

BACHELORARBEIT

**Vorgelegt zur Erlangung des Grades eines Bachelor of Arts
an der Fakultät für Biologie und Biotechnologie
der Ruhr-Universität Bochum**

**Untersuchungen zur Diversität von Hefen in
Primärwäldern Neuseelands**

von

JOHANNA MARIA SPAAK

**angefertigt im Lehrstuhl für Evolution und Biodiversität der Pflanzen
AG Geobotanik**

Bochum, im Juli 2008

Referent: Prof. Dr. Dominik Begerow

Koreferent: Dipl. Geogr. Martina Grudzielanek

BACHELOR'S THESIS

**Presented to achieve the Bachelor of Arts degree
Faculty of Biology and Biotechnology
Ruhr University Bochum**

**Studies on yeast diversity from New Zealand's
primary forests**

by

JOHANNA MARIA SPAAK

**Prepared at Chair Evolution and Biodiversity of Plants
SG Geobotany**

Bochum, July 2008

Supervisor: Prof. Dr. Dominik Begerow

Additional Supervisor: Dipl. Geogr. Martina Grudzielanek

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

1.1	Der Untersuchungsraum	2
1.2	Standorte	3
1.3	Klima	7
1.5	Hefepilze	8
1.6	Zielsetzung	8

2. MATERIAL & METHODEN

2.1	Material:	Chemikalien	9
		Polymerasekettenreaktionen	9
		Puffer und Lösungen	10
		Medien	10
		Laborbedarf	11
		Geräte	11
		Software	11
2.2	Methoden:	Probennahme und Habitatdokumentation	12
		Probenvorbereitung	13
		Klimavergleiche	13
		Messungen des C/N-Gehalts	13
		pH-Wert Messungen	14
		Morphologische Untersuchungen	14
		Molekularbiologische Untersuchungen	15
		Statistik	16

3. ERGEBNISSE

3.1	Abiotische Bedingungen:	a) Klima	17
		b) Boden	17
3.2	Biotische Bedingungen:	a) Morphologische Typen	18
		b) Isolierte Arten	19

4. DISKUSSION

4.1	Biotische Bedingungen:	a) Isolierte Arten	23
		b) Vergleich mit Literaturdaten	24
4.2	Abiotische Bedingungen:	a) Klima	25
		b) Boden	26
4.3	Fazit		27
4.4	Literaturverzeichnis		28

5. ZUSAMMENFASSUNG / ABSTRACT 30

6. ANHANG

	a) Sequenzen der identifizierten Hefearten	31
	b) Messdaten	32
	Besonderer Dank	37

VORWORT

Im Frühjahr diesen Jahres ging ich für 3 Monate nach Neuseeland, um dort in einem Naturschutzprojekt als freiwillige biologische Helferin zu arbeiten. Neuseeland ist ein Hotspot an endemischer Biodiversität und als Freiwillige konnte ich einen kleinen Beitrag leisten, um dieses Paradies an Flora und Fauna zu erhalten. Wie in vielen anderen Staaten dieser Welt, sind die Wälder Neuseelands stark gefährdet. Und mit ihnen alle Organismen, die im Ökosystem Wald leben.

Dieser Auslandsaufenthalt war zunächst nur dahingehend ausgelegt, meine biologischen Kenntnisse zu erweitern und das Naturschutzprogramm zu unterstützen. Jedoch habe ich nach einem eingehenden Kurs über Hefepilze die Überlegung angestellt, meinen Aufenthalt mit einer Bachelorarbeit über Hefepilze zu verbinden.

Von vornherein war angedacht, die Nordinsel eingehend zu bereisen, um die biologischen und geographischen Besonderheiten dieses einmaligen Naturraums näher kennen zu lernen. So gab es für mich die Möglichkeit, geographisch relativ weit voneinander entfernte Untersuchungsregionen anzufahren und dort Bodenproben aus Primärwäldern zu entnehmen, um diese später im Labor der Ruhr-Universität auf Hefen zu untersuchen.

1. EINLEITUNG

1.1 Der Untersuchungsraum

Als gemäßigte Regenwälder gelten die Vegetationsgebiete der Erde, die als jährliche mittlere Niederschlagssumme mehr als 2000mm erfahren, kühle Sommer und milde Winter aufweisen. Gerade in den gemäßigten Breiten fallen diese Mengen an Niederschlag nur auf Grund von Steigungsregen an Hängen von Küstengebirgen (Richter 2001).

Diese Bedingungen findet man auf den Inseln Neuseelands, die sich über 1600km von Nord nach Süd ausdehnen und geographisch zwischen 34°23'47" S, 173°1' O und 46°40'40"S, 169°0'11" O liegen (Smitz et al. 2004). Jährliche Niederschlagssummen von 500mm (Ostküste) bis 8000mm (Westküste) werden bedingt durch die steil ansteigenden Küsten im Norden, die Hochgebirge im Süden und den starken pazifischen Frontalزونen (Schellhorn 2004).

Bis zur Ankunft der ersten Europäer 1769, zeigte sich Neuseeland nahezu vollständig von



Abbildung 1:
Satellitenbildaufnahme der
Nordinsel; Maßstab 1:1Mio;
Quelle: www.terra4.de; 3.Juli 2008

Regenwald bedeckt. Die Nordinsel (Abb.1) war homogen durch Wälder, die Alpenregionen der Südinsel dagegen vor allem durch Gletscher und Schneegebiete geprägt (Brooking 2004).

Nur an Sonderstandorten wie Vulkanen, Thermalgebieten und durch Regenschatten bedingten Trockenregionen wurde der Wald von anderen Landschaftsformen abgelöst. Auf Grund der besonderen geologischen Lage Neuseelands, direkt über der Konvergenzzone der Pazifischen und Australischen Platte, kommt es zu vulkanischer Aktivität. Diese überformte die Inseln und schuf zunächst fruchtbare Böden mit äolisch

verbreiteter Vulkanasche. Beide Inseln sind außerdem durch kleinere Vulkane geomorphologisch sehr hügelig geformt. Fruchtbare Böden wurden teilweise durch die hohen Mengen an einfallendem

Niederschlag über die Zeit hinweg ausgewaschen und generierten zu eher nährstoffarmen Bodentypen, wie etwa den Podsolen oder Andosolen (<http://gisportal.landcareresearch.co.nz>; 3.Juli 2008).

Die eingewanderten Europäer reduzierten den gesamten Regenwaldbestand von etwa 80% auf 24%, wobei von diesen nur noch 3% (2008) Primärwald sind. Einige noch erhaltende Primärwälder werden seit wenigen Jahrzehnten über den Status „National Park“ bzw. „Regional Park“ oder „Reserve“ unter Schutz gestellt. Ehemalige Waldflächen zeigen sich heute vorwiegend als weidewirtschaftliche Nutzfläche. Ferner werden schnell wachsende, nicht einheimische Baumarten (z.B. *Pinus radiata*) in Forsten gepflanzt (Brooking 2004).

Besonders die Kauriwälder (*Agathis australis*) wurden von den Europäern gerodet und zu Bau- und Möbelholz verarbeitet. Die restlichen Flächen wurden brandgerodet, um fruchtbare Böden für die Agrarwirtschaft zu schaffen (Reed 1964).

1.2 Standorte & Habitate

Diese Arbeit konzentriert sich auf Primärwälder, deren Böden sowohl zahlreichen tierischen, pflanzlichen und auch pilzlichen Organismen einen vielschichtigen Lebensraum bieten. Letztere sollen hier näher untersucht werden, da die Wälder Neuseelands noch nicht auf Hefepilze untersucht wurden.

Dazu wurden Wälder ausgewählt, die je eine andere dominante Baumart haben. Die Wahl fiel dabei auf den Waipoua Forest, den Pureora Forest und den Tongariro National Park.

Standort	Geographische Lage	Dominanter Bestand	Distrikt	Größe	Bodentyp	Höhe in m	Unter Schutz
Waipoua Forest Park	35°36'56"S 173°33'16"O	<i>Agathis australis</i>	Northland	9105ha	Andosol (Sandy Pumice)	215	1952
Pureora Forest Park	39°23'38"S 175°24'14"O	<i>Podocarpus totara</i> , <i>Dacrydium cupressinum</i>	Waikato	78 000ha	Braunerde (Brown)	647	Nicht bekannt
Tongariro National Park	38°33'14"S 175°34'50"O	<i>Nothofagus solandrii</i> , <i>Nothofagus truncata</i>	Waikato	80 000ha	Podsolebene (Pan Podzol)	657	1987

Tabelle 1: Untersuchungsstandorte

Quellen: Reed 1964; GoogleEarth, www.doc.nz; <http://gisportal.landcareresearch.co.nz>, (3.Juli 2008); www.teara.govt.nz (7.Juli 2008)



Abb.2:

Lage der gewählten Primärwälder auf der Nordinsel Neuseelands;

www.teara.govt.nz (7.Juli 2008) verändert

Die Primärwaldgesellschaften

a) Waipoua Forest Park

Der Waipoua Forest (Abb.3) hat als dominante Baumart *Agathis australis* (Don) Loudon (*Araucariaceae*). Generell ist die Zusammensetzung bzw. Waldstruktur komplex. Meist besteht diese aus mehr als 20 verschiedenen Baumarten [z.B. *Dacrydium cupressinum* Sol. ex Lamb. (*Podocarpaceae*), *Podocarpus hallii* Colenso (*Podocarpaceae*) und *Nothofagus truncata* (Colenso) Cockayne (*Nothofagaceae*)] pro Hektar. In älteren Beständen sind es die Kauribäume, die sich zwischen den kleineren Koniferen und Laubbäumen herausheben. Ferner treten im Wald viele Baumfarme auf, die von Nikaupalmen



Abb.3: *A. australis* im Waipoua Forest
März 2008

(*Rhopalostylis sapida* Wendl & Grude, *Arecaceae*) und Orchideen begleitet werden. Der Bodengrund ist überwiegend von *Astelia trinerva* Kirk (*Liliaceae*), der Seggen ähnlichen Pflanze *Gahnia xanthocarpa* Hooker (*Cyperaceae*) und der Liane *Freycinetia banksii* Cunningham (*Pandanaceae*) bedeckt (www.teara.govt.nz, 7.Juli 2008). Der Standort ist hügelig. Der Boden ist wassergesättigt, stark sauer im Ah-Horizont und nährstoffarm. Mykorrhiza-Pilze bilden zusammen mit *A. australis* eine Symbiose (Crown, 2005).

b) Pureora Forest Park

Die dort dominierenden Podocarpaceen befinden sich in planarer Höhenstufe, wobei die Waldstruktur sehr dicht ist und einen ausgesprochen tropischen Charakter aufweist (Abb.4). Dies kommt vor allem durch den dichten Unterwuchs mit Büschen, Farnen, Baumfarnen, Lianen und Epiphyten. Während Hartholzarten wie *Beilschmiedia tawa* (Cunningham) Benth. & Hook.f. ex Kirk (*Lauraceae*), *Weinmannia racemosa* Linn. f. Suppl. (*Cunoniaceae*), *Griselinia littoralis* Forster (*Griselinaceae*), *Fuchsia excorticata* Forster & Forster (*Onagraceae*), *Pseudowintera colorata* (Raoul) Dandy (*Winteraceae*), *Neopanax arboreum* (Murray) Allan (*Araliaceae*), *Melicytus ramiflorus* Forster & Forster (*Violaceae*), *Pitosporum eugenoides* Cunningham (*Pittosporaceae*) sowie die Baumfarne *Dicksonia squarrosa* Forster (*Dicksoniaceae*), *Cyathea medullaris* Forster (*Cyatheaceae*), und *Cyathea smithii* Hook. (*Cyatheaceae*) das Kronendach bilden, ragen die Podocarpaceen weit über diese hinaus (www.nzflora.landcarerech.co.nz). Vorkommen und Verbreitung von Podocarpeen sind generell abhängig von variierenden Faktoren, inklusive lokaler Boden- und Temperaturbedingungen. Vor allem eher nährstoffarme Böden werden von Podocarpaceen bewachsen (www.conifers.org).



Abb.4: Blick auf den Waldrandbereich des Pureora Forest ; März 2008

c) Tongariro National Park

Die Südbuchenwälder (Abb.5 & 6) umfassen zur Zeit die größten noch zusammenhängenden Waldgebiete Neuseelands. Von den fünf herrschenden Nothofagaceenarten sind *Nothofagus menziesii* (Hook) Oerst und *Nothofagus solandri* var. *cliffortioides* (Hook) Oerst vorwiegend in montanen Regionen zu finden, die generell für die Agrarwirtschaft ungeeignet sind. So blieben diese im Gegensatz zu den planaren Südbuchenwäldern mit *Nothofagus solandri*, *Nothofagus fusca* (Hook) Oerst und *Nothofagus truncata* (Colenso) Cockayne vom Abholzen verschont. Wie bei den Kauribäumen, tritt hier eine Symbiose mit Mycorrhizapilzen auf (www.doc.nz; 3.Juli 2008). Diese ist für das Wachstum auf nährstoffarmen Böden wichtig.



