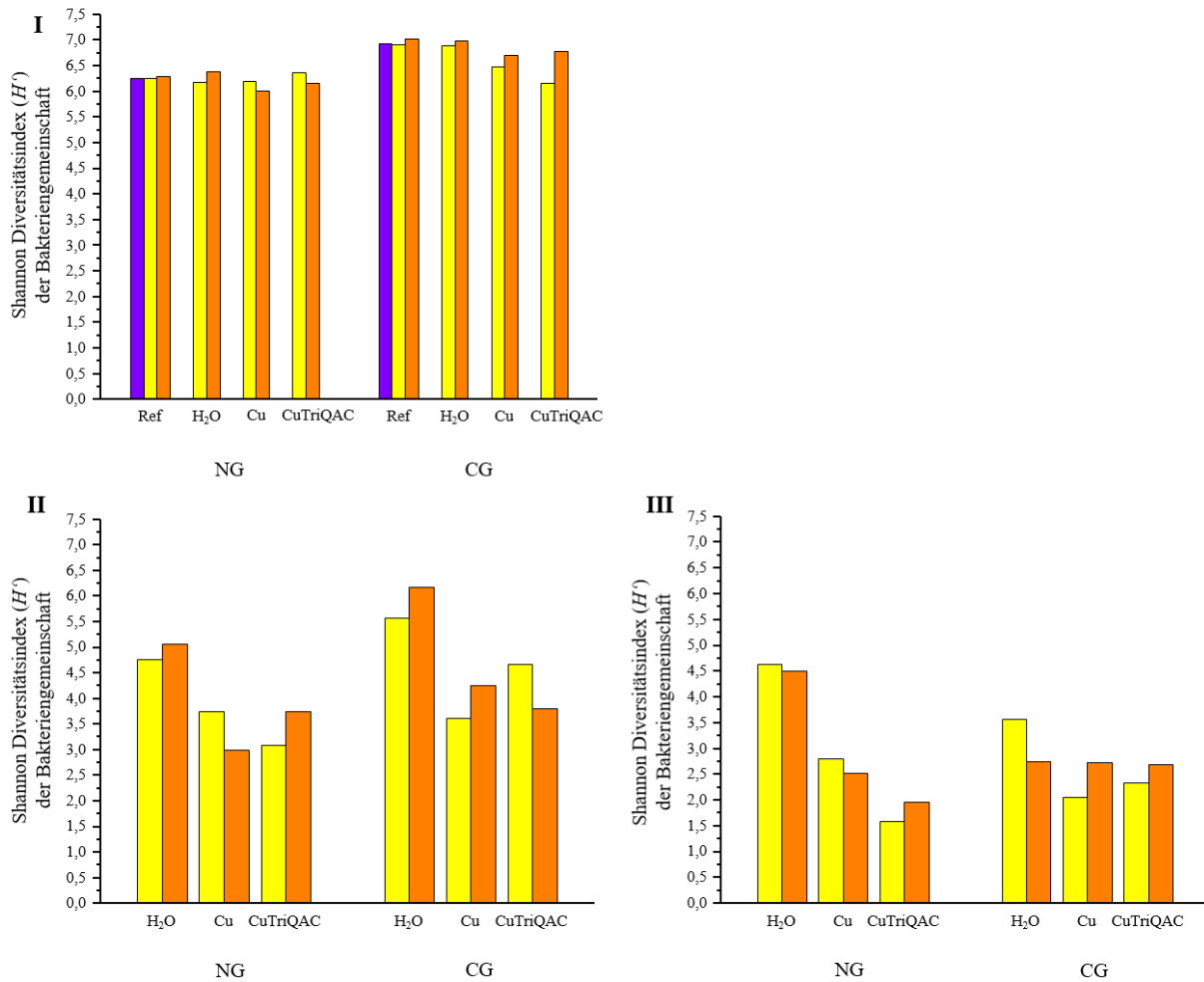


Abbildung 24 Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) der Bakterien OTUs zur Beurteilung der Artenvielfalt. Abgeleitet aus den beiden Standorten (NG: Norddeutschland und CG: Mitteldeutschland), drei Behandlungen (Cu, CuTriQAC, H<sub>2</sub>O) und drei Probenarten (I = Boden [Referenz und Boden-Holz-Grenzfläche]; II = 1. Holztiefe [1 mm tangential in das Splintholz]; III = 2. Holztiefe [7 mm tangential in das Splintholz]) im Zeitverlauf. Ref: Referenzboden. Balkendiagramme zeigen die Inkubationszeiten (violett, 0 Wochen; gelb, 17 Wochen; orange, 36 Wochen).

Der Shannon-Diversitätsindex ( $H'$ ) der Bakteriengemeinschaft unterschied sich in den Bodenproben im Vergleich zu den beiden Holztiefen (Abbildung 24 I). An beiden Standorten stieg der  $H'$ -Wert während der Inkubation bei allen Behandlungen an mit Ausnahme der Cu- und CuTriQAC-Behandlungen in Norddeutschland. In der ersten Holztiefe lag der Index höher als in der zweiten Holztiefe (Abbildung 24 II). In der zweiten Holztiefe erreichte die H<sub>2</sub>O-Behandlung in Norddeutschland den höchsten  $H'$ -Wert (Abbildung 24 III).

## Ergebnisse

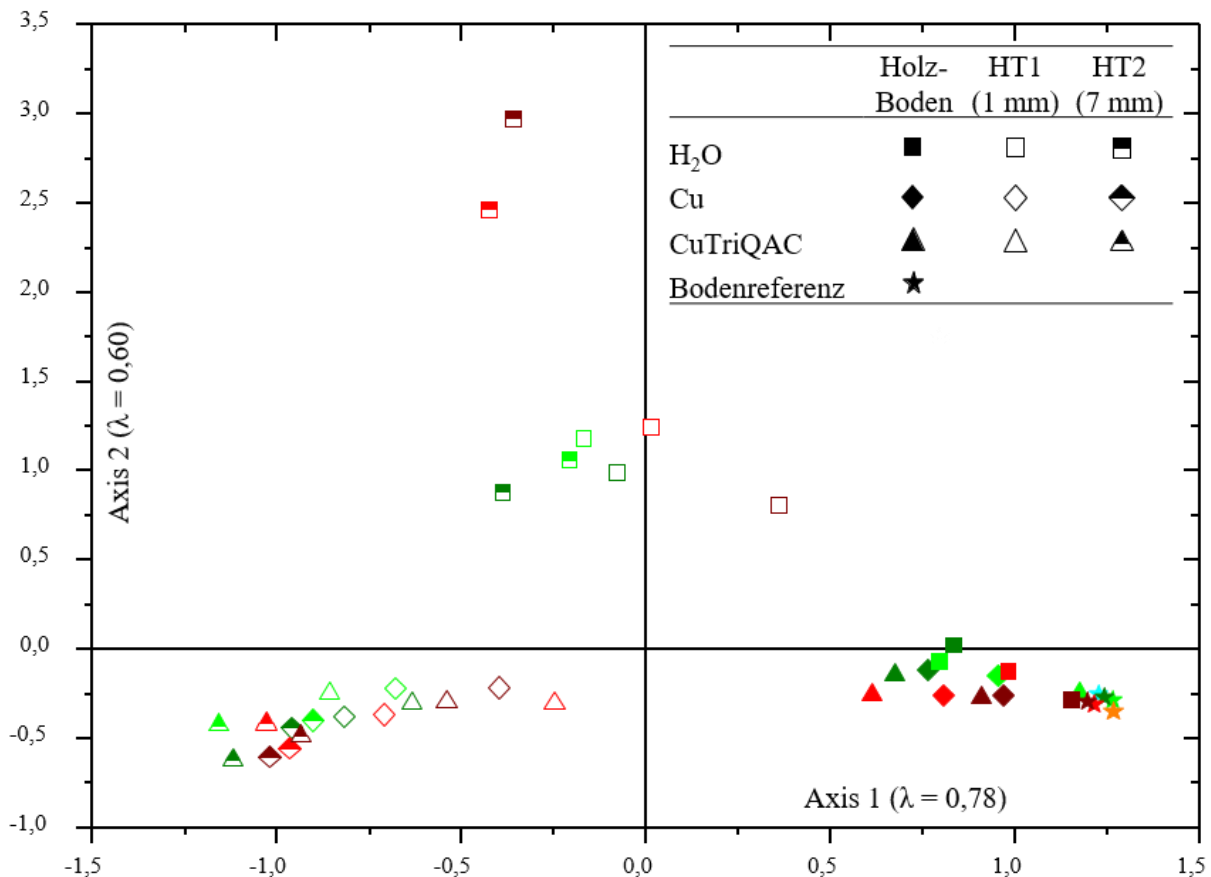


Abbildung 25 Korrespondenzanalyse der bakteriellen 16S rRNA-Gen basierten Gemeinschaftsstruktur der beiden Standorte (grüne Farbfamilie, Norddeutschland; rote Farbfamilie, Mitteldeutschland), drei Behandlungen (H<sub>2</sub>O, CuTriQAC, Cu und Referenzboden) während der Inkubationszeit (0 Wochen = türkis oder orange; 17 Wochen = hellgrün oder rot; 36 Wochen = dunkelgrün oder braun). Die Legende fasst die Symbole der Behandlungen und Probenart zusammen. Eigenwerte sind auf den Achsen der Abbildungen angegeben.

Die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft in den Bodenproben aus Nord- und Mitteldeutschland war ähnlicher als in den beiden untersuchten Holztafeln (Abbildung 25). Beide Standorte zeigten in den Holztafeln ein ähnliches Veränderungsmuster. Während der Inkubationszeit wurde eine Veränderung der Bakteriengemeinschaft in den H<sub>2</sub>O-Behandlungen in den Holztafeln beobachtet, wobei diese Bakteriengemeinschaften im Vergleich zu den kupferhaltigen Behandlungen ähnlicher waren. In Nord- und Mitteldeutschland wies die Zusammensetzung der Bakterien bei den Cu- und CuTriQAC-Behandlungen Unterschiede zwischen den beiden Holztafeln auf. Die Zusammensetzung der Bakterien- und Pilzgemeinschaften wurde durch die Inkubationszeit nicht signifikant beeinflusst (Bakterien: *F*-Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 1,173 und *P* = 0,2745; Pilze: *F*-Verhältnis durch den Monte Carlo Test = 0,945 und *P* = 0,5436).

Es wurden Unterschiede in der Verteilung der Pilz- und Bakterien-Phyla in Boden und Holz festgestellt, die jedoch zwischen den Standorten vergleichbar waren. Eine unterschiedliche Verteilung der Pilzfamilien wurde sowohl zwischen den beiden Standorten als auch zwischen den beiden Bodenproben und Holztafeln beobachtet. Im Gegensatz dazu wiesen die Bakterienfamilien in den Bodenproben eine unterschiedliche, jedoch homogene Verteilung auf. In den Holztafeln waren weniger Bakterienfamilien vertreten, jedoch mit einem höheren Anteil

## Ergebnisse

---

an relativer Abundanz. Die Holztiefen zeigten zwischen den beiden Standorten eine vergleichbare Zusammensetzung der Bakterienfamilien.

### 4. Diskussion

Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese 1 und Hypothese 2, da Holzschutzmittel-geschütztes Holz im Vergleich zu ungeschütztem Holz einen geringeren Masseverlust aufwies. Darüber hinaus unterschied sich die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft zwischen geschütztem und ungeschütztem Holz während der Inkubationszeit. Im Gegensatz dazu war der Einfluss der Holzschutzmittel auf die bakterielle Gemeinschaftsstruktur weniger ausgeprägt. Die Zusammensetzung der mikrobiellen Diversität erwies sich als entscheidend für die Abbauraten von mit Holzschutzmittel-geschütztem Holz. Dabei spielten jene Mikroorganismen eine wichtige Rolle, die effektiv am Holzabbau beteiligt waren und Toleranzen oder Resistenzen gegenüber den Komponenten der Holzschutzmittelformulierungen aufwiesen. Auch Hypothese 3 konnte ebenfalls bestätigt werden. Es wurden Unterschiede in der phylogenetischen Zusammensetzung der Bakterien- als auch der Pilzgemeinschaft festgestellt. Diese Unterschiede waren nicht nur zwischen der Boden-Holz-Grenzfläche und dem Holzinneren, sondern auch zwischen geschütztem und ungeschütztem Holz. Kupferhaltige Behandlungen führten zu einer selektiven Veränderung der mikrobiellen Zusammensetzung. Dabei wurden spezifische Gattungen begünstigt, die sich durch Kupferresistenz und die Fähigkeit zum Holzabbau auszeichneten. Interessanterweise waren die Anteile saprotropher Mikroorganismen sowohl im Holz als auch an der Boden-Holz-Grenzfläche vergleichbar.

#### 4.1. Auswirkungen von Holzschutzmittelformulierungen auf die mikrobielle Gemeinschaftsstruktur im Holz

Der mikrobielle Masseverlust wurde am effektivsten durch die Cu-Komponente der Holzschutzmittelformulierung im Vergleich zur Wasserkontrolle reduziert, da die CuTriQAC- und Cu-behandelten Hölzer am wenigsten abgebaut waren. Demnach verlangsamte das Vorhandensein von Kupfer im Holz den Holzabbau erheblich. Im Gegensatz dazu wiesen die mit der TriQAC-Behandlung imprägnierten Holzprüfkörper sowie die Wasserkontrolle ähnliche, aber insgesamt größere Abbauraten auf (Abbildung 10 und Abbildung 11). Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Hypothese 1, da Holzschutzmittel-geschütztes Holz im Vergleich zu ungeschütztem Holz einen geringeren Masseverlust zu verzeichnen hatte.

Wider Erwarten wurde eine signifikante Anzahl sowohl der pilzlichen als auch der bakteriellen Genkopien in Holzschutzmittel-geschütztem Holz beobachtet. Der Holzabbau ging mit einer signifikant höheren pilzlichen Genkopienzahl in H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlungen im Vergleich zu CuTriQAC- und Cu- Behandlungen einher (Abbildung 10). An allen untersuchten Standorten wurden keine größeren Unterschiede in der bakteriellen Genkopienzahl zwischen den verschiedenen Behandlungen beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass Bakterien im Vergleich zu Pilzen weniger durch die eingesetzten Holzschutzmittel beeinträchtigt wurden.

Obwohl sich die Zusammensetzung der Pilz- und Bakteriengemeinschaft signifikant zwischen den Standorten unterschied, hatte nur die Anwesenheit von Holzschutzmittelbestandteilen einen signifikanten Effekt auf die Abundanz und Diversität der Pilze, nicht aber auf die der Bakterien (Abbildung 14 & Abbildung 17). Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit früheren Forschungsergebnissen. Goodell & Nielsen (2023) zeigten, dass einige Bakterien eine Toleranz gegenüber mit Metallen behandeltem Holz entwickeln können, beispielsweise

gegenüber chromatiertem Kupferarsenat und kupferbehandeltem Holz. Interessanterweise scheinen manche Bakterien in der Lage zu sein, einige der Metalle in ihrer extrazellulären Biofilm-Matrix zu lösen und anschließend auszufällen oder zu kompartimentieren. Dieser Mechanismus dient möglicherweise zur Entgiftung und ermöglicht den Bakterien anschließend den Zugang zu den Nährstoffen im Holz. Diese Fähigkeit könnte erklären, warum die bakterielle Gemeinschaft weniger stark durch die Holzschutzmittel beeinflusst wurde als die Pilzgemeinschaft, und warum keine signifikanten Unterschiede in der bakteriellen Abundanz und Diversität zwischen den verschiedenen Behandlungen beobachtet wurde.

In Bezug auf die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft war das Phylum Ascomycota in allen Bodenproben stark vertreten (Abbildung A 1 im Anhang), unabhängig von der Holzbehandlung und der Inkubationszeit. Diesem Phylum wird die Ursache der Moderfäule und dem damit verbundenen Abbau des Holzes zugeschrieben (Blanchette *et al.*, 2004). In der Studie von Egidi *et al.* (2019) wurden die am weitesten verbreiteten Pilzphylotypen identifiziert, um neue Erkenntnisse über die Identität, die globale Verbreitung und die Ökologie der dominierenden Bodenpilze zu gewinnen. Egidi *et al.* (2019) identifizierten die Ascomycota als das phylotypenreichste und insgesamt am weitesten verbreitete Phylum, gefolgt von den Basidiomycota. Zu den ubiquitärsten Pilzen gehörten u.a. Mitglieder der Sordariomycetes (Gattungen *Chaetomium*, *Fusarium*, *Trichoderma*) und Eurotiomycetes (Gattungen *Penicillium* und *Exophiala*). Dies stimmt mit den Ergebnissen dieser Dissertation überein, denn auch hier waren die ubiquitären Pilzgattungen an jedem Standort vertreten, wobei sich die relative Abundanz zwischen den Standorten unterschied. Die Mehrheit der dominanten Ascomycota zeichnete sich im Vergleich zu anderen ökologisch wichtigen Pilzen, wie den saprotrophen Basidiomycota, durch eine deutlich höhere Abundanz genomischer Merkmale aus (Egidi *et al.*, 2019). Diese Merkmale wurden von Egidi *et al.* (2019) mit Stresstoleranz und Konkurrenzfähigkeit wie Melaninabscheidung, Antibiotikaresistenz und -produktion in Verbindung gebracht. Insgesamt deutet die ausgeprägte Variation des genomischen Potenzials zwischen dominanten Ascomycota und nicht-dominanten Basidiomycota darauf hin, dass Ascomycota möglicherweise besser ausgestattet sind, um Umweltstress zu widerstehen, mehrere Umweltnischen zu besetzen und eine größere Anzahl von Ressourcen nutzen zu können, was zu generalistischeren Strategien führt, die zu ihrer größeren Dominanz in Böden beitragen können (Egidi *et al.*, 2019).

Die Anwendung der verschiedenen Holzschutzmittelformulierungen beeinflusste die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft, indem sie die relative Abundanz der verschiedenen Pilzgattungen während des Holzabbauprozesses veränderte. Somit durchliefen die Mitglieder der Pilzgemeinschaft einen Selektions- und Anpassungsprozess, wie er zuvor für kupferhaltige Umgebungen postuliert wurde (Parry & Wood, 1958).

Holzprüfkörper, die sowohl mit H<sub>2</sub>O und TriQAC imprägniert waren und somit einen verminderten Schutz gegen Pilze besaßen, wurden hauptsächlich von nicht klassifizierten Chaetosphaeriaceae, *Conlarium* und *Pluteus* mit höherer relativer Abundanz besiedelt (Tabelle B 1, Tabelle B 2, Tabelle B 4 und Tabelle B 5 im Anhang). Darüber hinaus wiesen Mitglieder der Gattungen *Pseudallescheria* und *Scedosporium* in Anwesenheit von kupferhaltigen Behandlungen eine ähnliche Abundanz auf wie im ungeschützten Holz (

Tabelle B 3 im Anhang).

In Norddeutschland wurde bei den kupferhaltigen Behandlungen eine Verschiebung bei den Gattungen *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Mortierella* und *Penicillium* beobachtet (Tabelle B 1 im Anhang). Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich für die Gattung *Penicillium* in Mitteldeutschland (Tabelle B 2 im Anhang). In Nordfrankreich dominierte die Gattung *Scedosporium* bei allen Behandlungen und wurde vermutlich nicht durch die Schutzmittel der Holzprüfkörper beeinflusst (

Tabelle B 3 im Anhang). *Geastrum*, nicht klassifizierte Trichocomaceae und *Penicillium* gehörten zu den Gattungen, die in Südfrankreich die Sukzession durchliefen (Tabelle B 4 im Anhang).

Die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft zeigte während der Inkubationszeit keine deutliche Sukzession, wie sie bei den Pilzen beobachtet wurde. Stattdessen wies jeder Standort eine vielfältige Bakteriengemeinschaft auf, die gelegentlich durch auffällige Gattungen charakterisiert war. Zu den am häufigsten vorkommenden und ubiquitären Phylotypen in Bodengemeinschaften weltweit gehören  $\alpha$ -Proteobacteria (*Bradyrhizobium sp.* und *Sphingomonas sp.*),  $\beta$ -Proteobacteria (*Ramlibacter sp.*), Actinobacteria, Acidobacteria und Planctomycetes (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018). In Übereinstimmung damit waren in dieser Studie die dominierenden bakteriellen Phyla, die an jedem Standort und zu jeder Inkubationszeit präsent waren, Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria und Chloroflexi (Abbildung A 2 im Anhang). Diese Beobachtungen werden durch die Studie von Haq *et al.* (2022) ergänzt, die Bakteriengemeinschaften untersuchte, die mit *Fomes fomentarius* (Weißfäule) und *Fomitopsis betulina* (Braunfäule) auf Birke (*Betula papyrifera*) assoziiert sind. Ihre Ergebnisse zeigten, dass die bakteriellen Gemeinschaften beider Pilze von Proteobacteria dominiert wurden, was eine häufig berichtete Assoziation darstellt. Interessanterweise übte die Fäulnisart einen signifikanten Einfluss auf weniger häufig vorkommende Taxa aus, und zwar in einer Weise, die mit den Pilzmerkmalen übereinstimmte. Amplikonsequenzvarianten waren bei  $\alpha$ -Proteobacteria, Actinobacteria und Acidobacteria in Braunfäule mit niedrigerem pH angereichert. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Strategien der Holzersetzer signifikante Selektionseffekte auf Bakterien ausüben können oder umgekehrt, insbesondere bei weniger häufig vorkommenden Taxa. Diese Effekte könnten übersehen werden, wenn die Abundanz als einziges Maß für den Einfluss verwendet wird. Diese Erkenntnisse unterstreichen die Komplexität der mikrobiellen Interaktionen im Holzabbau und die Bedeutung der Berücksichtigung sowohl häufiger als auch seltener Taxa in der Analyse der mikrobiellen Gemeinschaftsstruktur.

Der Holzschutz befindet sich in einem bedeutenden Wandel, der durch regulatorische Änderungen, Umweltbedenken und neue wissenschaftliche Erkenntnisse vorangetrieben wird. Während die Kombination von Kupfer mit Co-Bioziden historisch eine wichtige Rolle spielte, wird ihre Verwendung zunehmend eingeschränkt. Dies hat zu einem Mangel an aktuellen

vergleichenden Studien über die Wirksamkeit verschiedener Kombinationen geführt und den Fokus auf die Entwicklung umweltfreundlicherer Alternativen gelenkt.

Die Forschung konzentriert sich verstärkt auf natürliche und bioinspirierte Produkte mit fungiziden Eigenschaften. Dazu gehören ätherische Öle (Terpene) (Broda, 2020), Holzextrakte, wie Tannine (Rodrigues *et al.*, 2012; Brocco *et al.*, 2017), Biopolymere (Primaningtyas *et al.*, 2020; Patachia und Croitoru, 2016), Pflanzenöle (Liibert *et al.*, 2011) sowie Alkaloide, Propolis und Chitosan (Broda, 2020). Diese Substanzen werden entweder allein oder in Kombination mit klassischen antimykotischen Verbindungen eingesetzt (Croitoru und Roata, 2020) und bieten ein erhebliches Potenzial für den Holzschutz bei geringerer Umweltbelastung.

Ein interessantes Beispiel ist Koffein, das als potenzielles natürliches Fungizid identifiziert wurde (Broda, 2020). Seine Wirksamkeit hängt von der Konzentration, der Holzart und dem Pilzstamm ab. Allerdings ist Koffein anfällig für Auslaugung, was seine Verwendung im Außenbereich einschränkt (Kwaśniewska-Sip *et al.*, 2018; Šimůnková *et al.*, 2021).

Der Klimawandel stellt eine zusätzliche Herausforderung dar, da veränderte Temperaturen und Niederschlagsmuster die Dynamik des mikrobiellen Holzabbaus beeinflussen (Wang *et al.*, 2023). Dies erfordert angepasste Schutzstrategien.

Trotz des vielversprechenden Potenzials dieser neuen Ansätze bleiben Fragen zur Wirtschaftlichkeit und Skalierbarkeit offen. Das Thema Holzschutz bleibt dynamisch, mit laufender Entwicklung neuer Behandlungsalternativen. Insgesamt zeichnet sich ein klarer Trend zu nachhaltigeren Methoden des Holzschutzes ab, wobei sowohl innovative chemische Verfahren als auch physikalische und konstruktive Maßnahmen an Bedeutung gewinnen. Diese Entwicklung spiegelt das wachsende Bewusstsein für Umweltschutz und Nachhaltigkeit in der Holzindustrie wider.

### 4.2. Dynamik der saprotrophen Gemeinschaft während des Holzabbaus

Der Holzabbau im Boden oder bei Bodenkontakt verläuft aufgrund ausreichender Feuchtigkeit und einer Vielfalt konkurrierender holzerstörender Organismen in der Regel schneller (Goodell *et al.*, 2020). Holz besteht aus verschiedenen Zonen von der äußeren Rinde bis zum inneren Kernholz, die jeweils eigene ökologische Nischen für unterschiedliche mikrobielle Gemeinschaften darstellen. Die Rinde, als erste Barriere gegen mikrobielle Besiedlung, beherbergt anpassungsfähige Mikroorganismen wie *Aspergillus*, *Penicillium* (McGee *et al.*, 2006) und *Streptomyces* (Kanchanasin *et al.*, 2020), die extremen Umweltbedingungen wie Austrocknung, UV-Strahlung und Temperaturschwankungen trotzen (Sakai, 2001; Kobayashi & Aoyagi, 2019). Diese Gemeinschaften interagieren dynamisch mit Insekten, die als Vektoren für den Transport von Mikroorganismen ins tiefere Holz dienen (Alves *et al.*, 2016)

Das Splintholz, der äußere lebende Teil des Holzes, ist aufgrund seines Wasser- und Nährstofftransports attraktiver für Mikroorganismen als das Kernholz (Viotti *et al.*, 2021). Das Kernholz, der innere Teil ohne lebende Zellen, enthält mehr Gerbstoffe und Polyphenole (Miranda *et al.*, 2017), deren Toxizität es vor Zersetzung schützt und zu geringeren Dichteverlusten im Vergleich zum Splintholz führt (Schowalter *et al.*, 1998; Schilling *et al.*, 2015).

Holzersetzende Pilze kolonisieren das Holz durch Sporen oder Myzelfragmente (Goodell *et al.*, 2020). Bei günstigen Bedingungen keimen diese aus und bilden Hyphen, die sich durch

Tüpfelkanäle im Holz ausbreiten. In der anfänglichen Wachstumsphase suchen die Pilze nach Nährstoffen im Parenchym und bauen Biomasse auf. Dies aktiviert eine biochemische "Maschinerie" in den Hyphen, die extrazelluläre Enzyme zur Depolymerisierung und zum Abbau von Holzbestandteilen freisetzt.

Der bakterielle Befall von Holz tritt am häufigsten bei untergetauchtem oder vergrabem Holz auf (Goodell & Nielsen, 2023). Unter aeroben Bedingungen mit niedrigem Sauerstoffgehalt beginnt der Befall in nicht oder teilweise lignifizierten Geweben des Splintholzes, wie Parenchym und Tüpfelmembranen. Das Kernholz wird aufgrund seiner toxischen Extrakte und des geringeren Nährstoffgehalts oft weniger angegriffen, ähnlich wie bei Pilzbefall.

Diese komplexen Interaktionen zwischen verschiedenen mikrobiellen Gemeinschaften, Holzstrukturen und Umweltbedingungen bestimmen den Verlauf und die Geschwindigkeit des Holzabbaus in Böden und bei Bodenkontakt.

Während der 32-wöchigen Inkubationszeit waren die Holzprüfkörper im Inkubationsversuch durch einen erhöhten Masseverlust (Abbildung 8) und eine reduzierte MOE (Abbildung 9) gekennzeichnet. Interessanterweise waren diese Veränderungen unabhängig vom ursprünglichen Bodenstandort, führten jedoch zu ähnlichen Holzabbauraten. Jeder Standort hatte eine spezifische mikrobielle Zusammensetzung, wobei keine allgemeine Übereinstimmung zwischen den Standorten hinsichtlich der dominierenden saprotrophen Mikroorganismen festgestellt werden konnte.

Zwischen den Standorten wurde ein signifikanter Unterschied in der pilzlichen ITS-Gen-Region und der bakteriellen 16S rRNA-Genkopienzahl beobachtet, was wahrscheinlich auf Unterschiede in den Bodeneigenschaften zurückzuführen ist (Tabelle 3). Die physikalischen und chemischen Bodeneigenschaften können entscheidende Parameter für die Verteilung von Pilz- und Bakteriengemeinschaften in verschiedenen Umgebungen sein (Whitaker, 2009; Li *et al.*, 2015). Darüber hinaus bestimmen Anpassungsmechanismen die Verbreitung von Pilzen und Bakterien (Green & Bohannan, 2006; Whitaker, 2009; Hoppe *et al.*, 2014).

Trotz der hohen Anzahl bakterieller Genkopien bleibt experimentell zu prüfen, ob die Bakteriengemeinschaft einen signifikanten Einfluss auf den Holzabbau durch Pilze hatte oder ob ihre Präsenz eher zufällig war. Diese Frage wird durch die Studie von Hu und Yesilonis (2021) unterstrichen, die die Zusammensetzung von Pilzen und Bakterien während der Holzersetzung in sechs gemäßigten Bergwäldern untersuchten. Sie stellten fest, dass nur die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft signifikant mit dem Massenverlust des Holzes korrelierte.

Diese Erkenntnisse verdeutlichen die Komplexität der mikrobiellen Interaktionen beim Holzabbau und unterstreichen die Notwendigkeit weiterer Forschung zur Rolle der bakteriellen Gemeinschaften in diesem Prozess. Sie zeigen auch, dass trotz unterschiedlicher mikrobieller Zusammensetzungen an verschiedenen Standorten ähnliche Holzabbauraten erreicht werden können, was auf die funktionelle Redundanz in mikrobiellen Gemeinschaften hinweisen könnte.

Es wurde angenommen, dass Pilze, die mit dem Abbau von Holzprüfkörper in Verbindung gebracht werden können, eine höhere relative Abundanz an der Boden-Holz-Grenzfläche aufweisen sollten als solche, die nur im Boden (Referenz) vorhanden waren. Hier waren die

nicht geschützten Holzprüfkörper (H<sub>2</sub>O-Behandlung) relevant, da kein Schutzmittel den Holzabbau durch die Pilze verhindern konnte. Darüber hinaus konnte davon ausgegangen werden, dass Pilze, die sowohl bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung als auch bei einer Behandlung mit Schutzmitteln eine hohe relative Abundanz aufweisen, auch mit dem Holzabbau in Verbindung gebracht werden können. Demnach ist es möglich, dass das Vorhandensein von ungeschütztem Holz die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft im Boden verschoben hat. Eine hohe Abundanz der entsprechenden Pilzgattungen wurde zuvor in Umgebungen gefunden, die Holz ohne Holzschutzmittel enthalten (Kaltseis *et al.*, 2009; Novinscak *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2012a; Hoppe *et al.*, 2014). Demzufolge könnten die folgenden Gattungen zu der holzabbauenden Pilzgemeinschaft gehören: *Chaetomium*, unkl. Chaetosphaeriaceae, *Conlarium*, *Geastrum*, *Pluteus*, *Pseudallscheria* und *Scedosporium* (Tabelle B 1 bis Tabelle B 5 im Anhang).

In Abwesenheit von kupferhaltigen Behandlungen (H<sub>2</sub>O und TriQAC) waren Mitglieder der Pilzgattungen *Geastrum* und *Pluteus* (beide Agaricomycetes) sowie *Conlarium*, nicht klassifizierte Chaetosphaeriaceae und *Scedosporium* (alle drei Sordariomycetes) in hoher relativer Abundanz vorhanden. Dies variierte im Laufe der Zeit für die Gattung *Geastrum*, die nur in jeder Behandlung von Südfrankreich vorkam. Von einigen *Geastrum*-Arten ist bekannt, dass sie saprotroph sind (Hibbett *et al.*, 2014), und sie zeigten in dieser Studie eine zunehmende relative Abundanz während der Inkubationszeit. Hingegen war *Pluteus* nur bei den H<sub>2</sub>O- und TriQAC-Behandlungen in Südfrankreich in hoher Abundanz präsent, was darauf schließen lässt, dass kupferhaltige Holzschutzmittel einen Einfluss auf diese Gattung hatten. Viele der in dieser Studie untersuchten holzabbauenden Pilze sind der Klasse der Agaricomycetes zuzuordnen. Diese sind effiziente Abbauer persistenter Biopolymeren wie Lignin und dafür bekannt, dass sie Peroxidasen mit hohem Redoxpotential ausscheiden (Liers *et al.*, 2013). Die Gattung *Conlarium* gehört zur Familie der Annulatascaceae und die meisten Arten dieser Familie wurden aus Süßwasserlebensräumen in tropischen und gemäßigten Gebieten nachgewiesen (Zhang *et al.*, 2017). Die Arten scheinen auf untergetauchtem Holz überwiegend saprobisch zu sein, aber einzelne Arten sind auch auf abgestorbenen Blattstielen von Palmen, untergetauchten Gräserstämmen und verwesendem Bambus bekannt. Die relative Abundanz nicht klassifizierter Chaetosphaeriaceae nahm in Mitteldeutschland bei der H<sub>2</sub>O-Behandlung und in Nord- und Mitteldeutschland sowie Südfrankreich bei der TriQAC-Behandlung während der Inkubationszeit zu (Tabelle B 2, Tabelle B 2 und Tabelle B 4 im Anhang). Die nicht klassifizierten Chaetosphaeriaceae hingegen waren in den kupferhaltigen Holzschutzmitteln gar nicht oder nur in sehr geringer Abundanz vorhanden, so dass auch hier ein Einfluss des Kupfers erkennbar ist. Chaetosphaeriaceae sind in der Lage, sich auf zersetzten Pflanzensubstraten zu vermehren und sind weltweit verbreitet (Fernández & Huhndorf, 2005). Ihre Fruchtkörper (Ascomata) befinden sich oft auf entrindetem und stark abgebautem Holz, das sich auf oder in Bodennähe befindet.

Die Zusammensetzung der Pilze veränderte sich im Laufe der Zeit während des Holzabbaus. So erkannte bereits Garrett (1963) ein Muster von Pilzen beim Abbau von holzigem Gewebe im und über dem Boden und unterteilte es in drei Phasen (Käärik, 1975). In der ersten Phase wird das Holz von primären saprophytischen Pilzen besiedelt, die leicht verfügbare Zucker und Kohlenstoffverbindungen verwerten, die einfacher sind als Cellulose. In der zweiten Phase dominieren Celluloseabbauer in Verbindung mit sekundären saprophytischen Zuckerpilzen, die

die Produkte des Celluloseabbaus verwerten. In der dritten Phase schließlich fungieren die Basidiomycota als Ligninabbauer. Die von Garrett (1963) beschriebene Abfolge der Pilze während des Holzabbaus in drei Phasen wurde mit der taxonomischen Zusammensetzung während der 32-wöchigen Inkubation abgeglichen. Dabei wurden die drei Phasen den 32 Wochen zugeordnet, die im Folgenden erläutert werden. Insgesamt waren ligninolytische und/oder cellulolytische Ascomycota (Sordariomycetes) und Basidiomycota (Agaricomycetes) am häufigsten vorhanden.