Abb.5 & 6: Biotop Südbuchenwald Abb.6 (beide März 2008)

Habitat Boden

In der Regel gelten Böden als nährstoffarm. Böden stellen ein Aggregat dar, welches sich aus mineralischen und organischen Partikeln zusammensetzt. Dazwischen befinden sich Poren unterschiedlicher Größe, deren Zwischenräume ein komplexes Netzwerk bilden (Gray und Williams 1979, Young und Crawford 2004). Diese Poren bieten Raum für Wasser, atmosphärische Gase, gelöste Salze und andere Nährstoffe. Unter Letzteren sind vor allem

organischer Kohlenstoff und Stickstoff zu nennen, die von mikrobiellen Organismen als Nahrungsquelle benötigt werden. Diese kompostierenden Organismen (Destruenten) spielen somit mit ihrer Funktion eine wichtige Rolle im Ökosystem (Wardle et al. 2004). Die Mengen an eingebrachten Nährstoffen im Boden sind begrenzt (Williams 1985). Zum Beispiel beinhalten untersuchte Bodenwasser weniger als 2µg/ml Aminosäuren und 5µg/ml an Kohlenstoffhydraten (Ko und Lockwood 1976). Somit ist es nachvollziehbar, dass Böden generell als ein oligotrophes Habitat angesehen werden (Williams 1985). Trotz dieser Nährstoffarmut, sind z.B. Hefepilze fähig unter diesen Bedingungen zu wachsen (Kimura et al. 1998).

Über Hefepilze aus dem Habitat Boden weiß man bislang recht wenig. Sie koexistieren neben einer Vielzahl von Algen, Schimmelpilzen, Prokaryonten und makroskopisch sowie mikroskopischer Fauna (Botha 2006). Es ist bekannt, dass Hefen nahezu weltweit, von den arktischen bis zu den tropischen Zonen, in einer Vielzahl von verschiedenen Bodentypen auftreten. Verglichen mit Artenzahlen von Prokaryonten (ca.6000), Schimmelpilzen (ca.70.000) oder Protozoen und Algen (ca.30.000) (Cypionka, 2006), ist die Hefeartendiversität mit ungefähr 700 Arten (Kurzman, Fell 1998) dagegen sehr gering. Im Ah-Horizont, in den obersten 10cm Bodenprofil, finden sich zwischen 10 und einer Million kulturvierbare Hefezellen pro Gramm Boden [CFU/g]. Ferner wurde entdeckt, dass in feuchten nährstoffreichen Böden eine höhere Diversität an Hefen als in trockenen nährstoffarmen vorliegt (Spencer und Spencer 1997). Dabei sind bis zu 50% der Hefen aus feuchten nährstoffreichen Böden befähigt, Kohlenhydrate zu fermentieren (Phaff et al. 1966). Hefen der Gattungen *Schizoblastosporion* (Cifferi), *Debaryomyces* (Klöcker), *Lipomyces* (Lodder & Kreger-van Rij) und *Cryptococcus* (Kützing) wurden bereits mehrfach aus Böden isoliert. Die beiden Letzteren und die Gattung *Rhodotorula* (Harrison) können eine exopolymere Kapsel ausbilden, die ihnen vermutlich das Überleben in nährstoffarmen Habitaten erleichtert (Spencer und Spencer 1997).



Abb.7: Waldböden: a) Waipoua Forest; b) Pureora Forest; c) Tongariro National Park

Die Böden an den Standorten (Abb.7) unterschieden sich in Farbe, Konsistenz, Wurzelanteil und Feuchtigkeit. Im Waipoua Forest Park war der Boden mit einer 8-10cm mächtigen Wurzelmatte überwachsen. Das Substrat war lehmig, sehr feucht und gräulich. Die Bodensubstrate in den beiden zentral gelegenen Parks waren dagegen sandig, trocken und bräunlich. Eine Wurzelmatte war ebenfalls vorhanden, jedoch nur in Mächtigkeiten von 1-2cm.

1.3 Klima

Neuseeland, ist durch ein ozeanisch gemäßigtes Klima geprägt (ausgenommen der subtropisch geprägte Distrikt Northland, nördlich von Auckland). Die mittlere Jahrestemperatur beträgt in der nördlichen Region des Waipoua Forest 14,1 bis 16°C und im Zentralen der Insel (Pureora Forest Park und Tongariro National Park) 12,1-14°C (Abb.9). In den Sommermonaten treten mittlere Tagestemperaturen von 18° bis 25°C und im Herbst bzw. Frühling zwischen 12° und 18°C auf. Im Winter bleibt es bei mittleren Temperaturen zwischen 8° und 10°C mild. Auf der Nordinsel kommt es derweilen in dieser Jahreszeit auch zu Frostnächten, welche im Flachland und im subtropischen Norden die Ausnahme darstellen. In montanen Regionen kommt es häufiger zu Temperaturen unter 0°C. Im Sommer hält sich die Schneefallgrenze bei einer Höhe zwischen 2000 bis 3000m (Abb.8). In diese Höhenlagen fallen auf der Nordinsel nur die zentral gelegenen drei Vulkane. Durch die Tasmanische See und den Pazifik beeinflusst, führen starke Winde (Frontalzonen) Niederschlagsmengen (Abb.8) bis zu 2500mm (Westküste) pro Jahr über die Nordinsel (www.nicu.cri.nz 5.Juli 2008). Diese Niederschlagsmengen schaffen zusammen mit den gemäßigten Temperaturen die Grundlage für ein Wachstum von gemäßigten Regenwäldern.

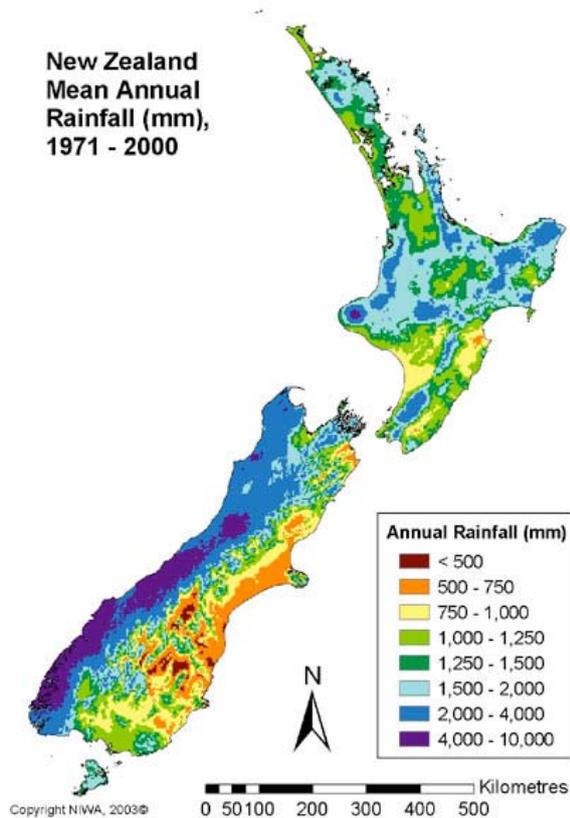


Abb.8: Mittl. jährl. Niederschlag (mm) 1971-2000

www.niwa.co.nz

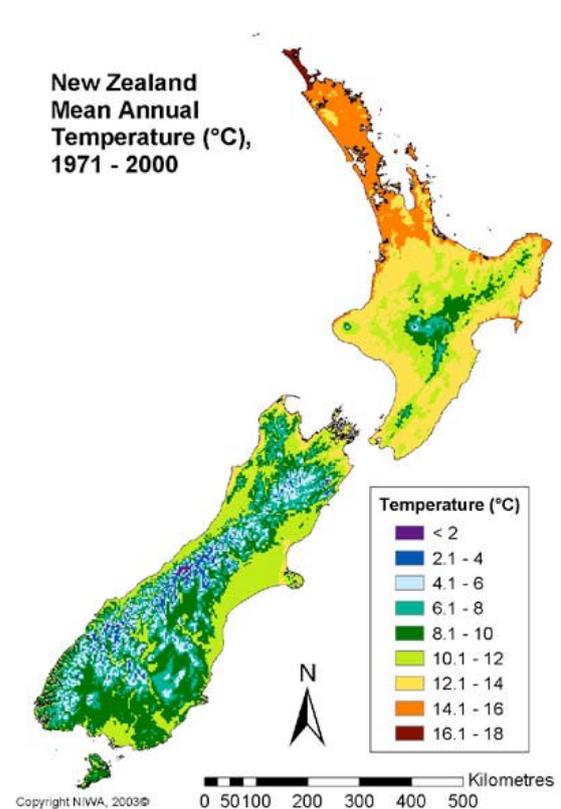
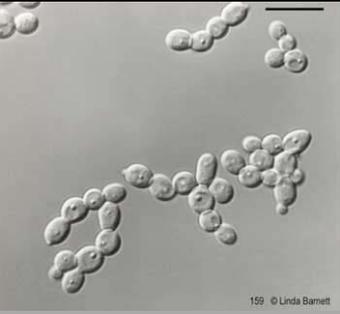
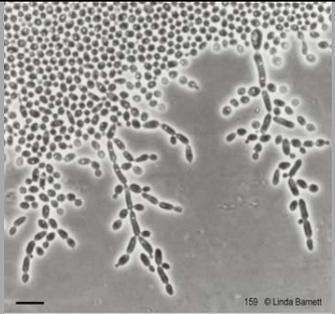
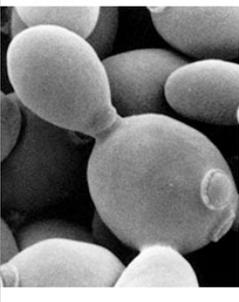


Abb.9: Mittlere jährliche Temperatur (°C) 1971-2000

www.niwa.cri.nz 5.Juli 2008

1.4 Hefepilze

Derzeit gelten Hefen als künstliche Gruppe, die sowohl Basidio- als auch Ascomyceten beinhaltet (Rosa & Péter 2006). Bereits seit Anfang des 20. Jahrhunderts weiß man, dass Hefepilze in Böden leben können. Die Mehrzahl aller isolierten Hefearten aus diesem Habitat gehören zu den Basidiomyceten. Im Allgemeinen können Basidiomyceten ein sehr weites Spektrum an Kohlenhydraten assimilieren, wobei generell aromatische Komponenten und Lignin-Cellulose-Derivate verwertet werden können (Rosa & Péter 2006).. Im Gegensatz dazu, konsumieren Ascomyceten hauptsächlich Einfachzucker und einige von ihnen sind fähig zu fermentieren. Hefepilzen zeichnet ihre Einzelligkeit (Abb.10) aus. Sie vermehren sich asexuell, in dem sie neue kleine Hefezellen von der Mutterzelle abknospen (Abb.12). Bei den Ascomyceten treten die Hefepilze in der Hefephase auf (einzellig). Einige Basidiomyceten bilden neben der Hefephase zusätzlich eine filamentöses Phase (Abb.11) aus. Diese Art von Wechsel in der Morphologie wird Dimorphismus genannt (Sampaio & Fonseca 2002).

Dimorphismus		Asexuelle Vermehrung
Einzelliges Hefestadium	Filamentöses Stadium	Knospende Hefezelle
		
Abb.10: <i>Candida sake</i>	Abb.11: <i>Candida sake</i>	Abb.12: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Maßstab	Balken entsprechen 10µm.	Die Zelle ist 5µm lang
Quellen:	www.ncyc.co.uk, 7.Juli 2008	www.frings.com, 5.Juli 2008

Tab.3

1.5 Zielsetzung

Seit den ersten und letzten neuseeländischen Untersuchungen an Hefen (di Menna 1964), gab es viele Änderungen in Bezug auf die Taxonomie der Hefepilze. Diese Arbeit soll deshalb dazu dienen, die aktuelle Situation der Biodiversität von bodenbewohnenden Hefen in Neuseeland zu beschreiben. Ziel dieser Arbeit ist es, die Hefearten der neuseeländischen Wälder zu benennen und deren Abundanzen darzustellen. Die Wahl geeigneter Sammelorte fiel dabei auf die Primärwälder der Nordinsel, weil diese bis heute noch nicht explizit auf Hefen untersucht wurden. Aus diesem Grund werden in der Auswertung ausschließlich die einzelnen Wälder miteinander verglichen und nicht die Bodentypen (Schwerpunkt di Menna). Dabei soll gezeigt werden, ob die Ökosysteme sich signifikant in Artzusammensetzung und Artmächtigkeit unterscheiden. Abschließend sollen die eigenen Ergebnisse mit di Mennas verglichen werden.

2.1 MATERIAL

Chemikalien

Agarose	Carl Roth GmbH und Co KG, Karlsruhe
Borsäure	AppliChem, Darmstadt
Bromphenolblau	Merck KGaA, Darmstadt
Chloroform	Malinckrodt Baker B.V. Deventer, Holland
DNA-Längenmarker 1kb	invitrogen GmbH, Karlsruhe
6xDNA-Auftragspuffer	invitrogen GmbH, Karlsruhe
dNTP	invitrogen GmbH, Karlsruhe
Ethanol	Malinckrodt Baker B.V. Deventer, Holland
Ethidiumbromid	Biomol GmbH
Glucose	AppliChem, Darmstadt
Hefeextrakt	AppliChem, Darmstadt
8-Hydrochinolin	Merck KGaA, Darmstadt
Magnesiumchlorid	Malinckrodt Baker B.V. Deventer, Holland
Natriumchlorid	Malinckrodt Baker B.V. Deventer, Holland
Na ₂ EDTA *2H ₂ O	Merck KGaA, Darmstadt
10xPCR-Puffer	invitrogen GmbH, Karlsruhe
Pepton	Carl Roth GmbH und Co KG, Karlsruhe
Rnase	invitrogen GmbH, Karlsruhe
SDS	AppliChem, Darmstadt
Sucrose	AppliChem, Darmstadt
Taq-Polymerase	invitrogen GmbH, Karlsruhe
1xTBE-Puffer	Eigenherstellung
5xTBE-Puffer	Eigenherstellung
TE-Phenol	Carl Roth GmbH und Co KG, Karlsruhe
TE-Puffer	Eigenherstellung
TrisBase	Sigma Aldrich Labiörchemikalien GmbH, Seelze
TrisHCl	AppliChem, Darmstadt
Triton	Carl Roth GmbH und Co KG, Karlsruhe

Verwendetes Kit: „my Budget Double Pure Kit“ (Bio Budget Technologies GmbH)

Polymerase-Ketten-Reaktionen (PCR)

50µl PCR-Ansatz benötigen 1µl DNA-Extrakt und 49µl Mastermix (1:50).

Beispiel eines Mastermixes:

Substanz	Menge
ddH ₂ O	39,3µl
PCR-Puffer (ohne MgCl ₂)	5,0µl
MgCl ₂ (50mM)	1,5µl
Primer 1 (10pmol/ l)	1,0µl
Primer 2 (10pmol/ l)	1,0µl
dNTP (10mM)	1,0µl
Taq-Polymerase (5U/ l)	0,2µl
DNA	1,0µl

Verwendete Oligonukleotide dabei waren:

PCR	Primer 1	Primer 2
Mikro-/ Minisatelliten (MSP)	(GTG) ₅	-
Internal Subunit (ITS)	ITS4	ITS1F oder ITS1
Internal Subunit (ITS)	ITS1F	NL4

Primer	Sequenz (5' -> 3')	Quelle
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White et al. 1990
ITS1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	White et al. 1990
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White et al. 1990
NL4	GTGCCGTGTTTCAAGACGG	Gadanho, Sampaio 1999
(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGT	Gadanho, Sampaio 1999

Puffer und Lösungen

Usti-Lysis-Puffer für 76ml

10mM	TrisHCl; pH 8,0	5ml
100mM	NaCl	10ml
1mM	Na ₂ -EDTA	1ml
1%	SDS (w/v)	50ml
2%	(v/v) Triton x-100	10ml

Anschließend nicht autoklavieren und bei Raumtemperatur aufbewahren.

1xTE-Puffer pH 8,0 für 1000ml

10mM	TrisBase	1,21g
1mM	Na ₂ EDTA*2H ₂ O	0,37g

Mit Wasser ansetzen, pH auf 8,0 einstellen, 5min bei 121°C autoklavieren.

TE-Phenol/Chloroform für ca.100ml

50%	(v/v) TE-Phenol (Roth:0038.2)	50ml
	8-Hydrochinolin	Bis Gelbfärbung erreicht
50%	(v/v) Chloroform	50ml

Mischen, zentrifugieren und bei 4°C aufbewahren.

5xTBE-Puffer für 1000ml

440mM	TrisBase	54,0g
440mM	Borsäure	27,5g

Mit Seradestwasser ansetzen.

TE-Rnase (10µl/ml) für 100ml

1%	(w/v)RNase	1mg
----	------------	-----

In TE-Puffer bis pH 8,0 lösen.

6xDNA-Auftragspuffer für 100ml

50%	(w/v)Sucrose	50g
0,1%	(w/v) Bromphenolblau	0,125g

Mit TE-Puffer ansetzen und sterilfiltrieren. Bei 4°C lagern.

0,8% Agarose für 800ml

	Agarose	3,2g
	1xTBE-Puffer	800ml

Bis zum Auflösen in Mikrowelle erhitzen.

Elektrophoresegel von 80ml (normaler Geltisch)

0,8%	Agarose	80ml
	Ethidiumbromid	4µl

Bei Raumtemperatur 20min aushärten lassen. Gelkammer mit 1xTBE-Puffer auffüllen.

Die Einstellungen der pH-Werte wurden mit Hilfe von 5M NaOH oder 7,5M HCl durchgeführt.

Medien

YPD-Medium für 800ml (Hefewachstumsmedium)

Glucose	20g
Pepton	10g
Hefeextrakt	5g
Agar	20g

Mit Wasser auffüllen, autoklavieren und bei 62°C aufbewahren.

Laborbedarf

Petrischalen mit Nocken	92 x 16mm
Parafilm	10cm x 4m Rolle
Reaktionsgefäße	1,5ml; 2ml; 50ml (Eppendorf)
Geldokumentationssystem	E-Box
Papierbriefumschläge	10cm x 20cm

Geräte

Schüttler	Edmund Bühler GmbH; Modell SM-30
Zentrifuge 1,5 – 2ml	Eppendorf Centrifuge 5424
Wärmeschüttler 1,5ml	Eppendorf Thermomixer comfort
PCR-Maschine	DNAEngine; Peltier Thermal Cycler BIORAD
Binokular	WILD HEERBRUGG
Lichtmikroskop	ZEISS; Modell Axiostar
Wärmeschrank	MEMMERT
Zentrifuge 50ml	Eppendorf Centrifuge 5810 R
Vortex-Genie2	Vortex
Fotokamera	Canon PowerShot A430 AiAF

Software

4peaks 1.7	Griekspoor, A., Groothuis, T. (2008) < www.mekentosj.com >
Nucleotide BLAST+ PubMed	Altschul et al. (1997) National Center for Biotechnology Information (NCBI),
TreeView	Rod Page (2001) Division of Environmental and Evolutionary Biology of the University of Glasgow
Paup 4.0 beta 10	David Swofford (2002) School of Computational Science and Information Technology
Sequencher	Genes Codes Corporation (2006)
MAFFT	Kazutaka Katoh et al.(2002) Division of Bioinformatics of the Kyushu
MS-EXCEL	Microsoft XP (2004)
SE-AL v2.0a11	Andrew Rambaut, University of Oxford (2007)
Modeltest	David Posada et al., University of Vigo (1998)
STATISTICA	StatSoft 2006
Google Earth	Larry Page & Sergey Brin (1998)

2.2 METHODEN

Probennahme und Habitatdokumentation

In jedem Waldtyp wurden zehn unterschiedliche Standorte gewählt, die teilweise im Wald unterschiedliche Mikrohabitate bildeten. Z.B. Standorte, die möglichst weit entfernt oder in unmittelbarer Nähe von Phanerophyten, in der Nähe von Totholz oder auch von krautigem Unterwuchs lagen. So sollte gewährleistet werden, dass man viele unterschiedliche Proben erhielt. Der Vorteil gegenüber einem einzigen Standort zur Probennahme liegt darin, dass dieser zufällig zuvor durch ungünstige Faktoren (z.B. vermehrter Nährstoffeintrag durch Tiere) dahingehend beeinflusst wurde, dass er für anschließende Untersuchungen unbrauchbar wäre. Zur Probennahme des Bodens dienten ein handelsüblicher Handspaten aus dem Gartenbedarf und jeweils zwei papierene Briefumschläge, um darin die Proben aufzubewahren.

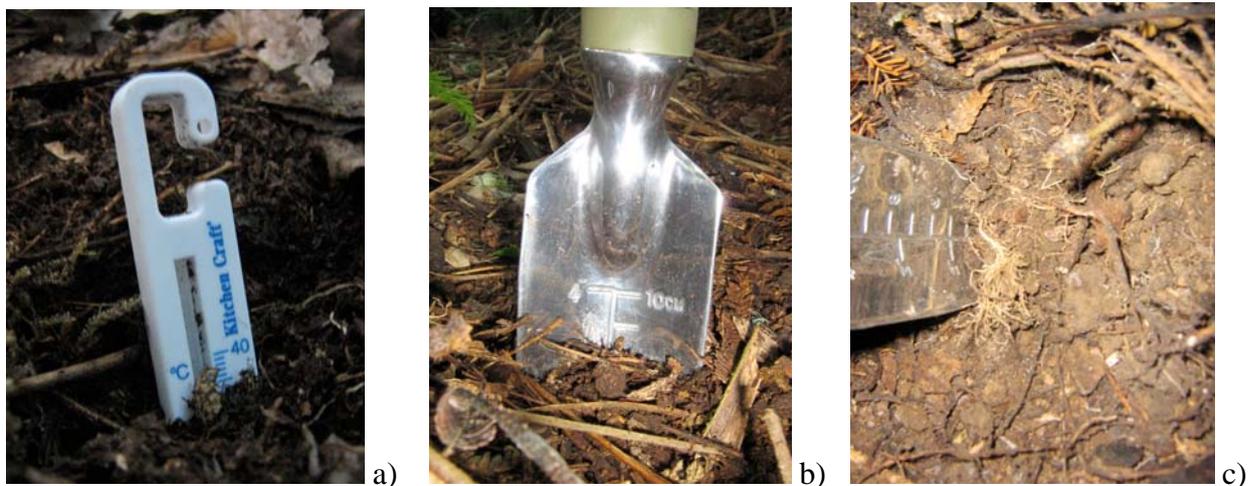


Abb. 13: a) Bodentemperaturmessung; b) Probennahme; c) Boden befreit von Wurzelmatte;

Mit Hilfe des skalierten Spatens (Abb.13b), wurden je ca. 20g Trockengewicht aus einer Bodentiefe zwischen acht und zehn Zentimetern genommen und in doppelte Papierumschläge gefüllt. Die meiste Feuchtigkeit kann so durch das Papier diffundieren und verhindern so das vermehrte Wachstum von Schimmelpilzen im feuchten Milieu. Dabei gelangen, neben der Erde selbst, auch Wurzeln, Steine, kleinste Borkenstücke und anderes abgestorbenes Pflanzenmaterial in die Proben. Zudem wurde ein einfaches Quecksilberthermometer (Abb.13a) verwendet, um aktuelle Boden- und Lufttemperaturen zu ermitteln. Detailliertes Kartenmaterial und mündliche Informationen von Ortsansässigen Biologen (J. & P.King) halfen, die richtigen Standorte zu finden. Mit der Canon PowerShot A430 AiAF wurde das Habitat und der Standort dokumentiert (Abb.3-7). Nachdem die Proben in je zwei Briefumschläge verpackt wurden, wurden diese während des Transportes im Wagen oder in der Unterkunft vollkommen kühl und schattig bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach Ende der Exkursionsfahrt (insgesamt sieben Tage) wurden die Proben unmittelbar mit Hilfe der Luftpost per Express (3-10 Tage) ins Labor nach Deutschland verschickt. Die eingetroffenen Proben wurden bis zur eigenen Rückkehr aus Neuseeland mit Hilfe von Mitarbeitern der AG bei -20°C im Tiefkühler aufbewahrt.

Klimadatenvergleich

Um vergleichende Werte für die eigenen Mikroklimadaten zu erhalten, wurden Klimastationen gesucht, die sich in relativer Nähe zu den Standorten befanden. Für den Standort Waipoua Forest wurde die Station Dargaville ausgewählt, die ca. 20km vom Sammelort entfernt liegt. Für die beiden zentral gelegenen Standorte, erwies sich die Klimastation in Taumarunui als am besten geeignet, da diese von beiden Standorten nicht mehr als jeweils ca. 50km entfernt ist. Neuseeland verfügt noch über relativ wenige Wetterstationen (1 Station/6898qkm), verglichen mit z.B. Deutschland (1 Station/638qkm) (<http://wetterstationen.meteomedia.de>)
Deshalb ist es an dieser Stelle zulässig, die genannten Stationen und deren Klimadaten für einen Vergleich heranzuziehen.

Probenvorbereitung

Die jeweils zehn Proben pro Standort wurden auf je 20 Kunststoffröhren verteilt (pro Probe zwei Replikate). Anschließend wurde in den verschließbaren Röhren eine 1:5 w/v Suspension aus 7g Boden und 28ml ddH₂O hergestellt. Dabei wurden die Proben vorher nicht untereinander gemischt. Die noch heterogenen Suspensionen wurden über 2 Stunden geschüttelt und so weitestgehend homogenisiert. Dabei wurden vorhandene Hefekolonien durch das Schütteln (200U/min; Edmund Bühler GmbH, Gerät SM-30) voneinander und von Bodenpartikeln getrennt, so dass ein Gemisch aus anorganischen Komponenten (Steine, Ton, Lehm, Sand etc.), Wasser, organischem Material wie Wurzeln und einzelnen Hefezellen entstand.

[U/min= Umdrehungen pro Minute]

a) Herstellung des Mediums

Das noch warme und flüssige YPD-Medium wurde zu je 20ml auf Petrischalen ausgebracht. Das Medium musste anschließend mindestens eine halbe Stunde abkühlen, um zu einem festen Gel auszuhärten.

b) Auftragen der Suspensionen auf das Wachstumsmedium

Je 100µl der Suspensionen wurden auf je zwei Platten (insgesamt 40 Replikate pro Standort) aufgetragen und mit dem abgeflemmten Glasspatel verteilt. Anschließend wurden die ausgestrichenen Platten bei 4°C inkubiert, um ein vermehrtes Wachstum von filamentösen Pilzen zu unterbinden und Hefewachstum zu begünstigen. Insgesamt erhielt man so 120 bewachsene Platten.

Messungen zum C/N (Kohlenstoff/Stickstoff) –Gehalt

Aus den Probenumschlägen wurde je eine Mischung pro Standort von je 7g zusammengestellt. Die darin enthaltenen Wurzeln und Steine wurden alle aussortiert und das reine Substrat dann mit dem Mörser staubfein zerkleinert.

Im Fachbereich der Bodenkunde (Geographisches Institut, RUB) mussten vor den eigentlichen Messungen des Kohlenstoff/Stickstoffgehalts die drei gemörserten Bodensubstrate erst für das vollautomatische Messgerät „*elementar* Modell *VarioEL*“ vorbereitet werden. Dazu wurden 0,5cmx1cm kleine metallene so genannte „Schiffchen“ mit optimal 5µg (zwischen 4 und 6) des Substrats befüllt. Das Schiffchen wird dann so oft gefaltet, bis das Substrat so fest eingeschlossen ist, dass es nach wiederholtem Fallenlassen nicht aus dem dicht gefaltetem Metall herausgelangt. Das Messgerät kann nur dann korrekt arbeiten, wenn das Schiffchen mit dem eingeschlossenen Boden absolut dicht ist. Von jedem Substrat wurden 2 Replikate hergestellt und anschließend zur Messung abgegeben.

pH-Wert Messungen

Bei allen 60 Bodensuspensionen wurde der pH-Wert gemessen. Da die pH-Werte der Suspensionen weder alkalisch (>pH8) noch sehr stark sauer (<pH4) waren, wurde zur Messung ausschließlich Wasser verwendet.