In der ersten Phase (8 bis 16 Wochen) war die Gattung *Scedosporium*, die zum Phylum Ascomycota und der Klasse Sordariomycetes gehört, in Nordfrankreich die einzige Gattung, die unabhängig von der Behandlung in der höchsten relativen Abundanz nachgewiesen wurde (

Tabelle B 3 im Anhang). Ascomycota können Moderfäule verursachen, die zu einer Erweichung von nassem Holz führt (Fackler & Schwanninger, 2012). Sollten Ascomycota während des Holzabbaus primär auf labile Kohlenstoffquellen abzielen, könnte dies ihre hohe relative Häufigkeit zu Beginn des Abbaus erklären und es ihnen ermöglichen, während des gesamten Abbauprozesses in hoher relativer Häufigkeit zu verbleiben (Vivelo & Bhatnagar, 2019). Im Gegensatz dazu war das Phylum Basidiomycota im Inkubationsversuch zwar weniger vertreten als Ascomycota, jedoch waren die Gattungen *Coprinellus*, *Cryptococcus*, *Geastrum*, *Lacrymaria* und *Pluteus* zu Beginn des Abbauprozesses der Holzprüfkörper in hoher relativer Abundanz vorhanden (Tabelle B 1 bis Tabelle B 5 im Anhang). Mit Ausnahme von *Cryptococcus* gehören die übrigen identifizierten Gattungen zu den Agaricomycetes (Kersten & Cullen, 2014). Diese Beobachtung ist besonders relevant, da frühere Studien gezeigt haben (Smith & Peay, 2021), dass die relative Häufigkeit von Agaricomycetes positiv mit dem Massenverlust des Holzes korreliert. Die Dominanz der Agaricomycetes in diesem Kontext ist plausibel, da diese Klasse viele bekannte holzzerstörende Pilze umfasst (van der Wal *et al.*, 2015). Ein wichtiger Aspekt ihrer Ökologie ist, dass die Arten im Boden physisch mit den Myzelien verbunden sein können, die darüber liegendes holziges Material aktiv zersetzen (Purahong *et al.*, 2019; Makipaa *et al.*, 2017). Diese Verbindung ermöglicht es den Pilzen, Ressourcen effizient zu nutzen und den Abbau von Holz über größere Distanzen zu koordinieren.

Zu den zahlreichen Vertretern der Weißfäule gehören außerdem die Gattungen *Coprinellus*, *Lacrymaria* und *Pluteus* (Dix & Webster, 1995; Vaz *et al.*, 2017). Demnach werden *Coprinellus*-Arten als späte Fäulnispilze charakterisiert, die dafür bekannt sind, Holz abzubauen, das durch andere Abbauprozesse chemisch und physikalisch verändert wurde (Oliver *et al.*, 2010). Die Gattungen *Coprinellus*, *Lacrymaria* sowie nicht klassifizierte Pezizaceae waren hauptsächlich in der Cu-Behandlung in Nordfrankreich vorhanden (

Tabelle B 3 im Anhang). Die Familie der Pezizaceae deckt ein breites Spektrum an Nischen ab und fruchtet auf allen Arten von Böden, Dung und Holz (Hansen *et al.*, 2001). Unabhängig von der Art der Behandlung wurde die pilzliche Gemeinschaftsstruktur insbesondere in Nord- und

Mitteldeutschland vorwiegend von den Gattungen *Cryptococcus* (Filobasidiaceae und Ordnung Tremellales, Familie incertae sedis) und *Mortierella* dominiert (Tabelle B 1 und Tabelle B 2 im Anhang). Die Gattung *Cryptococcus* ist in der Natur weit verbreitet und dafür bekannt, das lignolytische Enzym Laccase zu produzieren (Ikeda *et al.*, 2002; Singhal & Thakur, 2009). Als primäre ökologische Nische dient dieser Gattung verrottendes Holz von Bäumen (Alvarez *et al.*, 2013). Die Gattung *Mortierella* gehört zur Ordnung Mucorales, der größten Gruppe der Zygomycota (Kjøller & Struwe, 2002) und wächst bevorzugt auf zucker- und kohlenhydratreichen Pflanzenresten in Böden (Ottow, 2011). Mitglieder der Mucorales sind nicht in der Lage, Polysaccharide wie Cellulose und Lignin abzubauen, aber sie dringen schnell in organisches Material ein und verwerten lösliche Zucker in Konkurrenz zu Bakterien in der Anfangsphase des Zersetzungsprozesses in Streu und Boden (Carlile & Watkinson, 1996; Kjøller & Struwe, 2002). Arten der großen Gattung *Mortierella* haben unterschiedliche Fähigkeiten. Sie sind auf den Chitinabbau spezialisiert und produzieren Enzyme wie  $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase (Hodge *et al.*, 1995; Kjøller & Struwe, 2002).

Die zweite Phase des Holzabbaus (16 bis 24 Wochen) wurde vorrangig durch die Sordariomycetes und Eurotiomycetes dominiert. Die Sordariomycetes sind eine der größten Klassen innerhalb der Ascomycota und fungieren in fast allen Ökosystemen unter anderem als Saprophyten, die an der Zersetzung und dem Nährstoffkreislauf von Pflanzenstreu - einschließlich Holz beteiligt sind (Zhang *et al.*, 2006). Zu den wichtigen Taxa gehört *Chaetomium*, ein wichtiger cellulolytischer Organismus, der für die Zerstörung von Papier und Stoffen verantwortlich ist. *Chaetomium* wurde vor allem bei der CuTriQAC-Behandlung beobachtet (Tabelle B 1 bis Tabelle B 5 im Anhang). Für *Chaetomium globosum* ist nachweislich bekannt, dass diese Art den Gehalt an Hemicellulose und Cellulose im Holz reduzieren kann (Popescu *et al.*, 2011). Die meisten Mitglieder der Sordariomycetes sind terrestrisch, und das Leben in aquatischen Habitaten wird als ein abgeleiteter Charakter für die Klasse angesehen (Samuels & Blackwell, 2001; Zhang *et al.*, 2006). Ebenso gehören die Gattungen *Scedosporium* und *Pseudallescheria* zu den Sordariomycetes. Während *Scedosporium* in Nordfrankreich eine hohe relative Abundanz in allen Behandlungen hatte (

Tabelle B 3 im Anhang), wurde bei der Behandlung mit CuTriQAC eine Zunahme der relativen Abundanz von *Pseudallescheria* und *Chaetomium* beobachtet. Diese Zunahme kann als Ursache für den erhöhten Masseverlust angesehen werden. Als Vertreter dieser Familie wurde *Pseudallescheria angusta* näher beschrieben, ein vielversprechender Mikroorganismus für die biologische Modifikation von Holz aufgrund seiner ligninolytischen Aktivität und seiner Fähigkeit, auf Holz zu wachsen (Guisado *et al.*, 2012). *Scedosporium apiospermum* hingegen besitzt keine lignocellulolytische Enzymaktivität, kann aber Cellulose metabolisieren und somit die Fähigkeit zum Holzabbau haben (Han *et al.*, 2020).

Eurotiomycetes können eine Vielzahl von organischen Substraten abbauen, manchmal unter den schwierigsten osmotischen und thermischen Bedingungen (Geiser *et al.*, 2015). Zu dieser Klasse gehört die Gattung *Penicillium* (Familie Trichocomaceae), die durch die bemerkenswerte Zunahme von 70 % in der Cu-Behandlung nach 16 Wochen Inkubation in Mitteldeutschland aufgefallen war und so mit der Zunahme des Masseverlustes einher ging (Tabelle B 2 im Anhang). Darüber hinaus traten mit fortschreitendem Masseverlust der Holzprüfkörper *Penicillium* in der CuTriQAC- Behandlung und nicht klassifizierte Trichocomaceae in der Cu-Behandlung in Südfrankreich auf (Tabelle B 4 im Anhang).

*Penicillium*-Arten können aufgrund ihrer Fähigkeit, Cellulose effizient abzubauen, eine dominante Rolle beim biologischen Holzabbau spielen, insbesondere in Waldökosystemen (Christensen *et al.*, 2000; Zehra *et al.*, 2018). Aufgrund dieser Fähigkeit produzieren viele *Penicillium*-Arten Enzymsysteme mit guter Leistung beim Abbau von Lignocellulosematerial und können eine Vielzahl von Holzsubstraten angreifen.

Auch in der dritten Phase des Holzabbaus (24 bis 32 Wochen), in der nach Garrett (1963) vorrangig Pilze, die Lignin abbauen, vorhanden sein sollen, war die Gattung *Penicillium* in der Cu-Behandlung in Nord- und Mitteldeutschland sowie in Südfrankreich in hoher relativer Abundanz vorhanden (Tabelle B 1, Tabelle B 2 und Tabelle B 4 im Anhang). *Penicillium sp.* kann neben celluloseabbauenden auch ligninabbauenden Enzymen sezernieren und somit auf Holz Schäden verursachen (Singh & Flegel, 1986). Im Gegensatz zum Holzabbau bestehen die Pilze beim Abbau von Streu hauptsächlich aus celluloseabbauenden Pilzen, umfassen aber auch Lignin- und Chitinabbauer von Gattungen wie *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Acremonium* und *Mortierella*. Die Gattung *Fusarium* wurde als einer der stärksten Ligninabbauer in Waldböden beschrieben mit ligninabbauenden Enzymaktivitäten, wie z.B. Laccase und Ligninperoxidase (Lozovaya *et al.*, 2006). Zum Schluss der 32-wöchigen Inkubation konnte auch hier beobachtet werden, dass vermehrt Gattungen auftraten, die mit Ligninabbau in Verbindung gebracht werden können (*Penicillium* und *Fusarium*). Die Verschiebungen in der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft gingen mit einer Zunahme der Masseverluste einher. Da zu erwarten war, dass ein oder wenige Pilze beim Holzabbau dominieren (van der Wal *et al.*, 2015), könnte ein Zusammenhang durch eine Zunahme der relativen Abundanz bestimmter Gattungen mit dem Holzabbau bestehen. Nach 32 Wochen Inkubation dominierten in den nicht kupferhaltigen Behandlungen hauptsächlich die Gattungen *Conlarium* sowohl in Norddeutschland als auch in Portugal (Tabelle B 1 und Tabelle B 5 im Anhang), *Pluteus* in Südfrankreich (Tabelle B 4 im Anhang) und nicht klassifizierte Chaetosphaeriaceae in Mitteldeutschland (Tabelle B 2 im Anhang). Diese Gattungen gingen mit einem zunehmenden Masseverlust einher und waren somit hauptsächlich für den Holzabbau bei den nicht kupferhaltigen Behandlungen verantwortlich. Da die nicht klassifizierten Chaetosphaeriaceae mit Kupferzusatz in der Behandlung nicht vorhanden waren, wäre es möglich, dass Kupfer sowohl die Besiedlung der Holzprüfkörper als auch die Vermehrung beeinträchtigt.

Wie in der Studie von Lee *et al.* (2020) hat auch diese Studie relativ wenige dominante Pilztaxa als bekannte Saprotrophe oder Mitglieder des Stammes Basidiomycota identifiziert. Aufgrund der Substratspezifität wurde erwartet, dass mikrobielle Taxa, die eine Schlüsselrolle beim Abbau spielen, in diesen Gemeinschaften am häufigsten und reichlich vorhanden sein würden. Stattdessen wurden hauptsächlich Ascomycota gefunden. Dieses Ergebnis könnte zum Teil ein begrenztes Verständnis darüber widerspiegeln, wie Ascomycota zum Abbau beitragen (Vivelo & Bhatnagar, 2019; Lee *et al.*, 2020; Osono, 2020; Zanne *et al.*, 2020). Alternativ deutet dieses Muster darauf hin, dass die Fäulnisfunktionen unter den Mitgliedern der holzerstörenden Gemeinschaft gut verteilt sein könnten, wobei verschiedene Mitglieder ähnliche Funktionen in verschiedenen Holzarten übernehmen (Lee *et al.*, 2020).

Das von Garrett (1963) beschriebene Muster konnte somit auf diese Studie übertragen werden, da zu Beginn Pilze vertreten waren, die ausschließlich leicht verfügbare Zucker und Kohlenstoffverbindungen verwerten. Darüber hinaus waren auch Pilze vorzufinden, die zu den

Vertretern der Weißfäule gehören. Mit fortschreitendem Masseverlust der Holzproben traten in der zweiten Phase neben den cellulolytischen Pilzen auch Pilze mit ligninolytischer Aktivität auf. Die dritte Phase war durch ein vermehrtes Auftreten von Gattungen gekennzeichnet, die mit dem Ligninabbau in Verbindung stehen.

Zu Beginn des Holzabbaus sollten vermutlich Bakterien am zahlreichsten vorhanden sein, aufgrund der leicht zugänglichen Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht, die während des frühen Abbaus vorhanden sind oder durch Pilzaktivitäten freigesetzt werden (Boer & van der Wal, 2008; Johnston *et al.*, 2016). Während des Holzabbaus würden schließlich die Bakterien von den Pilzen verdrängt, sobald sich diese etabliert haben und die labilsten Holzbestandteile verbraucht wurden (Clausen, 1996; Johnston *et al.*, 2016). Nichtsdestotrotz ließen sich keine Unterschiede in der Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft im Laufe der Inkubationszeit erkennen. Bakterien, die vorhanden waren, änderten sich nicht stark in ihrer Abundanz. Ähnliche Daten konnten auch in einer Studie von Kielak *et al.* (2016) erhoben werden, in der gezeigt wurde, dass sich Bakteriengemeinschaften während des Holzabbaus weniger drastisch verändern als Pilzgemeinschaften. Der Masseverlust in Holzprüfkörpern ist wahrscheinlich in erster Linie auf die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft zurückzuführen, da Fäulnispilze die größte biologische Bedrohung für Holz, das im Freien oder anderswo unter feuchten Bedingungen verwendet wird, darstellen (Jones & Brischke, 2017; Brischke *et al.*, 2020). Nichtsdestotrotz haben auch Bakterien wichtige Funktionen beim Holzabbau, wobei gemischte Bakteriengemeinschaften ein größeres Abbaupotenzial von Holz haben als einzelne Arten (Schmidt & Liese, 1994), ein Hinweis darauf, dass der Beitrag von Bakterien zum Holzabbau möglicherweise unterschätzt wurde (Johnston *et al.*, 2016). Allerdings ist über diese Funktionen sowie über die Untergruppe spezifischer Taxa, die als bakterielle Verursacher fungieren, viel weniger bekannt als über Pilze (Clausen, 1996; Stursová *et al.*, 2012; Johnston *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2020). Johnston *et al.* (2016) gehen allerdings davon aus, dass der Gesamtbeitrag von Bakterien in Bezug auf den Abbau im Vergleich zu Pilzen wahrscheinlich vernachlässigbar ist, da Pilze aufgrund ihrer Größe und ihres besseren Zugangs zum Material auch in der Lage sind, Holz schneller abzubauen. Zudem wiesen Johnston *et al.* (2019) und Christofides *et al.* (2019) in experimentellen Versuchsanordnungen starke gerichtete Effekte von Pilzen auf Bakterien nach: Sie beimpften Holzstücke mit bekannten holzzersetzenden Pilzen und beobachteten daraufhin, dass die Entwicklung der nachfolgenden Bakteriengemeinschaften stark von der Identität der beimpften Pilze abhing (Odrizola *et al.*, 2021). Somit könnten die Wechselwirkungen zwischen Pilzen und Bakterien vor allem durch den Einfluss der Pilzgemeinschaften auf die Bakteriengemeinschaften moduliert werden (Odrizola *et al.*, 2021). Die Zusammensetzung und Dynamik mikrobieller Gemeinschaften beim Holzabbau werden durch komplexe Wechselwirkungen zwischen Pilzen und Bakterien beeinflusst, was erhebliche Auswirkungen auf den Abbauprozess hat (Boer *et al.*, 2005; Folman *et al.*, 2008; Weißhaupt *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2020).

Diese Interaktionen können verschiedene Formen annehmen, von Endosymbiose und Mutualismus bis hin zu Parasitismus und Prädation, und spielen eine wichtige Rolle bei der Veränderung ihrer gemeinsamen Umwelt (Boer *et al.*, 2005; Boer *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2020). Diese Interaktionen beeinflussen wahrscheinlich die Umweltbedingungen im Totholz. Obwohl

das Wissen über die spezifischen bakteriell-pilzlichen Interaktionen im Totholz begrenzt ist, wurde gezeigt, dass die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft von mehreren Faktoren abhängt, einschließlich des Zersetzungsstadiums (Christofides *et al.*, 2019), der Baumart (Moll *et al.*, 2018) und der Art des Totholzes in gemäßigten Wäldern (Tláskal *et al.*, 2017).

Ein wichtiger Aspekt dieser Interaktionen ist die Rolle der Pilze bei der Nährstoffaufnahme aus dem Boden. Pilze bauen über ihre Hyphen Nährstoffe im Boden ab, um ihr Wachstum und ihre Aktivität zu fördern (Philpott *et al.*, 2014; Rinne *et al.*, 2016; Tlalka *et al.*, 2008). Bodenbakterien können durch ihre Schlüsselrolle im Stickstoffkreislauf des Bodens indirekt an der Holzzersetzung beteiligt sein (Crowther *et al.*, 2019). Umgekehrt kann die Freisetzung von Substrat und die Bildung von Pilzbiomasse während der Holzzersetzung die bakterielle Gemeinschaft im Boden beeinflussen, etwa durch Versauerung des Substrats, Pilzmetaboliten oder abbaubare C-Quellen (Viotti *et al.*, 2021; Kielak, *et al.*, 2016; Hoppe *et al.*, 2015).

Trotz der offensichtlichen Bedeutung dieser Wechselwirkungen sind die spezifischen Beziehungen zwischen der bakteriellen Bodengemeinschaft und der Holzzersetzung bisher nur wenig dokumentiert (Bani *et al.*, 2018). Es bleibt unklar, inwieweit die Interaktionen zwischen Pilzen und Bakterien den Abbau im Verhältnis zu den Umweltfaktoren innerhalb verschiedener Holzarten beeinflussen (Lee *et al.*, 2020).

Da mehrere Actinobacteria auch eine bedeutende Funktion beim Abbau von Cellulose und Lignocellulose im Boden haben, können sie in solchen Umgebungen wichtige Abbauer organischer Substanz sein (Větrovský & Baldrian, 2015). Daher kann eine enge Zusammenarbeit zwischen Pilzen und Bakterien bei der Zersetzung von lignocellulosehaltigem Material ein weit verbreiteter und ökologisch wichtiger Aspekt der Pilz-Bakterien-Interaktion sein (Hoppe *et al.*, 2014). Die komplexen mikrobiellen Interaktionen beim Holzabbau und die Tatsache, dass viele holzbewohnende Bakterien noch unerforscht sind, unterstreichen die dringende Notwendigkeit weiterer Forschung. Zukünftige Studien sollten darauf abzielen, ein umfassenderes Verständnis der mikrobiellen Ökologie des Holzabbaus zu entwickeln, insbesondere im Hinblick auf die Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Pilzen und deren Beitrag zum Abbau von geschütztem und ungeschütztem Holz.

### **4.3. Holz und die Unterschiede in der phylogenetischen Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften**

Die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft und die Abbaumuster von Holz können sich innerhalb weniger Millimeter ändern, sodass eine hohe Auflösung des Holzabbaus innerhalb des Holzes notwendig ist, um saproxyliche und assoziierte mikrobielle Gemeinschaften zu unterscheiden (Schwarze, 2007). Hinzu kommt die Verwendung von Holzschutzmitteln, die die phylogenetische Zusammensetzung verändern können. Bevor Holz, in diesem Fall Splintholz, im Außenbereich verwendet werden kann, wird das gesamte Holz mit einer Kombination aus Vakuum und Druck mit Holzschutzmitteln imprägniert. Dabei sind die Schutzmittelkonzentrationen im Holz in den ersten 10 mm bis in den Splint hinein nahezu gleich (Schultz *et al.*, 2014). Allerdings sind in diesen gleichen Tiefen die Fixierung und Auswaschung von Holzschutzmitteln kritisch, da dies die Bioverfügbarkeit von Holzschutzmitteln im Holz und an der Boden-Holz-Grenzfläche beeinflusst (Richardson, 1993; Schultz *et al.*, 2014). Innerhalb von Holz ohne Holzschutzmittel wurden bereits räumliche

Gradienten von saproxylichen Mikroorganismen nachgewiesen, die hauptsächlich auf chemischen und physikalischen Barrieren beruhen (Schwarze, 2007; Moll *et al.*, 2018). Um Unterschiede in der räumlichen Auflösung von Pilzen und Bakterien zu bestimmen, wurden dementsprechend Proben sowohl von der Boden-Holz-Grenzfläche als auch aus zwei Holztiefen untersucht. Die Gammasterilisation der Holzprüfkörper vor der Freilandexposition erfüllte mehrere entscheidende Funktionen im Rahmen des Experiments. Primär gewährleistete sie einen identischen mikrobiellen Ausgangsstatus aller Prüfkörper, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erheblich verbesserte (Curling & Winandy, 2008). Durch die zuverlässige Eliminierung sämtlicher im Holz vorhandener Mikroorganismen, einschließlich endophytischer Pilze und Bakterien, schuf die Bestrahlung eine sterile Ausgangssituation. Dies ermöglichte eine präzise Beobachtung und Analyse der Kolonisierung und des anschließenden Abbaus durch neu einwandernde mikrobielle Gemeinschaften, ohne Interferenz durch bereits vorhandene Endophyten. In diesem kontrollierten Umfeld basierte die räumliche Variation in der Zusammensetzung und Genkopienzahl der Pilz- und Bakteriengemeinschaft auf mehreren Faktoren: der Biodiversität des jeweiligen Feldstandortes, der Art der verwendeten Holzschutzmittel, den einheimischen chemischen und physikalischen Barrieren im Holz sowie den Veränderungen in Konzentration und Zusammensetzung der Schutzmittel während der Inkubationszeit. Diese Methodik ermöglichte es, die spezifischen Auswirkungen der Umgebungsmikroorganismen auf den Holzabbau unter Berücksichtigung verschiedener Einflussfaktoren präzise zu untersuchen.

Bei der Betrachtung der phylogenetischen Zusammensetzung und somit der Verteilung der Pilzfamilien wurde deutlich, dass es nicht nur Unterschiede zwischen der Boden-Holz-Grenzfläche und dem Holz, sondern auch zwischen Nord- und Mitteldeutschland bestanden (Abbildung 20). Die Zusammensetzungen der Pilzgemeinschaften in Mitteldeutschland unterschieden sich von denen in Norddeutschland (Abbildung 22), jedoch waren die Mehrzahl der abundanten Mitglieder beider Gemeinschaften in ähnlicher Weise als Abbauer von Holzbestandteilen bekannt (Deacon *et al.*, 2006; Råberg *et al.*, 2013). Im Gegensatz dazu wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Standorten in der bakteriellen Gemeinschaftszusammensetzung in der Boden-Holz-Grenzfläche sowie des Referenzbodens festgestellt (Abbildung 25). Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Inkubationsversuchen im Labor, bei denen jeder Standort eine spezifische Gemeinschaftszusammensetzung erkennen ließ. Mit Cu- und CuTriQAC-behandeltes Holz veränderte die Zusammensetzung der Bakterien- und, in geringerem Maße, der Pilzgemeinschaft im Holz im Vergleich zu entsprechend mit H<sub>2</sub>O-behandeltem Holz und bewirkte eine Selektion einiger Gattungen. Die Kopienzahl von Pilzen wurde durch CuTriQAC-behandelte Holz effizienter reduziert, aber nicht von Bakterien im Vergleich zu entsprechend mit H<sub>2</sub>O behandeltem Holz (Abbildung 18 & Abbildung 19). Außerdem waren die Pilz-basierten Genkopien in Norddeutschland mit einer langen Vorgeschichte von kupferbasierten Behandlungen im 1 mm und 7 mm mit CuTriQAC behandelten Holz höher als in Mitteldeutschland. Sowohl die Diversität der Pilz- als auch der Bakteriengemeinschaft nahmen von der Boden-Holz-Grenzfläche bis ins Holz hinein ab, insbesondere bei den kupferhaltigen Behandlungen. Dabei wiesen die mit H<sub>2</sub>O behandelten Holzprüfkörper eine größere Diversität auf als die kupferhaltig behandelten Holzprüfkörper (Abbildung 21 & Abbildung 24).

Demnach wurde die höchste pilzliche Anzahl an Genkopien in der Boden-Holz-Grenzfläche der H<sub>2</sub>O-Behandlung in Norddeutschland nachgewiesen (Abbildung 18 I), die durch eine hohe relative Abundanz von Mitgliedern der Gattungen *Exophiala* und *Cryptococcus* sowohl in der Boden-Holz-Grenzfläche als auch im Referenzboden dominiert wurde (Tabelle C 1 im Anhang). Zudem dominierte *Cryptococcus* auch mit hoher relativer Abundanz die Boden-Holz-Grenzfläche der Cu- und CuTriQAC-Behandlungen, was mit den Labor-Inkubationsstudien übereinstimmte. Darüber hinaus waren Mitglieder dieser Gattung auch in Norddeutschland im Holz vorhanden, allerdings in geringerer relativer Abundanz, so dass sie vermutlich ebenfalls an Holzabbauprozessen beteiligt waren. Im Gegensatz dazu waren Mitglieder der Gattung *Cryptococcus* in Mitteldeutschland hauptsächlich nur im Boden vorhanden, so dass Mitglieder anderer Pilzgattungen in Mitteldeutschland vermutlich bessere Konkurrenten waren als in Norddeutschland (Tabelle C 1 und Tabelle C 2 im Anhang). In ähnlicher Weise wurden Mitglieder der Gattung *Trichosporon* hauptsächlich im Boden, nicht aber im Holz gefunden, was mit früheren Ergebnissen übereinstimmt (Randhawa *et al.*, 2001). Mitglieder der Gattung *Trichoderma* waren in der zweiten Holztiefe im H<sub>2</sub>O-behandelten Holz an beiden Standorten dominant und sie wurden als holzbewohnende Mikropilze mit hoher antagonistischer Aktivität hauptsächlich gegen Braunfäulepilze beschrieben (Bruce & Highley, 1991). Diese Gattung ist besonders erfolgreich, da sie ein guter Konkurrent um Nährstoffe ist und durch die Produktion von Siderophoren Eisenchelate bildet, die das Wachstum anderer Mikroorganismen reduzieren (Contreras-Cornejo *et al.*, 2016; Torres-Cruz *et al.*, 2018). Darüber hinaus zeigen Mitglieder der Gattung *Trichoderma* eine breite Toleranz gegenüber einer Vielzahl von Schwermetallen in unterschiedlichen Konzentrationen. Dementsprechend wurde *Trichoderma virens* als Bodeninokulant eingesetzt, um die Phytoremediation und die Pflanzenbiomasse zu fördern, indem Pflanzen vor den wachstumshemmenden Effekten von Schwermetallen geschützt werden (Babu *et al.*, 2014; Torres-Cruz *et al.*, 2018). Interessanterweise waren Mitglieder derselben Gattung in der Lage, Tebuconazol allein abzubauen (Obanda & Schupe, 2009; Woo *et al.*, 2010), sodass vermutlich die Cu- und Cu-Co-Biozid-Kombination, und nicht Tebuconazol allein, die Besiedlung von Cu- und CuTriQAC- behandeltem Holz durch *Trichoderma*-Arten verhindert. Diese Beobachtung unterstreicht die Anpassungsfähigkeit bestimmter Pilzgattungen an verschiedene chemische Umgebungen und die Notwendigkeit, Holzschutzmittel als komplexe Systeme zu betrachten.

Die Resistenz gegen Triazole, zu denen auch Tebuconazol gehört, basiert auf verschiedenen Mechanismen. Einer der häufigsten, insbesondere bei *Candida*-Arten, ist die Mutation im *Erg11*-Gen, das für das Enzym 14 $\alpha$ -Demethylase kodiert (Handelman & Oshero, 2022). Diese Mutationen können die Bindung von Triazolen an das Enzym reduzieren und somit ihre fungizide Wirkung abschwächen. Ein weiterer wichtiger Mechanismus ist die erhöhte Produktion von Ergosterol durch Überexpression vieler Gene des Ergosterol-Stoffwechsels. Dies ermöglicht es den Pilzzellen, die durch Triazole verursachte Hemmung der Ergosterolsynthese zu kompensieren und ihre Membranintegrität aufrechtzuerhalten. Diese Erkenntnisse verdeutlichen die evolutionäre Anpassungsfähigkeit von Pilzen an antimykotische Substanzen und unterstreichen die Herausforderungen bei der Entwicklung effektiver und langfristiger Holzschutzmittel. Sie zeigen auch, dass die Wirksamkeit von Holzschutzmitteln nicht nur von einzelnen Komponenten abhängt, sondern von der gesamten Formulierung und ihrer Interaktion mit der mikrobiellen Umwelt.

Bei einer früheren Studie von Clubbe (1978, 1980) wurden Pilze aus unbehandelten Birken- und Kiefernholzpfählen isoliert (Råberg *et al.*, 2013). Im Verlauf des Holzerfalls wurde eine Abfolge von Pilzarten beobachtet, die in drei Phasen eingeteilt wurde. Zu Beginn der Abfolge dominierten primäre Schimmelpilze wie *Fusarium spp.* und *Aureobasidium pullulans*, was auch auf unsere Ergebnisse zutreffend ist (Tabelle C 1 und Tabelle C 2 im Anhang). In der zweiten Phase wurden Moderfäulepilze wie *Phialophora spp.* und *Humicola sp.* identifiziert. Nur ein kleiner Anteil der Gattung *Phialophora* wurde in unserer Studie nachgewiesen, jedoch wurden in der Studie von Clubbe (1978, 1980) die Testholzpfähle nach 96, 363 und 591 Tagen freigelegt, sodass es auf diese Studie bezogen möglich wäre, dass sich der Pilz noch nicht auf dem Holz genügend vermehrt hätte und eine natürliche Verschiebung der Gattungen auf dem Feld noch vollzogen würde. In der dritten Phase wurden Basidiomycetes mit zunächst schwachen Abbauarten nachgewiesen, gefolgt von der Etablierung von Pilzen, die die Weißfäule verursachen. Diese Fäulnispilze wurden von sekundären Schimmelpilzen wie *Trichoderma viride* begleitet (Clubbe (1978, 1980)).

Die dominierenden Bakterien an beiden Standorten gehörten zur Familie der Bradyrhizobiaceae und zu den Gattungen *Methylobacterium*, *Pseudomonas* und *Sphingomonas*. Die Mehrheit dieser Gattungen wurden als atmosphärische stickstofffixierende Bakterien (Diazotrophe) beschrieben (Madhaiyan *et al.*, 2015). Eine Untersuchung des diazotrophen Schlüsselgens, das für Dinitrogenase-Reduktase (*nifH*) kodiert, hatte als Ergebnis *Sphingomonas*- und *Methylobacterium*-ähnliche Sequenzen in einer Gemeinschaft von Totholzerzetzern (Hoppe *et al.*, 2014). Dies legt nahe, dass auch in dieser Studie diazotrophe Bakterien vorhanden waren. Diazotrophe Aktivität ist eine sehr nützliche bakterielle Eigenschaft in stickstofflimitierten Umgebungen wie Kiefernholz, und sie können zur Anreicherung des Stickstoffgehalts im Holz beitragen (Mäkipää *et al.*, 2018). Des Weiteren wurden diazotrophe Bakterien bei der Besiedlung von *Picea abies* vor allem in mittleren Zerfallsstadien gefunden (Hoppe *et al.*, 2014; Hoppe *et al.*, 2015). Darüber hinaus wurde die Zusammenarbeit von Diazotrophen und holzfäulnisfördernden Pilzen gezeigt (Weißhaupt *et al.*, 2011), was darauf hindeutet, dass diazotrophe Aktivität nicht nur für intrazelluläre Zwecke genutzt wird, sondern auch gemeinsam innerhalb der mikrobiellen Gemeinschaft im Kiefernholz. Weitere Forschung ist notwendig, um die Funktionsweise der bakteriell-pilzlichen Interaktionen im Prozess der Zersetzung von mit Holzschutzmittel behandeltem Totholz zu verstehen.

Obwohl es zu einem Verlust der mikrobiellen Diversität kommt, bleiben Pilze und Bakterien im Holz vorhanden, die sowohl die Fähigkeit zum Holz- als auch zum Biozidabbau besitzen sowie metallresistente Merkmale teilen. Daher wurde der Abbau des geschützten Holzes höchstwahrscheinlich von Mitgliedern der Pilzgemeinschaft durchgeführt. Insbesondere gehören zu den dominierenden Pilzen in der Zusammensetzung im Holz Mitglieder der Ascomycota, die zu den phylotypenreichsten und am weitesten verbreiteten Pilzen gehören, wie in einer Studie von Egidi *et al.* (2019) festgestellt wurde. Es ist bekannt, dass die Mehrheit der dominanten Ascomycota durch ein höheres genomisches Potenzial im Vergleich zu anderen ökologisch wichtigen Pilzen, wie z. B. saprobischen Basidiomycota, gekennzeichnet ist. Dieses führt zu generalistischeren Strategien, die zu ihrer größeren Dominanz in Böden beitragen können (Egidi *et al.*, 2019). Ebenso waren Bakterien, die häufig und ubiquitär verbreitet sind

(Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018), an beiden Standorten vorhanden. Da dem Boden in Mitteldeutschland Waldboden und Sägespäne zugesetzt wurden, könnte dies die höhere relative Abundanz der Gattung *Bradyrhizobium* erklären, die z.B. in nordamerikanischen Waldböden dominieren (VanInsberghe *et al.*, 2015). Es ist bekannt, dass Pilze der Gattung *Bradyrhizobium* am Ligninabbau beteiligt sind, ligninolytische Gene enthalten und in Waldböden eine erhöhte transkriptionelle Aktivität zeigen (Nacke *et al.*, 2014). Obwohl die Enzymologie des bakteriellen Ligninabbaus im Vergleich zu der von Pilzen schlecht verstanden ist, könnten Bakterien ligninolytische Peroxidasen und Laccasen verwenden, um die Toxizität von phenolischen Verbindungen zu reduzieren, anstatt Lignin abzubauen (Lladó *et al.*, 2017). Dies würde bedeuten, dass solche Bakterien, die aromatische Verbindungen abbauen können, aktiv am Abbau von organischen Co-Bioziden teilnehmen. Dies ermöglicht nicht nur die Besiedlung von mit Holzschutzmittel-geschütztem Holz durch eine mikrobielle Gemeinschaft, die empfindlicher auf Holzschutzmittel reagiert (Jakobs-Schönwandt *et al.*, 2010), sondern macht es einer breiten Masse an Bakterien und Pilzen zugänglich. Aus diesem Grund ist es möglich, dass Bakterien in Kontakt mit der CuTriQAC-Behandlung zunächst aromatische Verbindungen abbauen, um anschließend den Holzabbau durch Pilze zu fördern. Diese Bakterien-Pilz-Interaktion müsste jedoch noch genauer untersucht werden. Bemerkenswerterweise waren die dominierenden Bakteriengattungen in den Cu- und CuTriQAC-Behandlungen in Nord- und Mitteldeutschland im Holz ähnlich und gehören zu diazotrophen Gemeinschaftsmitgliedern. Da Stickstoff eine begrenzte Ressource im Holz ist (Cornwell *et al.*, 2009; Hoppe *et al.*, 2014), wird angenommen, dass Bakterien durch N<sub>2</sub>-Fixierung entscheidend an der Stickstoffanreicherung im Holz beteiligt sind (Gómez-Brandón *et al.*, 2020). Daher können Pilze ihren Stickstoffbedarf für vegetatives Wachstum und Reproduktion durch Assoziationen mit diazotrophen Organismen decken. Somit ist festzuhalten, dass einerseits ein Verlust an Diversität zwischen Mikroorganismen im Boden und Mikroorganismen im Holz besteht, die Funktion des Holzabbaus aber erhalten bleibt. Bei den Holzschutzmitteln war die Cu-Co-Biozid-Kombination CuTriQAC der reinen Kupferbehandlung überlegen, da die Anzahl der Pilzkopien im behandelten Holz deutlich geringer war. Unterschiede zwischen Nord- und Mitteldeutschland wurden sowohl in der räumlich-zeitlichen Penetration im Holz als auch in der Anzahl der Genkopien während der Inkubationszeit auf dem Feld festgestellt. Somit könnte die Interaktion der Zusammensetzung den entscheidenden Unterschied zwischen den beiden Standorten ausmachen. Ob die Zusammensetzung tatsächlich einen signifikanten Unterschied zwischen den Standorten bewirkt oder ob es eher die Umweltbedingungen und biotische Interaktionen sind, muss experimentell geprüft werden.