Morphologische Untersuchungen : Typeneinteilung (nach Yarrow 1998)

Alle in Reinkultur überführten Hefekulturen wurden mit Hilfe von den folgenden Methoden sortiert und in morphologische Gruppen gestellt, um die anschließenden Arbeitsschritte (auf DNA basierende Methoden) effizienter zu gestalten.

a) Makromorphologische Untersuchungen

Die gewachsenen Hefekulturen wurden mit Hilfe eines Binokulars (WILD HEERGRUGG) zunächst auf leicht ersichtliche Unterschiede in ihrer Morphologie unterschieden. Dazu fasste man Kulturen, die sich in Form, Farbe, Oberflächen- und Randstruktur ähnelten, in Typen zusammen. Je eine bestimmte Kombination der genannten Merkmale bildete einen morphologischen Typ. Die unterschiedlichen Typen wurden dann auf jeder bewachsenen Platte für die statistische Auswertung ausgezählt und anschließend als Reinkulturen auf frische Platten aufgebracht.

b) Mikromorphologische Untersuchungen

Unter dem Lichtmikroskop (ZEISS, Axiostar), bei bis zu 1000facher Vergrößerung, untersuchte man exemplarisch Vertreter aus den morphologischen Typen. Form und Merkmale wurden dabei skizziert. Mit Hilfe dieser detaillierteren Untersuchungen war es möglich, entsprechende Reinkulturen für die folgenden molekularbiologischen Untersuchungen auszusuchen, die sich sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch eindeutig gruppieren ließen.

Molekularbiologische Untersuchungen

Klassische Methoden zur Identifizierung von Hefepilzarten (Gadanhó & Sampaio 2002)

DNA-Extraktion

Protokoll für die *Phenol/Chloroform DNA-Isolierung*: Aus allen Reinkulturen wurde Biomasse für die Extraktion von DNA entnommen, diese dann mit 200ml destilliertem Wasser und 200µl Glasperlen (Durchmesser 0,25-0,5mm) in einem 2ml Eppendorfgefäß durch 15 minütiges Vortexen gemischt und anschließend weitere 15 Minuten zentrifugiert (13.000U/min). Der Überstand wurde entsorgt und anschließend das entstandene Gemisch über Nacht tiefgefroren. Es folgte die Zugabe von je 500µl Phenol/Chloroform und Usti-Lysis-Puffer-Lösung. 15-minütiges Vortexen vermischt die einzelnen Komponenten und weitere 15min in der Zentrifuge (13.000U/min) trennte in zwei Phasen auf. Von dem Überstand wurde dann 400µl der wässrigen Phase in ein neues 1,5ml Eppendorfgefäß übertragen und mit 1ml 100prozentigem Ethanol vermischt, um die DNA zu fällen. Nach zusätzlichen 15 Minuten bei 13.000U/min setzte sich ein helles DNA-Pellet im Gefäß ab. Der entstandene Überstand wurde entsorgt. Ferner wurde dann 50µl TE/RNase (pH 8,0; 2mg/ml) hinzugegeben und als verschlossenes Gefäß bei 55°C und 800U/min für 15min inkubiert. Anschließend wurde die DANN bei -20°C gelagert.

DNA Amplifikationen

a) unspezifische

Die Mikro-/Minisatelliten-Polymerasekettenreaktion (MSP-PCR) dient der unspezifischen Amplifizierung von DNA-Fragmenten (10kbp bis 500bp). Amplifizierte Fragmente können anschließend nach weiteren Zwischenschritten (siehe Agarose-Gelelektrophorese) an Hand ihres Bandenmusters in verschiedene Stämme unterschieden werden.

b) spezifische

Bei der ITS (internal transcribed spacer) – PCR wird die gesamte ITS-Region amplifiziert. Hierbei wurden die Oligonukleotide ITS4 und ITS1 oder NL4 und ITS1F (Kap.2.2) verwendet, die nach dem Ansatz wie in Kapitel 2.2 zusammen gestellt wurden.

Denaturation	96°C	2:00min
35 Cycles		
Denaturation	96°C	0:20min
Anealing	50°C	1:00min
Extension	72°C	2:00min
Extension	72°C	7:00min
Storage	10°C	Für immer

Programm für a) MSP-PCRs

Denaturation	96°C	2:00min
35 Cycles		
Denaturation	96°C	0:20min
Anealing	52°C	0:40min
Extension	72°C	1:00min
Extension	72°C	7:00min
Storage	4°C	Für immer

Programm für b) ITS-PCRs

Agarose-Gelelektrophorese

Um die amplifizierten DNA-Fragmente sichtbar und unterscheidbar zu machen, wurde eine Gelelektrophorese durchgeführt. Zur Herstellung eines Gels wurden 80ml von 0,8%iger

Agaroselösung mit 4µl Ethidiumbromid vermischt. Nach Aushärtung des Gels, konnte je 5µl PCR-Produkt zusammen mit 2µl Ladebuffer neben 3µl Längenmarker in die Geltaschen pipettiert werden. Bei einer Spannung von 120-140V und 1 Stunde Laufzeit trennten sich die Fragmente im elektrischen Feld nach ihrer Größe auf. Die entstandenen Bandenmuster wurden unter ultraviolettem Licht sichtbar gemacht und anschließend fotografiert.

DNA-Aufreinigung und Sequenzierung

Die PCR-Produkte wurden mit Hilfe des „my Budget Double Pure Kit“ (Bio Budget Technologies GmbH) nach dem Standardprotokoll aufgereinigt und anschließend nach der Sanger-Methode (Sanger 1981) mit dem Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer sequenziert.

Sequenzbearbeitung

Die Elektropherogramme der Sequenzen wurden mit 4peaks Version 1.7.2 (Griekspoor & Groothuis 2006) angezeigt und auf Qualität geprüft. Mit Sequencher (Genes Codes Corporation 2006) wurden gegenläufige Sequenzen zusammengestellt. Bearbeitete Sequenzen wurden mittels SE-AL v2.0a11 (Rambaut 2007) lesbar gemacht, und wenn nötig, mit anderen Alignments verglichen. Mit Hilfe einer BLAST-Suche in der Gen-Datenbank NCBI (Altschul et al. 1997) wurden die Sequenzen bekannten Arten zugeordnet. Bei Übereinstimmungen der eigenen Sequenzen mit denen der Datenbank von weniger als 99%, wurden Alignments mit Hilfe der Software MAFFT (Kato 2002) erstellt. Unregelmäßige Anfangs- oder Endstücken wurden entfernt, um ein optimales Alignment für die jeweilige Gruppe zu erstellen. Die Programme Modeltest (Posada 1998), Paup (Swofford 2002) und TreeView (Page 2001) errechneten zusätzlich Stammbäume (Durchführung von Julia Aubry), deren Daten dazu dienten, die BLAST-Suchergebnisse zu bestätigen bzw. zu korrigieren.

Statistik

Berechnungen zur Häufigkeit und Abundanz wurden mit Microsoft EXCEL durchgeführt. Ein univariater ANOVA-Test (sigmabeschränkte Parametrisierung, effektive Hypothesen Dekomposition) (STATISTICA) sollte nachweisen, inwiefern sich die auftretenden Hefearten in ihrer Abundanz signifikant unterscheiden, wenn als vergleichender Faktor der Standort gewählt wird. Hinzu kamen unabhängige t-Tests, die signifikante Unterschiede in den C/N-Gehaltswerten und den gemittelten Werten der Standortabundanzen bringen sollten.

3. ERGEBNISSE

3.1 Abiotische Werte

a) Klima

Standort	Dominante Bäume	Lufttemperatur	Bodentemperatur	Differenz	Datum	Uhrzeit	Klimastation
Waipoua Forest Park	<i>A. australis</i>	18,5°C	16,0°C	2,5°C	06.März 2008	14:40	Dargaville
Pureora Forest Park	<i>Podocarpaceae</i>	15,0°C	13,0°C	2°C	08.März 2008	17:30	Taumarunui
Tongariro National Park	<i>Nothofagaceae</i>	14,5°C	12,5°C	2°C	11.März 2008	11:00	Taumarunui

Tab.1: Gemessene Mikroklimadaten der lokalen Bedingungen zur jeweiligen Uhrzeit

Monat	Waipoua Forest: Dargaville (in °C)	Tongariro National Park & Pureora Forest: Taumarunui in (°C)
Jan	18,3	18,7
Feb	18,4	19,4
Mar	16,4	18,2
Apr	13,3	16,2
Mai	10,2	13,7
Jun	8,0	11,7
Jul	7,4	11,0
Aug	8,6	11,6
Sep	10,1	12,6
Okt	12,7	14,0
Nov	14,8	15,6
Dez	16,8	17,5
mm	1176	1496

Tab.2: Klimawerte der Klimastationen Dargaville und Taumarunui (1969-1990)

Die gemittelten Jahrestemperaturen von Dargaville unterscheiden sich nicht signifikant von denen in Taumarunui (zweiseitiger t-Test: $n_1, n_2=12$; $p=0,16$).

b) Boden

Standort	Stickstoff N Mittelwert %	Kohlenstoff C Mittelwert %	C/N-Gehalt
Waipoua Forest Park	0,48	11,32	23,81
Pureora Forest Park	0,55	4,58	8,97
Tongariro National Park	0,56	7,27	12,99

Tab.3: Gemessener Stickstoff/Kohlenstoff-Gehalt im Boden der drei Standorte

Die Mittelwerte wurden auf Grundlage von jeweils zwei (bzw. drei beim Tongariro National Park) Einzelwerten ermittelt.

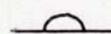
pH-Werte

Die pH-Wert Messungen der Bodenproben ergaben gemittelte Werte von pH 4,14 [stark sauer] (max=4,53; min=3,79) im Waipoua Forest, pH 5,0 [mittel sauer] (max=5,73; min=4,44) im Pureora Forest und pH 5,75 [mittel sauer] (max=6,80; min=5,36) im Tongariro National Park. Die Einzelwerte der pH-Messungen können dem Anhang entnommen werden.

3.2 Biotische Bedingungen

Morphologische Typen

Es zeigten sich Formen wie Halbkugeln, Ringe, kräuselige oder flache runde Strukturen. Die Hefen waren teilweise beige bis cremefarben, hellweiß oder pink (hell und dunkel). Dazu waren sie entweder glänzend oder matt.

Typ	x*	Farbe	Struktur	Rand	Form	Skizze
1	x	beige-weiß	glänzend	glatt	flach, rund	
2	x	beige	matt	stumpf	Kegel	
3	x	weiß-milchig	matt	glatt	Halbkugel	
4	~	weiß-milchig	feucht	stumpf	kräuselig	~ 7
5	x	rosa	glänzend	glatt	flach, rund	
6	#	weiß	glänzend	glatt	flach, oval	~1
7	x	beige	matt	stumpf	Ring, Kräusel	
8	#	creme-beige	matt	glatt	flach, rund	#
9	x	weiß	glänzend	glatt	Halbkugel	
10	x	weiß-creme	netzartig	stumpf	Halbkugel	
11	x	pink	matt	glatt	flach, rund	
12	#	weiß	matt	stumpf	Stern	
13	SP	orange	matt	glatt	flach	SP
14	SP	orange	matt	glatt	Ring	SP
15	SP	weiß-creme	matt	stumpf	Rosenkopf	SP
16	x	hellrosa	glänzend	glatt	flach	

Tab.4: Übersicht zur Beschreibung der Morpho-Typen

x* = Typen, die häufig auftraten;

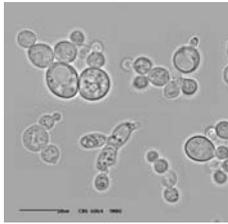
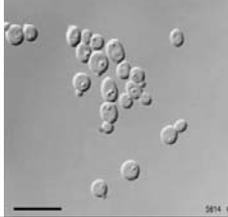
= Typen, die nur einmal auftraten;

SP = Typen, die durch Schimmelpilze in ihrer eigentlichen Gestalt (x) verändert

~ 7/1 = gleich mit Typ Nr.7/1 (Kolonien unterschieden sich zunächst, doch waren später in Reinkultur identisch in ihrem Habitus)

Gesamtartenliste:

Artname	Query coverage % / Max ident %	Autor	Relative Häufigkeiten%		Abundanz Standorte %	Typ	Abteilung	Bild (Abb.26-35)
			W	P				
Candida sake (BLAST-Suche) SEQUENZ: AJ 36	99/99 mit AJ5498 22.1	Vasilenko et al. 2003	W	0,53	0	3	Ascomycota	
			P	0	0			
			T	2,35	30			
Cryptococcus laurentii (BLAST-Suche) SEQUENZ: AJ 141	99/100 mit AY3156 65.1	(Kufferath) Skinner 1996	W	0,83	0	9	Basidiomycota	
			P	12,52	25			
			T	0,83	12,5			
Cryptococcus ramirezgomezianus (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 29	87/99 mit AB0355 78.1	Sugita et al. 2000	W	77,7	97,5	2	Basidiomycota	
			P	0	0			
			T	0	0			
Cystofilobasidium infirmominiatum (BLAST-Suche) SEQUENZ: AJ 131	100/99 mit AF4444 00.1	Scorzetti, Fell 2002	W	0	0	11	Basidiomycota (pigmentiert)	
			P	0,1	2,5			
			T	0	0			
Debaryomyces hansenii (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 45	100/100 mit EF5432 59.1	Petersen et al. 2001	W	1,82	17,5	3	Ascomycota	
			P	0	0			
			T	1,82	12,5			
Saccharomyces spencerorum [Kazachstania] (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 40	97/92 mit AY0461 61.1	(Weber & Spaaij) Kurtzman 2003	W	0	0	3	Ascomycota	
			P	5,22	17,5			
			T	0	0			
Rhodotorula graminis (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 130	100/99 mit EU5639 27.1	di Menna 1957	W	0,0023	2,5	5	Basidiomycota (pigmentiert)	
			P	0,05	5			
			T	0,0024	2,5			

<i>Sporobolomyces ruberrimus</i> (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 57	76/99 mit AF4445 81.1	Scorzetti, Fell 2002	W	0,002	12,5	5	Basidiomycota (pigmentiert)	Nicht verfügbar
			P	0	0			
			T	0,01	5			
<i>Trichosporon porosum</i> (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 74	99/100 mit AJ6089 71.1	Sabev et al. 2006	w	0	0	1	Basidiomycota	
			P	12,31	30			
			T	19,28	42,5			
<i>Cryptococcus fragicola</i> (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 129	90/91 mit AB0355 88.2	Takashima et al. 2001	W	0	0	1	Basidiomycota	Nicht verfügbar
			P	1	10			
			T	0	0			
<i>Trichosporon wieringae</i> (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 22	99/100 mit AY3156 67.1	Scorzetti, Fell 2003	W	0	0	1	Basidiomycota	Nicht verfügbar
			P	4,18	7,5			
			T	0	0			
<i>Candida melibiosica</i> (BLAST + Stammbaum) SEQUENZ: AJ 102	72/88 mit DQ2491 88.2	Buckley & van Uden 2003	W	5,33	12,5		Ascomycota	
			P	0	0			
			T	0	0			
<i>Rhodotorula fujisanensis</i> (BLAST-Suche) SEQUENZ: AJ 38	88/100 mit AF4445 74.1	(Soneda) Johnson & Phaff 2003	W	0	0	3	Basidiomycota	
			P	0	0			
			T	1,19	15			
<i>Trichosporon multisporum</i> (BLAST+ Stammbaum) SEQUENZ: AJ 115	99/99 mit AF4146 95.1	Scorzetti et al. 2002	W	0,28	32,5	1	Basidiomycota	
			P	0	0			
			T	0	0			

Tab.5: Liste der isolierten Arten mit Details

[W~Waipoua Forest; P~Pureora Forest T~Tongariro National Park]

Bildquelle: Linda Barnett (www.ncyc.com 10.Juli 2008)

Datenquelle BLAST-Werte: www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST 17.Juli 2008

Sequenzen siehe Anhang

Häufigkeiten der isolierten Hefen

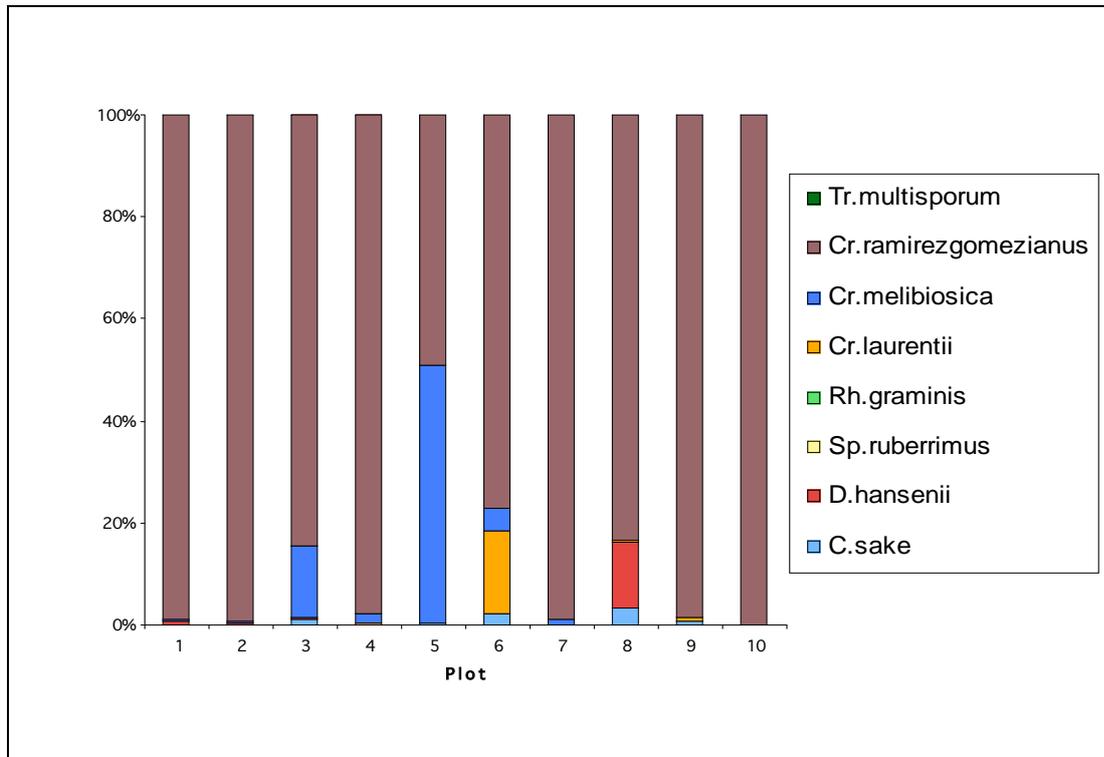


Abb.14: Häufigkeitsverteilung (bezogen auf CFU/g) der isolierten Hefen im Waipoua Forest

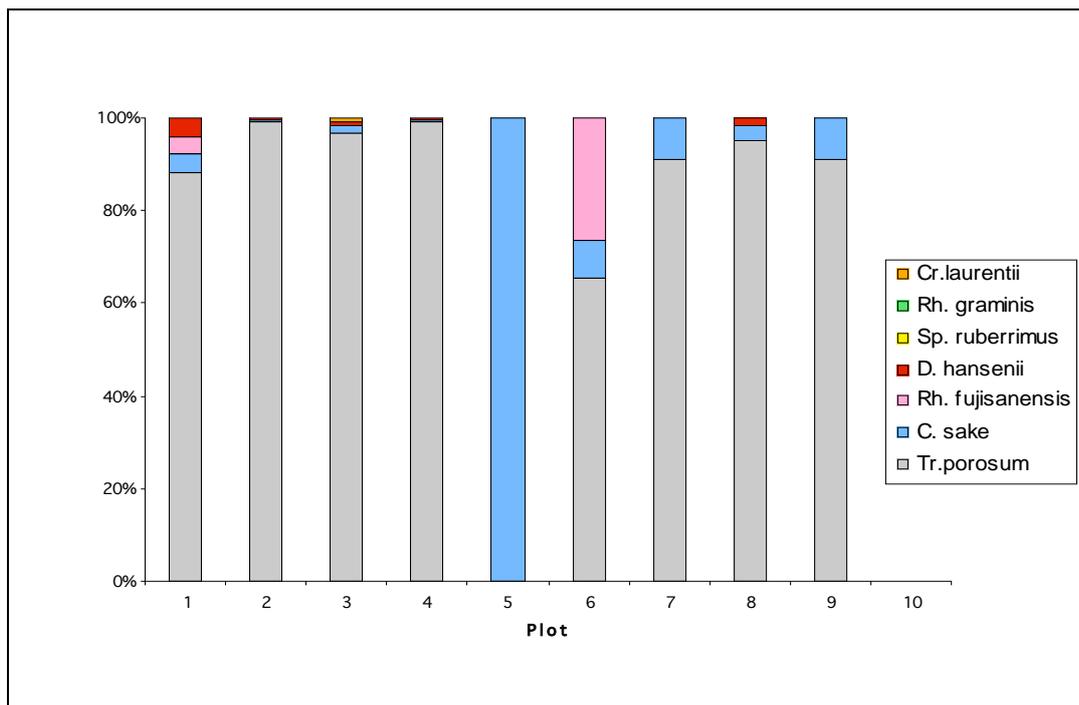


Abb.15: Häufigkeitsverteilung (bezogen auf CFU/g) der isolierten Hefen im Tongariro National Park

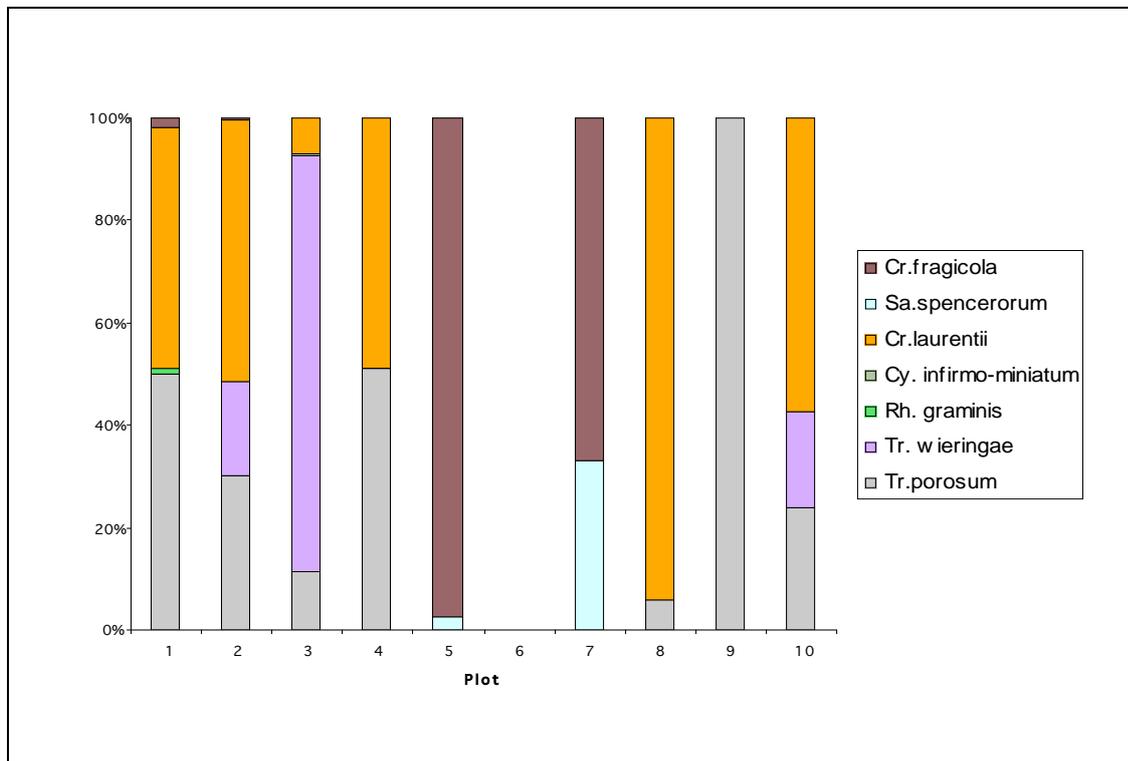


Abb.16: Häufigkeitsverteilung (bezogen auf CFU/g) der isolierten Hefen im Pureora Forest (Plot 6: Platten des Probenumschlags nicht auswertbar auf Grund von massivem Schimmelpilzbewuchs)

Signifikanz der relative Häufigkeiten: ANOVA –Test mit STATISTIKA

Die einfaktorielle Varianzanalyse mit ANOVA belegte, dass sich die drei betrachteten Standorte in Bezug auf die relative Häufigkeit (Abb.14-16) folgender Arten signifikant unterscheiden: *Tr.porosum* ($p < 0,01$), *Sa.spencerorum* ($p = 0,01$), *Cr.ramirezgomezianus* ($p < 0,01$), *Tr.multisporum* ($p < 0,01$), *C.melibiosica* ($p = 0,028$) und *Cr.laurentii* ($p < 0,01$)

Signifikanz der Abundanzen: t-Tests mit STATISTICA

Die Abundanzen (Abb.17) der Hefen im Waipoua Forest und Tongariro National Park (zweiseitiger t-Test: $n_1, n_2 = 40$; $p < < 0,01$) unterscheiden sich signifikant voneinander. Die Abundanzen der Hefen im Waipoua Forest Pureora Forest (zweiseitiger t-Test: $n_1, n_2 = 40$; $p = 0,018$) sind ebenfalls signifikant unterschiedlich. Die Abundanzen von Tongariro National Park und Pureora Forest unterscheiden sich nicht voneinander (zweiseitiger t-Test: $n_1, n_2 = 40$; $p > > 0,05$).