#### **4.4. Der Einfluss von Kupfer auf die mikrobielle Gemeinschaft und den Abbau von geschütztem Holz**

Die Kupferresistenz bei Mikroorganismen ist ein komplexer Prozess, der sowohl bei Bakterien als auch bei Pilzen auf ähnlichen Grundprinzipien beruht. Eine zentrale Rolle spielt dabei der Kupferexport über Effluxpumpen, der entscheidend zur Kupferhomöostase und -resistenz beiträgt (Hyre *et al.*, 2021).

Bei Bakterien, insbesondere bei gramnegativen Arten, sind dreiteilige Effluxpumpen (TEPs) von besonderer Bedeutung (Greene & Koronakis, 2021). Diese Mehrkomponenten-

Anordnungen erstrecken sich über die gesamte Zellhülle und sind in der Lage, schädliche Moleküle aktiv aus der Zelle zu entfernen. Ein gut untersuchtes Beispiel hierfür ist das CusCFBA-System in *Escherichia coli*, bei dem CusA als zentrales Transportprotein fungiert (Hyre *et al.*, 2021).

Bakterien haben zudem Mechanismen entwickelt, um die schädliche Wirkung von freiem Kupfer zu erkennen und zu neutralisieren (Changela *et al.*, 2003; Greene & Koronakis, 2021), wobei eine gängige Strategie darin besteht, überschüssiges Kupfer mithilfe von Membrantransportern aus der Zelle zu entfernen (Giachino & Waldron, 2020; Greene & Koronakis, 2021). Neben den spezialisierten Kupfer-Effluxpumpen können viele TEPs auch eine Reihe strukturell unterschiedlicher Verbindungen ausschleusen, darunter mehrere Antibiotika, aber eine Untergruppe von TEPs ist auf die Entfernung spezifischer Metallionen spezialisiert (Hinchliffe *et al.*, 2013; Greene & Koronakis, 2021)

Bei Pilzen, wie beispielsweise *Candida albicans*, wurden durch funktionelle Genanalysen zwei wichtige Gene für die Kupferentgiftung identifiziert: *CaCUP1*, ein Metallothionein-Gen, und *CaCRP1*, ein Gen für eine Kupfer transportierende P-Typ ATPase (Weissmann *et al.*, 2000). Beide Gene werden durch extrazelluläres Kupfer induziert und tragen zu einer erhöhten Kupferresistenz bei.

Diese Mechanismen verdeutlichen die evolutionäre Anpassung von Mikroorganismen an kupferreiche Umgebungen und zeigen, wie Bakterien und Pilze ähnliche Strategien entwickelt haben, um mit potenziell toxischen Kupferkonzentrationen umzugehen. Das Verständnis dieser Resistenzmechanismen ist nicht nur von wissenschaftlichem Interesse, sondern auch von praktischer Bedeutung für die Entwicklung effektiver antimikrobieller Strategien und das Management von Kupferresistenzen in verschiedenen Umwelten.

#### **4.4.1. Kupfertolerante Mikroorganismen ermöglichen den Abbau von geschütztem Holz in Labor-Inkubationsstudien**

Der anfängliche Holzabbau von Cu-imprägniertem Holz in den Labor-Inkubationsstudien wurde vermutlich maßgeblich von kupfertoleranten Vertretern vieler Pilzgattungen durchgeführt (Tabelle B 1 bis Tabelle B 5 im Anhang). In Anwesenheit von Holz, das mit kupferhaltigen Holzschutzmitteln behandelt wurde (Cu und CuTriQAC), wiesen Mitglieder der Gattungen *Chaetomium*, *Pseudallescheria* und *Scedosporium* ähnliche Abundanz auf wie in ungeschütztem Holz (

Tabelle B 3 im Anhang). Mitglieder der Gattungen *Chaetomium* sind bekanntermaßen kupfertolerant (Pečiulytė & Dirginčiūtė-Volodkienė, 2012) und *Chaetomium globosum* kann die toxische Wirkung von Kupfer bei Maiskeimlingen reduzieren und damit zu einer besseren Stresstoleranz der Pflanze beitragen (Abou Alhamed & Shebany, 2012). *Scedosporium apiospermum* (anamorpher Zustand von *Pseudallescheria boydii*) wird normalerweise mit stark verschmutzter Umwelt in Verbindung gebracht und ist oft am Abbau von aromatischen Kohlenwasserstoffen beteiligt (Tigini *et al.*, 2009). Auch die relative Abundanz von Mitgliedern der Gattungen *Fusarium*, *Penicillium* und *Veronaeopsis* sowie nicht klassifizierte Mitglieder der Familie Chaetomiaceae und Trichocomaceae nahm im Vergleich zu anderen

Pilzgattungen in Gegenwart von kupferhaltigen Behandlungen zu, unabhängig von Probenahmestandort und Inkubationszeit. Die Fähigkeit, polychlorierte Biphenyle (PCB) abzubauen, wurde bei verschiedenen Isolaten der Gattungen *Penicillium*, *Fusarium* und *Scedosporium* beobachtet, und dabei wurde Laccase nachgewiesen (Tigini *et al.*, 2009). Die Bedeutung dieses Enzyms für den PCB-Abbau ist nicht eindeutig geklärt. Darüber hinaus ist *Fusarium* für seine Fähigkeit bekannt, Xenobiotika abzubauen (Pinedo-Rivilla *et al.*, 2009; Tigini *et al.*, 2009) und ist beständig gegen Pb, Cr, Cu und Zn (Ezzouhri *et al.*, 2009). Es ist bekannt, dass *Penicillium ochrochloron* gegenüber Kupfer sehr tolerant ist (Okamoto *et al.*, 1977). Zudem können einige *Penicillium*-Arten verschiedene Xenobiotika abbauen und sind potente Bioremediatoren von Herbiziden, Insektiziden und Unkrautvernichtungsmitteln (Zehra *et al.*, 2018). Es wurde festgestellt, dass sie viele aromatische und nichtaromatische Verbindungen, Organochlorine, Organophosphor,  $\beta$ -Hexachlorcyclohexan Pestizide und andere verwandte toxische Verbindungen abbauen können. Mitglieder der Familie Trichocomaceae sind bekannt für ihre Produktion von organischen Säuren und verschiedenen Enzymen, die eine Vielzahl komplexer Biomoleküle abbauen können (Geiser *et al.*, 2006; Pitt & Hocking, 2009; Samson *et al.*, 2010). Die bekanntesten Arten dieser Familie gehören zu den Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Paecilomyces* (Houbraken & Samson, 2011). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Familie der Trichocomaceae mit Cu-behandelte Holzprüfkörper tolerieren und diese erschließen können, dabei kann in Gegenwart von Schwermetallen *Penicillium* wachsen (Zafar *et al.*, 2007). Somit haben die vorhandenen Pilzgattungen Fähigkeiten zum Abbau von verschiedenen organischen Verbindungen, was eine sehr vorteilhafte Eigenschaft im Hinblick auf den potenziellen Abbau von CuTriQAC sowie TriQAC sein kann.

Zu den dominierenden bakteriellen Phyla an jedem Standort und zu jeder Inkubationszeit in den Laborstudien gehörten Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria und Chloroflexi (Abbildung A 2 im Anhang). Mitglieder dieser Phyla wurden zuvor in schwermetallkontaminierten Böden gefunden (Kozdrój & van Elsas, 2001; Zhang *et al.*, 2007). Gremion *et al.* (2003) zeigten, dass Actinobacteria innerhalb der bakteriellen Gemeinschaft in kontaminierten Böden dominieren. Da die Zusammensetzung und Verteilung der bakteriellen Gemeinschaft durch die Behandlungen nicht beeinflusst wurde (Abbildung 17), stimmt dies mit früheren Studien überein, in denen eine hohe Ähnlichkeit und geringe Variation der dominanten bakteriellen Gruppen in kupferkontaminierten Böden berichtet wurde (Deng *et al.*, 2009; Altimira *et al.*, 2012). Denaturierende Gradientengel-Elektrophorese-Studien zeigten eine ähnliche Diversität, was darauf hindeutet, dass das Vorhandensein hoher Kupferkonzentrationen und Unterschiede in anderen Bodeneigenschaften keinen Einfluss auf die Diversität der dominanten bakteriellen Gemeinschaftsgruppen haben. Geringe Auswirkungen von Kupfer auf die dominante mikrobielle Diversität wurden auch von Guo *et al.* (2009) erwähnt. Frühere Studien haben gezeigt, dass Kupfer, Blei und Zink keine signifikanten Veränderungen der Bakterienvielfalt nach Langzeitkontaminationen verursachten (Ellis *et al.*, 2003; Deng *et al.*, 2009).

Wie bereits erwähnt, wurde die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft durch die Behandlungen der Holzprüfkörper in den Laborstudien nicht beeinflusst. Jedoch zeichnet sich die Gemeinschaft durch Gattungen aus, die in schwermetallbelasteten Böden vorgefunden

wurden. *Anaeromyxobacter* waren in Nordfrankreich bei allen Behandlungen während der Inkubationszeit vorhanden, dabei stieg die relative Abundanz dieser Gattung bei der Cu-Behandlung an. *Anaeromyxobacter* ist eine typische repräsentative Gattung der dissimilatorischen Fe(III)-Reduktion und kann Acetat oder H<sub>2</sub> als Elektronendonoren verwenden, um Fe(III) zu Fe(II) zu reduzieren und dabei Energie zur Aufrechterhaltung des Wachstums zu gewinnen (Wang *et al.*, 2020). Alternativ kann dieses Bakterium halogenierte Phenole, Nitrat, Distickstoffmonoxid, Fumarat, Sauerstoff, U(VI), As(V) und Se(IV) als Elektronenakzeptoren aufnehmen, die mit Fe(III) konkurrieren. Dies deutet auf die potenzielle Rolle von *Anaeromyxobacter* bei der Bioremediation von Schwermetallen, radioaktiven Metallen und der Verschmutzung durch organische Halogenide hin. In Böden und Sedimenten, die mit Schwermetallen kontaminiert sind (Kozdrój & van Elsas, 2001), wurde festgestellt, dass *Bacillus* dominant ist, was mit den Ergebnissen dieser Studie übereinstimmt, da diese Gattung bei allen Behandlungen in Norddeutschland vorkam.

Unter den Bakterien entwickelten Mitglieder der Actinobacteria geeignete Eigenschaften, die das Überleben unter Stressbedingungen sichern, darunter filamentöses Myzelwachstum, die Fähigkeit zur Sporenbildung und einen leistungsfähigen Sekundärstoffwechsel (Větrovský & Baldrian, 2015). Schwermetallbelastete Böden können somit einen Stresszustand darstellen, für den diese Bakterien ebenfalls mehrere Resistenzmechanismen entwickelt haben. Darüber hinaus scheinen Actinobacteria weniger von Schwermetallen (Cu, Zn, Cd, Pb) betroffen zu sein als andere Bakterien und überwiegen innerhalb der bakteriellen Gemeinschaft in kontaminierten Böden (Gremion *et al.*, 2003). Mit zunehmendem Metallgehalt nahm die Abundanz der häufigsten Taxa der Actinobacteria bei den folgenden Mitgliedern der Gattungen zu: *Acidothermus*, *Streptomyces*, *Pseudonocardia*, *Janibacter* und *Microlunatus* (Větrovský & Baldrian, 2015). In dieser Studie wurden Mitglieder der Gattung *Acidothermus* bei allen Behandlungen in Norddeutschland identifiziert und konnten mit zunehmender relativer Abundanz bei kupferhaltigen Behandlungen in Mitteldeutschland nachgewiesen werden (Tabelle B 6 und Tabelle B 7 im Anhang). Die Gattung *Microlunatus* wurde bei allen Behandlungen in Südfrankreich in vergleichsweise hoher relativer Abundanz entdeckt.

#### **4.4.2. Auswirkungen von Kupfer auf die mikrobielle Gemeinschaft im Holz im Rahmen von Freilandstudien**

Bei den Pilzen, die in höherer relativer Abundanz in Cu- und CuTriQAC-behandeltem Holz aus Norddeutschland vorhanden waren, handelte es sich hauptsächlich um Schimmelpilze und Hefen mit der Fähigkeit, Holz abzubauen (Horvath *et al.*, 1976; Fryar *et al.*, 2004; Bridžiuviene & Raudonienė, 2013; Tsuji *et al.*, 2014; Kwaśna *et al.*, 2016). Unter diesen Pilzen befanden sich Mitglieder der Gattungen *Alternaria* (Bridžiuviene & Raudonienė, 2013; Råberg *et al.*, 2013; Kirker *et al.*, 2017), *Aureobasidium* (Horvath *et al.*, 1976), *Pochonia* (Kirker *et al.*, 2017) und die Familie Nectriaceae (Råberg *et al.*, 2013; Kirker *et al.*, 2017), die zuvor in mit Schutzmitteln behandeltem Holz beobachtet wurden. Darüber hinaus dominierten Mitglieder der Gattung *Alternaria* auch in der Boden-Holz-Grenzfläche der H<sub>2</sub>O-Behandlung. Bemerkenswert ist, dass in dem kupfergeschützten Holze einige wenige, aber meist identische Pilzgattungen den Unterschied in der relativen Abundanz ausmachen und zur Klasse der Dothideomycetes und Sordariomycetes gehören. Beide Klassen sind ubiquitär und fungieren

auch als Pathogene und Endophyten von Pflanzen und Saprophyten, die an der Zersetzung und dem Nährstoffkreislauf in fast allen Ökosystemen beteiligt sind (Schoch *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006). Zur Klasse der Dothideomycetes gehören *Alternaria* und *Aureobasidium*, und zu den Sordariomycetes gehören die Familien Bionectriaceae und Nectriaceae und folgende Gattungen: *Clonostachys*, *Fusarium*, *Hematonectria*, *Ilyonectria* und *Trichoderma*. Dabei produzieren *Trichoderma* und *Fusarium* effiziente celluloseabbauende Enzyme (Endo- und Exo-Glucanasen,  $\beta$ -Glucosidase) (Zyani *et al.*, 2009) und sind daher sehr schädlich für das Holz. In Norddeutschland wurde die höchste Anzahl an Pilzgenkopien bei der CuTriQAC-Behandlung in der zweiten Holztiefe nachgewiesen, die von Mitgliedern der nicht klassifizierten Nectriaceae dominiert wurde. Zur Familie Nectriaceae gehört auch die Gattung *Fusarium*, die bei allen Behandlungen in Norddeutschland beobachtet, aber die höchste relative Abundanz bei der Cu-Behandlung in der zweiten Holztiefe ermittelt wurde. Ebenso wurde die Cu-Behandlung in der zweiten Holztiefe von Mitgliedern der Gattung *Mrakia* dominiert, die darüber hinaus bei keiner weiteren Behandlung in hoher und zunehmender relativer Abundanz vorhanden war. *Fusarium* und *Mrakia* sind tolerant gegenüber Schwermetallen (Torres-Cruz *et al.*, 2018; Martorell *et al.*, 2019) und waren wahrscheinlich für die Verschiebung in der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft verantwortlich (Abbildung 22). Zusätzlich zu ihrer saprobiellen Lebensweise umfasst die Gattung *Fusarium* mehrere Arten opportunistischer potenzieller Phytopathogene, die weltweit in der Landwirtschaft und im Gartenbau vorkommen (Summerell *et al.*, 2010), die stark sporenbildend und sehr gut an stressige Umweltvariationen angepasst sind (M'Barek *et al.*, 2020). Zudem hat die Basidiomycota-Gattung *Mrakia* die Fähigkeit, verschiedene extrazelluläre Enzyme wie Lipasen, Amylasen, Proteasen, Pektinasen, Cellulasen, Chitinase und ligninolytische Enzyme zu produzieren (Tasselli *et al.*, 2017; Yurkov *et al.*, 2020), sodass sie auch an Holzabbauprozessen beteiligt sind.

Sowohl bei der Cu- als auch bei der CuTriQAC-Behandlung in Mitteldeutschland dominierten in der zweiten Holztiefe die Mitglieder der Ordnung Hypocreales. Dazu gehören die nicht klassifizierten Nectriaceae und die Gattungen *Ilyonectria* und *Clonostachys*, die sich durch eine hohe relative Abundanz auszeichneten. Die Gattung *Ilyonectria* galt bisher als nicht schwermetalltolerant, was kürzlich widerlegt wurde (Torres-Cruz *et al.*, 2018). Darüber hinaus gelten einige *Ilyonectria*-Arten als Erreger der Schwarzfußkrankheit bei Weinreben oder der Wurzelfäule der Kiwis (Reis *et al.*, 2013). Die Gattung *Clonostachys* war zwar nicht in vergleichsweise großer Abundanz vorhanden wie *Ilyonectria*, aber während der Cu- und CuTriQAC-Behandlung in zunehmender relativer Abundanz. So hat *Clonostachys* eine Cu(II)-Toleranz und weist eine hohe Fähigkeit der Cu(II)-Bioakkumulation auf (Zotti *et al.*, 2014). Nahe Verwandten dieser Gattung werden als starke Konkurrenten beschrieben, da sie celluloseabbauend und antagonistisch gegenüber anderen Pilzen sind (Deacon *et al.*, 2006). Interessanterweise wurden sie zuvor auch in metallkontaminierten Bodenumgebungen gefunden (Cecchi *et al.*, 2017). Obwohl nur wenige Mitglieder der Gattung *Phialophora* nachgewiesen wurden, sind sie in der Lage, Holzschutzmittel-Verbindungen im Holz, wie z.B. Kupfer, intrazellulär zu entgiften (Daniel & Nilsson, 1988). Wenngleich sie weniger häufig vorkommen, könnten solche entgiftenden Mikroorganismen die Entwicklung einer Reihe von Mitgliedern der mikrobiellen Gemeinschaft ermöglichen, die empfindlicher gegenüber Holzschutzmitteln sind (Jakobs-Schönwandt *et al.*, 2010).

Bemerkenswerterweise waren die dominanten Bakteriengattungen in den Cu- und CuTriQAC-Behandlungen in Nord- und Mitteldeutschland auch im Holz ähnlich (Tabelle C 3 und Tabelle C 4 im Anhang). Alle diese dominanten Bakteriengattungen wurden in Kiefer und anderen Holzarten gefunden (Folman *et al.*, 2008; Moll *et al.*, 2018). Außerdem wiesen Moll *et al.* (2018) darauf hin, dass Proteobacteria, Acidobacteria und Actinobacteria die dominantesten bakteriellen Phyla sowohl im Splint- als auch im Kernholz der Kiefer sind. Somit weist Kiefernholz keine nennenswerten räumlichen Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft auf. Mitglieder dieser dominanten Bakteriengattungen sind als kupfertolerant beschrieben worden (Mellano & Cooksey, 1988; Kim *et al.*, 1996; Noisangiam *et al.*, 2010). Darüber hinaus tragen *Pseudomonas* (Mellano & Cooksey, 1988) und Mitglieder der Familie Bradyrhizobiaceae (Noisangiam *et al.*, 2010) eine Metallresistenz gegen Kupfer oder sind in der Lage, Kupfer zu adsorbieren wie *Methylobacterium* (Kim *et al.*, 1996). Studien zufolge sind *Sphingomonas* dafür bekannt, gegen hohe  $\text{Cu}^{2+}$ -Konzentration ( $\geq 2.8 \text{ mM}$ ) und andere Schwermetalle resistent zu sein (Altimira *et al.*, 2012). Diese hohen Schwermetallresistenzen können für das Überleben und die Anpassung an akute Schwermetallkontaminationen im Boden nützlich sein. Das *copA*-Gen, das für die Multi-Kupfer-Oxidase kodiert, ist eine der wichtigsten genetischen Determinanten der Kupfer-Resistenz (Nies, 1999; Rensing & Grass, 2003; Lejon *et al.*, 2007), die in *Sphingomonas*-Stämmen nachgewiesen wurde, die aus kontaminierten landwirtschaftlichen Böden isoliert wurden (Altimira *et al.*, 2012). Das *copA*-Gen befindet sich auf Plasmiden, was vermuten lässt, dass mobile genetische Elemente an der Ausbreitung von Kupferresistenz-Determinanten beteiligt sein könnten und so die Anpassung von Bakteriengemeinschaften an Kupfer erleichtern. Auf diese Weise können Bakterien das *copA*-Gen erwerben, wenn sie über einen langen Zeitraum Kupfer ausgesetzt sind, und dadurch zu kupferresistenten Bakterien werden. Dies trifft wahrscheinlich eher auf die Bakteriengemeinschaft in Norddeutschland zu, in der Kupfer seit vielen Jahren verwendet wird (Kaiser & Schürmann, 2009).

Außerdem haben Mitglieder der Gattungen *Sphingomonas* (Fredrickson *et al.*, 1995), *Pseudomonas* (Evans & Fuchs, 1988) und der Familie Bradyrhizobiaceae (Parke & Ornston, 1984) die Fähigkeit, komplexe aromatische Verbindungen abzubauen. Diese Fähigkeit ermöglicht es ihnen, in Umgebungen zu überleben, die mit verschiedenen organischen Schadstoffen belastet sind, einschließlich einiger Komponenten von Holzschutzmitteln. Bei der Resistenz gegen quaternäre Ammoniumverbindungen (Quats), die häufig in Bioziden und Desinfektionsmitteln verwendet werden, spielen sowohl strukturelle als auch funktionelle Mechanismen eine Rolle. Zum einen ist die natürliche Struktur der bakteriellen Zellwand ein wichtiger Faktor für die Quat-Toleranz. Gramnegative Bakterien sind im Allgemeinen weniger empfindlich gegenüber Quats als grampositive Bakterien, da ihre äußere Membran eine zusätzliche Barriere darstellt, die es Bioziden erschwert, ihre Zielstruktur (die Zytoplasmamembran) zu erreichen (Denyer & Maillard, 2002). Zum anderen besitzen viele Bakterien Effluxpumpen, die in der Lage sind, Substanzen wie Quats und verschiedene Antibiotika aktiv aus dem Zytoplasma und der Zytoplasmamembran zu entfernen (Buffet-Bataillon *et al.*, 2016). Diese Pumpen tragen wesentlich zur Multidrug-Resistenz bei.

Es wird daher angenommen, dass diese Bakterientaxa keine passiven Bewohner, sondern aktive Gemeinschaftsmitglieder beim Abbau von Holzbestandteilen und/oder organischen Co-Bioziden sind. Letzteres trifft auf Mitglieder der Gattung *Pseudomonas* zu, da sie in der Lage sind, Tebuconazol abzubauen (Obanda & Schupe, 2009). Mitglieder der Gattung

*Methylobacterium* waren in der Lage, lignocellulosehaltige Hydrolysate zu entgiften und auf dem einzigen aromatischen Substrat Furan zu wachsen (López *et al.*, 2004). Dies könnte für den Abbau von Tebuconazol-ähnlichen Verbindungen und Holzbestandteilen von Vorteil sein. In einer Studie wurden Mitglieder der Gattungen *Burkholderia*, *Pseudomonas* und *Varivorax* sowie der Familien Oxalobacteriaceae und Sphingomonaceae durch einen Stable Isotope Probing -Ansatz direkt mit dem Abbau von Cellulose, Hemicellulose oder Lignin in Verbindung gebracht (Wilhelm *et al.*, 2019), was mit unserer Studie übereinstimmt.

Diese Mechanismen verdeutlichen die Anpassungsfähigkeit von Mikroorganismen an verschiedene antimikrobielle Substanzen. Die Fähigkeit zum Abbau komplexer aromatischer Verbindungen, kombiniert mit strukturellen Barrieren und aktiven Entgiftungsmechanismen, ermöglicht es bestimmten Bakterienarten, in Umgebungen zu überleben, die mit Holzschutzmitteln und anderen Bioziden behandelt wurden. Daher wurde der Abbau des geschützten Holzes höchstwahrscheinlich von Mitgliedern der bakteriellen Gemeinschaft zusätzlich zur Pilzgemeinschaft durchgeführt.

### 5. Zusammenfassung

#### Hypothese 1 und Hypothese 2

Der Einsatz kupferhaltiger Holzschutzmittel verändert nicht nur, wie schnell Holz im Boden abgebaut wird, sondern auch, welche Mikroorganismen es besiedeln, wie vielfältig diese sind und wie sich ihre Gemeinschaften im Laufe der Zeit entwickeln. Dieser Einfluss zeigte sich auch in den Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen mikrobieller Bodengemeinschaft und den Eigenschaften der Holzprüfkörper, wobei insbesondere deutlich wurde, dass die Abnahme des MOE mit dem Masseverlust korrelierte – unabhängig von der Herkunft des Bodens. Die Abnahme des MOE wurde signifikant von den Holzschutzmittelbehandlungen und der Inkubationszeit beeinflusst. Somit wiesen die CuTriQAC- und Cu-behandelten Holzprüfkörper nicht nur den niedrigsten Abbau auf, sondern im Gegensatz zu H<sub>2</sub>O- und TriQAC-behandelten Holzprüfkörpern auch einen schützenden Effekt gegenüber der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden. Die Anzahl der Genkopien der pilzlichen ITS-Gen-Region und der bakteriellen 16S rRNA-Gene nahmen während der Inkubationszeit signifikant zu. Insgesamt wurde jedoch nur die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft durch die Behandlung der Holzprüfkörper maßgeblich beeinflusst und verschob sich signifikant während der Inkubationszeit. Demzufolge wurde berichtet, dass dominante bakterielle Gruppen in kupferkontaminierten Böden eine hohe Ähnlichkeit und geringe Variation aufwiesen (Deng *et al.*, 2009; Altimira *et al.*, 2012) und während des Holzabbaus weniger drastische Veränderungen erfahren als pilzliche Gemeinschaften (Kielak *et al.*, 2016). Verschiebungen in der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft deuten auf Selektions- und Anpassungsprozesse hin, wie sie zuvor für kupferhaltige Umgebungen postuliert wurden (Parry & Wood, 1958). Die häufigsten Gattungen waren ligninolytische und/oder cellulolytische Ascomycota (Sordariomycetes) und Basidiomycota (Agaricomycetes). Zu Beginn des Holzabbaus bestand die Pilzgemeinschaft nicht nur aus holzabbauenden saprophytischen Pilzen (*Mortierella* und *Pezizaceae*), sondern auch aus Vertretern der Weißfäule (*Coprinellus*, *Lacrymaria* und *Pluteus*) und Pilzen mit der Fähigkeit zum Abbau von organischen Bioziden (*Scedosporium* und *Pseudallescheria*). Anschließend wurde das Holz vor allem von Sordariomycetes und Eurotiomycetes dominiert, darunter auch Celluloseabbauer wie *Chaetomium* und *Penicillium*. Darüber hinaus sind Mitglieder der Familie Trichocomaceae bekannt für ihre Produktion von organischen Säuren und verschiedenen Enzymen, die eine Vielzahl komplexer Biomoleküle abbauen können (Geiser *et al.*, 2006; Pitt & Hocking, 2009; Samson *et al.*, 2010). Zum Ende der Inkubationszeit traten vermehrt Gattungen auf, die mit Ligninabbau in Verbindung gebracht werden können (*Penicillium* und *Fusarium*). Die Verschiebungen in der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft gingen mit einer Zunahme der Masseverluste einher. An jedem Standort war somit eine sehr heterogene Zusammensetzung der Pilz- und Bakteriengemeinschaften vorhanden, die jedoch ähnliche Holzabbauraten verursachte. Die vorhandenen Pilzgattungen haben demnach Fähigkeiten zum Abbau von verschiedenen organischen Verbindungen, was eine sehr vorteilhafte Eigenschaft im Hinblick auf den potenziellen Abbau von CuTriQAC sowie TriQAC sein kann.

### Hypothese 3

Die Zusammensetzung und Vielfalt der mikrobiellen Gemeinschaft unterscheiden sich deutlich zwischen Kupfer-geschütztem und ungeschütztem Holz sowie zwischen Holzinnerem und der Boden-Holz-Grenzfläche, wobei sich insbesondere eine geringere saprotrophe Diversität und eine höhere Häufigkeit kupfertoleranter Mikroorganismen im Kupfer-geschützten Holz zeigen. Um diese Unterschiede räumlich aufzulösen und den Einfluss kupferhaltiger Holzschutzmittel auf die Zusammensetzung der holzbewohnenden Bakterien- und Pilzgemeinschaft genauer zu erfassen, wurden in den Freilandstudien sowohl Proben von der Boden-Holz-Grenzfläche als auch aus zwei unterschiedlichen Holztiefen entnommen und untersucht. Das Vorhandensein von Holz erhöhte die Anzahl der pilzlichen und bakteriellen Genkopien an der Holz-Boden-Grenzfläche im Vergleich zum Boden ohne Holzkontakt signifikant in Norddeutschland, jedoch nicht in Mitteldeutschland. Darüber hinaus waren die pilzlichen und bakteriellen Genkopienzahlen in der H<sub>2</sub>O-Behandlung in Norddeutschland nach 17 Wochen Inkubation signifikant höher als in Mitteldeutschland. Im Gegensatz zu der Boden-Holz-Grenzfläche besiedelte die kupferadaptierte mikrobielle Gemeinschaft in Norddeutschland das Holz mit einer geringeren Genkopienzahl nach 17 Wochen Inkubation. Demnach war die Besiedlung der Pilz- und Bakteriengemeinschaft in Mitteldeutschland durch einen Besiedlungserfolg in Abhängigkeit von den kupferhaltigen Behandlungen gekennzeichnet. In CuTriQAC-behandeltem Holz verringerten sich die Genkopienzahlen von Pilzen und Bakterien in einer Tiefe von 1 mm an beiden Standorten, jedoch nur von Pilzen in einer Tiefe von 7 mm, nicht aber in Cu-behandeltem Holz. Daraus wird deutlich, dass Cu- und CuTriQAC-behandeltes Holz die Zusammensetzung der Bakterien- und in geringerem Maße auch der Pilzgemeinschaft im Holz veränderte. Sowohl die Diversität der Pilz- als auch der Bakteriengemeinschaft nahmen von der Holz-Boden-Grenzfläche bis ins Holz hinein ab, insbesondere bei den kupferhaltigen Behandlungen. Somit wurden auch hier einige Pilz- und Bakteriengattungen durch die Cu- und CuTriQAC-Behandlungen selektiert. Zudem scheint die Cu-Co-Biozid-Kombination CuTriQAC als Holzschutzmittel im Vergleich zur reinen Kupferbehandlung überlegen zu sein, da die Pilzkopienzahlen in diesem Holz signifikant niedriger waren. Obwohl es zu einem Verlust der Diversität kam, blieben Pilze und Bakterien im Holz vorhanden, die sowohl die Fähigkeit zum Holz- als auch zum Biozidabbau besitzen sowie metallresistente Muster teilen. Daher wurde der Abbau des geschützten Holzes höchstwahrscheinlich nicht nur von Mitgliedern der Pilzgemeinschaft durchgeführt, sondern auch von aktiven Gemeinschaftsmitgliedern der Bakterien. Insbesondere gehören zu den dominierenden Pilzen in der Zusammensetzung im Holz Mitglieder der Ascomycota, die zur Ordnung Hypocreales zählen. Bemerkenswerterweise waren die dominierenden Bakteriengattungen in den Cu- und CuTriQAC-Behandlungen in Nord- und Mitteldeutschland im Holz ähnlich und gehören zu diazotrophen Gemeinschaftsmitgliedern, insbesondere *Pseudomonas* und *Sphingomonas*. Der Abbau des geschützten Holzes wurde höchstwahrscheinlich von Mitgliedern beider Gemeinschaften durchgeführt, sowohl von Pilzen als auch von Bakterien. Dennoch wurden Veränderungen in der räumlichen Variation im Holz zwischen den Standorten festgestellt. Um weitere Erkenntnisse beim Abbau von Holzschutzmittel-geschütztem Holz zu erlangen, wäre eine Auflösung der enzymatischen Reaktion mittels Enzymmessung gekoppelt mit Metaproteomik von Vorteil. Darüber hinaus könnten Mesokosmen-Experimente Aufschluss

## Zusammenfassung

---

über die Holzabbau-Aktivitäten der mikrobiellen Gemeinschaft in den verschiedenen Standorten geben. Damit könnte differenziert werden, ob das Mikrobiom oder die Vorgeschichte der Bodenbehandlung für den entscheidenden Unterschied zwischen den beiden Standorten verantwortlich sind.

### 6. Ausblick

Eine Kombination aus bewährten Holzschutzmittel-Prüfverfahren und Amplikonsequenzierung ermöglichte die Identifizierung der abundanten mikrobiellen Gemeinschaft an der Boden-Holz-Grenzfläche und in zwei Holziefen. Durch Literaturrecherche konnten den abundanten mikrobiellen Gemeinschaftsmitgliedern Funktionen zugeordnet werden, die auf einen potenziellen Holz- und Biozidabbau sowie auf Metallresistenzmuster hinweisen. Rückschlüsse auf die Aktivität der mikrobiellen Gemeinschaft konnten in dieser Arbeit nur anhand eines sehr groben Summenparameters in Form der Abbaugeschwindigkeit des Holzes, die durch Masseverlust und MOE aufgelöst wurde, gezogen werden.

Aus diesem Grund sind weitere Untersuchungen erforderlich, um das tatsächliche mikrobielle Potenzial zu ermitteln, das die mikrobielle Gemeinschaft beim Holz- und Biozidabbau in ihrer natürlichen Umgebung ausübt.

In diesem Zusammenhang ist die Untersuchung von Proteinen, die von allen zu einem bestimmten Zeitpunkt in einem Ökosystem vorhandenen Mikroorganismen exprimiert werden (Metaproteomik), nicht nur entscheidend, sondern kann auch Einblicke in die mikrobielle Funktionalität liefern (Siggins *et al.*, 2012). Somit wäre die Auflösung der enzymatischen Reaktion mittels Metaproteomik im System Boden und Holz von Vorteil, um die Erkenntnisse beim Abbau zu erweitern. Dementsprechend wäre dies eine ideale Ergänzung zur bestehenden Methodik. Mit Hilfe von Extraktionsverfahren und LC-MS/MS-Ansätzen ließen sich Zehntausende von Peptiden und > 10.000 Proteine pro Probe identifizieren und quantifizieren (Siggins *et al.*, 2012). Um die abbauenden Enzymsysteme zu untersuchen, sollten die metaproteomischen Datensätze hinsichtlich ausgewählter holzabbauender extrazellulärer Enzyme, wie z.B. Lipasen, Amylasen, Proteasen, Pektinasen, Cellulasen, Chitinasen und ligninolytischer Enzyme, und hinsichtlich ihrer taxonomischen Herkunft analysiert werden. Da Proteine den Zellen unter einer bestimmten Bedingung Struktur und Aktivitäten vermitteln, liefert die Kenntnis ihrer Häufigkeit ein Bild der zellulären Phänotypen auf molekularer Ebene und kann zu entscheidenden Erkenntnissen und bedeutenden Fortschritten bei der Analyse des Holzabbaus führen (Kleiner, 2019). So könnten mit einer gut gepflegten Proteinsequenzdatenbank diese Proteine einzelnen Arten oder höheren Taxa zugeordnet werden, um die funktionellen Rollen und Interaktionen der einzelnen Mitglieder in der Gemeinschaft zu verstehen. Auf diese Weise wäre es möglich, die Interaktion zwischen Bakterien und Pilzen und deren Beitrag zum Abbau von geschütztem Holz zu verstehen. Darüber hinaus könnten Untersuchungen an Holzprüfkörpern, die mit verschiedenen Holzschutzmitteln imprägniert wurden, die funktionelle Reaktion natürlich gemischter mikrobieller Gemeinschaften erfassen. Um den Biozidabbau in Abhängigkeit von der Zeit zu klären, sollte die Konzentration von Bioziden in Holzschutzmitteln systematisch überwacht werden. Dies sollte eine korrekte Bewertung der Abbaukapazität der untersuchten mikrobiellen Gemeinschaften ermöglichen.

Zusätzlich bieten Metabolomics-Studien ein erhebliches Potenzial, unser Verständnis des mikrobiellen Holzabbaus zu vertiefen und damit zur Entwicklung nachhaltigerer Holzschutzstrategien beizutragen. Diese Analysen ermöglichen eine umfassende Untersuchung von Metaboliten in biologischen Systemen und können im Kontext des mikrobiellen Holzabbaus detaillierte Einblicke in die Stoffwechselprozesse beim Abbau von bspw.

Lignocellulose liefern (Martínez *et al.*, 2005). Die Identifizierung spezifischer Metaboliten und Stoffwechselwege, die für den Holzabbau entscheidend sind, könnte neue Ansatzpunkte für gezieltere Holzschutzmittel aufzeigen.

Schilling *et al.* (2022) untersuchten einen wichtigen Weißfäulepilz, der für die Holzfäule der Weinrebe verantwortlich ist. Dieser Pilz ist in der Lage, alle Strukturpolymere des Holzes abzubauen, indem er spezifische Enzyme wie kohlenhydrataktive Enzyme und Peroxidasen ausscheidet. Die Studie analysierte die molekularen Mechanismen des Holzabbaus und eine mögliche Anpassung an das Holz der Weinrebe.

Ein ähnlicher Ansatz könnte für den Abbau von geschütztem und ungeschütztem Holz durch Pilze und Bakterien verwendet werden. Hier wäre es von Vorteil, die dominanten Mikroorganismen zu isolieren und auf Holz zu kultivieren, das mit verschiedenen Mitteln (z. B. Kupfer, Triazole, quaternäre Ammoniumverbindungen) behandelt wurde. Dabei könnten Parameter wie Masseverlust, Polymergehalt, Kupfertoleranz/-resistenz und sekretierte Proteine gemessen werden. Dies würde die Identifizierung und Quantifizierung von Metaboliten ermöglichen, die während des Holzabbaus entstehen und als potenzielle Ziele für neue Holzschutzmittel dienen könnten. Darüber hinaus könnte ein besseres Verständnis der mikrobiellen Interaktionen durch die Untersuchung der metabolischen Interaktionen zwischen verschiedenen Mikroorganismen beim Holzabbau gewonnen werden.

Die Ergebnisse solcher Studien könnten zur Entwicklung spezifischerer Holzschutzmittel beitragen, die gezielt auf bestimmte Stoffwechselprozesse oder Schlüsselmetabolite wirken. Dies könnte zu wirksameren und umweltfreundlicheren Schutzmethoden führen, die mit geringeren Schadstoffmengen auskommen. Beispielsweise könnten Holzschutzmittel entwickelt werden, die spezifische enzymatische Prozesse hemmen oder die Produktion von Schlüsselmetaboliten blockieren. Solche Ansätze könnten einen schonenderen und nachhaltigeren Holzschutz ermöglichen, der die Umweltbelastung minimiert und gleichzeitig eine hohe Wirksamkeit gewährleistet.

Weiterer Forschungsbedarf ergibt sich aus dem Vergleich der Bodenstandorte der Freilandstudie, da Unterschiede zwischen Nord- und Mitteldeutschland sowohl in der räumlich-zeitlichen Penetration im Holz als auch in der Anzahl der Genkopien während der Inkubationszeit auf dem Feld festgestellt wurden. In diesem Zusammenhang wäre es lohnend zu untersuchen, ob das Mikrobiom oder die Vorgeschichte der Bodenbehandlung für den entscheidenden Unterschied zwischen den beiden Standorten verantwortlich sind. Ein Mesokosmen-Experiment könnte demnach Informationen zu der Aktivität der mikrobiellen Gemeinschaft liefern. Hierfür bietet es sich an, sterilisierte und unbehandelte Böden aus Nord- und Mitteldeutschland zu verwenden und durch Zugabe zu kombinieren.

## Literaturverzeichnis

- Abou Alhamed MF & Shebany YM (2012) Endophytic *Chaetomium globosum* enhances maize seedling copper stress tolerance. *Plant Biol (Stuttg)* **14**: 859–863.
- Adam O, Badot P-M, Degiorgi F & Crini G (2009) Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **72**: 441–449.
- Altimira F, Yáñez C, Bravo G, González M, Rojas LA & Seeger M (2012) Characterization of copper-resistant bacteria and bacterial communities from copper-polluted agricultural soils of central Chile. *BMC Microbiol* **12**: 193.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW & Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**: 403–410.
- Alvarez C, Barbosa GG, Oliveira RdVCd, Morales BP, Wanke B & Lazéra MdS (2013) Techniques for the detection of pathogenic *Cryptococcus* species in wood decay substrata and the evaluation of viability in stored samples. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **108**: 126–129.
- Alves M, Pereira A, Matos P, Henriques J, Vicente C, Aikawa T, ... & Henriques I (2016). Bacterial community associated to the pine wilt disease insect vectors *Monochamus galloprovincialis* and *Monochamus alternatus*. *Scientific reports* **6**(1): 23908.
- Amann RI, Ludwig W & Schleifer KH (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* **59**: 143–169.
- Antonelli F, Bartolini M, Plissonnier ML, Esposito A, Galotta G, Ricci S, Petriaggi BD, Pedone C, Giovanni AD, Piazza S, Guerrieri F & Romagnoli M (2020) Essential oils as alternative biocides for the preservation of waterlogged archaeological wood. *Microorganisms*, **8**(12): 2015.
- Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D & Ratner AJ (2009) Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and methanogens in anorexic patients. *PloS one* **4**: e7125.
- Babu AG, Shim J, Bang K-S, Shea PJ & Oh B-T (2014) *Trichoderma virens* PDR-28: a heavy metal-tolerant and plant growth-promoting fungus for remediation and bioenergy crop production on mine tailing soil. *Journal of environmental management* **132**: 129–134.
- Bahram M, Hildebrand F & Forslund SK *et al.* (2018) Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature* **560**: 233–237.
- Ballabio C, Panagos P, Lugato E, Huang J-H, Orgiazzi A, Jones A, Fernández-Ugalde O, Borrelli P & Montanarella L (2018) Copper distribution in European topsoils: An assessment based on LUCAS soil survey. *The Science of the total environment* **636**: 282–298.
- Bani A, Pioli S, Ventura M, Panzacchi P, Borruso L, Tognetti R, *et al.* (2018) The role of microbial community in the decomposition of leaf litter and deadwood. *Applied Soil Ecology* **126**:75–84.
- Barbero-López A, Soumaya Chibily, Scheepers G, Grahn T, Venäläinen M & Haapala A (2018) Analysis Of Green Wood Preservation Chemicals. *International Journal of Environmental and Ecological Engineering* **12**: 175–181.

- Barbero-López A, Akkanen J, Lappalainen R, Peräniemi S & Haapala H (2021) Bio-based wood preservatives: Their efficiency, leaching and ecotoxicity compared to a commercial wood preservative. *Science of the Total Environment* **753**: 142013.
- Bauhus J, Puettmann K & Messier C (2009) Silviculture for old-growth attributes. *Forest Ecology and Management* **258**: 525–537.
- Blanchette RA, Held BW, Jurgens JA, McNew DL, Harrington TC, Duncan SM & Farrell RL (2004) Wood-destroying soft rot fungi in the historic expedition huts of Antarctica. *Appl Environ Microbiol* **70**: 1328–1335.
- Blazewicz SJ, Barnard RL, Daly RA & Firestone MK (2013) Evaluating rRNA as an indicator of microbial activity in environmental communities: limitations and uses. *ISME J* **7**: 2061–2068.
- Boddy L (2001) Fungal Community Ecology and Wood Decomposition Processes in Angiosperms: From Standing Tree to Complete Decay of Coarse Woody Debris. *Ecological Bulletins*: 43–56.
- Boer W de, Folman LB, Gunnewiek, Paulien J A Klein, Svensson T, Bastviken D, Oberg G, del Rio JC & Boddy L (2010) Mechanism of antibacterial activity of the white-rot fungus *Hypholoma fasciculare* colonizing wood. *Canadian Journal of Microbiology* **56**: 380–388.
- Boer W de, Folman LB, Summerbell RC & Boddy L (2005) Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiol Rev* **29**: 795–811.
- Boer W de & van der Wal A (2008) Chapter 8 Interactions between saprotrophic basidiomycetes and bacteria. *Ecology of saprotrophic basidiomycetes*, 1st ed., Vol. 28 (Boddy, L., Frankland, J. C. & van West, P., eds), pp. 143–153. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston.
- Bridžiuviene D & Raudonienė V (2013) Fungi Surviving on Treated Wood and Some of Their Physiological Properties. *Materials Science* **19**.
- Brischke C, Grünwald LK & Bollmus S (2020) Effect of size and shape of specimens on the mass loss caused by *Coniophora puteana* in wood durability tests. *European Journal of Wood and Wood Products* **78**: 811–819.
- Brischke C, Olberding S, Meyer L, Bornemann T & Welzbacher CR (2013) Intrasite variability of fungal decay on wood exposed in ground contact. *International Wood Products Journal* **4**: 37–45.
- Brocco VF, Paes JB, da Costa LG, Brazolin S & Arantes MDC (2017) Potential of teak heartwood extracts as a natural wood preservative. *Journal of Cleaner Production* **142**: 2093–2099.
- Broda M (2020) Natural Compounds for Wood Protection against Fungi—A Review. *Molecules* **25**: 3538.
- Bruce A & Highley TL (1991) Control of growth of wood decay Basidiomycetes by *Trichoderma* spp. and other potentially antagonistic fungi. *Forest products journal* **41**: 63–67.
- Buckley DH & Schmidt TM (2002) Exploring the biodiversity of soil - a microbial rain forest. *Biodiversity of microbial life* (Staley, J.T. & Reysenbach, A.-L., eds), pp. 183–208. Wiley-Liss, New York.

- Buettner C & Noll M (2018) Differences in microbial key players in anaerobic degradation between biogas and sewage treatment plants. *Int. Biodeterior. Biodegrad. (International Biodeterioration and Biodegradation)* **133**: 124–132.
- Buffet-Bataillon S, Tattevin P, Maillard JY, Bonnaure-Mallet M & Jolivet-Gougeon A (2016) Efflux pump induction by quaternary ammonium compounds and fluoroquinolone resistance in bacteria. *Future Microbiology* **11**: 81–92.
- Caporaso JG, Bittinger K, Bushman FD, DeSantis TZ, Andersen GL & Knight R (2010a) PyNAST: a flexible tool for aligning sequences to a template alignment. *Bioinformatics (Oxford, England)* **26**: 266–267.
- Caporaso JG, Kuczynski J & Stombaugh J *et al.* (2010b) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods* **7**: 335–336.
- Caporaso JG, Lauber CL & Walters WA *et al.* (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal* **6**: 1621–1624.
- Carlile MJ & Watkinson SC (1996) *The Fungi*. Academic Press, London.
- Carlisle DM & Clements WH (2005) Leaf litter breakdown, microbial respiration and shredder production in metal-polluted streams. *Freshwater Biology* **50**: 380–390.
- Cecchi G, Roccotiello E, Di Piazza S, Riggi A, Mariotti MG & Zotti M (2017) Assessment of Ni accumulation capability by fungi for a possible approach to remove metals from soils and waters. *J Environ Sci Health B* **52**: 166–170.
- Changela A, Chen K, Xue Y, Holschen J, Outten CE, O'Halloran TV & Mondragón A (2003) Molecular basis of metal-ion selectivity and zeptomolar sensitivity by CueR. *Science* **301**:1383–1387.
- Choi SM, Ruddick JNR & Morris PI (2002) The copper tolerance of mycelium vs. spores for two brown rot fungi. *International Research Group on Wood Preservation, Document No. IRG/WP/02-10422*.
- Christensen M, Frisvad JC & Tuthill DE (2000) *Penicillium* species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes. *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification* (Samson, R. A. & Pitt, J. I., eds), pp. 309–320. Harwood Academic Publishers, Amsterdam.
- Christofides SR, Hiscox J, Savoury M, Boddy L & Weightman AJ (2019) Fungal control of early-stage bacterial community development in decomposing wood. *Fungal Ecology* **42**: 100868.
- Clausen CA (1996) Bacterial associations with decaying wood: A review. *Int Biodeterior Biodegradation* **37**: 101–107.
- Clausen CA & Green F (2003) Oxalic acid overproduction by copper-tolerant brown-rot basidiomycetes on southern yellow pine treated with copper-based preservatives. *International Biodeterioration and Biodegradation* **51**: 139–144.
- Clubbe CP (1978) The use of selective media for studying the colonization of wood in ground contact by microorganisms. *International Research Group on Wood Protection, Document No: IRG/WP 186*.
- Clubbe CP (1980) The Colonization and Succession of Fungi in Wood. *International Research Group on Wood Protection, DocumentNo: IRG/WP 110*.

- Coggins CR (2008) Trends in timber preservation—a global perspective. *Journal of Tropical Forest Science*: 264–272.
- Coller E, Cestaro A, Zanzotti R, Bertoldi D, Pindo M, Larger S, Albanese D, Mescalchin E & Donati C (2019) Microbiome of vineyard soils is shaped by geography and management. *Microbiome* **7**: 140.
- Contreras-Cornejo HA, Macías-Rodríguez L, del-Val E & Larsen J (2016) Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS microbiology ecology* **92**: fiw036.
- Cornwell WK, Cornelissen JHC, Allison SD, Bauhus J, Eggelton P, Preston CM, Scarff F, Weedon JT, Wirth C & Zanne AEMY (2009) Plant traits and wood fates across the globe: Rotted, burned, or consumed? *Global Change Biology* **15**: 2431–2449.
- Crawford DM & Clausen CA (1999) Evaluation of wood treated with copper-based preservatives for Cu loss during exposure to heat and copper-tolerant *Bacillus licheniformis*. *Proceedings, IRG/WP 99-20155* (International Research Group on Wood Protection, ed).
- Croitoru C & Roata IC (2020) Ionic Liquids as Antifungal Agents for Wood Preservation. *Molecules* **25**: 4289.
- Crowley D (2008) Impacts of Metals and Metalloids on Soil Microbial Diversity and Ecosystem Function. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal* **8**: 6–11.
- Crowther TW, van den Hoogen J, Wan J, Mayes MA, Keiser AD, Mo L, *et al.* (2019) The global soil community and its influence on biogeochemistry. *Science* **365**:772–82.
- Curling S & Winandy JE (2008) Comparison of the effects of gamma irradiation and steam sterilization on southern pine sapwood. *Forest products journal*. Vol. **58**, nos. 1/2 (Jan./Feb. 2008): Pages 87-90.
- Dallinger A & Horn MA (2014) Agricultural soil and drilosphere as reservoirs of new and unusual assimilators of 2,4-dichlorophenol carbon. *Environ Microbiol* **16**: 84–100.
- Daniel GF & Nilsson T (1988) Studies on preservative tolerant *Phialophora* species. *International Biodeterioration* **24**: 327–335.
- Daniel GF, Nilsson T & Singh AP (1987) Degradation of lignocellulosics by unique tunnel-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* **33**: 943–948.
- Daniel R (2005) The metagenomics of soil. *Nat Rev Microbiol* **3**: 470–478.
- Darby EM, Trampari E, Siasat P, Gaya MS, Alav I, Webber MA & Blair JM (2023) Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology*, **21**(5), 280-295.
- Deacon LJ, Janie Pryce-Miller E, Frankland JC, Bainbridge BW, Moore PD & Robinson CH (2006) Diversity and function of decomposer fungi from a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry* **38**: 7–20.
- Dedysh SN, Horz HP, Dunfield PF & Liesack W (2001) A novel *pmoA* lineage represented by the acidophilic methanotrophic bacterium *Methylocapsa acidiphila* correction of acidiphila B2. *Arch Microbiol* **177**: 117–121.
- Delgado-Baquerizo M, Oliverio AM, Brewer TE, Benavent-González A, Eldridge DJ, Bardgett RD, Maestre FT, Singh BK & Fierer N (2018) A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science (New York, N.Y.)* **359**: 320–325.

- Deng H, Li X-F, Cheng W-D & Zhu Y-G (2009) Resistance and resilience of Cu-polluted soil after Cu perturbation, tested by a wide range of soil microbial parameters. *FEMS Microbiol Ecol* **70**: 137–148.
- Denyer SP & Maillard JY (2002) Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria. *Journal of applied microbiology* **92**(s1): 35S–45S.
- Desai C, Pathak H & Madamwar D (2010) Advances in molecular and “-omics” technologies to gauge microbial communities and bioremediation at xenobiotic/anthropogen contaminated sites. *Bioresour Technol* **101**: 1558–1569.
- Deutscher Holzschutzverband für Außenholzprodukte e. V. (DHV) Wichtige heimische Nutzhölzer für den Außenbereich (Auswahl). <https://www.holzschutz.com/wichtige-heimische-nutzhoelzer.html>. Accessed 5/25/2021.
- DGUV Information 209-043 (2009) *Holzschutzmittel - Handhabung und sicheres Arbeiten*.
- DIN 18128 Baugrund - Untersuchung von Bodenproben - Bestimmung des Glühverlustes, Berlin. Beuth Verlag GmbH **93.020**.
- DIN 68800-1 Holzschutz - Teil 1: Allgemeines, Berlin. Beuth Verlag GmbH **71.100.50**. Accessed 11/4/2020.
- DIN 68800-3 Holzschutz - Teil 3: Vorbeugender Schutz von Holz mit Holzschutzmitteln, Berlin. Beuth Verlag GmbH **71.100.50**. Accessed 11/4/2020.
- DIN EN 12260 Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von Stickstoff - Bestimmung von gebundenem Stickstoff (TN<(Index)b>) nach Oxidation zu Stickstoffoxiden; Deutsche Fassung EN 12260:2003, Berlin. Beuth Verlag GmbH **13.060.50**.
- DIN EN 1484 Wasseranalytik- Anleitungen zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC); Deutsche Fassung EN 1484:1997, Berlin. Beuth Verlag GmbH **13.060.50**.
- DIN EN 252 Freiland-Prüfverfahren zur Bestimmung der relativen Schutzwirkung eines Holzschutzmittels im Erdkontakt; Deutsche Fassung EN\_252:2014, Berlin. Beuth Verlag GmbH **71.100.50**.
- DIN EN 335 Dauerhaftigkeit von Holz und Holzprodukten - Gebrauchsklassen: Definitionen, Anwendungen bei Vollholz und Holzprodukten, Berlin. Beuth Verlag GmbH **71.100.50**. Accessed 11/4/2020.
- DIN EN 350 Dauerhaftigkeit von Holz und Holzprodukten - Prüfung und Klassifizierung der Dauerhaftigkeit von Holz und Holzprodukten gegen biologischen Angriff, Berlin. Beuth Verlag GmbH **79.040**. Accessed 11/4/2020.
- DIN EN 84 Dauerhaftigkeit von Holz und Holzprodukten - Beschleunigte Alterung von behandeltem Holz vor biologischen Prüfungen - Auswaschbeanspruchung; Deutsche Fassung EN 84:2020, Berlin. Beuth Verlag GmbH **71.100.50**.
- DIN EN ISO 10390 Boden, Schlamm und behandelter Bioabfall- Bestimmung des pH-Wertes (ISO/DIS10390:2020); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 10390:2020, Berlin. Beuth Verlag GmbH **13.080.10**.
- DIN EN ISO 10693 Bodenbeschaffenheit- Bestimmung des Carbonatgehaltes- Volumetrisches Verfahren (ISO 10693:1995); Deutsche Fassung EN ISO 10693:2014, Berlin. Beuth Verlag GmbH **13.080.10**.

- DIN EN ISO 11885 Wasserbeschaffenheit- Bestimmung von ausgewählten Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionspektrometrie (ICP-OES) (ISO 11885:2007); Deutsche Fassung EN ISO 11885:2009, Berlin. Beuth Verlag GmbH **13.060.50**.
- DIN EN ISO 18123 Biogene Festbrennstoffe- Bestimmung des Gehaltes an flüchtigen Bestandteilen (ISO 18123:2015); Deutsche Fassung EN ISO 18123:2015, Berlin. Beuth Verlag GmbH **75.160.40**.
- DIN ISO 11466 Bodenbeschaffenheit - Extraktion in Königswasser löslicher Spurenelemente (ISO 11466:1995), Berlin. Beuth Verlag GmbH **13.080.10**.
- DIN V ENV 807 Holzschutzmittel- Prüfverfahren für die Bestimmung der Grenze der Wirksamkeit gegen Moderfäule und andere erdbewohnende Mikroorganismen; Deutsche Fassung ENV\_807:2001, Berlin. Beuth Verlag GmbH **71.100.50**. Accessed 11/4/2020.
- Dix NJ & Webster J (eds) (1995) *Fungal Ecology*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Droz B, Payraudeau S, Rodriguez Martin JA, Tóth G, Panagos P, Montanarella L, Borrelli P & Imfeld G (2021) Copper Content and Export in European Vineyard Soils Reflecting Long-Term Fungicide Use. *Environmental Science & Technology* **55**(10): 6754-6763.
- Dubey RK, Tripathi V, Prabha R, Chaurasia R, Singh DP, Rao CS, ... & Abhilash PC (2020) *Unravelling the soil microbiome: perspectives for environmental sustainability*. Cham: Springer International Publishing.
- Edgar RC (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics (Oxford, England)* **26**: 2460–2461.
- Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R, Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C & Knight R (2011) UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* **27**: 2194–2200.
- Edlund M-L & Nilsson T (1998) Testing the durability of wood. *Materials and Structures* **31**: 641–647.
- Egidi E, Delgado-Baquerizo M, Plett JM, Wang J, Eldridge DJ, Bardgett RD, Maestre FT & Singh BK (2019) A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nature communications* **10**: 2369.
- Ellis RJ, Morgan P, Weightman AJ & Fry JC (2003) Cultivation-dependent and -independent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal-contaminated soil. *Appl Environ Microbiol* **69**: 3223–3230.
- Evans WC & Fuchs G (1988) Anaerobic degradation of aromatic compounds. *Annual Review of Microbiology* **42**: 289–317.
- Ezzouhri L, Castro E, Moya M, Espinola F & Lairini K (2009) Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco. *African journal of microbiology research* **3**: 35–48.
- Fackler K & Schwanninger M (2012) How spectroscopy and microspectroscopy of degraded wood contribute to understand fungal wood decay. *Applied microbiology and biotechnology* **96**: 587–599.
- Fernández FA & Huhndorf SM (2005) New species of *Chaetosphaeria*, *Melanopsammella* and *Tainosphaeria* gen. nov. from the Americas. *Fungal Diversity* **18**: 15–57.
- Fierer N & Jackson RB (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 626–631.

- Fierer N, Leff JW, Adams BJ, Nielsen UN, Bates ST, Lauber CL, Owens S, Gilbert JA, Wall DH & Caporaso JG (2012) Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**: 21390–21395.
- Folman LB, Klein Gunnewiek, Paulien J. A., Boddy L & Boer W de (2008) Impact of white-rot fungi on numbers and community composition of bacteria colonizing beech wood from forest soil. *FEMS microbiology ecology* **63**: 181–191.
- Fredrickson JK, Balkwill DL, Drake GR, Romine MF, Ringelberg DB & White DC (1995) Aromatic-degrading *Sphingomonas* isolates from the deep subsurface. *Applied and Environmental Microbiology* **61**: 1917–1922.
- Freeman MH & McIntyre CR (2008) Copper-based wood preservatives. *Forest products journal* **58**: 6–27.
- Freeman MH, McIntyre, Craig, R. & Jackson D (2009) Critical and comprehensive review of boron in wood preservation. *Proceedings, ... annual meeting of the American Wood Protection Association, Vol. 104*, pp. 279–294.
- Freeman MH, Nicholas DD & Schultz TP (2006) Nonarsenical wood protection: Alternatives for chromated copper arsenate, creosote and pentachlorophenol. *Environmental Impacts of Treated Wood* (Townsend, T. G. & Solo-Gabriele, H., eds), pp. 19–36. CRC Press; CRC Taylor&Francis, Boca Raton, FL.
- Fryar SC, Davies J, Booth W, Hodgkiss IJ & Hyde KD (2004) Succession of fungi on dead and live wood in brackish water in Brunei. *Mycologia* **96**: 219–225.
- Fu L, Niu B, Zhu Z, Wu S & Li W (2012) CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics (Oxford, England)* **28**: 3150–3152.
- Fuchs G (2007) *Allgemeine Mikrobiologie*, 8th edn. Georg Thieme, Stuttgart.
- Gadd GM & Griffiths AJ (1980) Influence of pH on toxicity and uptake of copper in *Aureobasidium pullulans*. *Transactions of the British Mycological Society* **75**: 91–96.
- Galvão TC, Mohn WW & Lorenzo V de (2005) Exploring the microbial biodegradation and biotransformation gene pool. *Trends in Biotechnology* **23**: 497–506.
- Gardes M & Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2**: 113–118.
- Garrett SD (1963) *Soil Fungi and Soil Fertility*. Pergamon Press, Oxford, and Macmillan Co., N. Y.
- Geiser DM, Gueidan C & Miadlikowska J *et al.* (2006) Eurotiomycetes: Eurotiomycetidae and Chaetothyriomycetidae. *Mycologia* **98**: 1053–1064.
- Geiser DM, LoBuglio KF & Gueidan C (2015) 5 Pezizomycotina: Eurotiomycetes. *Systematics and Evolution, Vol. 228* (McLaughlin, D. J. & Spatafora, J. W., eds), pp. 121–141. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Giachino A & Waldron KJ (2020) Copper tolerance in bacteria requires the activation of multiple accessory pathways. *Molecular Microbiology* **114**:377–390.
- Gianfreda L & Rao MA (2008) Interactions between xenobiotics and microbial and enzymatic soil activity. *Crit Rev Environ Sci Technol* **38**: 269–310.
- Goodell B & Nielsen G (2023) Wood biodeterioration. In *Springer Handbook of Wood Science and Technology* (pp. 139-177). Cham: Springer International Publish

- Goodell B, Winandy JE & Morrell JJ. (2020) Fungal Degradation of Wood: Emerging Data, New Insights and Changing Perceptions. *Coatings* **10**(12):1210.
- Gómez-Brandón M, Probst M, Siles JA, Peintner U, Bardelli T, Egli M, Insam H & Ascher-Jenull J (2020) Fungal communities and their association with nitrogen-fixing bacteria affect early decomposition of Norway spruce deadwood. *Scientific reports* **10**: 8025.
- Greaves H (1971) The bacterial factor in wood decay. *Wood Science and Technology* **5**: 6–16.
- Green F & Clausen CA (2005) Copper tolerance of brown-rot fungi: Oxalic acid production in southern pine treated with arsenic-free preservatives. *International Biodeterioration and Biodegradation* **56**: 75–79.
- Green J & Bohannan BJM (2006) Spatial scaling of microbial biodiversity. *Trends Ecol Evol* **21**: 501–507.
- Green III F & Clausen CA (2003) Copper tolerance of brown-rot fungi: time course of oxalic acid production. *International Biodeterioration and Biodegradation* **51**: 145–149.
- Greene NP & Koronakis V (2021) Bacterial Metal Resistance: Coping with Copper without Cooperativity? *mBio* **12**(3): e0065321.
- Gremion F, Chatzinotas A & Harms H (2003) Comparative 16S rDNA and 16S rRNA sequence analysis indicates that Actinobacteria might be a dominant part of the metabolically active bacteria in heavy metal-contaminated bulk and rhizosphere soil. *Environmental Microbiology* **5**: 896–907.
- Guisado G, Lopez MJ, Vargas-García MC, Suárez-Estrella F & Moreno J (2012) *Pseudallescheria angusta*, a ligninolytic microorganism for wood fibres biomodification. *BioResources* **7**: 464–474.
- Guo Z, Megharaj M, Beer M, Ming H, Mahmudur Rahman M, Wu W & Naidu R (2009) Heavy metal impact on bacterial biomass based on DNA analyses and uptake by wild plants in the abandoned copper mine soils. *Bioresour Technol* **100**: 3831–3836.
- Haas BJ, Gevers D & Earl AM *et al.* (2011) Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Research* **21**: 494–504.
- Hamby RK & Zimmer EA (1992) Ribosomal RNA as a Phylogenetic Tool in Plant Systematics. *Molecular Systematics of Plants, Vol. 63* (Soltis, P. S., Soltis, D. E. & Doyle, J. J., eds), pp. 50–91. Springer US, Boston, MA.
- Han Y, Huang X, Wang Y, Du J, Ma K, Chen Y, Li N, Zhang Z & Pan J (2020) Fungal Community and Biodeterioration Analysis of Hull Wood and Its Storage Environment of the Nanhai No. 1 Shipwreck. *Frontiers in microbiology* **11**: 609475.
- Handelman M & Oshero N (2022) Experimental and in-host evolution of triazole resistance in human pathogenic fungi. *Frontiers in Fungal Biology*, **3**: 957577.
- Hansel CM, Fendorf S, Jardine PM & Francis CA (2008) Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile. *Appl Environ Microbiol* **74**: 1620–1633.
- Hansen K, Læssøe T & Pfister DH (2001) Phylogenetics of the Pezizaceae, with an emphasis on *Peziza*. *Mycologia* **93**: 958–990.
- Haq IU, Hillmann B, Moran M, Willard S, Knights D, Fixen KR & Schilling J S (2022) Bacterial communities associated with wood rot fungi that use distinct decomposition mechanisms. *ISME communications*, **2**: 26.

- Harmon ME, Franklin JF & Swanson FJ *et al.* (1986) Ecology of Coarse Woody Debris in Temperate Ecosystems. *Adv Ecol Res* **15**: 133–302.
- Hatakka A & Hammel KE (2011) Fungal Biodegradation of Lignocelluloses. *Industrial Applications, Vol. 41* (Hofrichter, M., ed), pp. 319–340. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Heilmann-Clausen J & Boddy L (2005) Inhibition and stimulation effects in communities of wood decay fungi: exudates from colonized wood influence growth by other species. *Microbial Ecology* **49**: 399–406.
- Heintz-Buschart A & Wilmes P (2018) Human gut microbiome: function matters. *Trends in microbiology*, **26**(7), 563-574.
- Hervé V, Le Roux X, Uroz S, Gelhaye E & Frey-Klett P (2014) Diversity and structure of bacterial communities associated with *Phanerochaete chrysosporium* during wood decay. *Environ Microbiol* **16**: 2238–2252.
- Hibbett DS, Bauer R & Binder M *et al.* (2014) Agaricomycetes. *Systematics and Evolution: Part A. The Mycota* (McLaughlin, D. J. & Spatafora, J. W., eds), pp. 373–429. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Hillenbrand T, Toussaint D, Böhm E, Fuchs S, Scherer U, Rudolphi A, Hoffmann M, Kreißig J & Kotz C (2005) Einträge von Kupfer, Zink und Blei in Gewässer und Böden. *UBA (ed)*: 303.
- Hinchliffe P, Symmons MF, Hughes C & Koronakis V (2013) Structure and operation of bacterial tripartite pumps. *Annual Review of Microbiology* **67**:221–242.
- Hodge A, Alexander IJ & Gooday GW (1995) Chitinolytic enzymes of pathogenic and ectomycorrhizal fungi. *Mycological Research* **99**: 935–941.
- Hofrichter M, Ullrich R, Pecyna MJ, Liers C & Lundell T (2010) New and classic families of secreted fungal heme peroxidases. *Applied microbiology and biotechnology* **87**: 871–897.
- Hoppe B, Kahl T, Karasch P, Wubet T, Bauhus J, Buscot F, Krüger D & Desvaux M (2014) Network analysis reveals ecological links between N-fixing bacteria and wood-decaying fungi. *PloS one* **9**: e88141.
- Hoppe B, Kruger D, Kahl T, Arnstadt T, Buscot F, Bauhus J, Wubet T, Hoppe B & Krger K (2015) A pyrosequencing insight into sprawling bacterial diversity and community dynamics in decaying deadwood logs of *Fagus sylvatica* and *Picea abies*. *Scientific reports* **5**: 10498.
- Hoppe B, Purahong W, Wubet T, Kahl T, Bauhus J, Arnstadt T, Hofrichter M, Buscot F & Krüger D (2016) Linking molecular deadwood-inhabiting fungal diversity and community dynamics to ecosystem functions and processes in Central European forests. *Fungal Diversity* **77**: 367–379.
- Horvath RS, Brent MM & Cropper DG (1976) Paint Deterioration as a Result of the Growth of *Aureobasidium pullulans* on Wood. *Applied and Environmental Microbiology* **32**: 505–507.
- Houbraken J & Samson RA (2011) Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in mycology* **70**: 1–51.
- Hou T, Sana SS, Li H, Xing Y, Nanda A, Netala VR & Zhang Z (2022) Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. *Food Bioscience* **47**: 101716.