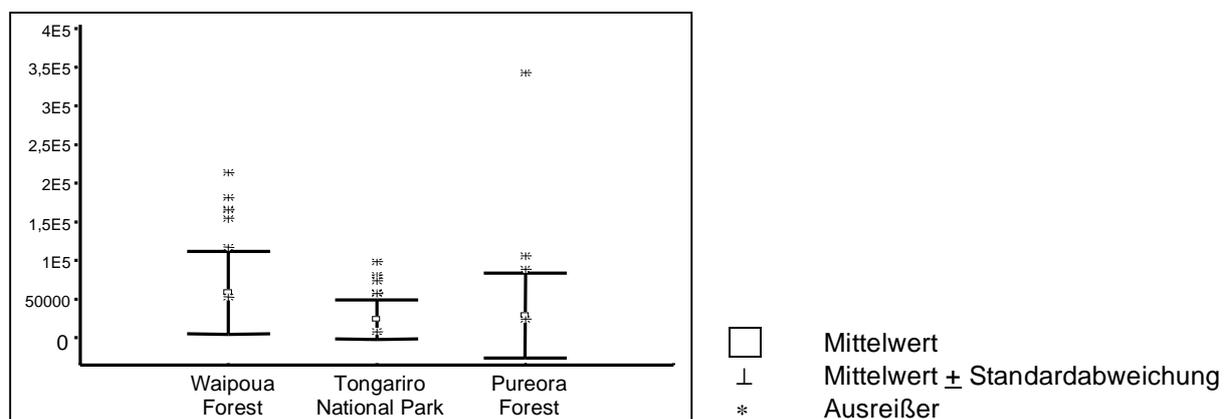


Abb.17: Logarithmische Auftragung der Abundanzwerte in CFU/g Kohlenstoff

4. DISKUSSION

4.1 Biotische Bedingungen

a) Isolierte Arten

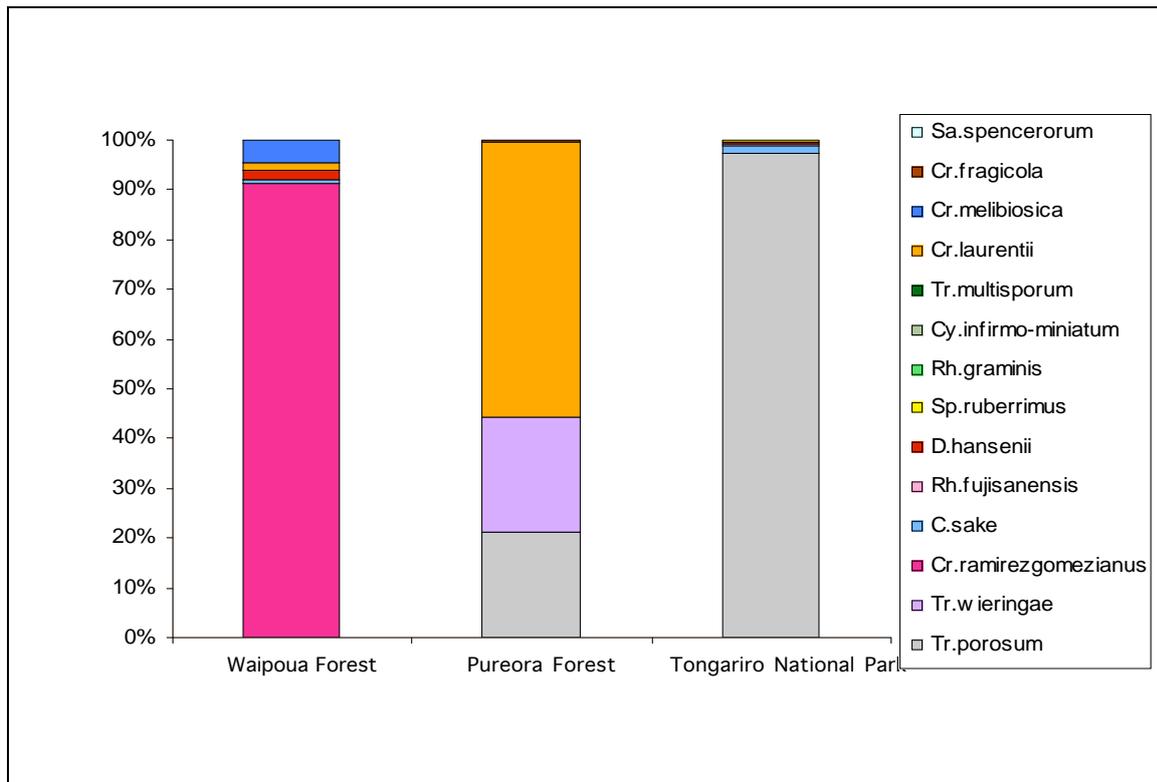


Abb.18: Relative Häufigkeiten der isolierten Arten Artenvorkommen in den drei Standorten.

Stanort	Dominante Hefeart	Begleitende Hefearten	Andere Hefearten
Waipoua Forest	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cryptococcus ramirezgomezianus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cr.melibiosica</i> <i>D.hansenii</i> <i>Cr.laurentii</i> <i>C.sake</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Sp.ruberrimus</i> <i>Rh.graminis</i> <i>Tr.multisporum</i>
Tongariro National Park	<ul style="list-style-type: none"> <i>Trichosporon porosum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>C.sake</i> <i>D.hansenii</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Rh.fujisanensis</i> <i>Cr.laurentii</i> <i>Sp.ruberrimus</i> <i>Rh.graminis</i>
Pureora Forest	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cryptococcus laurentii</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Tr.wieringae</i> <i>Tr.porosum</i> <i>Cr.fragicola</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cy.infirmo-miniatum</i> <i>Rh.graminis</i> <i>Sa.spencerorum</i>

Tab.19: Isolierte Hefepilze sortiert nach relativen Häufigkeiten

Die Hefeisolationen aus dem Boden des Waipoua Forest erbrachten acht unterschiedliche Hefearten, Pureora Forest und Tongariro National Park dagegen nur sieben (Abb.18).

Da der Unterschied in der Artenanzahl (Pureora Forest und Tongariro National Park verglichen mit Waipoua Forest) von nur einer Art als nicht entscheidend zu beurteilen ist, kann der Diversitätsgrad der drei Standorte als vergleichbar groß angesehen werden. Dennoch unterscheiden sich die Standorte, und zwar in ihrer individuellen Zusammensetzung der Hefearten und deren Artmächtigkeiten.

Insgesamt konnten 14 Hefearten isoliert werden, wobei nur zwei Arten (*Rhodotorula graminis* und *Cryptococcus laurentii*) in allen drei Standorten auftraten. Die Hefe *Rhodotorula graminis* (di Menna 1958) wurde mit dieser Arbeit erst das dritte Mal weltweit nachgewiesen. Der Erstfund von 1958 ist ebenfalls in Neuseeland auf der Nordinsel dokumentiert.

Die vier Arten *Trichosporon porosum*, *Candida sake*, *Sporobolomyces ruberrimus* und *Debaryomyces hansenii* waren jeweils in zwei der drei Biotope vorhanden. *Cryptococcus ramirezgomezianus*, *Candida melibiosica*, *Trichosporon multisporum*, *Cystobasidium infirmo-miniatum*, *Trichosporon wieringae*, *Rhodotorula fujiisanensis* sowie *Cryptococcus fragicola* konnten jeweils nur aus Proben eines Standorts isoliert werden. Zudem ist es mit dieser Untersuchung gelungen, die Hefe *Trichosporon wieringae* (Scorzetti & Fell 2003) ein zweites Mal (weltweit) nachzuweisen. Somit belegt diese Arbeit das Vorkommen zweier sehr seltener Hefearten (*Rh.graminis* und *Tr.wieringae*) in den hochgradig gefährdeten Primärwäldern Neuseelands (Abb.19).

Auf Grund der hohen Werte der Artmächtigkeit und des Aufkommens, stellte sich je eine Hefeart als dominant für ihren Standort heraus. *Cryptococcus ramirezgomezianus* ist die dominierende Hefe im Waipoua Forest. Diese stark vorherrschende Art tritt weder in Proben des Pureora Forest noch in denen des Tongariro National Park auf.

Trichosporon porosum dominiert die Hefeflora des Tongariro National Park und ließ sich auch aus Böden des Pureora Forest isolieren. Letzterer Standort verfügt vorwiegend über die *Cryptococcus laurentii* - Hefe.

Neben der dominierenden Hefeart in Böden des Waipoua Forest, ließen sich außerdem *Cr.melibiosica*, *D.hansenii*, *Cr.laurentii* und *C.sake* vermehrt belegen. *Sp.ruberrimus*, *Rh.graminis* und *Tr.multisporum* traten in geringeren Mengen auf.

In den Böden des Tongariro National Parks konnten mehr Kolonien von *C.sake* und *D.hansenii* als von *Rh.fujiisanensis*, *Cr.laurentii*, *Sp.ruberrimus* und *Rh.graminis* gefunden werden (vgl. Anhang).

Die Sequenzen der Hefen aus dem Pureora Forest ließen auf die Arten *Tr.wieringae*, *Tr.porosum*, *Cr.fragicola* und *Cy.infirmo-miniatum*, *Rh.graminis* und *Sp.spencerorum* schließen.

b) Vergleich mit Daten von di Menna

Die Untersuchungen von di Menna im Jahre 1964 lieferten insgesamt 17 Hefearten, welche in Böden der Nordinsel gefunden wurden. Nur vier der 20 gewählten Standorte di Mennas sind überhaupt mit den hier gewählten vergleichbar. Sie liegen in *Agathis australis* dominierten Wäldern (Northland, Westküste, Waipoua Forest), die zum Zeitpunkt der eigenen Probenentnahme noch vorhanden waren. Die 1964 untersuchten Waipoua Forest Proben erbrachten sieben Hefearten, welche mit der eigenen Artenliste verglichen wurden. Dabei stellte sich heraus, dass die von di Menna isolierte Hefe *D.nicotianae* ein Synonym für die selbstisolierte Art *D.hansenii* ist. *Cr.terreus* (di Menna) ist *Cr.ramirezgomezianus* sehr ähnlich. *C.parapsilosis* ist ein Synonym für *C.melibiosica* und *Cr.curvata* [heute *curvatus*] (Diddens &

Lodder) Golubev wird heute in die Gattung *Trichosporon* gestellt. Die Arten *Cr.albidus* (Saito) Skinner und *Schizoblastosporion starkeyi-henricii* (Lund) Lodder wurden damals auch an diesem Standort isoliert. Sie stehen in keinem nennenswerten Zusammenhang mit den eigenen Hefearten (www.cbs.knaw.nl 14.Juli 2008). Demnach sind fünf der eigenen Arten den sieben Arten von di Menna sehr ähnlich. Diese Feststellung manifestiert die Art der eigenen Hefegesellschaften, zumindest an diesem Standort. Für die Standorte Pureora Forest und Tongariro National Park sind keine vergleichbaren Werte aus den Untersuchungen di Mennas zu entnehmen.

Auf Grund ihres mengenmäßig hohen Aufkommens in den hier untersuchten Böden (siehe Tabellen im Anhang), können die Hefen *Cr.ramirezgomezianus*, *C.melibiosica*, *Cr.laurentii* und *Tr.porosum* als natürlich vorkommende Bodenorganismen beschrieben werden.

Keine der hier isolierten Hefen ist als endemische Art Neuseelands zu bezeichnen, da sie bis bereits an anderen Standorten der Welt nachgewiesen wurden, wie z.B. *Rh.graminis* mit zusätzlichen Funden in Indonesien (www.mycobank.org 17.Juli 2008).

4.2 Abiotische Bedingungen

a) Klima

Bezogen auf die Daten der Stationen sind in den subtropischen Gebieten im Norden (Waipoua Forest) der Nordinsel die mittleren jährlichen Temperaturen von 15,1°C um mittlere 2,1°C höher als die 13°C im Zentralen der Nordinsel mit (Tongariro National Park und Pureora Forest). Die Temperaturunterschiede sind demnach relativ gering.

Generell erfahren beide Klimastationen (Tab.2) Niederschläge über 1000mm pro Jahr, da sie nicht mehr als 100km von der Westküste entfernt liegen und so von den wassergesättigten Luftmassen vom Pazifischen Ozean (Tasmanische See) stark beeinflusst werden. Die mittlere jährliche Niederschlagssumme von 1496mm der zentral gelegenen Klimastation Taumarunui, ist um 320mm pro Jahr höher als in Dargaville mit 1176mm (www.metservice.com 3.Juli 2008). Dargaville liegt in unmittelbarer Nähe an der Westküste und erfährt somit höhere jährliche Niederschlagsmengen, als Orte, die weiter östlich liegen. Obwohl Taumarunui im Landesinneren der Nordinsel liegt, ergeben sich trotzdem höhere Niederschlagsmengen in der jährlichen Summe als in Dargaville. Die Ursache liegt darin, dass die östlich von Taumarunui gelegenen 2000m hohen Vulkane Steigungsregen verursachen und so höhere Niederschlagseinträge einbringen, als die Hügellandschaften von Dargaville im Norden. Diese zeigen, verglichen mit den Höhen der Vulkanlandschaft, nur einen relativ geringen Höhenunterschied von ca. 300m zu NN.