- Hu Y, Liu X, Bai J, Shih K, Zeng EY & Cheng H (2013) Assessing heavy metal pollution in the surface soils of a region that had undergone three decades of intense industrialization and urbanization. *Environmental science and pollution research international* **20**: 6150–6159.
- Hu Y, Yesilonis I & Szlavetz K (2021) Microbial and environmental controls on wood decomposition in deciduous forests of different ages. *Applied Soil Ecology* **166**:103986.
- Hyre A, Casanova-Hampton K & Subashchandrabose S (2021). Copper Homeostatic Mechanisms and Their Role in the Virulence of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *EcoSal Plus*, 9(2), eESP00142020.
- Ihrmark K, Bödeker ITM & Cruz-Martinez K *et al.* (2012) New primers to amplify the fungal ITS2 region--evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol Ecol* **82**: 666–677.
- Ikeda R, Sugita T, Jacobson ES & Shinoda T (2002) Laccase and melanization in clinically important *Cryptococcus* species other than *Cryptococcus neoformans*. *Journal of clinical microbiology* **40**: 1214–1218.
- Jakobs-Schönwandt D, Mathies H, Abraham W-R, Pritzkow W, Stephan I & Noll M (2010) Biodegradation of a biocide (Cu-*N*-cyclohexyldiazonium dioxide) component of a wood preservative by a defined soil bacterial community. *Appl Environ Microbiol* **76**: 8076–8083.
- Jänsch S & Römbke J (2009) Einsatz von Kupfer als Pflanzenschutzmittel-Wirkstoff: Ökologische Auswirkungen der Akkumulation von Kupfer im Boden. *UBA (ed)*: 9.
- Jellison J, Connolly J, Goodell B, Doyle B, Illman B, Fekete F & Ostrofsky A (1997) The role of cations in the biodegradation of wood by the brown rot fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation* **39**: 165–179.
- Jesus EC da, Marsh TL, Tiedje JM & de S Moreira, Fatima M (2009) Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *ISME J* **3**: 1004–1011.
- Jin L & Preston AF (1991) The Interaction of Wood Preservatives with Lignocellulosic Substrates. I. Quaternary Ammonium Compounds. *Holzforschung* **45**: 455–459.
- Jin L, Walcheski P & Preston AF (2012) Mold Control for Treated Lumber in Block-Stack Storage Conditions. *Proceedings IRG Annual Meeting, Document No. IRG/WP/12-30588* (The International Research Group on Wood Protection, ed).
- Joergensen RG & Emmerling C (2006) Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils. *J Plant Nutr Soil Sci* **169**: 295–309.
- Johnston SR, Boddy L & Weightman AJ (2016) Bacteria in decomposing wood and their interactions with wood-decay fungi. *FEMS microbiology ecology* **92**.
- Johnston SR, Hiscox J, Savoury M, Boddy L & Weightman AJ (2019) Highly competitive fungi manipulate bacterial communities in decomposing beech wood (*Fagus sylvatica*). *FEMS microbiology ecology* **95**.
- Jones D & Brischke C (eds) (2017) *Performance of bio-based building materials*, First edition. Woodhead Publishing an imprint of Elsevier, Duxford, United Kingdom.

- Jovanović VS, Mitić V, Mandić SN, Ilić M & Simonović S (2015) Heavy Metals in the Post-catastrophic Soils. *Heavy Metal Contamination of Soils, Vol. 44* (Sherameti, I. & Varma, A., eds), pp. 3–21. Springer International Publishing, Cham.
- Jurburg SD & Salles JF (2015) Functional Redundancy and Ecosystem Function - The Soil Microbiota as a Case Study. *Biodiversity in Ecosystems - Linking Structure and Function* (Lo, Y.-H., Blanco, J. A. & Roy, S., eds), pp. 29–49. InTech.
- Käärik A (1975) Succession of Microorganisms during Wood Decay. *Biological transformation of wood by microorganisms: Proceedings of the sessions on wood products pathology at the 2nd International Congress of Plant Pathology september 10 - 12, 1973 Minneapolis/USA, Vol. 6* (Liese, W., ed), pp. 39–51. Springer, Berlin.
- Kahl T, Arnstadt T & Baber K *et al.* (2017) Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *Forest Ecology and Management* **391**: 86–95.
- Kaiser W & Schürmann T (2009) *Obstland im Norden: Die Geschichte des Obsthandels im Alten Land*. Husum-Dr.- und Verl.-Ges, Husum.
- Kaltseis J, Rainer J & Hoog GS de (2009) Ecology of *Pseudallescheria* and *Scedosporium* species in human-dominated and natural environments and their distribution in clinical samples. *Medical mycology* **47**: 398–405.
- Kanchanasin P, Yuki M, Kudo T, Ohkuma M, Kuncharoen N, Phongsopitanun W & Tanasupawat S (2020) *Streptomyces bauhiniae* sp. nov., isolated from tree bark of *Bauhinia variegata* Linn. in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **70**(1): 228-233.
- Kartal SN, Brischke C, Rapp AO & Imamura Y (2006) Biological effectiveness of didecyl dimethyl ammonium tetrafluoroborate (DBF) against basidiomycetes following preconditioning in soil bed tests. *Wood Science and Technology* **40**: 63–71.
- Keiblinger KM, Schneider M, Gorfer M, Paumann M, Deltedesco E, Berger H, Jöchlinger L, Mentler A, Zechmeister-Boltenstern S, Soja G & Zehetner F (2018) Assessment of Cu applications in two contrasting soils-effects on soil microbial activity and the fungal community structure. *Ecotoxicology* **27**: 217-233.
- Kersten P & Cullen D (2014) Copper radical oxidases and related extracellular oxidoreductases of wood-decay Agaricomycetes. *Fungal genetics and biology FG & B* **72**: 124–130.
- Khademibami L & Bobadilha GS (2022) Recent developments studies on wood protection research in academia: A review. *Frontiers in Forests and Global Change* **5**: 793177.
- Khomich M, Måge I, Rud I & Berget I (2021) Analysing microbiome intervention design studies: Comparison of alternative multivariate statistical methods. *PLoS ONE* **16** (11): e0259973.
- Kielak AM, Scheublin TR, Mendes LW, van Veen JA & Kuramae EE (2016) Bacterial Community Succession in Pine-Wood Decomposition. *Frontiers in microbiology* **7**: 231.
- Kim S-Y, Kim J-H, Kim C-J & Oh D-K (1996) Metal adsorption of the polysaccharide produced from *Methylobacterium organophilum*. *Biotechnology letters* **18**: 1161–1164.
- Kirker GT, Bishell AB, Jusino MA, Palmer JM, Hickey WJ & Lindner DL (2017) Amplicon-Based Sequencing of Soil Fungi from Wood Preservative Test Sites. *Frontiers in microbiology* **8**: 1997.

- Kirker GT & Lebow S (2021) Wood preservatives. *Chapter 15 in FPL-GTR-282*, 15-26.
- Kirker GT, Prewitt ML, Diehl WJ & Diehl SV (2012a) Community analysis of preservative-treated southern pine (*Pinus spp.*) using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis.: Part 2: Bacteria field study. *Holzforschung* **66**.
- Kirker GT, Prewitt ML, Schultz TP & Diehl SV (2012b) Community analysis of preservative-treated southern pine (*Pinus spp.*) using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis. Part 1: Fungal field study. *Holzforschung* **66**: 143.
- Kjøller AH & Struwe S (2002) Fungal communities, succession, enzymes, and decomposition. *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications* (Burns, R. G. & Dick, R. P., eds), pp. 269–287. CRC Press, Baton Rouge.
- Kleiner M (2019) Metaproteomics: Much More than Measuring Gene Expression in Microbial Communities. *mSystems* **4**.
- Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M & Glöckner FO (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* **41**: e1.
- Kobayashi K & Aoyagi H (2019) Microbial community structure analysis in *Acer palmatum* bark and isolation of novel bacteria IAD-21 of the candidate division FBP. *PeerJ*, **7**, e7876.
- Kozdrój J & van Elsas JD (2001) Structural diversity of microorganisms in chemically perturbed soil assessed by molecular and cytochemical approaches. *Journal of Microbiological Methods* **43**: 197–212.
- Kozich JJ, Westcott SL, Baxter NT, Highlander SK & Schloss PD (2013) Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Appl Environ Microbiol* **79**: 5112–5120.
- Kratz S, Haneklaus S & Schnug E (2009) Kupfergehalte in Acker- und Grünlandböden und das Verhältnis dieser Gehalte zu den durch Pflanzenschutz ausgebrachten Kupfermengen. *J Kulturpflanzen* **61**: 112–116.
- Kretschmar E, Müller-Knoche S, Schwarz-Schulz B & Nöh I (2009) Erfahrungen des Umweltbundesamtes mit der EU-Biozid-Richtlinie. *Environmental Sciences Europe* **21**: 8–13.
- Kwaśna H, Mazur A, Łabędzki A, Kuźmiński R & Łakomy P (2016) Communities of fungi in decomposed wood of oak and pine. *Forest Research Papers* **77**: 261–275.
- Kwaśniewska-Sip P, Cofta G, Nowak PB (2018) Resistance of Fungal Growth on Scots Pine Treated with Caffeine. *International Biodeterioration & Biodegradation* **132**:178–184.
- Lahlali R, Ibrahim DS, Belabess Z, Roni MZK, Radouane N, Vicente CS, ... & Peng G (2021) High-throughput molecular technologies for unraveling the mystery of soil microbial community: challenges and future prospects. *Heliyon*, **7(10)**: e08142.
- Lamichhane JR, Osdaghi E, Behlau F, Köhl J, Jones JB & Aubertot JN (2018). Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. *Agronomy for sustainable development*, **38(3)**, 28.
- Lauber CL, Hamady M, Knight R & Fierer N (2009) Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl Environ Microbiol* **75**: 5111–5120.

- Lebow S (2004) Alternative to chromated copper arsenate (CCA) for residential construction. *Proceedings of Environmental Impacts of Preservative-Treated Wood*: 1–12.
- Lebow S (2010) Wood preservation. *Wood Handbook – Wood as an Engineering Material: General Technical Report FPL-GTR-190*. (Forest Products Laboratory, ed), 15-1-27. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory, Madison, WI: U.S.
- Lee MJ & Cooper P (2011) Effects of ionic strength, monoethanolamine, copper, and pH on adsorption of alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride in wood. *Holzforschung* **65**: 382.
- Lee MR, Oberle B, Olivas W, Young DF & Zanne AE (2020) Wood construction more strongly shapes deadwood microbial communities than spatial location over 5 years of decay. *Environ Microbiol* **22**: 4702–4717.
- Lejon DPH, Nowak V, Bouko S, Pascault N, Mougél C, Martins JMF & Ranjard L (2007) Fingerprinting and diversity of bacterial copA genes in response to soil types, soil organic status and copper contamination. *FEMS microbiology ecology* **61**: 424–437.
- Li J, Ma Y-B, Hu H-W, Wang J-T, Liu Y-R & He J-Z (2015) Field-based evidence for consistent responses of bacterial communities to copper contamination in two contrasting agricultural soils. *Frontiers in microbiology* **6**: 31.
- Liers C, Pecyna MJ, Kellner H, Worrlich A, Zorn H, Steffen KT, Hofrichter M & Ullrich R (2013) Substrate oxidation by dye-decolorizing peroxidases (DyPs) from wood- and litter-degrading agaricomycetes compared to other fungal and plant heme-peroxidases. *Appl Microbiol Biotechnol* **97**: 5839–5849.
- Liibert L, Treu A & Meier P (2011) The fixation of new alternative wood protection systems by means of oil treatment. *Medziagotyra* **17**: 402–406.
- Liu F, Hu D-M & Cai L (2012a) *Conlarium duplumascospora* gen. et. sp. nov. and *Jobellisia guangdongensis* sp. nov. from freshwater habitats in China. *Mycologia* **104**: 1178–1186.
- Liu J, Li C, Jing J, Zhao P, Luo Z, Cao M, Ma Z, Jia T & Chai B (2018) Ecological patterns and adaptability of bacterial communities in alkaline copper mine drainage. *Water research* **133**: 99–109.
- Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, Lin D, Lu L & Law M (2012b) Comparison of next-generation sequencing systems. *Journal of biomedicine & biotechnology* **2012**: 251364.
- Liu Y-J, Liu S-J, Drake HL & Horn MA (2011) *Alphaproteobacteria* dominate active 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid herbicide degraders in agricultural soil and drilosphere. *Environ Microbiol* **13**: 991–1009.
- Lladó S, López-Mondéjar R & Baldrian P (2017) Forest Soil Bacteria: Diversity, Involvement in Ecosystem Processes, and Response to Global Change. *Microbiol Mol Biol Rev* **81**.
- Lloyd JD, Taylor AM, Brischke C & Irby N (2020) Protecting the heartwood of wood infrastructure—improving performance with borate dual treatments. *Wood Material Science & Engineering*, **15(6)**: 361-367.
- Lo C-C (2010) Effect of pesticides on soil microbial community. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **45**: 348–359.
- Lonsdale D, Pautasso M & Holdenrieder O (2008) Wood-decaying fungi in the forest: conservation needs and management options. *European Journal of Forest Research* **127**: 1–22.

- López MJ, Nichols NN, Dien BS, Moreno J & Bothast RJ (2004) Isolation of microorganisms for biological detoxification of lignocellulosic hydrolysates. *Applied microbiology and biotechnology* **64**: 125–131.
- Lorusso AB, Carrara JA, Barroso CDN, Tuon FF & Faoro H (2022) Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of molecular sciences* **23**(24), 15779.
- Lozovaya VV, Lygin AV, Zernova OV, Li S, Widholm JM & Hartman GL (2006) Lignin Degradation by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. *Plant disease* **90**: 77–82.
- Lynd LR, Weimer PJ, van Zyl WH & Pretorius IS (2002) Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **66**: 506–577.
- Machek L, Edlund M-L, Sierra-Alvarez R & Militz H (2004) A non-destructive approach for assessing decay in preservative treated wood. *Wood Science and Technology* **37**: 411–417.
- Madhaiyan M, Alex THH, Ngoh ST, Prithiviraj B & Ji L (2015) Leaf-residing *Methylobacterium* species fix nitrogen and promote biomass and seed production in *Jatropha curcas*. *Biotechnology for biofuels* **8**: 222.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP, Brock TD & Sahn K (2013 // 2015) *Brock Mikrobiologie // Mikrobiologie*, 13., aktualisierte Aufl. Pearson, München u.a.
- Mäkipää R, Rajala T, Schigel D, Rinne KT, Pennanen T, Abrego N, *et al.* (2017) Interactions between soil- and dead wood-inhabiting fungal communities during the decay of Norway spruce logs. *ISME Journal* **11**:1964–74.
- Mäkipää R, Leppänen SM, Sanz Munoz S, Smolander A, Tirola M, Tuomivirta T & Fritze H (2018) Methanotrophs are core members of the diazotroph community in decaying Norway spruce logs. *Soil Biology and Biochemistry* **120**: 230–232.
- Malkomes H-P (2010a) Einfluss Kupfer-haltiger anthropogener Einträge auf Bodenmikroorganismen – eine Übersicht. II. Mikrobielle Aktivitäten. *J Kulturpflanzen* **62**: 429–443.
- Malkomes H-P (2010b) Einfluss Kupfer-haltiger anthropogener Einträge auf Bodenmikroorganismen - eine Übersicht. I. Mikrobielle Populationen. *J Kulturpflanzen* **62**: 211–222.
- Mansfield SD & Meder R (2003) Cellulose hydrolysis – the role of monocomponent cellulases in crystalline cellulose degradation. *Cellulose* **10**: 159–169.
- Marais BN, Brischke C & Militz H (2020) Wood durability in terrestrial and aquatic environments – A review of biotic and abiotic influence factors. *Wood Material Science & Engineering* **28**: 1–24.
- Martín HG, Ivanova N & Kunin V *et al.* (2006) Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. *Nature Biotechnology* **24**: 1263–1269.
- Martínez AT, Speranza M, Ruiz-Dueñas FJ, Ferreira P, Camarero S, Guillén F, Martínez MJ, Gutiérrez A & del Río JC (2005) Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International microbiology the official journal of the Spanish Society for Microbiology* **8**: 195–204.
- Martorell MM, Ruberto LAM, Castellanos LIF de & Cormack WPM (2019) Bioremediation Abilities of Antarctic Fungi. *Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and*

- Biotechnological Significance*, Vol. 24 (Tiquia-Arashiro, S. M. & Grube, M., eds), pp. 517–534. Springer International Publishing, Cham.
- M'Barek HN, Arif S, Taidi B & Hajjaj H (2020) Consolidated bioethanol production from olive mill waste: Wood-decay fungi from central Morocco as promising decomposition and fermentation biocatalysts. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)* **28**: e00541.
- McDonald D, Price MN, Goodrich J, Nawrocki EP, DeSantis TZ, Probst A, Andersen GL, Knight R & Hugenholtz P (2012) An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *The ISME journal* **6**: 610–618.
- McDonnell G & Russell AD (1999) Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews* **12**: 147–179.
- McGee PA, Markovina AL, Jeong GC & Cooper ED (2006) Trichocomaceae in bark survive high temperatures and fire. *FEMS Microbiology Ecology*, **56**(3): 365-371.
- Mellano MA & Cooksey DA (1988) Nucleotide sequence and organization of copper resistance genes from *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *Journal of bacteriology* **170**: 2879–2883.
- Merrill W & Cowling EB (1966) Role of nitrogen in wood deterioration-amount and distribution of nitrogen in fungi. *Phytopathology* **56**: 1083–1090.
- Micó C, Recatalá L, Peris M & Sánchez J (2006) Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* **65**: 863–872.
- Miranda I, Sousa V, Ferreira J & Pereira H (2017) Chemical characterization and extractives composition of heartwood and sapwood from *Quercus faginea*. *PLoS One* **12**: e0179268.
- Mohamad-Nasir MA, Roszaini K, Salmiah U, Tumirah K & Zaihan J (2019) Durability of selected malaysian wood treated with disodium octaborate tetrahydrate used under hazard class 2 condition. *Journal of Tropical Forest Science* **31**(1): 43-49.
- Moll J, Kellner H, Leonhardt S, Stengel E, Dahl A, Bässler C, Buscot F, Hofrichter M & Hoppe B (2018) Bacteria inhabiting deadwood of 13 tree species are heterogeneously distributed between sapwood and heartwood. *Environ Microbiol* **20**: 3744–3756.
- Moraes D, Rodrigues JGC, Silva MG, Soares LW, de Almeida Soares CM, Bailão AM & Silva-Bailão MG (2023). Copper acquisition and detoxification machineries are conserved in dimorphic fungi. *Fungal Biology Reviews*, **44**, 100296.
- Morrell JJ (2016) Estimated Service Life of Wood Poles. *North American Wood Pole Council (NAWPC) No. 16-U-101*.
- Muyzer G, Brinkhoff T, Nübel U, Santegoeds C, Schäfer H & Wawer C (2004) Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. *Molecular microbial ecology manual*, 2. ed. (Kowalchuk, G. A., Bruijn, F. J. d., Head, I. M., Akkermans, A. D. L. & van Elsas, J. D., eds), pp. 743–769. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Muyzer G, De Waal, E. C. de & Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* **59**: 695–700.
- Nacke H, Fischer C, Thürmer A, Meinicke P & Daniel R (2014) Land use type significantly affects microbial gene transcription in soil. *Microbial Ecology* **67**: 919–930.

- Nacke H, Thürmer A, Wollherr A, Will C, Hodac L, Herold N, Schöning I, Schrumpf M & Daniel R (2011) Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. *PLoS one* **6**: e17000.
- Nannipieri P, Ascher-Jenuß J, Ceccherini MT, Pietramellara G, Renella G & Schloter M (2020) Beyond microbial diversity for predicting soil functions: A mini review. *Pedosphere* **30(1)**: 5-17.
- Ngara TR & Zhang H (2018) Recent advances in function-based metagenomic screening. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* **16(6)**, 405-415.
- Nicholls SM, Quick JC, Tang S & Loman NJ (2019) Ultra-deep, long-read nanopore sequencing of mock microbial community standards. *Gigascience*, **8(5)**, giz043.
- Niemelä T, Renvall P & Penttilä R (1995) Interactions of fungi at late stages of wood decomposition. *Annales Botanici Fennici* **32**: 141–152.
- Nies DH (1999) Microbial heavy-metal resistance. *Applied microbiology and biotechnology* **51**: 730–750.
- Noisangiam R, Nuntagij A, Pongsilp N, Boonkerd N, Denduangboripant J, Ronson C & Teaumroong N (2010) Heavy metal tolerant *Metalliresistens boonkerdii* gen. nov., sp. nov., a new genus in the family *Bradyrhizobiaceae* isolated from soil in Thailand. *Systematic and applied microbiology* **33**: 374–382.
- Noll M, Matthies D, Frenzel P, Derakshani M & Liesack W (2005) Succession of bacterial community structure and diversity in a paddy soil oxygen gradient. *Environ Microbiol* **7**: 382–395.
- Novinscak A, DeCoste NJ, Surette C & Filion M (2009) Characterization of bacterial and fungal communities in composted biosolids over a 2 year period using denaturing gradient gel electrophoresis. *Canadian Journal of Microbiology* **55**: 375–387.
- Nunes I, Jacquiod S, Brejnrod A, Holm PE, Johansen A, Brandt KK, Priemé A, Sørensen SJ (2016) Coping with copper: legacy effect of copper on potential activity of soil bacteria following a century of exposure. *FEMS microbiology ecology* **92(11)**: fiw175.
- Nyysönen M, Piskonen R & Itävaara M (2006) A targeted real-time PCR assay for studying naphthalene degradation in the environment. *Microbial Ecology* **52**: 533–543.
- Obanda DN & Schupe TF (2009) Biotransformation of tebuconazole by microorganisms: Evidence of a common mechanism. *Wood and Fibre Science* **41**: 157–167.
- Odriozola I, Abrego N, Tláskal V, Zrůstová P, Morais D, Větrovský T, Ovaskainen O & Baldrian P (2021) Fungal Communities Are Important Determinants of Bacterial Community Composition in Deadwood. *mSystems* **6**.
- Okamoto K, Suzuki M, Fukami M, Toda S & Fuwa K (1977) Uptake of Heavy Metals by a Copper-tolerant Fungus, *Penicillium ochro-chloron*. *Agricultural and Biological Chemistry* **41**: 17–22.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P & McGlenn D (2017) *Minchin. Vegan: Community Ecology Package*.
- Oliver JP, Perkins J & Jellison J (2010) Effect of fungal pretreatment of wood on successional decay by several inky cap mushroom species. *International Biodeterioration and Biodegradation* **64**: 646–651.
- Ortega Morente E, Fernández-Fuentes MA, Grande Burgos MJ, Abriouel H, Pérez Pulido R & Gálvez A (2013) Biocide tolerance in bacteria. *Int J Food Microbiol* **162**: 13–25.

- Osono T (2020) Functional diversity of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecological Research* **35**: 30–43.
- Ottow JCG (2011) *Mikrobiologie von Böden: Biodiversität, Ökophysiologie und Metagenomik*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Paliy O & Shankar V (2016) Application of multivariate statistical techniques in microbial ecology. *Molecular Ecology* **25(5)**:1032-57.
- Parke D & Ornston LN (1984) Nutritional Diversity of Rhizobiaceae Revealed by Auxanography. *Microbiology* **130**: 1743–1750.
- Parry KE & Wood RKS (1958) The adaptation of fungi to fungicides: adaptation to copper and mercury salts. *Annals of Applied Biology* **46**: 446–456.
- Patachia S & Croitoru C (2016) Biopolymers for wood preservation. *In: Biopolymers and Biotech Admixtures for Eco-Efficient Construction Materials*; Pacheco-Torgal F, Ivanov V, Karak N & Jonkers H. Eds.; Woodhead Publishing: Cambridge, MA, USA; pp. 305–332.
- Paul S, Shaw D, Joshi H, Singh S, Chakrabarti A, Rudramurthy SM, et al. (2022) Mechanisms of azole antifungal resistance in clinical isolates of *Candida tropicalis*. *PLoS ONE* **17(7)**: e0269721.
- Payne C, Bruce A & Staines H (2000) Yeast and Bacteria as Biological Control Agents Against Fungal Discolouration of *Pinus sylvestris* Blocks in Laboratory-Based Tests and the Role of Antifungal Volatiles. *Holzforschung* **54**: 563–569.
- Pečiulytė D & Dirginčiūtė-Volodkienė V (2012) Effect of zinc and copper on cultivable populations of soil fungi with special reference to entomopathogenic fungi. *Ekologija* **58**.
- Philpott TJ, Prescott CE, Chapman WK & Grayston SJ (2014) Nitrogen translocation and accumulation by a cord-forming fungus (*Hypholoma fasciculare*) into simulated woody debris. *Forest Ecology and Management* **315**:121–8.
- Pinedo-Rivilla C, Aleu J & Collado I (2009) Pollutants biodegradation by fungi. *Curr Org Chem* **13**: 1194–1214.
- Piotrowska-Seget Z & Kozdrój J (2008) Changes in culturable bacterial community of soil treated with high dosages of Cu or Cd. *Plant Soil Environ* **54**: 520–528.
- Pitt JI & Hocking AD (2009) *Fungi and food spoilage*, [3rd ed.]. Springer-Verlag, New York.
- Polz MF & Cavanaugh CM (1998) Bias in template-to-product ratios in multitemplate PCR. *Appl Environ Microbiol* **64**: 3724–3730.
- Popescu C-M, Larsson PT & Vasile C (2011) Carbon-13 CP/MAS solid state NMR and X-ray diffraction spectroscopy studies on lime wood decayed by *Chaetomium globosum*. *Carbohydrate Polymers* **83**: 808–812.
- Primaningtyas A, Listyanto T, Lukmandaru G & Weasa BM (2020) Modification of nanochitosan with NaCl and surfactant for wood preservative. *IOP Conf. Ser.: Environmental Earth Sciences* **449**: 012023.
- Purahong W, Kahl T, Krüger D, Buscot F & Hoppe B (2019) Home-Field Advantage in Wood Decomposition Is Mainly Mediated by Fungal Community Shifts at "Home" Versus "Away". *Microbial Ecology* **78**: 725–736.
- Purahong W, Pietsch KA, Bruelheide H, Wirth C, Buscot F & Wubet T (2019) Potential links between wood-inhabiting and soil fungal communities: Evidence from high-throughput sequencing. *MicrobiologyOpen* **8**:e00856.

- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J & Glockner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research* **41**: D590-6.
- R Core Team *R: A language and environment for statistical computing.*, Vienna, Austria.
- Råberg U, Terziev N & Daniel G (2013) Degradation of Scots pine and beech wood exposed in four test fields used for testing of wood preservatives. *International Biodeterioration and Biodegradation* **79**: 20–27.
- Raimond L, Halbus AF, Athab ZH & Paunov VN (2022) Antimould action of Ziram and IPBC loaded in functionalised nanogels against *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*. *Materials Advances*, **3(22)**: 8178-8192.
- Ramage MH, Burrige H & Busse-Wicher M *et al.* (2017) The wood from the trees: The use of timber in construction. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **68**: 333–359.
- Randhawa HS, Mussa AY & Khan ZU (2001) Decaying wood in tree trunk hollows as a natural substrate for *Cryptococcus neoformans* and other yeast-like fungi of clinical interest. *Mycopathologia* **151**: 63–69.
- Ranjard L, Nowak V, Echairi A, Faloya V & Chaussod R (2008) The dynamics of soil bacterial community structure in response to yearly repeated agricultural copper treatments. *Research in microbiology* **159**: 251–254.
- Reinprecht, L. In *Fungicides*; Carlisse, O., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 2010; pp 95–122.
- Reis P, Cabral A, Nascimento T, Oliveira H & Rego C (2013) Diversity of *Ilyonectria* species in a young vineyard affected by black foot disease. *Phytopathologia Mediterranea* **52**: 335–346.
- Reiß F, Kiefer N, Noll M & Kalkhof S (2021) Application, release, ecotoxicological assessment of biocide in building materials and its soil microbial response. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **224**: 112707.
- Rensing C & Grass G (2003) *Escherichia coli* mechanisms of copper homeostasis in a changing environment. *FEMS Microbiology Reviews* **27**: 197–213.
- Reysenbach AL, Giver LJ, Wickham GS & Pace NR (1992) Differential amplification of rRNA genes by polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* **58**: 3417–3418.
- Richardson BA (1993) *Wood preservation*, 2, illustriert. E. & F.N. Spon, London.
- Rinne KT, Rajala T, Peltoniemi K, Chen J, Smolander A, Mäkipää R, *et al.* (2016) Accumulation rates and sources of external nitrogen in decaying wood in a Norway spruce dominated forest. *Functional Ecology* **31**:530–41.
- Rodrigues AMS, Stien D, Eparvier V, Espindola LS, Beauchêne J, Amusant N, Leménager N, Baudassé C & Raguin L (2012) The wood preservative potential of long-lasting Amazonian wood extracts. *International Biodeterioration & Biodegradation* **75**: 146–149.
- Rondeux J & Sanchez C (2010) Review of indicators and field methods for monitoring biodiversity within national forest inventories. Core variable: deadwood. *Environmental monitoring and assessment* **164**: 617–630.
- Rousk J, Brookes PC & Bååth E (2010) Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil. *Soil Biology and Biochemistry* **42**: 926–934.
- Runjić M & Čustović H (2017) Copper in Surface Layer of Vineyard Soils on Island Hvar. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **82**: 13–17.

- Sakai K (2001) Chemistry of bark. In: Hon DN, Shiraishi N, editors. Wood and Cellulosic Chemistry. Second Edition. New York: Marcel Dekker; pp. 243–273.
- Samson RA, Houbraken J, Thrane U, Frisvad JC & Andersen B (2010) Food and Indoor Fungi. *CBS-Fungal Biodiversity Centre, Utrecht: CBS laboratory manual series 2*.
- Samuels GJ & Blackwell M (2001) Pyrenomycetes - Fungi with Perithecia. *Systematics and Evolution, Vol. 34* (McLaughlin, D. J., McLaughlin, E. G. & Lemke, P. A., eds), pp. 221–255. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Sazykina MA, Minkina TM, Konstantinova EY, Khmelevtsova LE, Azhogina TN, Antonenko EM, Karchava SK, Klimova MV, Sushkova SN, Polienko EA, Birukova OA, Mandzhieva SS, Kudееvskaya EM, Khammami MI, Rakin AV, Sazykin IS (2022) Pollution impact on microbial communities composition in natural and anthropogenically modified soils of Southern Russia. *Microbiological research* **254**:126913.
- Schilling JS, Ayres A, Kaffenberger JT & Powers JS (2015) Initial white rot type dominance of wood decomposition and its functional consequences in a regenerating tropical dry forest. *Soil Biology and Biochemistry* **88**: 58–68.
- Schilling M, Maia-Grondard A, Baltenweck R, Robert E, Hugueney P, Bertsch C, Farine S & Gelhaye E (2022) Wood degradation by *Fomitiporia mediterranea* M. Fischer: Physiologic, metabolomic and proteomic approaches. *Frontiers in Plant Science* **13**:988709.
- Schiopu N & Tiruta-Barna L (2012) Wood preservatives. *Toxicity of Building Materials*, pp. 138–165. Elsevier.
- Schloss PD, Westcott SL & Ryabin T *et al.* (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* **75**: 7537–7541.
- Schmidt O & Liese W (1994) Occurrence and Significance of Bacteria in Wood. *Holzforschung* **48**: 271–277.
- Schoch CL, Shoemaker RA, Seifert KA, Hambleton S, Spatafora JW & Crous PW (2006) A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. *Mycologia* **98**: 1041–1052.
- Schowalter TD, Zhang YL & Sabin TE (1998) Decomposition and nutrient dynamics of oak *Quercus spp.* logs after five years of decomposition. *Ecography* **21**: 3–10.
- Schultz TP, Goodell B & Nicholas DD (eds) (2014) *Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials*. American Chemical Society, Washington, DC.
- Schwarze FW (2007) Wood decay under the microscope. *Fungal Biology Reviews* **21**: 133–170.
- Sehnen NT, Souza-Cruz P, Peralba, Maria Do Carmo R. & Ayub MAZ (2009) Biodegradation of Tebuconazole by bacteria isolated from contaminated soils. *J Environ Sci Health B* **45**: 67–72.
- Seuradze BJ, Oelbermann M & Neufeld JD (2017) Depth-dependent influence of different land-use systems on bacterial biogeography. *FEMS Microbiology Ecology* **93** (2): fiw239.
- Shokralla S, Spall JL, Gibson JF & Hajibabaei M (2012) Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Molecular ecology* **21**: 1794–1805.

- Siggins A, Gunnigle E & Abram F (2012) Exploring mixed microbial community functioning: recent advances in metaproteomics. *FEMS microbiology ecology* **80**: 265–280.
- Šimůnková K, Reinprecht L, Nábělková J, Hýsek Š, Kindl J, Borůvka V, Lišková T, Šobotník J, Pánek M (2021) Caffeine—Perspective Natural Biocide for Wood Protection against Decaying Fungi and Termites. *Journal of Cleaner Production* **304**:127110.
- Singh K & Flegel TW (1986) Isolation and screening of lignocellulolytic fungi. *Indian J. Anim. Nutr.* **3**: 151–155.
- Singhal A & Thakur IS (2009) Decolourization and detoxification of pulp and paper mill effluent by *Cryptococcus* sp. *Biochemical Engineering Journal* **46**: 21–27.
- Smith CJ, Nedwell DB, Dong LF & Osborn AM (2006) Evaluation of quantitative polymerase chain reaction-based approaches for determining gene copy and gene transcript numbers in environmental samples. *Environ Microbiol* **8**: 804–815.
- Smith CJ & Osborn AM (2009) Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS microbiology ecology* **67**: 6–20.
- Smith GR & Peay KG (2021) Multiple distinct, scale-dependent links between fungi and decomposition. *Ecology Letters* **24**:1352–62.
- Speiser B, Schärer HJ & Tamm L (2018) Direct plant protection in organic farming. In *Improving organic crop cultivation*. Burleigh Dodds Science Publishing. 1-21.
- Stewardson AJ, Gaïa N, François P, Malhotra-Kumar S, Delémont C, Martinez de Tejada B, Schrenzel J, Harbarth S & Lazarevic V (2015) Collateral damage from oral ciprofloxacin versus nitrofurantoin in outpatients with urinary tract infections: a culture-free analysis of gut microbiota. *Clin Microbiol Infect* **21**: 344.e1-11.
- Stirling R & Temiz A (2014) Fungicides and Insecticides Used in Wood Preservation. *Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials, Vol. 1158* (Schultz, T. P., Goodell, B. & Nicholas, D. D., eds), pp. 185–201. American Chemical Society, Washington, DC.
- Stokland JN, Jonsson BG & Siitonen J (2012) *Biodiversity in dead wood*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Strumpf T, Engelhard B, Weihrauch F, Riepert F & Steindl A (2011a) Erhebung von Kupfergesamtgehalten in ökologisch und konventionell bewirtschafteten Böden. Teil 2: Gesamtgehalte in Böden deutscher Hopfenanbaugebiete. *Journal für Kulturpflanzen* **63**: 144–155.
- Strumpf T, Steindl A, Strassemeyer J & Riepert F (2011b) Erhebung von Kupfergesamtgehalten in ökologisch und konventionell bewirtschafteten Böden. Teil 1: Gesamtgehalte in Weinbergböden deutscher Qualitätsanbaugebiete. *J Kulturpflanzen* **63**: 131–143.
- Strumpf T, Stendel U & Vetter C (2009) Gesamtgehalte von Kupfer in Böden des Kernobstanbaus, Weinbergen und Hopfenanlagen. *J Kulturpflanzen* **61**: 117–125.
- Stursová M, Zifčáková L, Leigh MB, Burgess R & Baldrian P (2012) Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS microbiology ecology* **80**: 735–746.

- Su C, Lei L, Duan Y, Zhang K-Q & Yang J (2012) Culture-independent methods for studying environmental microorganisms: methods, application, and perspective. *Appl Microbiol Biotechnol* **93**: 993–1003.
- Summerell BA, Laurence MH, Liew ECY & Leslie JF (2010) Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: a review. *Fungal Diversity* **44**: 3–13.
- Sun H, Terhonen E, Kasanen R & Asiegbu FO (2014) Diversity and community structure of primary wood-inhabiting bacteria in boreal forest. *Geomicrobiology Journal* **31**: 315–324.
- Suzuki MT & Giovannoni SJ (1996) Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. *Appl Environ Microbiol* **62**: 625–630.
- Tamm L, Speiser B & Holb I (2015) Chapter 4.7: Direct Control of Airborne Diseases. In *Plant diseases and their management in organic agriculture* The American Phytopathological Society. 205-216.
- Tamm L, Thuerig B, Apostolov S, Blogg H, Borgo E, Corneo PE, Fittje S, de Palma M, Donko A, Experton C, *et al.* (2022) Use of Copper-Based Fungicides in Organic Agriculture in Twelve European Countries. *Agronomy* **12**:673.
- Tang JD, Parker LA, Perkins AD, Sonstegard TS, Schroeder SG, Nicholas DD & Diehl SV (2013) Gene expression analysis of copper tolerance and wood decay in the brown rot fungus *Fibroporia radiculosa*. *Appl Environ Microbiol* **79**: 1523–1533.
- Tasselli G, Filippucci S, Sannino C, Turchetti B & Buzzini P (2017) Cold-Adapted Basidiomycetous Yeasts as a Source of Biochemicals. *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology, Vol. 158* (Margesin, R., ed), pp. 555–584. Springer International Publishing, Cham.
- Tigini V, Prigione V, Di Toro S, Fava F & Varese GC (2009) Isolation and characterisation of polychlorinated biphenyl (PCB) degrading fungi from a historically contaminated soil. *Microb Cell Fact* **8**: 5.
- Tlalka M, Bebbler DP, Darrah PR, Watkinson SC & Fricker MD (2008) Quantifying dynamic resource allocation illuminates foraging strategy in *Phanerochaete velutina*. *Fungal Genetics and Biology* **45**:1111–21.
- Tláškal V, Brabcová V, Větrovský T, Jomura M, López-Mondéjar R, Oliveira Monteiro LM, Saraiva JP, Human ZR, Cajthaml T, Nunes da Rocha U & Baldrian P (2021) Complementary Roles of Wood-Inhabiting Fungi and Bacteria Facilitate Deadwood Decomposition. *mSystems*, **6**(1), e01078-20.
- Tláškal V, Zrustová P, Vrška T & Baldrian P (2017) Bacteria associated with decomposing dead wood in a natural temperate forest. *FEMS Microbiology Ecology* **93** (12) 10.1093/femsec/fix157.
- Toju H, Tanabe AS, Yamamoto S & Sato H (2012) High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples. *PLoS one* **7**: e40863.
- Torres-Cruz TJ, Hesse C, Kuske CR & Porras-Alfaro A (2018) Presence and distribution of heavy metal tolerant fungi in surface soils of a temperate pine forest. *Applied Soil Ecology* **131**: 66–74.
- Tourte L, Smith R, Bettiga L, Bensen T, Smith J & Salm D (2008) Post-emergence herbicides are cost effective for vineyard floor management on the Central Coast. *California Agriculture* **62**: 19–23.

- Tsuji M, Yokota Y, Kudoh S & Hoshino T (2014) Improvement of direct ethanol fermentation from woody biomasses by the Antarctic basidiomycetous yeast, *Mrakia blollopis*, under a low temperature condition. *Cryobiology* **68**: 303–305.
- Van Camp P-J, Haslam DB & Porollo A (2020) Bioinformatics Approaches to the Understanding of Molecular Mechanisms in Antimicrobial Resistance. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:1363.
- van der Wal A, Geydan TD, Kuyper TW & Boer W de (2013) A thready affair: linking fungal diversity and community dynamics to terrestrial decomposition processes. *FEMS Microbiology Reviews* **37**: 477–494.
- van der Wal A, Ottosson E & Boer W de (2015) Neglected role of fungal community composition in explaining variation in wood decay rates. *Ecology* **96**: 124–133.
- VanInsberghe D, Maas KR, Cardenas E, Strachan CR, Hallam SJ & Mohn WW (2015) Non-symbiotic *Bradyrhizobium* ecotypes dominate North American forest soils. *ISME J* **9**: 2435–2441.
- van Niekerk PB, Brischke C & Niklewski J (2021) Estimating the Service Life of Timber Structures Concerning Risk and Influence of Fungal Decay—A Review of Existing Theory and Modelling Approaches. *Forests***12(5)**: 588.
- Vaz ABM, Fonseca PLC & Leite LR *et al.* (2017) Using next-generation sequencing (NGS) to uncover diversity of wood-decaying fungi in neotropical Atlantic forests. *Phytotaxa* **295**: 1.
- Verdonschot PFM & Ter Braak, Cajo J. F. (1994) An experimental manipulation of oligochaete communities in mesocosms treated with chlorpyrifos or nutrient additions: multivariate analyses with Monte Carlo permutation tests. *Hydrobiologia* **278**: 251–266.
- Verma JP, Jaiswal DK & Sagar R (2014) Pesticide relevance and their microbial degradation: a-state-of-art. *Rev Environ Sci Biotechnol* **13**: 429–466.
- Větrovský T & Baldrian P (2015) An in-depth analysis of actinobacterial communities shows their high diversity in grassland soils along a gradient of mixed heavy metal contamination. *Biol Fertil Soils* **51**: 827–837.
- Viotti C, Bach C, Maillard F, Ziegler-Devin I, Mieszkin S & Buée M (2021) Sapwood and heartwood affect differentially bacterial and fungal community structure and successional dynamics during *Quercus petraea* decomposition. *Environmental microbiology* **23(10)**: 6177–6193.
- Vivelo S & Bhatnagar JM (2019) An evolutionary signal to fungal succession during plant litter decay. *FEMS microbiology ecology* **95**.
- Vorob'ev AV, Boer W de, Folman LB, Bodelier PLE, Doronina NV, Suzina NE, Trotsenko YA & Dedysh SN (2009) *Methylovirgula ligni* gen. nov., sp. nov., an obligately acidophilic, facultatively methylotrophic bacterium with a highly divergent mxaF gene. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **59**: 2538–2545.
- Wakelin SA, Macdonald LM, Rogers SL, Gregg AL, Bolger TP & Baldock JA (2008) Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biol & Biochemistry* **40**: 803–813.
- Wand ME & Sutton JM (2022). Efflux-mediated tolerance to cationic biocides, a cause for concern? *Microbiology* **168(11)**, 001263.

- Wang C, Smith GR, Gao C, *et al.* (2023) Dispersal changes soil bacterial interactions with fungal wood decomposition. *ISME Communications* **3**: 44.
- Wang K, Jia R, Li L, Jiang R & Qu D (2020) Community structure of *Anaeromyxobacter* in Fe(III) reducing enriched cultures of paddy soils. *Journal of Soils and Sediments* **20**: 1621–1631.
- Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM & Cole JR (2007) Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* **73**: 5261–5267.
- Wani AK, Roy P & Kumar V (2022) Metagenomics and artificial intelligence in the context of human health. *Infection, Genetics and Evolution* **100**: 105267.
- Ward DM, Weller R & Bateson MM (1990) 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature* **345**: 63–65.
- Wei B, Kang M & Jang HK (2018) Evaluation of potassium clavulanate supplementation of Bolton broth for enrichment and detection of *Campylobacter* from chicken. *PLoS One*, **13(10)**: e0205324.
- Weißhaupt P, Naumann A, Pritzkow W & Noll M (2013) Nitrogen uptake of *Hypholoma fasciculare* and coexisting bacteria. *Mycological Progress* **12**: 283–290.
- Weißhaupt P, Pritzkow W & Noll M (2011) Nitrogen metabolism of wood decomposing basidiomycetes and their interaction with diazotrophs as revealed by IRMS. *International Journal of Mass Spectrometry* **307**: 225–231.
- Weissman Z, Berdicevsky I, Cavari BZ & Kornitzer D (2000) The high copper tolerance of *Candida albicans* is mediated by a P-type ATPase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97(7)**: 3520–3525.
- Werner JJ, Koren O, Hugenholtz P, DeSantis TZ, Walters WA, Caporaso JG, Angenent LT, Knight R & Ley RE (2012) Impact of training sets on classification of high-throughput bacterial 16s rRNA gene surveys. *The ISME journal* **6**: 94–103.
- Whitaker RJ (2009) Evolution: spatial scaling of microbial interactions. *Current biology CB* **19**: 6.
- White TJ, Bruns T, Lee S & Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols*, pp. 315–322. Elsevier.
- Wilhelm RC, Singh R, Eltis LD & Mohn WW (2019) Bacterial contributions to delignification and lignocellulose degradation in forest soils with metagenomic and quantitative stable isotope probing. *ISME J* **13**: 413–429.
- Wintzingerode F von, Gobel UB, Stackebrandt E, V. Wintzingerode F, Göbel UB & Stackebrandt E (1997) Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol Rev* **21**: 213–229.
- Wolman Wood and Fire Protection GmbH Fichte (*Picea abies*).  
<https://www.wolman.de/infocenter-holz/vom-baum-zum-holz/holzarten/fichte>. Accessed 5/25/2021.
- Woo C, Daniels B, Stirling R & Morris P (2010) Tebuconazole and propiconazole tolerance and possible degradation by Basidiomycetes: A wood-based bioassay. *International Biodeterioration and Biodegradation* **64**: 403–408.

- Woo CS & Morris PI (2010) Sensitivity to copper of basidiospores from copper tolerant fungi: *Fomitopsis palustris* and *Oligoporus placentus*. *International Research Group on Wood Preservation, Document No. IRG/WP/10-10707*.
- Woodward S, Boddy L, Woodward S & Boddy L (2008) Chapter 7 Interactions between saprotrophic fungi. *Ecology of saprotrophic basidiomycetes*, 1st ed., Vol. 28 (Boddy, L., Frankland, J. C. & van West, P., eds), pp. 125–141. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston.
- Yadav S, Prajapati R & Atri N (2016) Effects of UV-B and heavy metals on nitrogen and phosphorus metabolism in three cyanobacteria. *J Basic Microbiol* **56**: 2–13.
- Yurkov AM, Sannino C & Turchetti B (2020) *Mrakia fibulata* sp. nov., a psychrotolerant yeast from temperate and cold habitats. *Antonie van Leeuwenhoek* **113**: 499–510.
- Zafar S, Aqil F & Ahmad I (2007) Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresour Technol* **98**: 2557–2561.
- Zanne AE, Abarenkov K & Afkhami ME *et al.* (2020) Fungal functional ecology: bringing a trait-based approach to plant-associated fungi. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* **95**: 409–433.
- Zapras A, Liu Y-J, Liu S-J, Drake HL & Horn MA (2010) Abundance of novel and diverse *tfdA*-like genes, encoding putative phenoxyalkanoic acid herbicide-degrading dioxygenases, in soil. *Appl Environ Microbiol* **76**: 119–128.
- Zehra A, Dubey MK, Meena M, Aamir M, Patel CB & Upadhyay RS (2018) Role of *Penicillium* Species in Bioremediation Processes. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 57, pp. 247–260. Elsevier.
- Zelinka SL, Jakes JE, Tang J, Ohno K, Bishell A, Finney L, Maxey ER, Vogt S & Kirker GT (2019) Fungal–copper interactions in wood examined with large field of view synchrotron-based X-ray fluorescence microscopy. *Wood Material Science & Engineering* **14**: 174–184.
- Zelinka SL, Kirker GT, Bishell AB & Glass SV (2020) Effects of wood moisture content and the level of acetylation on brown rot decay. *Forests*, **11**(3), 299.
- Zhang H, Dong W, Hyde KD, Maharachchikumbura SSN, Hongsanan S, Jayarama Bhat D, Al-Sadi AM & Di Zhang (2017) Towards a natural classification of *Annulatasceae*-like taxa: introducing *Atractosporales* ord. nov. and six new families. *Fungal Diversity* **85**: 75–110.
- Zhang H-B, Yang M-X, Shi W, Zheng Y, Sha T & Zhao Z-W (2007) Bacterial diversity in mine tailings compared by cultivation and cultivation-independent methods and their resistance to lead and cadmium. *Microbial Ecology* **54**: 705–712.
- Zhang J (1999) Interactions of Copper-Amine Preservatives with Southern Pine. Ph.D. Thesis, Michigan State University, East Lansing.
- Zhang N, Castlebury LA & Miller AN *et al.* (2006) An overview of the systematics of the Sordariomycetes based on a four-gene phylogeny. *Mycologia* **98**: 1076–1087.
- Zhou S & Ingram LO (2000) Synergistic hydrolysis of carboxymethyl cellulose and acid-swollen cellulose by two endoglucanases (CelZ and CelY) from *Erwinia chrysanthemi*. *Journal of bacteriology* **182**: 5676–5682.

- Zotti M, Di Piazza S, Roccotiello E, Lucchetti G, Mariotti MG & Marescotti P (2014)  
Microfungi in highly copper-contaminated soils from an abandoned Fe-Cu sulphide mine:  
growth responses, tolerance and bioaccumulation. *Chemosphere* **117**: 471–476.
- Zyani M, Mortabit D, Mostakim M, Iraqui M, Haggoud A, Ettayebi M & Koraichi SI (2009)  
Cellulolytic potential of fungi in wood degradation from an old house at the Medina of  
Fez. *Annals of Microbiology* **59**: 699–704.

### Danksagung

Für die finanzielle Unterstützung (AZ 29621-31) möchte ich mich bei der Deutschen Bundesstiftung Umwelt und für die Bereitstellung der Räumlichkeiten bei der Hochschule für angewandte Wissenschaften Coburg besonders bedanken. Herrn Prof. Dr. Matthias Noll möchte ich herzlich danken für die Chance, an diesem spannenden Thema zu arbeiten, für die hervorragende Betreuung, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat, und für die vielen hilfreichen Fachgespräche und Diskussionen. Ebenso danke ich herzlich Herrn Prof. Dr. Martin Obst, der sich bereit erklärt hat, ein Gutachten dieser Arbeit anzufertigen. Auch danke ich Prof. Dr. Tillmann Lüders für die Bereitschaft zur Anfertigung des Drittgutachtens.

Ein besonderer Dank geht an Frau Antje Vondran, die mich mit ihrem Fachwissen in der Mikrobiologie und ihrer Hilfe bei meinen Projekten im Labor hervorragend beraten hat, sowie für ihre nicht nur fachliche, sondern auch zwischenmenschliche Unterstützung während dieser Zeit.

Ich möchte mich bei der Firma Kurt Obermeier GmbH & Co. KG für die Unterstützung durch die Bereitstellung von imprägnierten Holzpfählen sowie den Zugang und die Reisen zu den Versuchsflächen. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Michael Pallaske, Herrn Dr. Peter Jüngel, Herrn Dr. Sascha Hellkamp und Herrn Andres Pfeil. Der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung in Berlin danke ich für die Ermöglichung der Laborinkubation und für die Analyse der abiotischen Parameter der Standorte, des Massenverlustes und des MOE der Hölzer. Ein besonderer Dank geht an Dr. Ina Stephan, Kerstin Klutzny, Sabrina Trawny und Christian Reger für ihre Unterstützung.

Bedanken möchte ich mich bei Katharina Trunzer, Anja Scheler, Marina Stang, Carolin Schmutzler-Schmitt, Julia Kenzel und Katja Zimmer für viele gute Gespräche, stets große Hilfsbereitschaft, viele angenehme Stunden bei der Arbeit und privat, den täglichen Kaffeeklatsch, aber auch für so manche moralische Unterstützung und motivierende Ermutigung. Des Weiteren möchte ich mich beim gesamten Fachbereich Bioanalytik der Hochschule Coburg für die freundliche Aufnahme und eine angenehme und abwechslungsreiche Arbeitsatmosphäre sowie tolle Ausflüge bedanken. Den Bachelor-Studenten Laura Schwab, Florian Westhäuser, Sarah Sheena Fink und Felix Berthold danke ich für ihre technische Unterstützung, ihr Engagement und die wertvollen Ergebnisse.

Vielen Dank an Antje Vondran, Dr. Lorena Stannek-Göbel und Lars Nordbruch für das Korrekturlesen dieser Arbeit sowie für konstruktive Vorschläge zur Optimierung.

Ein großes Dankeschön geht an meine Mutter, die mich immer unterstützt und nie den Glauben an mich verloren hat.

## Anhang

## A. Mikrobielle Gemeinschaft der Standorte

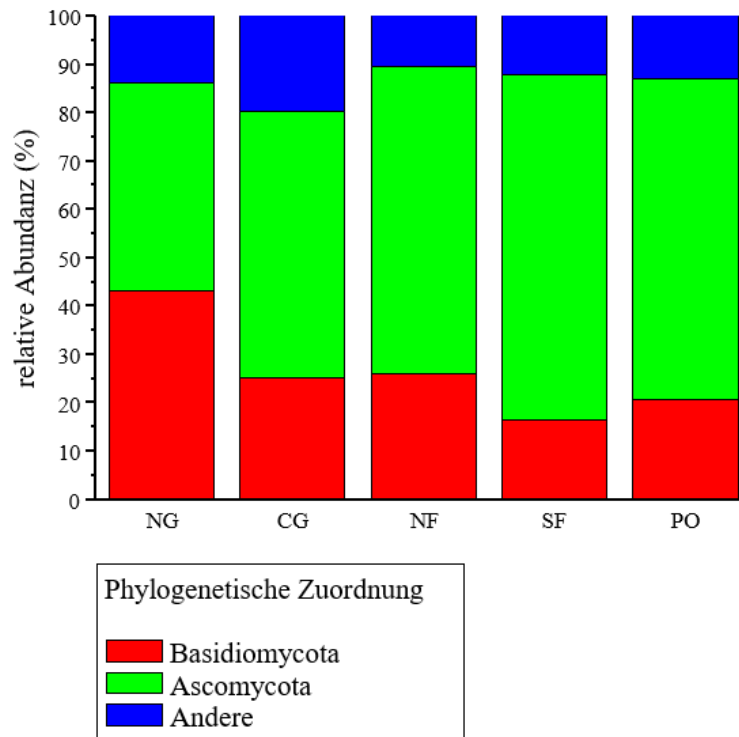


Abbildung A 1 Zuordnung der abundanten pilzlichen OTUs zum jeweiligen taxonomischen Phylum der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal). Insgesamt wurden 52.178 verschiedene Sequenzen analysiert und auf 7070 Sequenzen pro Probe normiert. Die Legende fasst die Farbkennung der Phyla zusammen. Die folgenden Phyla sind unter „Andere“ aufgeführt: Zygomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota und nicht klassifizierbare oder identifizierte Taxa.

## Anhang

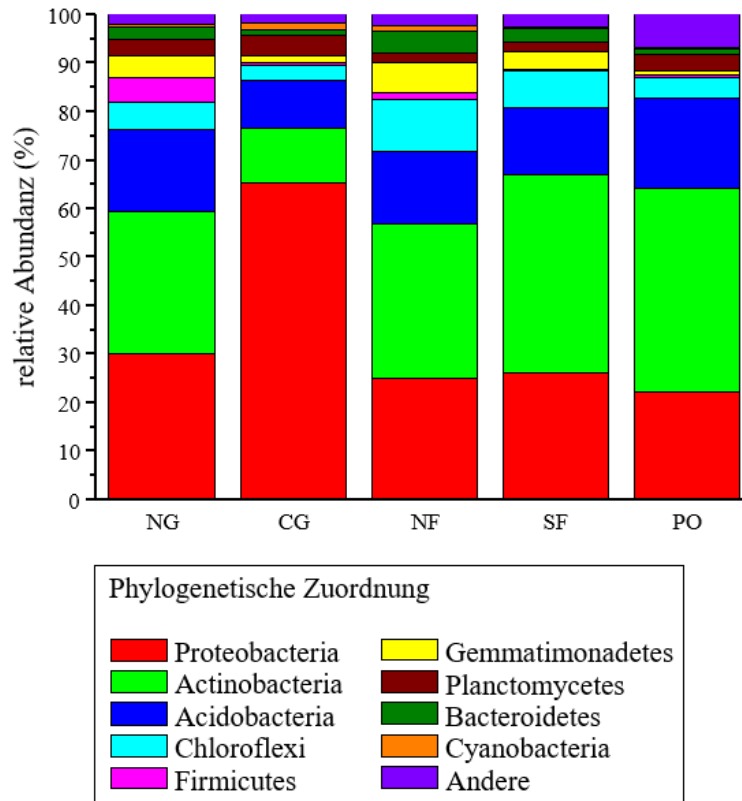


Abbildung A 2 Zuordnung der abundanten bakteriellen OTUs zum jeweiligen taxonomischen Phylum der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal). Insgesamt wurden 16.547 verschiedene Sequenzen analysiert und auf 657 Sequenzen pro Probe normiert. Die Legende fasst die Farbkennung der Phyla zusammen. Die folgenden Phyla sind unter „Andere“ werden aufgeführt: Armatimonadetes, Verrucomicrobia, Nitrospirae, Elusimicrobia, Fibrobacteres, Chlorobi, Spirochaetes; neu postulierte Phyla wie WPS-2, OD1, AD3, WS3, WS4, OP11, OP3, TM7, WYO, WS2 und nicht klassifizierbare oder identifizierte Taxa.

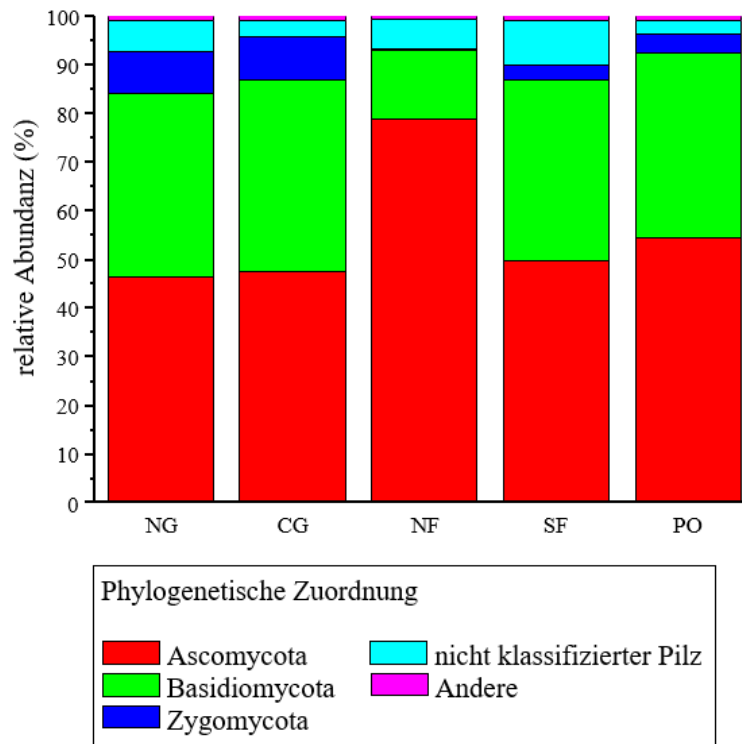
**B. Mikrobielle Gemeinschaft aus den Labor-Inkubationsstudien**

Abbildung B 1 Verteilung der abundanten Pilz OTUs auf das jeweilige taxonomische Phylum der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal) aus den Inkubationsversuchen. Insgesamt wurden  $0,64 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 557 Sequenzen pro Proben normiert. Die Legende fasst die Farbkennung der Phyla zusammen. Die folgenden Phyla wurden unter „Andere“ aufgeführt: Chytridiomycota, Glomeromycota, Rozellomycota und nicht klassifizierbare oder identifizierte Taxa.

## Anhang

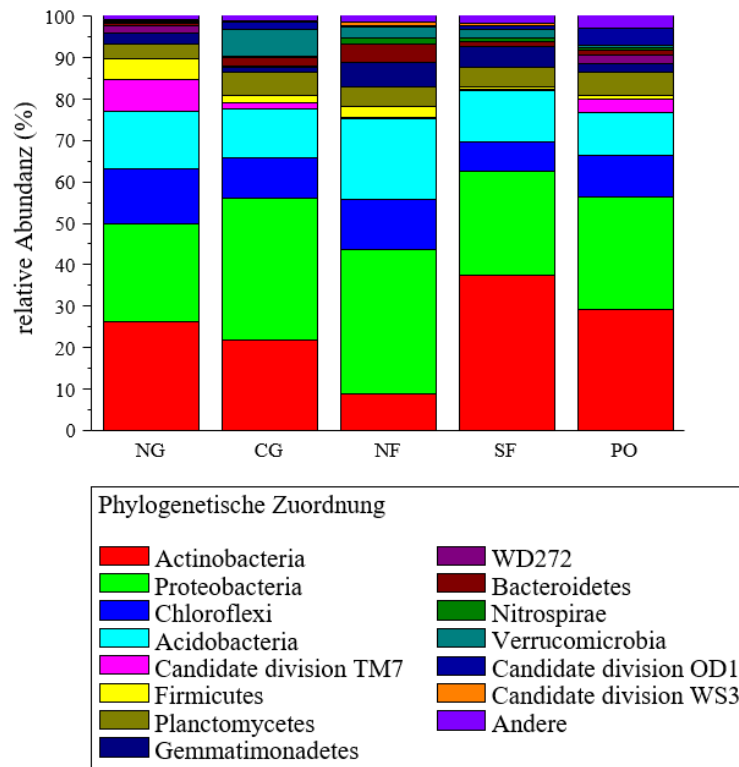


Abbildung B 2 Verteilung von abundanten bakteriellen OTUs auf das jeweilige taxonomische Phylum der fünf Standorte (NG: Norddeutschland; CG: Mitteldeutschland; NF: Nordfrankreich; SF: Südfrankreich; PO: Portugal) aus den Erdinkubationsversuchen. Insgesamt wurden  $2,85 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 7155 Sequenzen pro Probe normiert. Die Legende fasst die Farbkennung der Phyla zusammen. Die folgenden Phyla wurden unter „Andere“ aufgeführt: SM2F11, TM6, Chlamydiae, WCHB1-60, Deinococcus-Thermus, Armatimonadetes, BD1-5, BHI80-139, Candidate division BRC1, Candidate division OP11, Candidate division OP3, Chlorobi, Cyanobacteria, Elusimicrobia, Fibrobacteres, JL-ETNP-Z39, NPL-UPA2, SHA-109 und nicht klassifizierbare oder identifizierte Taxa.

## Anhang

Tabelle B 1 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa im Boden aus Norddeutschland während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref					
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	
<i>Acremonium</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	100%
<i>Chaetomium</i>	0,4%	0,3%	0,4%	0,2%	7,1%	8,4%	7,1%	7,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,3%	0,4%	0,2%	0,6%	0,4%	0,5%	0,4%	0,6%	
<i>Cladophialophora</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	
<i>Clitopilus</i>	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Conlarium</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,7%	0,1%	0,2%	0,0%	0,9%	0,0%	0,4%	0,0%	0,1%	20,7%	39,5%	21,6%	38,1%	0,0%	0,0%	0,1%	9,8%	1,5%	
<i>Coprinellus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,7%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	18,9%	15,5%	12,4%	9,7%	9,5%	9,3%	10,1%	6,9%	9,9%	11,5%	13,1%	1,9%	15,8%	12,8%	15,7%	9,3%	17,7%	16,7%	19,3%	16,2%	19,0%	
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	12,6%	15,3%	9,2%	5,8%	9,0%	8,5%	7,3%	5,2%	4,6%	4,0%	4,0%	0,3%	11,0%	7,8%	8,1%	4,9%	11,3%	12,1%	11,4%	13,8%	11,3%	
<i>Exophiala</i>	1,6%	1,3%	0,8%	0,3%	1,2%	0,7%	0,5%	0,6%	1,3%	1,0%	1,3%	0,1%	1,2%	1,3%	1,7%	0,6%	1,7%	1,1%	1,3%	0,7%	0,9%	
<i>Fusarium</i>	1,5%	2,0%	2,4%	0,9%	3,8%	4,8%	7,2%	16,3%	0,5%	0,5%	0,6%	0,0%	3,6%	2,9%	4,6%	7,6%	1,4%	2,5%	1,8%	3,6%	3,5%	
<i>Geastrum</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Hormonema</i>	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Hypocrea</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,2%	0,1%	0,0%	4,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	
<i>Lacrymaria</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Lecythophora</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Monodictys</i>	2,3%	1,6%	1,5%	0,9%	2,5%	1,6%	1,4%	1,5%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	2,1%	0,8%	1,2%	0,7%	1,5%	11,4%	2,7%	2,0%	2,4%	
<i>Mortierella</i>	8,6%	11,0%	7,7%	2,9%	9,8%	13,0%	6,4%	3,9%	12,0%	8,5%	8,7%	0,9%	10,6%	9,0%	7,2%	5,5%	14,7%	11,4%	12,1%	6,5%	7,9%	
<i>Ochrocladosporium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Penicillium</i>	11,8%	17,0%	26,8%	36,2%	3,8%	6,0%	3,0%	3,0%	0,1%	0,4%	0,2%	0,0%	1,0%	1,2%	6,4%	4,8%	0,5%	1,0%	1,2%	5,3%	1,0%	
<i>Phaeococcomyces</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Pluteus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	
<i>Pseudallescheria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Pseudeurotium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,3%	0,2%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Scedosporium</i>	0,1%	0,0%	1,2%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,8%	0,0%	0,4%	1,6%	0,0%	0,0%	
<i>Trichoderma</i>	0,3%	0,2%	0,1%	0,1%	0,6%	0,5%	0,4%	1,8%	0,6%	0,5%	0,6%	0,1%	0,5%	0,4%	0,2%	1,3%	0,0%	0,2%	0,5%	0,1%	0,4%	
unkl. Chaetomiaceae	0,2%	0,1%	0,0%	0,1%	1,5%	1,7%	2,2%	1,5%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	
unkl. Chaetosphaeriaceae	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,2%	0,0%	0,1%	0,1%	33,5%	42,3%	47,7%	90,8%	0,4%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,5%	0,2%	0,2%	
unkl. Clavicipitaceae	0,6%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,3%	0,3%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,2%	0,5%	0,2%	0,6%	0,0%	0,5%	0,5%	0,5%	
unkl. Microascaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	
unkl. Nectriaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,8%	1,2%	1,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
unkl. Onygenaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	
unkl. Pezizaceae	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
unkl. Trichocomaceae	0,3%	0,5%	1,0%	1,0%	3,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,6%	0,5%	0,4%	0,1%	0,2%	0,2%	0,3%	0,1%	0,7%	0,4%	0,1%	1,1%	0,2%	
<i>Veronaeopsis</i>	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Vérticillium</i>	0,1%	0,0%	0,5%	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	

## Anhang

Tabelle B 2 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa im Boden aus Mitteldeutschland während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref				
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.
<i>Acremonium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>Chaetomium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Cladophialophora</i>	0,7%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,3%	0,1%	0,1%
<i>Clitopilus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Conlarium</i>	0,0%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,1%	0,1%	0,0%
<i>Coprinellus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	18,2%	5,0%	5,0%	14,3%	12,8%	13,1%	8,4%	8,0%	9,9%	11,5%	13,1%	1,9%	11,9%	11,1%	5,2%	2,8%	8,7%	42,6%	15,3%	17,8%	16,3%
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	7,1%	1,8%	1,7%	4,7%	4,9%	4,5%	3,5%	4,5%	4,6%	4,0%	4,0%	0,3%	3,5%	2,8%	2,0%	0,3%	4,1%	7,7%	5,9%	6,1%	6,6%
<i>Exophiala</i>	3,3%	0,9%	0,8%	3,0%	2,5%	1,5%	1,3%	1,2%	1,3%	1,0%	1,3%	0,1%	2,2%	2,1%	0,4%	0,4%	1,0%	2,4%	1,9%	3,0%	2,2%
<i>Fusarium</i>	0,7%	0,2%	0,2%	0,7%	1,4%	0,7%	1,2%	1,4%	0,5%	0,5%	0,6%	0,0%	0,8%	0,6%	0,3%	0,1%	0,2%	0,5%	0,6%	0,8%	0,9%
<i>Geastrum</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>Harmonema</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Hypocrea</i>	1,2%	0,1%	0,2%	0,6%	3,1%	2,9%	4,7%	5,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,0%	0,1%	0,8%	0,1%	0,2%	0,2%	0,5%	0,8%	0,6%	0,8%
<i>Lacrymaria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Lecythophora</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,8%	0,6%	2,1%	0,2%	1,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Monodictys</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Mortierella</i>	15,1%	3,4%	3,8%	7,4%	10,6%	10,6%	11,6%	13,0%	12,0%	8,5%	8,7%	0,9%	13,8%	4,9%	5,1%	0,7%	13,9%	8,7%	11,9%	12,2%	13,2%
<i>Ochrocladosporium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Penicillium</i>	1,5%	71,3%	35,4%	22,9%	0,2%	0,2%	1,0%	0,6%	0,1%	0,4%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	3,2%	0,0%	0,0%	1,1%	0,1%	0,7%
<i>Phaeococcomyces</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Pluteus</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Pseudallescheria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Pseudeurotium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,4%	2,5%	2,2%	2,7%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Scedosporium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Trichoderma</i>	0,6%	0,4%	0,2%	1,0%	3,3%	1,5%	3,5%	2,4%	0,6%	0,5%	0,6%	0,1%	1,0%	0,5%	0,4%	0,2%	0,4%	1,6%	0,8%	1,5%	0,8%
unkl. Chaetomiaceae	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	6,1%	3,7%	9,4%	11,3%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,2%
unkl. Chaetosphaeriaceae	3,7%	1,9%	1,1%	4,2%	7,9%	1,7%	3,6%	2,4%	33,5%	42,3%	47,7%	90,8%	8,5%	29,8%	50,1%	81,9%	0,7%	1,1%	1,9%	2,4%	2,9%
unkl. Clavicipitaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Microascaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Nectriaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,4%	0,4%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Onygenaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Pezizaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Trichocomaceae	0,6%	2,4%	0,9%	1,3%	0,8%	0,5%	0,7%	0,5%	0,6%	0,5%	0,4%	0,1%	1,0%	0,6%	0,3%	0,2%	0,9%	0,7%	1,0%	0,7%	0,5%
<i>Veronaepsis</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Verticillium</i>	1,4%	0,2%	0,2%	0,7%	1,1%	2,0%	1,9%	2,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