Ein Vergleich der eigenen Mikroklimadaten (Tab.1) mit denen der gemittelten Werte der Klimastationen ist nur bedingt möglich. Hierbei kann nur die Temperaturtendenz verglichen werden, weil mehrere Faktoren einen direkten Vergleich unmöglich machen. Wesentlich ist, dass die Mikroklimadaten nur eine Momentaufnahme widerspiegeln und keine gemittelte Tagestemperatur. Hinzu kommt, dass der Sommer 2007/2008 in den Gebieten Neuseelands

und Australiens zu einer der trockensten überhaupt gezählt wird (www.metservice.com), was es zusätzlich erschwert, die Daten miteinander vergleichen zu können. Demnach weichen die eigenen Temperaturen von denen der Stationen in geringem Maße ab, korrelieren aber noch in ausreichender Weise. Ferner spielen die Faktoren Tageszeit der Messung, lokale Witterung und der lokale Messort Wald (eigene Messung) oder Freiland (Klimastation) eine erhebliche Rolle bei der Auswertung. Innerhalb von Wäldern ist generell eine Differenz von 3-5°C zum Freiland zu erwarten, die hier zum Teil auch auftreten (vgl. Tab.1 und 2). Dies liegt an starker Beschattung durch geschlossene Kronendächer. Boden- und Lufttemperaturen zeigen mittlere Differenzen von 2°C, die als normal bis optimal bezeichnet werden können, da es tageszeitlich zu viel höheren Differenzen der beiden Temperaturwerte kommen kann, der so genannten zeitverzögerten Anpassung von Bodentemperatur an die Lufttemperatur, vor allem morgens und abends (<http://gidw-os.nibis.de> und Malberg 1997). Zusammenfassend sind die zentral gelegenen Wälder Pureora Forest und Tongariro National Park von einem rein ozeanisch gemäßigten Klima geprägt, wohingegen der Waipoua Forest noch Einflüsse von subtropischem Klima erhält. Da sich die gemittelten Jahrestemperaturen der Klimastationen nicht signifikant unterscheiden, ist nur die unterschiedliche Bodenfeuchte, bedingt durch die unterschiedlichen Mengen an Niederschlag, als entscheidender klimatischer Faktor zur Bildung unterschiedlicher Habitats zu nennen.

b) Boden

Das organische Material war in den untersuchten Ah-Horizonten noch nicht vollständig zu anorganischer Substanz zersetzt und bildete so mit dem eigentlichen Substrat die Humusschicht. Je nach Standort war der Ah-Horizont mehr oder weniger von Wurzeln durchzogen (Kap.2.2). Die Laubauflage im Kauriwald war zwar verhältnismäßig spärlich, die Wurzelmatte dagegen aber sehr mächtig (ca.8-10cm). Die Bodenauflage der Wälder im Pureora Forest und Tongariro National Park verfügte über größere Mengen an Flechten, Schachtelhalmen und Moosen. Generell waren die Laubauflagen und Bodenvegetationen artenreicher als im Kauriwald, wobei der vermehrte Unterwuchs durch mehr Lichteinfall begünstigt war.

Die Böden im Waipoua Forest sind stark sauer, wohingegen die beiden anderen Standortböden nur sauer sind.

Die Versorgung mit Stickstoffen ist in allen drei Wäldern relativ gleichwertig, wobei die gemittelten Werte zwischen 0,48 bis 0,56% lagen. Die gemittelten C/N-Werte der einzelnen Standorte (Tab.3) zeigen relative Unterschiede. Jedoch war es in beiden Fällen nicht möglich, bzw. nicht sinnvoll, zu testen, ob diese Werte sich signifikant voneinander unterscheiden, da zu wenig an Rohdaten vorlagen (Tab.3). Die unterschiedliche Versorgung an Nährstoffen könnte ein Faktor bilden, warum es bei den Untersuchungen zu unterschiedlichen Zusammensetzungen an Hefearten (vgl. Kap.3a) kam. Die geringen C/N-Verhältnisse (Tab.3), die alle unter dem Wert 25 liegen, weisen auf einen nährstoffarmen Boden hin

(www.wau.boku.ac.at). Zudem ist es möglich, dass die unterschiedliche Mächtigkeit der Wurzelmatte bzw. Rhizosphäre ein entscheidender Grund dafür ist. Die Faktoren Wurzelmächtigkeit, pH-Wert und Nährstoffgehalt tragen vermutlich entscheidend dazu bei, dass sich die Habitate unterschiedlich in Bezug auf die Hefearten, deren Häufigkeiten und deren Abundanzen zusammensetzen.

4.3 Fazit

Die Faktoren Niederschlagsmengen, Wurzelmächtigkeit, pH-Wert und Nährstoffgehalt sind vermutlich die Ursache, dass sich in den Böden der drei Standorte verschiedene Hefegesellschaften gebildet haben. Nahezu die Hälfte der isolierten Arten ist fähig, bei nährstoffarmen Bodenbedingungen eine schützende exopolymere Kapsel auszubilden. Dabei handelt es sich um sechs der insgesamt 14 isolierten Arten, die den Gattungen *Cryptococcus* und *Debarymyces* angehören. Da es sich bei allen untersuchten Standorten generell um nährstoffarme Böden handelt, bestätigt das vermehrte Auftreten gerade dieser gut angepassten Organismen die eigenen Funde.

4.4 Literaturverzeichnis

- Botha, A.**(2006): Yeasts in Soil. In: Rosa, C., Péter, G.: Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, S. 221-241
- Brooking, T.** (2004):The History of New Zealand. Greenwood Press, Westport Conn
- Cypionka, H:** (2006), Grundlagen der Mikrobiologie, 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin
- di Menna, M.** (1964): Yeasts in New Zealand soils. New Zealand Journal of Botany 3, Wellington S. 194–203
- Fell, J.,** Boekhout, t., Fonseca, A., Scorzetti, G., Stratzell-Tallman, A. (2000): Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. In: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Ausgabe 50,Greatbritain, S.1351-1371
- Gray, T., Williams, S.** (1979): Soil micro-organisms. Longman, London
- Gadanho, M., Sampaio, J.** (2002): Polyphasic taxonomy of the basidiomycetous yeast genus *Rhodotorula sensu stricto* and *Rh.dairenensis* comb. nov. In: FEMS-Yeast Research 2, Elsevier Verlag, S. 47-58
- Kimura, Y.,** Nakano, Y., Fujita, K., Miyabe, S., Imasaka, S., Ishikawa, Y., Sato, M. (1998): Isolation and characteristics of yeast able to grow at low concentrations of nutrients. Yeasts 14: S.233–238
- Ko, W., Lockwood, J.** (1976): Soil fungistasis: relation to fungal spore nutrition. Phytopathology 57:S. 894–901
- Kurtzman, C., Fell, J.** (1998): The yeasts, a taxonomic study, 4.Auflage. Elsevier, Amsterdam, S. 742–767
- Malberg, H.** (1997): Meteorologie und Klimatologie. 3.Auflage, Springer Verlag, Berlin
- Phaff, H., Miller, M., Mrak EM** (1966): Ecology, Kap. VIII. In: Phaff, H., Miller, M., Mrak, E. The life of yeasts. Harvard University Press, Cambridge, S. 93–123
- Reed, A.H.,** (1964): The Story of the Kauri. Reed, A.H. und Reed, A.W., Wellington
- Schellhorn, M.** (2004): Natur Neuseeland, BLV Verlagsgesellschaft, München
- Smitz, P.** (2004): New Zealand. Lonely Planet Publications, Footscray (Australien)
- Spencer, J., Spencer, D.** (1997): Ecology: where Yeasts live. In: Spencer, J., Spencer, D.: Yeasts in natural and artificial habitats. Springer, Berlin Heidelberg New York, S. 33–58
- Williams, S.** (1985): Oligotrophy in soil: fact or fiction. In: Fletcher, M., Floodgate, G. Bacteria in their natural environments. Academic, London, S. 81–110
- Yarrow, D.** (1998): Methods for the isolation, maintenance and identification of large subunit D1/2 and internal transcribed spacer rDNA regions. In. The Yeasts – a taxonomy study, Auflage 4, Elsevier Verlag, S.77-100
- Young, I., Crawford, J.** (2004): Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. Science 304: S.1634–1637

Dokumente aus dem Internet in URL - Adressen

Einleitung:

Landcare Research New Zealand:

<<http://nzflora.landcareresearch.co.nz/default.aspx?NavControl=search&selected=NameSearch>>

New Zealand Communities:

<http://www.communities.co.nz/Waipoua_Forest>

Explore TeAra: The Encyclopedia of New Zealand:

<<http://www.teara.govt.nz/ENZ-Utility/Search>>

Agricultural Research Service:

<<http://nt.ars-grin.gov/sbmlweb/OnlineResources/SeedsFruits/rptSeedsFruitsFamData.cfm?thisFamily>>

Nationalmuseum Te Papa New Zealand:

<<http://collections.tepapa.govt.nz/objectdetails.aspx?oid=731433&coltype=plants®no=sp063894&term=Freycinetia+banksii>>

Gymnosperm Datenbank:

<http://www.conifers.org/topics/sw_nz.htm>

Metservice New Zealand:

<<http://www.metservice.com>>

100% Pure New Zealand:

<<http://www.newzealand.com/travel/de/about-nz/nature/nature-climate-and-weather.cfm>>

National Institute of Water & Atmospheric Research:

<<http://www.niwa.cri.nz/edu/resources/climate/overview>>

Frings Bio- und Pharmatechnik:

<<http://www.frings.com>>

Department of Conservation New Zealand:

<www.doc.co.nz> Suchoptionen

Google Earth:

<<http://earth.google.de/download-earth.html>>

Hauptteil:

NCYC Datenbank:

<http://www.ncyc.co.uk/view_photo.php?yeast_id=CBS159B>

Und weitere Links aus der NCYC-Datenbank; alle Fotos der Abbildungen 26-35 sind dem mikroskopischen Fotoarchiv (erstellt von Linda Barnett) der NCYC-Webseite entnommen.

Bodenweb:

<<http://gidw-os.nibis.de/Bodenweb/eigensch/temp.htm>>

Meteomedia AG:

<<http://wetterstationen.meteomedia.messnetz/index.html>>

CBS Fungal Biodiversity Center:

<www.cbs.knaw.nl>

National Center for Biotechnology Information:

<www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>

Universität für Bodenkultur Wien:

<www.wau.boku.ac.at/fileadmin/_/H815-hydraulik/Skripten/LKWW/Stickstoffkreislauf.pdf>

Alle hier aufgeführten Internetseiten wurden am 18. Juli 2008 auf Aktualität hin überprüft.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurden Bodenproben aus Primärwäldern der Nordinsel Neuseelands auf ihre Diversität an Hefen untersucht. In die spezielle Auswahl fielen drei Standorte, in denen entweder die Baumart *Agathis australis*, Bäume der *Podocarpaceen* oder der *Nothofagaceen* dominierten. Über morphologische Methoden wurden aus den Bodenproben Hefen isoliert und in Reinkultur gebracht. Anschließend wurde aus jeder Reinkultur die DNA extrahiert, danach amplifiziert und schließlich sequenziert. Dabei wurden die Hefestränge gewählt, die sich in ihren Bandenmustern voneinander unterschieden. Die sequenzierten D1/D2-Sequenzabschnitte wurden mit anderen bereits veröffentlichten Basidio- und Ascomyceten Sequenzen verglichen, um die Arten eindeutig zu bestimmen. Die identifizierten Hefearten befinden sich phylogenetisch innerhalb der Gattungen *Trichosporon*, *Sporobolomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces* und *Cystobasidio*. Dabei ist die Hefegesellschaft des Waipoua Forest vor allem von der Art *Cryptococcus ramirezgomezianus* geprägt. *Cryptococcus laurentii* dominiert dagegen die Böden des *Pureora Forest* und *Trichosporon porosum* die Böden des Tongariro National Park. Sechs von den insgesamt 14 Hefen sind potentielle Bioindikatoren für die vorherrschenden nährstoffarmen Böden. Es konnte nachgewiesen werden, dass sich die Zusammensetzungen der drei Hefegesellschaften, in ihren jeweiligen Abundanzen und relativen Häufigkeiten (einiger Arten), voneinander unterscheiden. Auffallend hohe Werte der Abundanz und relativen Häufigkeit einzelner Arten lassen darauf schließen, dass das Substrat Boden diesen Hefen als natürliches Habitat dient.

Abstract

This thesis describes the diversity of yeasts in soils of primary forests of New Zealand's Northisland. Three sites were chosen, which differ in their tree composition. The forests are dominated either by *Agathis australis*, *Podocarpaceae* or *Nothofagaceae* species.

After using morphological methods for isolating yeasts out of the collected soil, the yeast colonies were put into pure cultures. Chosen species were determined by sequence analysis of D1/D2 regions of the rDNA. This data was compared with published sequences of other basidiomycetous and ascomycetous fungi. The results demonstrate that the yeast species are phylogenetically distributed among the genera *Trichosporon*, *Sporobolomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces* and *Cystobasidio*. The composition of yeasts within the Waipoua Forest is dominated by *Cryptococcus ramirezgomezianus*. *Cryptococcus laurentii* is the most frequent yeast in the *Pureora Forest*. In the soils of the Tongariro National Park *Trichosporon porosum* is the dominating yeast. The three yeast communities differ in their composition based on data of frequency and abundance. Out of 14 isolated species there are six which naturally live in poor soils similar to the analysed soils. This is approved by high abundance and frequency.