## Anhang

Tabelle B 3 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa im Boden aus Nordfrankreich während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref					
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	
<i>Acremonium</i>	0,0%	0,2%	0,1%	0,2%	7,8%	2,2%	3,3%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,7%	0,1%	0,1%	0,0%	0,2%	0,0%	0,3%	0,0%	0,1%	100%
<i>Chaetomium</i>	0,0%	0,2%	0,2%	0,3%	0,0%	0,0%	18,0%	5,7%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,0%	0,1%	0,3%	0,5%	0,1%	0,0%	1,6%	1,1%	0,4%	
<i>Cladophialophora</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Clitopilus</i>	4,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	3,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	1,7%	0,2%	4,1%	0,0%	0,0%	
<i>Conlarium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,7%	0,0%	0,0%	0,5%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Coprinellus</i>	18,7%	7,2%	12,4%	5,7%	1,3%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,4%	0,0%	0,1%	17,8%	3,1%	0,5%	0,0%	1,0%	21,9%	13,3%	1,8%	0,5%	
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	1,8%	0,5%	0,2%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,4%	0,1%	0,7%	1,4%	0,2%	0,0%	0,1%	7,9%	2,5%	1,2%	0,4%	0,3%	
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	1,4%	0,5%	0,0%	0,1%	0,0%	
<i>Exophiala</i>	1,4%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	
<i>Fusarium</i>	0,3%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,1%	0,0%	0,0%	2,4%	1,4%	1,7%	0,8%	0,5%	
<i>Geastrum</i>	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,2%	0,7%	0,0%	0,1%	
<i>Hormonema</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Hypocrea</i>	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Lacrymaria</i>	7,3%	1,5%	1,0%	0,7%	0,6%	0,2%	0,3%	0,1%	0,6%	0,8%	0,1%	0,2%	1,6%	0,3%	0,2%	0,2%	6,0%	4,1%	2,2%	2,4%	1,4%	
<i>Lecythophora</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Monodictys</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Mortierella</i>	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	3,2%	0,4%	0,1%	0,2%	0,1%	
<i>Ochrocladosporium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Penicillium</i>	0,0%	1,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,9%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,2%	0,0%	
<i>Phaeococcomyces</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Pluteus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Pseudallescheria</i>	0,6%	6,4%	2,5%	1,5%	4,3%	26,0%	8,5%	31,0%	4,0%	5,3%	0,9%	3,6%	20,3%	31,3%	1,4%	11,6%	0,4%	0,1%	0,0%	0,1%	1,0%	
<i>Pseudeurotium</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Scedosporium</i>	12,5%	34,9%	41,7%	58,8%	58,9%	48,2%	43,9%	41,7%	72,0%	49,6%	56,3%	54,5%	27,1%	43,8%	38,0%	52,4%	1,7%	0,4%	0,6%	1,9%	24,8%	
<i>Trichoderma</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Chaetomiaceae</i>	0,7%	1,9%	0,0%	0,2%	17,9%	3,1%	2,1%	0,4%	0,6%	0,6%	0,1%	0,5%	0,5%	0,1%	0,1%	0,0%	0,3%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>unkl. Chaetosphaeriaceae</i>	0,1%	0,0%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Clavicipitaceae</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,7%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Microascaceae</i>	0,3%	10,1%	6,2%	1,0%	0,1%	0,7%	0,3%	0,9%	1,2%	1,1%	1,0%	3,3%	2,0%	1,8%	0,2%	12,3%	0,5%	0,1%	0,1%	0,0%	0,5%	
<i>unkl. Nectriaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	5,5%	7,0%	4,7%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Onygenaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Pezizaceae</i>	21,6%	18,6%	0,1%	0,5%	0,2%	0,0%	0,1%	0,3%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,5%	0,4%	0,2%	0,2%	0,0%	29,7%	31,7%	4,7%	17,3%	
<i>unkl. Trichocomaceae</i>	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,1%	0,0%	0,0%	
<i>Veronaeopsis</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	
<i>Vérticillium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	

## Anhang

Tabelle B 4 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa im Boden aus Südfrankreich während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref				
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.
<i>Acremonium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Chaetomium</i>	0,1%	0,7%	0,0%	0,1%	0,8%	0,2%	1,4%	0,8%	1,0%	2,9%	0,5%	0,7%	0,2%	1,0%	0,3%	1,3%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%
<i>Cladophialophora</i>	1,0%	0,0%	0,1%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,4%	0,2%	0,0%	0,1%	0,3%	1,6%	0,6%	0,6%	1,0%
<i>Clitopilus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Conlarium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	2,0%	1,2%	0,5%	0,1%	0,1%	3,6%	0,4%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%
<i>Coprinellus</i>	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,5%	0,2%	0,2%	0,0%	0,1%	0,1%
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	0,3%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,1%	0,2%	0,3%	0,3%	1,9%	0,2%	0,1%	0,6%	0,3%	0,2%	0,2%	0,4%	0,5%	0,8%	0,7%	0,4%
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	1,4%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	1,0%	0,1%
<i>Exophiala</i>	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%
<i>Fusarium</i>	0,9%	0,4%	0,4%	0,7%	2,1%	1,5%	3,5%	1,7%	1,7%	0,8%	0,3%	0,1%	0,4%	0,3%	0,4%	0,2%	2,0%	2,1%	3,0%	4,2%	1,7%
<i>Geastrum</i>	20,4%	12,6%	19,8%	10,9%	13,5%	3,3%	10,8%	7,0%	40,1%	12,3%	9,5%	7,6%	19,1%	9,0%	21,0%	3,4%	33,7%	36,5%	36,2%	42,5%	60,7%
<i>Hormonema</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Hypocrea</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	1,7%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	1,1%	0,2%	0,0%	0,1%
<i>Lacrymaria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Lecythophora</i>	0,4%	0,3%	0,2%	5,1%	3,9%	0,4%	0,8%	4,1%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Monodictys</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Mortierella</i>	2,3%	1,0%	0,7%	0,8%	6,1%	2,0%	3,1%	4,2%	4,6%	2,2%	1,1%	0,5%	1,7%	1,2%	1,8%	0,2%	5,7%	4,4%	5,2%	5,3%	2,5%
<i>Ochrocladosporium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Penicillium</i>	7,7%	6,9%	15,0%	24,5%	0,1%	50,9%	0,3%	1,7%	0,6%	2,2%	2,6%	0,2%	1,0%	0,4%	0,9%	0,6%	0,3%	0,4%	0,4%	0,6%	0,2%
<i>Phaeococcomyces</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Pluteus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	15,4%	31,2%	39,4%	38,1%	47,4%	0,0%	30,3%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%
<i>Pseudallescheria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Pseudeurotium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Scedosporium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Trichoderma</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,2%	0,3%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%
unkl. Chaetomiaceae	0,2%	0,1%	0,3%	0,7%	15,7%	20,2%	25,2%	21,6%	0,6%	0,5%	0,5%	0,6%	2,0%	0,8%	0,4%	0,7%	0,2%	0,2%	0,3%	0,2%	0,1%
unkl. Chaetosphaeriaceae	0,0%	0,8%	0,1%	0,3%	0,1%	0,1%	0,2%	1,3%	0,1%	29,5%	12,1%	9,8%	0,6%	1,7%	0,2%	5,3%	0,2%	0,0%	0,5%	2,3%	0,0%
unkl. Clavicipitaceae	9,4%	7,9%	5,0%	7,2%	1,2%	1,4%	9,2%	5,5%	5,4%	2,5%	1,2%	1,3%	0,2%	0,2%	0,4%	0,2%	0,3%	0,5%	0,2%	0,4%	0,1%
unkl. Microascaceae	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,3%	0,1%	0,1%	0,1%	0,3%	1,5%	0,1%	0,5%	0,4%	0,0%	7,3%	2,7%	0,0%	0,1%	0,2%	0,8%	0,0%
unkl. Nectriaceae	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,9%	1,2%	4,4%	1,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Onygenaceae	0,9%	0,8%	0,7%	0,6%	3,4%	0,8%	4,3%	2,3%	3,4%	0,3%	0,3%	0,1%	0,7%	0,4%	0,8%	0,1%	2,9%	2,4%	1,2%	0,8%	2,1%
unkl. Pezizaceae	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
unkl. Trichocomaceae	11,9%	45,0%	41,9%	29,2%	0,1%	0,8%	0,2%	17,9%	1,1%	0,3%	0,7%	0,3%	1,4%	0,6%	0,3%	0,1%	0,3%	0,5%	0,3%	0,3%	0,4%
<i>Veronaeopsis</i>	2,1%	1,9%	2,1%	2,4%	0,0%	0,1%	0,2%	0,4%	0,3%	0,2%	0,1%	0,1%	4,2%	2,8%	0,6%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Vérticillium</i>	0,5%	0,0%	0,2%	0,0%	18,7%	2,2%	3,0%	4,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%

## Anhang

Tabelle B 5 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa im Boden aus Portugal während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref					
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	
<i>Acremonium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	
<i>Chaetomium</i>	0,3%	0,4%	0,4%	0,9%	12,2%	19,1%	8,0%	13,3%	1,7%	2,4%	2,5%	0,9%	2,2%	2,0%	1,8%	4,7%	0,4%	0,1%	0,1%	0,2%	0,2%	
<i>Cladophialophora</i>	1,5%	1,7%	1,6%	1,9%	1,1%	0,9%	1,6%	0,8%	2,2%	0,9%	1,2%	2,4%	1,8%	3,2%	3,2%	16,0%	2,7%	1,8%	2,9%	2,0%	3,3%	
<i>Clitopilus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Conlarium</i>	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	2,0%	10,6%	1,6%	16,0%	5,2%	6,7%	5,5%	17,7%	0,0%	0,0%	0,0%	1,0%	0,3%	
<i>Coprinellus</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	4,3%	6,1%	5,4%	6,5%	3,7%	3,1%	3,8%	3,9%	6,1%	6,0%	5,4%	4,9%	4,1%	5,1%	6,1%	5,9%	4,6%	5,2%	5,5%	4,2%	7,7%	
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	1,5%	2,0%	2,0%	1,6%	2,6%	1,6%	1,8%	0,8%	2,0%	1,8%	1,3%	1,0%	2,3%	1,7%	2,1%	0,8%	2,4%	1,8%	1,6%	1,2%	3,7%	
<i>Exophiala</i>	1,0%	1,9%	1,1%	1,5%	2,2%	1,8%	1,9%	2,1%	1,4%	0,9%	1,1%	1,2%	1,0%	1,2%	1,2%	0,8%	1,2%	1,2%	1,5%	1,1%	1,5%	
<i>Fusarium</i>	1,3%	1,3%	0,9%	1,0%	2,2%	2,3%	2,3%	2,6%	0,9%	1,1%	1,3%	0,8%	1,4%	1,5%	1,2%	1,4%	1,1%	1,0%	2,0%	1,5%	3,2%	
<i>Geastrum</i>	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Hormonema</i>	7,0%	10,5%	8,9%	5,2%	10,9%	10,1%	10,5%	12,7%	11,1%	6,3%	4,1%	4,4%	10,1%	4,0%	3,9%	3,5%	10,8%	12,3%	9,1%	6,0%	11,1%	
<i>Hypocrea</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>Lacrymaria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Lecythophora</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Monodictys</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Mortierella</i>	1,8%	3,3%	2,4%	2,2%	2,6%	2,7%	2,9%	1,6%	2,3%	3,8%	3,3%	1,0%	5,7%	3,9%	2,1%	0,7%	1,8%	2,0%	1,9%	1,6%	1,5%	
<i>Ochrocladosporium</i>	0,8%	2,5%	0,7%	1,1%	1,3%	2,6%	1,0%	0,7%	0,9%	0,8%	0,9%	0,4%	1,3%	1,0%	0,5%	0,6%	1,2%	1,3%	1,2%	2,5%	0,9%	
<i>Penicillium</i>	0,3%	0,5%	0,2%	0,6%	0,3%	0,3%	0,5%	0,3%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,1%	0,1%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,6%	
<i>Phaeococcomyces</i>	1,7%	1,4%	1,1%	0,9%	1,7%	1,8%	1,4%	1,1%	0,8%	1,1%	0,5%	0,1%	1,5%	1,2%	0,7%	0,3%	2,6%	2,1%	2,7%	1,0%	1,5%	
<i>Pluteus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,4%	0,0%	0,0%	
<i>Pseudallescheria</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Pseudeurotium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Scedosporium</i>	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Trichoderma</i>	0,4%	0,1%	0,0%	0,1%	0,3%	0,4%	0,4%	0,7%	0,1%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,2%	0,2%	0,2%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,2%	
<i>unkl. Chaetomiaceae</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	1,1%	1,2%	1,0%	1,8%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Chaetosphaeriaceae</i>	0,0%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,0%	0,0%	0,1%	1,4%	2,0%	0,2%	1,3%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>unkl. Clavicipitaceae</i>	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Microascaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Nectriaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Onygenaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Pezizaceae</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Trichocomaceae</i>	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	0,3%	0,1%	0,8%	
<i>Veronaeopsis</i>	4,4%	7,6%	7,1%	23,4%	0,5%	1,6%	0,3%	0,1%	0,3%	0,3%	0,6%	1,0%	1,9%	2,6%	2,8%	1,9%	0,4%	0,6%	0,2%	0,2%	0,4%	
<i>Vérticillium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	

## Anhang

Tabelle B 6 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Bakterientaxa im Boden aus Norddeutschland während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref				
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.
<i>Acidobacterium</i>	1,0%	2,5%	2,3%	3,3%	1,1%	1,7%	2,1%	2,7%	1,4%	3,2%	1,4%	2,1%	1,4%	2,2%	2,0%	3,0%	1,1%	5,3%	3,0%	3,1%	2,7%
<i>Acidothermus</i>	15,3%	11,0%	12,5%	15,4%	19,1%	15,2%	13,8%	16,2%	12,0%	8,8%	13,8%	8,8%	13,6%	10,2%	13,4%	8,8%	12,7%	11,0%	10,8%	16,7%	18,4%
<i>Anaerolinea</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%
<i>Anaeromyxobacter</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,3%	0,0%	0,0%
<i>Bacillus</i>	4,7%	3,0%	3,6%	5,5%	4,5%	3,5%	3,3%	3,6%	4,2%	1,9%	6,5%	4,6%	3,2%	3,5%	5,2%	3,8%	5,7%	2,0%	2,6%	6,2%	6,8%
<i>Bradyrhizobium</i>	0,5%	1,0%	1,0%	1,5%	0,5%	0,9%	0,8%	1,5%	0,6%	0,5%	0,7%	1,0%	0,5%	0,5%	0,7%	0,9%	0,3%	0,1%	0,5%	0,6%	0,8%
<i>Candidatus_Koribacter</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>Flavisolibacter</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>Gaiella</i>	2,1%	1,0%	0,9%	0,6%	1,6%	0,8%	0,7%	0,6%	1,6%	0,7%	1,2%	0,8%	1,7%	0,8%	0,9%	0,8%	2,6%	0,7%	0,8%	0,9%	0,5%
<i>Gemmatimonas</i>	0,5%	0,3%	0,2%	0,1%	0,4%	0,2%	0,2%	0,0%	0,6%	0,3%	0,1%	0,1%	0,5%	0,3%	0,2%	0,1%	0,7%	0,7%	0,5%	0,1%	0,1%
<i>Hyalangium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Microthum</i>	1,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,6%	0,1%	0,2%	0,1%	0,5%	0,1%	0,0%	0,1%	1,4%	0,2%	0,2%	0,0%	0,0%
<i>Pir4_lineage</i>	1,2%	1,2%	1,6%	2,5%	0,9%	1,1%	1,4%	2,2%	0,8%	0,8%	1,2%	1,5%	0,8%	0,7%	0,9%	1,0%	0,5%	0,2%	1,5%	1,1%	1,2%
<i>Pseudolabrys</i>	1,3%	0,9%	0,8%	0,4%	1,2%	0,9%	0,7%	0,5%	1,4%	0,8%	0,5%	0,8%	1,7%	1,0%	0,6%	0,6%	1,2%	0,6%	0,7%	0,4%	0,4%
<i>Ramlibacter</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>Rhizomicrobium</i>	1,7%	2,7%	2,7%	1,1%	2,1%	2,9%	3,1%	1,7%	2,8%	3,7%	2,5%	2,4%	3,1%	3,2%	2,3%	2,3%	1,9%	1,7%	3,3%	2,9%	2,5%
<i>Roseiflexus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Sphingomonas</i>	0,5%	1,4%	0,8%	0,4%	0,6%	1,7%	1,1%	0,5%	0,6%	1,5%	0,9%	0,9%	0,8%	2,1%	1,1%	1,2%	0,6%	1,3%	0,6%	0,3%	0,2%
<i>Telmatobacter</i>	1,4%	2,0%	2,3%	1,7%	1,4%	2,3%	2,6%	2,5%	2,0%	2,3%	2,1%	2,3%	2,3%	2,4%	2,7%	2,6%	1,8%	2,0%	2,4%	2,5%	3,1%
<i>unkl. Acidobacteriaceae (SG 1)</i>	1,1%	1,6%	1,8%	0,8%	1,1%	1,7%	1,2%	0,7%	1,4%	2,0%	1,0%	1,1%	1,4%	2,3%	1,3%	1,5%	1,7%	1,8%	2,0%	1,1%	1,1%
<i>unkl. Anaerolineaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>unkl. Chitinophagaceae</i>	0,1%	0,3%	0,2%	0,4%	0,2%	0,3%	0,1%	0,2%	0,5%	0,9%	0,2%	0,2%	0,4%	0,6%	0,2%	0,2%	0,2%	0,9%	0,5%	0,3%	0,1%
<i>unkl. Comamonadaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>unkl. DA101 soil group</i>	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,1%	0,0%	0,0%	1,2%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>unkl. DA111</i>	2,1%	3,5%	3,9%	4,0%	2,0%	2,8%	3,9%	4,0%	2,1%	2,9%	3,6%	4,7%	2,4%	2,8%	3,8%	3,8%	1,8%	1,1%	2,7%	3,2%	4,8%
<i>unkl. Gemmatimonadaceae</i>	1,2%	3,3%	2,8%	1,9%	1,3%	3,9%	4,2%	2,3%	1,6%	2,6%	1,7%	2,4%	1,6%	3,3%	3,0%	3,0%	0,9%	2,9%	2,7%	1,3%	2,0%
<i>unkl. Geodermatophilaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>unkl. HSB OF53-F07</i>	0,6%	0,4%	0,4%	0,2%	0,6%	0,2%	0,3%	0,1%	0,5%	0,3%	0,3%	0,2%	0,6%	0,3%	0,3%	0,1%	0,8%	0,3%	0,2%	0,2%	0,1%
<i>unkl. Nitrosomonadaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>unkl. Pseudonocardiaceae</i>	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,3%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>unkl. RB41</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
<i>unkl. YNPFFP1</i>	1,4%	0,7%	0,8%	0,9%	1,0%	0,7%	0,6%	0,9%	0,9%	0,5%	0,9%	0,6%	1,0%	0,6%	0,9%	0,6%	1,2%	0,5%	0,6%	0,6%	0,6%



## Anhang

Tabelle B 8 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Bakterientaxa im Boden aus Nordfrankreich während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref					
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	
<i>Acidobacterium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,7%	0,7%	0,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Acidothermus</i>	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	3,3%	2,4%	1,5%	2,5%	0,3%	0,1%	0,3%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Anaerolinea</i>	2,0%	0,9%	3,0%	4,0%	4,7%	2,4%	3,9%	5,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	3,2%	1,5%	1,4%	3,2%	0,4%	0,2%	0,2%	0,0%	0,2%	
<i>Anaeromyxobacter</i>	7,8%	3,4%	9,9%	8,0%	10,9%	4,9%	4,5%	2,2%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	12,5%	5,1%	4,0%	4,1%	1,6%	1,8%	1,2%	0,2%	0,9%	
<i>Bacillus</i>	0,7%	0,3%	0,3%	0,3%	0,5%	0,2%	0,4%	0,3%	0,4%	0,4%	0,2%	0,3%	0,6%	0,3%	0,1%	0,2%	1,1%	0,4%	0,2%	0,2%	0,5%	
<i>Bradyrhizobium</i>	0,4%	0,4%	0,2%	0,2%	0,5%	0,4%	0,3%	0,4%	0,8%	0,6%	0,4%	0,7%	0,4%	0,3%	0,5%	0,5%	0,4%	0,3%	0,2%	0,1%	0,2%	
<i>Candidatus_Koribacter</i>	1,7%	1,9%	1,7%	1,7%	2,1%	3,5%	2,0%	1,2%	0,5%	1,2%	2,9%	2,1%	1,9%	1,6%	1,5%	1,0%	0,3%	1,7%	1,5%	1,1%	0,6%	
<i>Flavisolibacter</i>	1,5%	0,7%	1,4%	1,5%	2,3%	1,8%	0,7%	0,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,3%	1,2%	1,0%	2,2%	1,3%	1,4%	0,7%	0,5%	0,4%	
<i>Gaiella</i>	0,6%	0,5%	0,3%	0,4%	0,6%	0,3%	0,5%	0,4%	0,4%	0,5%	0,6%	0,6%	0,7%	0,4%	0,4%	0,2%	1,7%	0,8%	0,6%	0,4%	0,6%	
<i>Gemmatimonas</i>	1,1%	0,8%	0,6%	0,4%	0,8%	0,7%	0,4%	0,4%	1,4%	2,1%	1,8%	1,2%	0,6%	0,5%	0,7%	0,4%	1,0%	2,1%	1,2%	0,5%	0,5%	
<i>Hyalangium</i>	0,9%	2,1%	0,3%	0,4%	0,6%	2,1%	3,1%	2,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,3%	1,8%	1,7%	1,6%	0,3%	2,2%	1,9%	1,8%	3,5%	
<i>Microthum</i>	0,8%	0,3%	0,2%	0,3%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,8%	0,3%	0,1%	0,1%	1,9%	0,8%	0,3%	0,1%	0,2%	
<i>Pir4_lineage</i>	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	0,8%	1,5%	1,3%	1,8%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	0,3%	0,3%	0,3%	0,2%	0,3%	
<i>Pseudolabrys</i>	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	1,3%	2,5%	2,5%	2,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>Ramlibacter</i>	3,9%	4,6%	4,4%	3,8%	4,2%	5,0%	3,0%	4,3%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	4,0%	6,0%	8,0%	4,9%	1,0%	1,8%	3,1%	4,9%	3,0%	
<i>Rhizomicrobium</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	2,0%	3,2%	3,5%	2,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Roseiflexus</i>	1,7%	1,6%	0,9%	1,0%	1,8%	1,1%	1,3%	1,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,5%	1,8%	2,3%	3,4%	3,2%	1,4%	1,0%	1,2%	2,1%	
<i>Sphingomonas</i>	1,4%	1,0%	0,7%	0,7%	0,6%	0,6%	0,4%	0,3%	0,5%	0,8%	0,9%	0,6%	0,8%	0,4%	0,4%	0,3%	1,4%	1,6%	1,0%	1,0%	0,6%	
<i>Telmatobacter</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%	1,3%	1,6%	1,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Acidobacteriaceae (SG 1)</i>	0,8%	0,8%	1,1%	0,7%	0,7%	0,6%	0,6%	0,3%	2,6%	3,5%	4,7%	3,7%	0,7%	0,6%	0,8%	0,3%	0,3%	1,0%	1,2%	0,6%	0,5%	
<i>unkl. Anaerolineaceae</i>	0,4%	0,6%	1,1%	1,0%	1,1%	1,1%	1,7%	3,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	1,0%	1,2%	1,1%	0,5%	0,5%	1,0%	1,5%	1,5%	
<i>unkl. Chitinophagaceae</i>	0,3%	0,6%	0,3%	0,5%	0,2%	0,5%	0,3%	0,5%	0,5%	1,5%	1,2%	1,7%	0,2%	0,5%	0,5%	0,7%	0,3%	0,6%	0,7%	1,1%	0,7%	
<i>unkl. Comamonadaceae</i>	3,7%	1,8%	3,6%	2,2%	2,6%	2,4%	1,3%	1,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,4%	1,4%	1,3%	1,2%	1,7%	1,7%	1,3%	1,3%	1,0%	
<i>unkl. DA101 soil group</i>	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,5%	0,3%	0,2%	0,3%	0,2%	
<i>unkl. DA111</i>	0,2%	0,6%	0,1%	0,2%	0,1%	0,4%	0,5%	0,4%	2,5%	6,8%	11,2%	8,9%	0,2%	0,2%	0,4%	0,1%	0,3%	0,3%	0,7%	0,5%	0,4%	
<i>unkl. Gemmatimonadaceae</i>	2,7%	7,3%	2,3%	3,3%	2,1%	5,1%	6,5%	3,8%	0,5%	0,7%	0,9%	0,9%	2,1%	3,2%	5,4%	2,3%	2,6%	7,5%	8,2%	8,9%	6,4%	
<i>unkl. Geodermatophilaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,7%	0,8%	0,5%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. HSB OF53-F07</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Nitrosomonadaceae</i>	3,7%	3,8%	3,0%	3,1%	2,3%	2,7%	3,2%	2,4%	0,7%	0,9%	0,9%	0,6%	2,3%	4,7%	5,3%	3,1%	4,0%	4,8%	4,9%	4,2%	4,4%	
<i>unkl. Pseudonocardiaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,2%	1,1%	0,8%	1,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. RB41</i>	1,3%	1,1%	0,7%	0,4%	0,7%	0,7%	1,0%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,1%	0,6%	0,8%	0,6%	2,1%	2,0%	1,2%	1,6%	1,2%	
<i>unkl. YNPFFP1</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,8%	1,5%	1,0%	1,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	

## Anhang

Tabelle B 9 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Bakterientaxa im Boden aus Südfrankreich während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref					
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	
<i>Acidobacterium</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100%
<i>Acidothermus</i>	0,6%	0,8%	0,7%	0,7%	0,6%	0,8%	1,0%	0,7%	0,6%	0,8%	0,4%	0,2%	0,5%	0,6%	0,4%	0,2%	0,5%	0,6%	0,5%	0,5%	0,8%	
<i>Anaerolinea</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Anaeromyxobacter</i>	0,3%	0,3%	0,3%	0,2%	0,2%	0,3%	0,3%	0,3%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%	0,3%	0,4%	0,3%	0,3%	
<i>Bacillus</i>	0,3%	0,3%	0,4%	0,3%	0,4%	0,5%	0,4%	0,3%	0,3%	0,3%	0,3%	0,2%	0,3%	0,3%	0,4%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,2%	0,3%	
<i>Bradyrhizobium</i>	0,6%	0,5%	0,6%	0,6%	1,1%	0,9%	0,8%	0,9%	0,5%	0,5%	0,4%	0,2%	0,6%	0,5%	0,4%	0,3%	0,8%	0,5%	0,4%	0,4%	0,6%	
<i>Candidatus_Koribacter</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>Flavisolibacter</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>Gaiella</i>	1,5%	1,4%	1,5%	1,7%	2,0%	2,1%	1,8%	1,7%	1,5%	1,2%	1,2%	1,1%	1,6%	1,2%	1,2%	0,9%	2,0%	1,7%	1,6%	1,9%	1,6%	75%
<i>Gemmatimonas</i>	1,5%	1,5%	1,6%	1,8%	1,6%	1,9%	1,9%	1,8%	1,5%	1,4%	1,3%	1,0%	1,5%	1,5%	1,4%	0,9%	1,1%	1,7%	2,3%	1,9%	1,4%	
<i>Hyalangium</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>Microlunatus</i>	17,8%	16,5%	14,3%	14,6%	8,0%	6,4%	5,8%	4,4%	17,1%	13,2%	12,7%	10,3%	15,8%	14,1%	15,0%	8,3%	15,4%	17,1%	14,1%	14,5%	13,9%	
<i>Pir4_lineage</i>	0,3%	0,4%	0,5%	0,5%	0,4%	0,6%	0,5%	0,6%	0,3%	0,5%	0,6%	0,8%	0,4%	0,3%	0,3%	1,2%	0,2%	0,3%	0,3%	0,4%	0,5%	
<i>Pseudolabrys</i>	0,1%	0,3%	0,2%	0,2%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,2%	0,6%	0,4%	0,7%	0,2%	0,4%	0,4%	0,5%	0,2%	0,2%	0,2%	0,3%	0,3%	
<i>Ramlibacter</i>	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Rhizomicrobium</i>	0,4%	0,8%	1,2%	1,2%	1,0%	1,3%	1,3%	1,3%	0,5%	1,0%	0,7%	0,5%	0,7%	0,8%	0,6%	0,3%	0,2%	0,5%	0,8%	0,7%	0,8%	
<i>Roseiflexus</i>	0,7%	0,4%	0,3%	0,3%	0,8%	0,3%	0,3%	0,2%	0,5%	0,3%	0,3%	0,2%	0,8%	0,4%	0,3%	0,2%	0,5%	0,8%	0,4%	0,3%	0,1%	
<i>Sphingomonas</i>	0,9%	1,4%	1,7%	1,9%	1,1%	1,5%	1,6%	1,4%	1,0%	2,0%	2,0%	1,6%	1,3%	2,3%	2,3%	2,3%	3,8%	1,0%	1,2%	0,9%	1,3%	
<i>Telmatobacter</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Acidobacteriaceae (SG 1)</i>	0,5%	0,6%	0,8%	0,9%	0,7%	0,8%	1,2%	1,4%	0,5%	0,7%	0,7%	0,5%	0,6%	0,8%	0,7%	0,4%	0,6%	0,6%	0,9%	0,9%	0,7%	
<i>unkl. Anaerolineaceae</i>	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>unkl. Chitinophagaceae</i>	0,4%	0,4%	0,4%	0,5%	0,3%	0,5%	0,4%	0,4%	0,3%	0,6%	0,5%	0,5%	0,4%	0,4%	0,4%	1,0%	0,5%	0,3%	0,4%	0,3%	0,3%	
<i>unkl. Comamonadaceae</i>	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>unkl. DA101 soil group</i>	1,6%	1,2%	1,3%	1,2%	0,7%	0,9%	0,7%	0,7%	1,3%	1,0%	1,0%	0,6%	1,5%	1,1%	0,9%	0,6%	2,5%	1,5%	1,5%	1,4%	0,9%	
<i>unkl. DA111</i>	0,8%	1,3%	1,6%	2,0%	1,2%	1,7%	1,7%	2,1%	1,0%	1,2%	1,2%	1,0%	1,0%	1,2%	1,2%	0,8%	1,2%	1,0%	1,4%	1,2%	1,5%	
<i>unkl. Gemmatimonadaceae</i>	2,3%	3,0%	3,2%	3,7%	3,1%	3,4%	4,1%	4,2%	2,3%	2,8%	3,8%	3,7%	2,3%	2,9%	3,4%	4,0%	2,5%	2,6%	3,9%	3,4%	2,8%	
<i>unkl. Geodermatophilaceae</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>unkl. HSB OF53-F07</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Nitrosomonadaceae</i>	1,8%	1,7%	1,4%	1,5%	1,7%	1,5%	1,2%	1,2%	2,0%	1,6%	1,6%	1,3%	1,8%	1,5%	1,5%	1,3%	1,1%	2,0%	2,4%	1,7%	1,3%	
<i>unkl. Pseudonocardiaceae</i>	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. RB41</i>	2,6%	2,8%	3,4%	3,3%	2,8%	3,2%	3,1%	2,7%	2,7%	3,3%	4,5%	4,4%	3,1%	3,4%	3,9%	3,4%	3,6%	2,9%	4,4%	4,7%	4,9%	
<i>unkl. YNPFFP1</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	

## Anhang

Tabelle B 10 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC, TriQAC, H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Bakterientaxa im Boden aus Portugal während der Inkubationszeit (8, 16, 24 und 32 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu				CuTriQAC				TriQAC				H <sub>2</sub> O				Ref					
	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	0 Wo.	8 Wo.	16 Wo.	24 Wo.	32 Wo.	
<i>Acidobacterium</i>	0,5%	0,5%	0,5%	0,8%	0,4%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%	0,7%	0,7%	0,7%	0,5%	0,4%	0,4%	0,6%	0,7%	0,4%	0,3%	0,5%	0,6%	100%
<i>Acidothermus</i>	4,4%	3,6%	4,4%	5,0%	5,0%	4,3%	5,0%	5,2%	3,3%	2,4%	1,5%	2,5%	2,7%	1,8%	2,4%	2,6%	4,8%	3,6%	3,9%	4,4%	5,2%	
<i>Anaerolinea</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Anaeromyxobacter</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>Bacillus</i>	0,6%	0,4%	0,7%	0,6%	0,6%	0,4%	0,8%	0,6%	0,4%	0,4%	0,2%	0,3%	0,4%	0,2%	0,5%	0,4%	1,3%	0,7%	0,7%	0,5%	0,2%	
<i>Bradyrhizobium</i>	0,7%	0,4%	0,4%	0,4%	0,8%	0,7%	0,4%	0,6%	0,8%	0,6%	0,4%	0,7%	1,2%	0,5%	0,8%	0,9%	1,0%	0,6%	0,5%	0,5%	0,6%	
<i>Candidatus_Koribacter</i>	0,5%	0,9%	0,9%	0,7%	0,6%	0,8%	1,8%	0,9%	0,5%	1,2%	2,9%	2,1%	0,7%	1,1%	1,9%	2,0%	0,6%	0,3%	1,5%	2,6%	1,9%	
<i>Flavisolibacter</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Gaiella</i>	0,5%	0,6%	0,6%	0,7%	0,6%	0,6%	0,6%	0,5%	0,4%	0,5%	0,6%	0,6%	0,5%	0,5%	0,6%	0,5%	0,7%	0,6%	0,6%	0,4%	0,6%	
<i>Gemmatimonas</i>	1,8%	2,1%	1,8%	1,1%	1,0%	1,6%	1,2%	1,3%	1,4%	2,1%	1,8%	1,2%	1,2%	2,1%	1,8%	1,4%	0,7%	1,6%	2,1%	1,4%	0,9%	
<i>Hyalangium</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Microthum</i>	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	0,4%	0,5%	0,2%	0,1%	0,0%	
<i>Pir4_lineage</i>	1,1%	1,9%	2,0%	3,2%	0,6%	1,0%	1,9%	2,3%	0,8%	1,5%	1,3%	1,8%	0,9%	1,0%	1,0%	1,8%	0,2%	0,9%	1,8%	2,7%	1,7%	
<i>Pseudolabrys</i>	1,2%	2,1%	1,8%	1,6%	0,9%	1,3%	1,5%	1,5%	1,3%	2,5%	2,5%	2,1%	1,3%	2,0%	2,4%	1,8%	0,7%	1,1%	1,5%	1,9%	1,1%	
<i>Ramlibacter</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Rhizomicrobium</i>	1,8%	1,8%	1,4%	1,1%	2,0%	2,8%	2,4%	2,2%	2,0%	3,2%	3,5%	2,7%	2,7%	3,0%	2,7%	2,8%	0,4%	1,2%	1,6%	1,5%	1,3%	
<i>Roseiflexus</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Sphingomonas</i>	0,3%	0,8%	0,5%	0,4%	0,5%	0,9%	0,7%	0,3%	0,5%	0,8%	0,9%	0,6%	0,5%	0,6%	0,7%	0,8%	1,4%	0,5%	0,2%	0,2%	0,2%	
<i>Telmatobacter</i>	0,9%	1,0%	1,2%	1,1%	0,5%	0,9%	0,8%	1,4%	0,9%	1,3%	1,6%	1,8%	0,9%	1,3%	1,1%	1,4%	0,9%	0,8%	1,2%	1,3%	2,2%	
<i>unkl. Acidobacteriaceae (SG 1)</i>	2,4%	3,8%	4,0%	3,3%	2,4%	3,5%	4,5%	6,3%	2,6%	3,5%	4,7%	3,7%	2,5%	3,7%	4,0%	3,6%	3,5%	2,3%	2,9%	4,1%	4,2%	
<i>unkl. Anaerolineaceae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. Chitinophagaceae</i>	0,3%	0,7%	0,4%	0,2%	0,2%	0,5%	0,4%	0,2%	0,5%	1,5%	1,2%	1,7%	0,7%	2,1%	1,3%	2,9%	0,1%	0,3%	0,2%	0,4%	0,1%	
<i>unkl. Comamonadaceae</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. DA101 soil group</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. DA111</i>	3,1%	5,7%	9,2%	9,4%	2,8%	4,7%	6,0%	9,3%	2,5%	6,8%	11,2%	8,9%	2,5%	5,3%	7,2%	7,6%	2,3%	2,8%	6,9%	10,8%	24,4%	25%
<i>unkl. Gemmatimonadaceae</i>	0,4%	0,7%	0,6%	0,3%	0,3%	0,5%	0,4%	0,2%	0,5%	0,7%	0,9%	0,9%	0,5%	1,1%	0,9%	0,7%	0,5%	0,5%	0,4%	0,4%	0,2%	
<i>unkl. Geodermatophilaceae</i>	2,5%	1,4%	1,3%	1,4%	2,7%	1,6%	1,1%	0,9%	1,7%	0,8%	0,5%	0,5%	1,8%	1,0%	0,8%	0,5%	3,4%	2,1%	1,6%	1,3%	1,1%	
<i>unkl. HSB OF53-F07</i>	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>unkl. Nitrosomonadaceae</i>	0,9%	0,8%	0,5%	0,4%	0,4%	0,5%	0,3%	0,2%	0,7%	0,9%	0,9%	0,6%	0,8%	1,5%	0,8%	0,6%	0,4%	0,7%	0,7%	0,6%	0,3%	
<i>unkl. Pseudonocardiaceae</i>	1,5%	1,3%	2,2%	2,2%	1,0%	1,2%	1,0%	1,7%	1,2%	1,1%	0,8%	1,2%	1,0%	0,8%	1,4%	0,9%	1,4%	1,8%	1,5%	1,8%	4,4%	
<i>unkl. RB41</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>unkl. YNPFFP1</i>	3,7%	2,1%	2,4%	2,4%	3,8%	2,3%	2,3%	3,0%	2,8%	1,5%	1,0%	1,2%	2,4%	1,3%	1,3%	1,1%	4,4%	3,8%	3,0%	2,2%	2,1%	

C. Mikrobielle Gemeinschaft aus den Freilandstudien

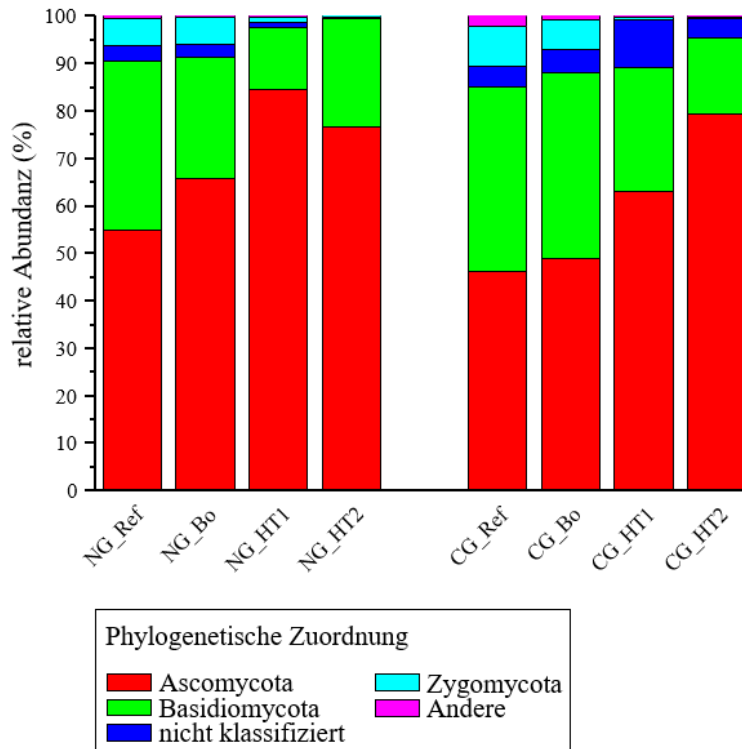


Abbildung C 1 Verteilung der abundanten Pilz OTUs zu dem jeweiligen taxonomischen Phylum der beiden Standorte (NG: Norddeutschland, CG: Mitteldeutschland) aus den Freilandstudien. Die Proben unterscheiden sich wie folgt: Ref = Referenzboden (ohne Kontakt zu Holz und Behandlung), Bo = Bodenprobe (Boden-Holz-Grenzfläche), HT1 = erste Holztiefe (1 mm im Holz), HT2 = zweite Holztiefe (7 mm im Holz). Insgesamt wurden  $1,05 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 1455 Sequenzen pro Proben normiert. Die Legende fasst die Farbennung der Phyla zusammen. Die folgenden Phyla wurden unter „Andere“ aufgeführt: Chytridiomycota, Glomeromycota, Rozellomycota und nicht klassifizierbare oder identifizierte Taxa.

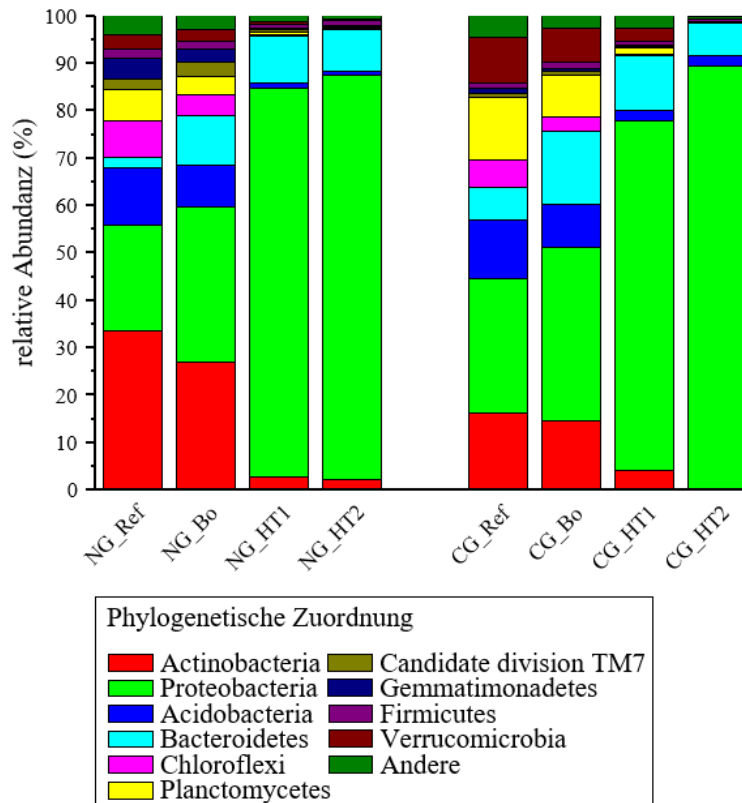


Abbildung C 2 Verteilung der abundanten Bakterien OTUs auf das jeweilige taxonomische Phylum der beiden Standorte (NG: Norddeutschland, CG: Mitteldeutschland) aus den Freilandstudien. Die Proben unterscheiden sich wie folgt: Ref = Referenzboden (ohne Kontakt zu Holz und Behandlung), Bo = Bodenprobe (Boden-Holz-Grenzfläche), HT1 = erste Holztiefe (1 mm im Holz), HT2 = zweite Holztiefe (7 mm im Holz). Insgesamt wurden  $1,03 \times 10^6$  Sequenzen analysiert und auf 8420 Sequenzen pro Proben normiert. Die Legende fasst die Farbkennung der Phyla zusammen. Die folgenden Phyla wurden unter „Andere“ aufgeführt: WD272, WCHB1-60, Cyanobacteria, Armatimonadetes, Nitrospirae, Elusimicrobia, SM2F11, TM6, BD1-5, Candidate division BRC1, Candidate division SR1, Chlorobi, Deinococcus-Thermus, Candidate division OP11, Candidate division OP3, Candidate division WS3, Candidate division WS6, Fibrobacteres, Fusobacteria, JL-ETNP-Z39, Lentisphaerae, NPL-UPA2, SHA-109, Spirochaetae, Tenericutes, Thermotogae, Candidate division OD1, Chlamydiae sowie nicht klassifizierbare Taxa.

## Anhang

Tabelle C 1 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC und H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa aus Norddeutschland in drei räumlichen Kompartimenten (Boden-Holz-Grenzfläche (Boden), 1 mm Holztiefe und 7 mm Holztiefe) während der Inkubationszeit (17 und 36 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu						CuTriQAC						H <sub>2</sub> O						Ref			
	Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
<i>Alternaria</i>	1,8%	3,0%	17,7%	16,6%	18,0%	1,8%	1,1%	4,0%	17,4%	16,3%	7,4%	12,7%	24,2%	0,8%	6,2%	3,5%	11,3%	2,0%	2,9%	1,1%	0,1%	
<i>Aureobasidium</i>	0,6%	3,6%	11,7%	2,9%	0,0%	0,4%	0,3%	2,0%	13,4%	5,3%	0,0%	0,1%	2,3%	2,5%	17,6%	9,3%	5,7%	17,8%	0,4%	0,0%	0,0%	
<i>Chaetomium</i>	1,4%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,2%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,5%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	1,4%	2,9%	3,4%	
<i>Clonostachys</i>	0,5%	0,0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,0%	0,1%	0,1%	0,1%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	4,6%	6,9%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	14,1%	5,9%	0,0%	0,4%	0,0%	0,0%	0,8%	11,5%	0,5%	0,3%	0,0%	2,7%	10,7%	11,9%	17,1%	
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	8,0%	10,9%	5,6%	3,9%	0,1%	0,3%	13,4%	10,0%	5,3%	4,2%	0,0%	0,1%	3,1%	6,7%	4,6%	1,1%	0,8%	7,4%	13,3%	12,6%	17,2%	
<i>Exophiala</i>	8,3%	5,3%	0,9%	0,7%	0,1%	0,1%	8,6%	4,6%	0,5%	1,1%	0,0%	0,0%	2,2%	10,6%	4,7%	5,5%	3,6%	2,3%	10,4%	8,3%	11,8%	
<i>Fusarium</i>	2,5%	1,1%	9,8%	7,1%	43,0%	1,0%	1,9%	1,0%	5,6%	2,1%	14,7%	10,1%	0,2%	0,1%	0,6%	0,8%	3,3%	0,0%	1,5%	1,5%	1,2%	
<i>Haematonectria</i>	0,4%	0,2%	2,7%	1,7%	13,9%	1,3%	0,1%	0,2%	2,8%	1,1%	7,7%	2,6%	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Ilyonectria</i>	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,3%	0,3%	0,6%	0,3%	2,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,4%	0,1%	
<i>Mortierella</i>	3,1%	8,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	5,9%	2,2%	0,0%	0,6%	0,0%	0,0%	4,6%	7,0%	1,6%	4,2%	0,0%	0,8%	2,7%	9,0%	5,1%	
<i>Mrakia</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,6%	0,0%	82,4%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	4,4%	0,0%	4,5%	0,1%	0,1%	0,6%	
<i>Oidiodendron</i>	0,6%	0,7%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,3%	0,4%	0,1%	0,0%	0,0%	12,9%	4,9%	5,4%	4,1%	14,4%	0,9%	0,4%	1,2%	0,3%	
<i>Phialophora</i>	0,3%	0,3%	0,1%	0,3%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	3,0%	1,3%	5,7%	0,0%	2,3%	0,1%	0,1%	0,1%	
<i>Pochonia</i>	1,3%	0,5%	2,0%	0,9%	0,1%	0,1%	1,3%	6,0%	9,8%	18,4%	0,1%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,3%	0,2%	
<i>Pseudeurotium</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	
<i>Ramariopsis</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Rhodotorula</i>	0,4%	0,7%	2,7%	1,8%	0,0%	0,2%	0,1%	0,2%	0,4%	0,3%	0,0%	0,0%	0,1%	0,3%	1,0%	0,5%	0,1%	0,6%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Talaromyces</i>	0,6%	0,4%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,9%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,1%	2,5%	17,5%	13,7%	0,0%	0,7%	1,0%	0,9%	
<i>Trichoderma</i>	0,6%	0,4%	0,3%	0,1%	0,0%	0,1%	1,0%	1,3%	0,8%	0,3%	0,1%	0,0%	0,6%	0,2%	5,0%	7,3%	15,7%	0,7%	0,2%	0,2%	0,2%	
<i>Trichosporon</i>	2,8%	1,0%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	0,4%	12,3%	0,0%	0,6%	0,0%	0,0%	0,1%	1,2%	0,3%	0,5%	0,0%	1,0%	0,0%	0,1%	0,0%	
unkl. Bionectriaceae	5,4%	0,7%	7,7%	2,1%	4,2%	0,4%	0,8%	1,8%	3,2%	3,8%	0,3%	0,4%	0,0%	0,2%	0,5%	0,0%	1,1%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	
unkl. Chaetomiaceae	1,6%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,3%	0,5%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	1,7%	0,6%	2,6%	0,2%	2,3%	0,1%	3,0%	1,7%	3,7%	
unkl. Hypocreaceae	0,1%	0,2%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	1,1%	0,2%	3,8%	3,0%	5,5%	0,3%	0,1%	0,1%	0,1%	
unkl. Nectriaceae	4,9%	3,3%	7,4%	7,1%	17,9%	5,1%	4,2%	3,3%	23,0%	18,7%	68,9%	70,7%	0,4%	0,7%	0,7%	1,3%	5,5%	0,6%	3,1%	2,3%	2,0%	
unkl. Pleosporales family Incertae sedis	1,0%	3,3%	5,4%	10,3%	0,6%	1,1%	1,3%	2,3%	0,4%	0,8%	0,0%	0,0%	5,7%	0,5%	3,6%	0,7%	0,7%	1,8%	5,0%	1,1%	0,2%	

## Anhang

Tabelle C 2 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC und H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Pilztaxa aus Mitteldeutschland in drei räumlichen Kompartimenten (Boden-Holz-Grenzfläche (Boden), 1 mm Holztiefe und 7 mm Holztiefe) während der Inkubationszeit (17 und 36 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu						CuTriQAC						H <sub>2</sub> O						Ref			
	Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
<i>Alternaria</i>	0,0%	0,1%	0,7%	0,1%	2,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,7%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Aureobasidium</i>	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,3%	0,7%	0,2%	0,0%	9,9%	0,3%	0,3%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Chaetomium</i>	0,0%	1,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>Clonostachys</i>	2,4%	0,4%	10,7%	7,5%	12,8%	11,0%	3,3%	0,1%	7,3%	4,3%	11,2%	4,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Cryptococcus (Filobasidiaceae)</i>	0,8%	1,6%	1,0%	1,2%	0,1%	0,0%	0,5%	0,8%	0,3%	0,3%	0,0%	0,6%	1,2%	0,8%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	2,4%	3,0%	2,2%	
<i>Cryptococcus (Tremellales family Incertae sedis)</i>	3,3%	3,5%	0,6%	0,7%	0,0%	0,1%	3,0%	3,6%	2,0%	0,6%	0,0%	0,4%	2,8%	6,6%	0,1%	0,2%	0,1%	0,0%	6,8%	10,3%	5,9%	
<i>Exophiala</i>	4,4%	4,2%	1,1%	7,6%	0,0%	0,1%	4,1%	4,2%	3,1%	5,7%	0,0%	0,4%	2,9%	3,4%	4,0%	4,4%	3,4%	0,5%	1,9%	3,2%	2,4%	
<i>Fusarium</i>	4,1%	3,9%	5,1%	9,7%	0,9%	1,0%	2,2%	1,8%	3,6%	2,5%	0,2%	0,3%	1,4%	1,3%	0,7%	0,7%	3,4%	0,4%	0,2%	0,2%	0,3%	
<i>Haematonectria</i>	0,7%	0,4%	2,0%	4,4%	2,0%	6,7%	0,4%	0,3%	0,6%	0,8%	28,9%	0,3%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,8%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Ilyonectria</i>	1,3%	1,6%	5,0%	3,5%	36,1%	43,2%	1,4%	0,8%	2,1%	1,4%	22,3%	69,4%	0,5%	0,8%	0,3%	0,3%	5,5%	2,5%	0,2%	0,2%	0,1%	
<i>Mortierella</i>	5,3%	4,6%	0,1%	0,4%	0,0%	0,0%	4,0%	9,9%	2,3%	0,4%	0,0%	0,6%	7,5%	5,8%	0,2%	0,3%	0,0%	0,0%	8,8%	7,2%	8,9%	
<i>Mrakia</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	3,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Oidiodendron</i>	0,0%	0,3%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,3%	0,2%	
<i>Phialophora</i>	1,1%	1,0%	0,3%	1,9%	0,0%	0,3%	0,3%	0,8%	0,2%	0,3%	0,0%	0,0%	1,6%	4,0%	0,7%	2,9%	0,0%	0,0%	2,5%	3,2%	1,7%	
<i>Pochonia</i>	0,3%	0,2%	0,9%	1,6%	0,7%	0,0%	1,1%	0,4%	2,5%	2,0%	0,2%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Pseudeurotium</i>	12,4%	4,1%	0,7%	7,3%	0,0%	1,5%	14,6%	9,9%	2,7%	0,5%	0,2%	0,1%	2,4%	2,9%	0,1%	0,2%	0,0%	2,8%	1,7%	0,7%	0,9%	
<i>Ramariopsis</i>	0,1%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	15,3%	12,0%	8,8%	
<i>Rhodotorula</i>	0,4%	0,2%	5,2%	1,3%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,3%	0,1%	3,9%	0,2%	1,8%	1,1%	0,2%	0,5%	0,3%	
<i>Talaromyces</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Trichoderma</i>	2,3%	2,0%	0,3%	1,8%	0,5%	0,5%	2,4%	4,1%	6,3%	0,8%	0,0%	0,7%	3,5%	0,6%	4,2%	1,8%	23,0%	11,4%	0,2%	0,3%	0,4%	
<i>Trichosporon</i>	32,0%	28,7%	1,0%	5,0%	0,1%	0,2%	22,8%	21,4%	3,4%	3,8%	0,1%	1,3%	9,9%	6,4%	1,3%	2,9%	0,2%	1,0%	0,1%	0,4%	0,2%	
unkl. Bionectriaceae	3,9%	1,2%	8,2%	6,8%	1,6%	0,7%	17,3%	3,3%	36,5%	39,4%	22,1%	5,8%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	
unkl. Chaetomiaceae	2,7%	2,7%	0,1%	0,9%	0,0%	0,0%	1,0%	3,5%	2,3%	0,2%	0,1%	0,0%	2,9%	1,4%	0,5%	0,5%	0,0%	0,0%	0,9%	0,8%	0,7%	
unkl. Hypocreaceae	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,0%	0,1%	0,0%	1,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	
unkl. Nectriaceae	2,5%	3,1%	0,9%	2,2%	26,8%	2,6%	1,4%	1,2%	0,6%	0,8%	10,1%	0,8%	0,6%	0,8%	0,5%	0,3%	1,5%	0,2%	0,3%	0,3%	0,2%	
unkl. Pleosporales family Incertae sedis	0,3%	0,5%	5,7%	0,2%	1,5%	0,1%	0,5%	0,9%	0,5%	0,3%	0,0%	0,3%	0,7%	0,1%	2,6%	0,5%	0,1%	0,0%	0,5%	0,1%	0,1%	

## Anhang

Tabelle C 3 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC und H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Bakterientaxa aus Norddeutschland in drei räumlichen Kompartimenten (Boden-Holz-Grenzfläche (Boden), 1 mm Holztiefe und 7 mm Holztiefe) während der Inkubationszeit (17 und 36 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu						CuTriQAC						H <sub>2</sub> O						Ref			
	Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
<i>Acidisoma</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,6%	0,4%	0,4%	3,2%	0,0%	0,0%	0,0%	100% 75% 50% 25%
<i>Acidothermus</i>	7,4%	5,3%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	8,4%	6,9%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	5,3%	5,8%	0,2%	0,1%	0,1%	0,0%	11,5%	8,4%	9,3%	
<i>Bradyrhizobium</i>	1,2%	1,7%	0,8%	0,8%	1,4%	0,1%	1,5%	1,8%	1,3%	2,2%	0,1%	0,0%	0,9%	1,4%	1,1%	0,9%	0,8%	0,7%	1,2%	1,2%	1,4%	
<i>Bryobacter</i>	1,8%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	3,0%	1,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,3%	1,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	1,8%	3,2%	2,5%	
<i>Burkholderia</i>	0,7%	0,5%	0,5%	0,3%	0,1%	0,0%	0,6%	0,7%	2,2%	0,5%	0,2%	0,0%	0,8%	0,9%	13,4%	8,4%	10,9%	3,9%	0,2%	0,3%	0,1%	
<i>Chitinophaga</i>	0,8%	0,2%	0,1%	0,5%	0,4%	0,1%	0,1%	0,9%	0,2%	2,1%	0,1%	0,5%	0,2%	0,3%	1,1%	5,7%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Flavobacterium</i>	0,2%	4,9%	1,8%	0,2%	0,2%	0,3%	0,1%	2,4%	0,1%	0,3%	0,0%	0,4%	10,5%	1,5%	0,1%	0,2%	1,4%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	
<i>Gemmata</i>	0,6%	0,3%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,5%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,3%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	1,0%	0,6%	0,6%	
<i>Hermiimonas</i>	0,0%	0,2%	0,2%	0,2%	0,8%	0,7%	0,0%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	4,5%	0,2%	0,1%	0,4%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Luteibacter</i>	0,3%	0,0%	0,4%	0,2%	0,3%	0,0%	0,1%	0,2%	4,4%	0,4%	4,0%	0,4%	0,4%	0,2%	6,3%	6,2%	7,7%	2,1%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Methylobacterium</i>	0,4%	0,7%	7,6%	12,3%	3,4%	0,5%	0,1%	0,6%	10,4%	10,2%	1,0%	0,3%	0,1%	0,2%	1,7%	1,4%	3,0%	1,6%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Modestobacter</i>	3,3%	2,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,1%	1,6%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,7%	2,5%	0,1%	0,0%	0,1%	0,0%	3,0%	0,8%	1,4%	
<i>Mucilaginibacter</i>	3,1%	1,4%	7,8%	3,4%	0,5%	7,9%	0,7%	3,2%	1,8%	2,1%	0,3%	1,4%	0,9%	2,7%	2,7%	1,4%	3,5%	2,9%	0,2%	0,3%	0,4%	
<i>Pedobacter</i>	0,7%	1,8%	7,3%	5,0%	0,9%	14,9%	0,2%	1,6%	1,9%	3,4%	0,1%	7,2%	2,1%	0,5%	0,3%	0,6%	1,0%	0,6%	0,1%	0,1%	0,0%	
<i>Pseudomonas</i>	0,1%	1,6%	3,1%	0,5%	42,1%	16,0%	0,1%	0,4%	21,4%	1,5%	70,4%	30,1%	1,4%	0,6%	3,6%	3,9%	3,0%	10,7%	0,1%	0,0%	0,1%	
<i>Rahnella</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,5%	3,7%	1,2%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Rhizomicrobium</i>	1,7%	2,7%	0,1%	0,3%	0,1%	0,0%	2,4%	2,8%	0,2%	0,4%	0,0%	0,0%	1,0%	3,5%	1,1%	1,7%	0,3%	0,6%	1,1%	2,6%	2,1%	
<i>Rhodanobacter</i>	2,8%	1,7%	1,0%	0,2%	0,0%	0,0%	1,3%	2,1%	0,6%	0,4%	0,0%	0,0%	1,2%	2,6%	1,1%	0,4%	1,1%	1,3%	0,9%	1,0%	0,3%	
<i>Rhodoplanes</i>	0,8%	0,7%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	2,4%	1,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	1,1%	0,7%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	2,0%	1,8%	1,9%	
<i>Sphingobium</i>	0,3%	0,4%	2,6%	1,1%	1,2%	0,1%	0,1%	0,9%	1,1%	2,7%	0,1%	0,0%	0,4%	0,1%	0,3%	0,7%	0,4%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Sphingomonas</i>	3,2%	1,6%	23,8%	36,4%	20,9%	20,7%	3,2%	2,6%	25,2%	21,7%	16,4%	44,4%	2,4%	1,4%	14,4%	9,7%	9,8%	10,0%	1,4%	2,2%	1,2%	
unkl. <i>Acetobacteraceae</i>	1,9%	1,1%	0,4%	0,2%	0,4%	0,0%	0,7%	0,7%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,5%	2,5%	3,5%	4,5%	3,6%	1,4%	0,7%	0,4%	0,8%	
unkl. <i>Bradyrhizobiaceae</i>	0,4%	0,6%	3,7%	7,2%	3,0%	23,9%	0,2%	0,8%	11,3%	11,6%	2,0%	4,4%	0,2%	0,4%	6,1%	2,3%	5,8%	7,5%	0,0%	0,0%	0,0%	
unkl. <i>Chitinophagaceae</i>	1,3%	0,8%	0,2%	0,2%	0,2%	0,0%	1,2%	1,0%	0,3%	0,3%	0,0%	0,0%	1,1%	1,1%	0,6%	0,8%	1,0%	0,6%	0,7%	1,5%	0,8%	
unkl. <i>DA101 soil group</i>	0,4%	0,5%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	1,2%	0,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,3%	1,8%	1,7%	
unkl. <i>Oxalobacteraceae</i>	0,1%	1,2%	0,2%	0,3%	0,1%	0,5%	0,1%	0,4%	0,3%	0,2%	0,0%	0,3%	1,6%	0,7%	1,9%	2,2%	1,5%	6,5%	0,0%	0,0%	0,0%	
unkl. <i>Planctomycetaceae</i>	0,9%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,8%	0,4%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,4%	0,6%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	1,2%	1,1%	0,9%	
unkl. <i>Sphingomonadaceae</i>	0,9%	1,9%	8,6%	4,6%	2,0%	0,7%	0,6%	3,7%	4,1%	11,3%	0,8%	0,8%	1,4%	1,0%	1,3%	1,4%	1,4%	2,3%	0,0%	0,1%	0,0%	
<i>Variovorax</i>	0,1%	0,5%	0,6%	0,6%	2,1%	0,5%	0,1%	0,6%	0,5%	2,1%	0,0%	0,6%	1,1%	0,3%	0,3%	0,6%	0,7%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	

## Anhang

Tabelle C 4 Einfluss von Holzschutzmittelbehandlungen (Cu, CuTriQAC und H<sub>2</sub>O) auf die relative Abundanz ausgewählter Bakterientaxa aus Mitteldeutschland in drei räumlichen Kompartimenten (Boden-Holz-Grenzfläche (Boden), 1 mm Holztiefe und 7 mm Holztiefe) während der Inkubationszeit (17 und 36 Wochen). Ref= Referenzboden.

	Cu						CuTriQAC						H <sub>2</sub> O						Ref			
	Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		Boden		1 mm Holztiefe		7 mm Holztiefe		0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	0 Wo.	17 Wo.	36 Wo.	
<i>Acidisoma</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>Acidothermus</i>	0,8%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,7%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%	0,6%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,9%	1,2%	0,8%	
<i>Bradyrhizobium</i>	5,2%	4,0%	1,4%	3,4%	0,0%	0,2%	3,0%	4,2%	3,4%	3,3%	0,1%	0,2%	4,1%	2,8%	1,9%	3,1%	0,1%	0,0%	2,5%	3,1%	2,4%	
<i>Bryobacter</i>	0,7%	1,1%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,6%	1,0%	0,4%	0,1%	0,0%	0,0%	0,5%	0,8%	0,2%	0,4%	0,0%	0,0%	0,5%	1,3%	1,1%	
<i>Burkholderia</i>	0,4%	0,5%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	0,3%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	0,9%	0,4%	7,5%	8,9%	5,7%	5,0%	0,1%	0,3%	0,4%	
<i>Chitinophaga</i>	2,4%	0,7%	0,5%	3,6%	0,3%	0,1%	4,8%	1,5%	1,2%	1,7%	0,1%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,1%	
<i>Flavobacterium</i>	1,7%	0,8%	0,6%	0,6%	0,0%	0,2%	6,0%	1,5%	0,6%	0,6%	0,0%	0,1%	1,7%	2,2%	0,2%	0,5%	0,0%	0,1%	0,9%	1,1%	1,6%	
<i>Gemmata</i>	1,3%	1,7%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,8%	1,5%	0,3%	0,1%	0,0%	0,0%	2,1%	2,3%	0,3%	0,6%	0,0%	0,0%	2,9%	3,0%	2,6%	
<i>Hermiinimonas</i>	0,1%	0,2%	1,3%	0,7%	4,7%	6,6%	0,1%	0,0%	0,3%	0,4%	1,7%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Luteibacter</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	8,4%	0,9%	0,1%	0,0%	1,7%	0,5%	8,7%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Methylobacterium</i>	0,3%	0,1%	6,7%	8,3%	2,4%	1,1%	0,7%	0,1%	4,3%	10,3%	2,3%	7,4%	0,1%	0,0%	0,6%	0,5%	0,1%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Modestobacter</i>	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	
<i>Mucilaginibacter</i>	1,0%	0,6%	2,1%	2,1%	0,3%	2,7%	1,7%	0,3%	0,5%	1,6%	0,1%	0,7%	1,1%	0,2%	1,1%	0,9%	1,7%	1,0%	0,2%	0,4%	0,3%	
<i>Pedobacter</i>	0,8%	0,2%	10,2%	5,5%	1,7%	12,3%	1,3%	0,5%	3,4%	7,0%	2,1%	15,3%	0,3%	0,0%	0,1%	0,3%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>Pseudomonas</i>	0,1%	0,2%	4,9%	0,4%	18,4%	10,2%	0,3%	0,2%	3,6%	1,4%	26,8%	3,6%	0,5%	0,1%	3,0%	0,7%	9,9%	2,6%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>Rahnella</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,4%	10,7%	9,7%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Rhizomicrobium</i>	0,8%	1,2%	0,2%	0,4%	0,0%	0,0%	0,8%	1,0%	0,4%	0,2%	0,0%	0,0%	1,0%	0,9%	1,2%	2,1%	0,0%	0,0%	0,6%	0,8%	1,0%	
<i>Rhodanobacter</i>	0,7%	1,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,5%	0,6%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,4%	0,6%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,4%	0,4%	
<i>Rhodoplanes</i>	1,4%	1,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,8%	1,4%	0,3%	0,1%	0,0%	0,0%	1,9%	1,5%	0,1%	0,4%	0,0%	0,0%	3,5%	2,4%	1,9%	
<i>Sphingobium</i>	0,7%	0,2%	6,5%	2,5%	10,6%	0,8%	1,4%	0,4%	2,9%	2,7%	7,4%	4,1%	0,1%	0,0%	0,6%	0,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
<i>Sphingomonas</i>	1,2%	1,1%	8,2%	6,1%	8,8%	29,8%	1,7%	1,1%	8,1%	7,9%	21,5%	17,1%	0,9%	0,4%	8,2%	3,2%	21,6%	49,7%	0,3%	0,1%	0,2%	
unkl. <i>Acetobacteraceae</i>	0,2%	0,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,7%	0,3%	1,5%	1,9%	0,5%	1,7%	0,1%	0,3%	0,2%	
unkl. <i>Bradyrhizobiaceae</i>	0,4%	0,1%	6,1%	6,3%	3,4%	1,0%	0,8%	0,4%	9,3%	9,5%	3,9%	6,3%	0,2%	0,1%	7,8%	2,4%	1,5%	0,9%	0,1%	0,0%	0,1%	
unkl. <i>Chitinophagaceae</i>	2,9%	2,9%	0,3%	1,0%	0,0%	0,0%	2,7%	2,3%	1,0%	0,5%	0,0%	0,0%	2,7%	2,0%	0,9%	2,1%	0,1%	0,1%	1,5%	2,2%	2,1%	
unkl. <i>DA101 soil group</i>	1,8%	2,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,6%	2,8%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	3,2%	5,1%	0,0%	0,3%	0,0%	0,0%	5,8%	5,0%	5,7%	
unkl. <i>Oxalobacteraceae</i>	0,1%	0,3%	0,3%	0,7%	0,0%	2,9%	0,1%	0,2%	0,5%	0,7%	3,5%	1,4%	0,1%	0,1%	0,3%	0,2%	0,9%	2,6%	0,1%	0,0%	0,1%	
unkl. <i>Planctomycetaceae</i>	1,6%	2,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	1,0%	1,8%	0,3%	0,1%	0,0%	0,0%	2,2%	2,3%	0,4%	0,6%	0,0%	0,0%	3,0%	3,1%	2,7%	
unkl. <i>Sphingomonadaceae</i>	1,9%	1,6%	9,5%	6,8%	42,5%	2,5%	3,6%	3,6%	9,8%	7,9%	16,8%	2,4%	0,9%	0,4%	1,6%	1,3%	2,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,1%	
<i>Variovorax</i>	0,7%	0,4%	10,7%	6,5%	0,6%	5,1%	2,0%	0,6%	4,6%	7,4%	1,5%	4,3%	0,3%	0,3%	0,6%	0,8%	0,0%	0,1%	0,0%	0,1%	0,1%	

## **(Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen**

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

*Hiermit versichere ich eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe (vgl. Art. 97 Abs. 1 Satz 8 BayHIG).*

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation nicht bereits zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht habe und dass ich nicht bereits diese oder eine gleichartige Doktorprüfung endgültig nicht bestanden habe.*

(§ 8 Satz 2 Nr. 4 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich, dass ich Hilfe von gewerblichen Promotionsberatern bzw. –vermittlern oder ähnlichen Dienstleistern weder bisher in Anspruch genommen habe noch künftig in Anspruch nehmen werde.*

(§ 8 Satz 2 Nr. 7 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass die elektronische Fassung der Dissertation unter Wahrung meiner Urheberrechte und des Datenschutzes einer gesonderten Überprüfung unterzogen werden kann.*

(§ 8 Satz 2 Nr. 8 PromO Fakultät)

*Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass bei Verdacht wissenschaftlichen Fehlverhaltens Ermittlungen durch universitätsinterne Organe der wissenschaftlichen Selbstkontrolle stattfinden können.*

.....  
Ort, Datum, Unterschrift