6. ANHANG

a) Sequenzen der isolierten Hefen

AJ 22 *Trichosporon wieringae*

CTATATCCATATACACCTGTGAACCGTTTGATTGACTCTTCTGAGTTGATTTTACAAACATTGTGTAATGAACGCTAGTTATTA
TAACAAAAATAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAACTTGGCTCTCTGGTATTCCGGAGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCTAG
AAATCTCAACCATTAGGGTTTCTTAATGGCTTGGATTTGGGTGTTGCCAGTCTCTGGCTCGCCTTAAAGGAGTTAGCGAGTTT
AACATGTCCTCTGACGTAATAAGTTTCGTTGAAAGGCTTGTGAAGTTTGTCTTAATCGTCTTCGGACAATTACTTTGACTC
TGGCCTCAAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGgAgAa

AJ 29 *Cryptococcus ramirezgomezianus*

CTATATCCCAACACCTGTGGAACCTGTTGAACCGAAAGGTTCTTTACAAACATTGTGTAATGAACGTCATAACATTATAACAAA
ACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATT
CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAACTTGGCTCTCTGGTATTCCGGAGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCTAGTCTCTCA
ACCAATAGGGTTTCTTATTGGCTTGGATCTGGGTGCTGCCAGCTTGTCTGGCTCGCCTTAAAGGAGTTAGCGAGTATAGCAAT
GTCGCTGGCGTAATAAGTTTCGCTGGGTTGACGTGTGAAGCACGCTTCTAATCGCCCTCGGGCAATTTTACTCTGGCCTC
AAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

AJ 36 *Candida sake*

CaCaCATGTtTTTTAGAGAAGCTTGTGCAAGAACAATAAATTTACTTAGTCAACCAATAAAAAATCAAAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGGTTCGCGATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTAATCATCGAA
TCTTTGAACGCACATTGCGCCCTGTGGTATTCCACAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCAATTTCTCCCTCAAACTCTGGTTGG
CGTTGAGTGATACTCGTACTTGAATATATGAAAAGCATAACTATTAGGTTTACCAACTCGTTATACTAATCTACAAGTTT
GACCTCAAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

AJ 38 *Rhodotorula fujisanensis*

TACTTCGGTTAGCTCAACCTTCATTTTCCAACCTCTGTGCACTATTGGCGGACTGGGAGCAAGTAATTGCTATTAGTCTGCGG
CTCACTATTAACATTAGTTAAAGTATGTATATAAAAAACAAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCG
ATGAAGAACGCAGCGAAATGTGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTC
TCTGGTATTCCGGAGAGCATGTCTGTTGAGTGTCTGAACCTTCAACCTACCGATTTCTAGTAAATCGGATTAGTGTGGGA
TTTTGAACGCTTGTGCTGCCCCCTTTATTGGCGAAGCTCGTTTCGTAATGATTAGCATCTCATATTCGAAAATCGGATTGACTCAGT
TAATAGACTATTGCTGAGGACGCTCTTTCGGGAGTGGCCGAGTTTTGTAAGTAGAAGCTTCTAATTTCTATTAGTCAACTTTA
GATTAGACCTCAGATCAGGCAGGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGTA

AJ 40 *Saccharomyces spencerorum* (Kazachstania)

AATCGTTAAGGATTTATTGGGGAGCCTGAGCCAGTAGGAGTTCATGGCCCTGCGCTTAATTGCGCGTTCAAGAGCTGCTTC
CGGGTCTAGTTCTAATTCAAACTGATATTTCTGAGACTTTTTCTAACTACACACTGTGGAGTTTTTCTTTACTCTTTCTTTG
GGATGCAAGTCCCAGAGTACACAAACACAAACAACTTTGTAATTTTTACTAGTCAAAAATATTGTTTTAATTAACATTCAAA
TATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAG
AATCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCCAGGGGcATGCCTGtTTGAGCGiCATTTCCTT
CTCAAACTTGTATTTGGTTGTGAGTGATACTCTGTTGAGTTAGCTTGAATTTGCTGGcCGTACTGTGTCTTTTGCAAAATGAT
ATTTCTTTTTCGGAA

AJ 45 *Debaryomyces hansenii*

TGGGAAGTTAAAAAGTCGTAACAAGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTTTGCCAGCGCTTAA
TTGCGCGGGCGAAAAACCTTACACACAGTGTTTTTGTTATTACAAGAACTCTTGGCTTTGGTCTGGACTAGAAATAGTTTGGGC
CAGAGGTTTACTAACTAACTCAATATTTATATGAAATGTTATTTAATTTAATTGTCAATTTGTTGATTAATCAAAAAATCT
TCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGAATTCAGATT
TTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCAATTTCTCTC
AAACCTTCCGGTTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCAACTAGGCGTTTGTGAAATGTATTGGCATGAGTGGTACTGGAT
AGTGCTATATGACTTTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTTGAATAGTTAATGGTATATTTCTCGGTATTCTAGGCTCGGC
TTACAATATAACAAACAAGTTTGACCTCAAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATA

AJ 57 *Sporobolomyces ruberrimus* (pigmentiert)

CTTGGACCCGAACCTTCTCAATTCTAACTTTGTGCATCTGTATTATGGCGAGCAGTCTTCGGATTGTGAGCCTTCACTTATAAC
ACTAGTCTATGAATGTAAAATTTTTATAACAAATAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCATCTTGGCTCTCTGGTATTCCG
GAGAGCATGTCTGTTGAGTGTCTAGTAATTTCTTCAACCAACTTTTTCTTGTAAATCGATTGGTGTGGATTGAGCGCTGCT
GGCTTCCGCTAGCTCGTTCGTAATACATTAGCATCCCTAATAAAGTTGGATTGACTTGGCGTAATAGACTATTGCTAAG
GATTCGGTGGAAACATCGAGCCAACCTCATTAAAGGAAGCTCCTAATTTAAAAGTCTACCTTTTGATTAGATCTCAAAATCAGGCA
GGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAG

AJ 74 *Trichosporon porosum*

CTATATCCATTTACACCTGTGAACCGTTTGATTGACACTCTGTGTTGATTTTACAAACAATATGTAAGAAAGTCAAGTTATTAT
AACAAAAATAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAACTTGGCTCTCTGGTATTCCGGAGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCTAG
AAATCTCAACCATTAGGGTTTCTTAATGGCTTGGATTTGGAGTTTGGCAGTCTCTGGCTCGCCTTAAAGGAGTTAGCGAGTTT
AACAAATGTCGCTGGCGTAATAAGTTTCGCTGGTAAGACTTGTGAAGTTTGTCTTAATCGTCTTCGGACAATTACTTTGACTC
TGGCCTCAAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

AJ 102 *Candida melibiosica*

ACTATTCAATTAACCTTTACAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGAT
ACGTAATGACCTGCAGACGTGAATCATTGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCTTGAGGTATTCTCAAGGCATGCCTGTTT
GAGCGTTGGTTAACCTCTCCTACCCCTAGGGGGCCTTGGTTCCAAATATCGCTCGCACTGTTTCTAAGCTAACAGCGCATTTC
ACCCCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGGATCATTAATAAaAATTacTACAC
TGTTTTGTAACAAAATTAcCAAACCTTTACTATTCAATTAACCTTACAATCAAAACTTTCAAA

AJ 115 *Trichosporon multisporum*

CTTAECTATATCCATCTACACCTGTGAACCGTTTGATTGAATCTCTGATTCAATTTTACAAACATTGTGTAATGAACGTCATTAG
ATCATAACTAAAAAACTTTTAAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAACGCAACTTGGCCTCTCTGGTATTCCGGAGAGCATGCCTGTTTGAGTGT
CATGAAATCTCAACCATTAGGGTTTCTTAATGGCTTGGATTTGGAGGTTGCCATTCTGAATGGCTCCTCAAAAAGAGTTAGCG
AGTTTAACTATTGCTATCTGGCGTAATAAGTTTCGCTGGAATGGTATTGTGAAGCGCGCTTCTAATCGTCTTCGGACAATTACT
TTGACTCTGGCCTCAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

AJ 129 *Cryptococcus fragicola*

CGTAGTGACCTGCGGAGGWCATTAGTGATTGCCCTCGGGCGTTAACTATATCCATAACACCTGTGAACCGTTTGATTGACC
TTAACGGGTTGATTTTACAACATTGTGTAATGAACGTAATTTTATTATAACAAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTC
TCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAAC
TTGGCCTCTCTGGTATTCCGGAGAGCATGCCTGTTTGAGTGTGATGAAATCTCAACCACTAGGGTTTCTAATGGATTGGATT
TGGGTGTTGCCAGCTTGCTGGCTCGCCTTAAAGGAGTTAGCGAGTATAGCAATATCGTCTGGCGTAATAAGTTTCGCTGGTA
AGATTTGTGAAGCAGCTTCTAATCGCCCTTGGGCAATTTTGTACTCTGGCCTCAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCT
AAGCATATCAATAA

AJ 130 *Rhodotorula graminis* (pigmentiert)

ACTTGGAGTCCGACTCTCACTTTCTAACCTGTGCATCTGTTAAATTTGGACTAGTAGCTCTTCGGAGTGAACCGCCATTCACTT
ATAAACACAAAGTCTATGAATGTATACAAATTTATAACAAAACAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAA
GAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAACCTTGGCTCCTGG
TATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTGATGAAATCTTCAACCCACCTCTTTCTTAGTGAATCTGGTGGTGTGCTTGGTTTCTG
AGCGCTGCTCTGCTTCCGGCTTAGCTCGTTCGTAATGCATTAGCATCCGCAACCGAACCTTCGGATTGACTTGGCGTAATAGACT
ATTCGCTGAGGATTCTAGTTTTACTAGAGCCGAGTTGGGTTAAAGGAAGCTCCTAATCCTAAAGTCTATTTTTGATTAGATCT
CAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAagCGGAGGA

AJ 131 *Cystofilobasidium infirmo-miniatum* (pigmentiert)

CCCCTGTGCACTTTGGCTGCCGCTTCATTGCGGTGGTCTTTTATAATTACCATACCCATATACACAAGTCAATTGAATGTAATAA
CGTTATAAACTAATAAATTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGATAAGTAATGT
GAATTTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCATCTTGGCCTCTTTGGTATTCCGAAGAGCATGCCTGTTTGAGTGT
CATGAAACTCTCACCTGCAGCACTCTTTATTAGAGGGCTGGAGCGTGGACGTGAGTGTCTGGTGCCTCGCTGCATCGG
CTCACTTGAATTTTATTAGCTGAATCCTCTAGTGTGGTTCTACTCGACGTGATAAGATCTCCGTCGAGGACAGTCTCCTTGT
GGGCGTTGGCCACTGCTAGCTGTTGATACGCTCCTAATTAGCGCAGACTTCGAGTGTGGCAACTTTTGACAACCTTGGCCTC
AAATCAGGTAGGACTACCCACTGAACCTAAGCATATCAA

AJ 141 *Cryptococcus laurentii*

CTGTGGACCTCCGGGTCTATTTAAACAaACATCAGTGTAAATGAACGTATATATCATTAAACAAAACAAAACCTTTCAaCAACGGATC
TCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACCTTGGCCTTTTGGTATTCCgAAAGGcATGCTGTTTAgTGTGCATGAAATCTCAATCCCTGGGTTTATGATCTGG
GTCGGACTTGGAAATGGGCGTCTGCCGGTACACGGCTCGCCTCAAATGACTTAGTGGATCTCTCTGCATCCGTGACAGACG
TAATAAGTTTCTGCTTGTCCCTTGCTTATGAGTCTGCTCATAACCTGCCATCGCGCACTTTTAGACTCTGACCTCAAATCAGGT
AGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

b) Messdaten

Probe	Einwaage[mg]	N _{total} [%]	C _{total} [%]
P 1	6,00	0,40	4,55
P 2	4,88	0,70	4,60
W 1	5,89	0,47	10,89
W 2	4,69	0,48	11,74
W 1	4,78	0,55	7,17
T 2	4,47	0,57	7,38
T 3	4,48	0,56	7,27

Tab.4: C/N-Werte

Waipoua Forest	Tongariro National Park	Pureora Forest
4,25	5,74	4,90
4,09	5,77	4,51
4,22	5,75	4,64
4,53	5,48	4,44
3,80	5,39	5,15
4,23	6,80	5,72
3,79	5,54	5,14
4,22	5,49	5,30
3,95	5,73	5,25
4,32	6,15	5,12
4,27	5,94	4,97
4,18	5,71	4,47
4,16	5,74	4,58
4,52	5,45	4,45
3,81	5,36	5,22
4,24	6,70	5,72
3,87	5,47	5,09
4,19	5,47	5,24
3,97	5,45	5,14
4,30	5,88	5,05

Tab.5: pH-Werte

Waipoua Forest	Tongariro National Park	Pureora Forest
76650	4000	19350
7700	24500	35000
44700	40650	58200
209700	76950	14800
43000	9100	2700
112000	6550	0
26100	1650	0
104350	9650	0
32300	16150	0
21150	7500	14850
64500	4900	12300
6300	15850	43950
19000	72700	83900
149200	53600	27050
42200	0	7200
75200	3250	0
16400	1450	1350
24200	25150	0
4200	11000	0
10100	0	14200
100700	4350	12800
40800	28600	39350
9000	53850	14000
161600	52900	41650
33400	0	1100
99000	0	0
10650	0	950
30150	950	0
35400	0	0
2500	0	18100
40100	4350	7050
25100	69350	38050
14800	34050	101850
160650	94100	8000
3000	0	0
107500	2100	0
6650	0	0
50300	41700	338000
4400	0	350
10050	0	26000

Tab.7: Abundanzen in CFU/g

Relative Häufigkeiten Grundwerte in %

PLATTE	TUBE	PACK	Cr. ram	C. sa	Rh. fuj	D. han	Sp. rub	Rh. gr	Cy. inf	Tr. mul	Cr.me	Cr.la	Sa.sp	Cr.fr
ORIGINAL	P	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	P	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	P	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,85
COPY	P	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91
COPY	P	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	P	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	P	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,00
COPY	P	6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	P	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,11
COPY	P	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	P	9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	P	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	PB	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	62,50	9,77	0,00
ORIGINAL	PB	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,99	36,59	0,00
ORIGINAL	PB	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	57,14	15,71	0,00
ORIGINAL	PB	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	96,04	0,12	0,00
ORIGINAL	PB	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,45	0,00
ORIGINAL	PB	6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	PB	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	73,68	0,00
ORIGINAL	PB	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	PB	9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ORIGINAL	PB	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	44,20	27,62	0,00
COPY	PB	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	17,02	0,00	0,00
COPY	PB	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	52,56	0,00	0,00
COPY	PB	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
COPY	PB	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	PB	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	PB	6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	PB	7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	PB	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	48,52	0,00	0,00
COPY	PB	9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
COPY	PB	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	61,54	0,00	0,00

Tab.8: Werte für Pureora Forest

PLATTE	TUBE	PACK	Tr. po	Tr. wi	Cr. ram	C. sa	Rh. fu	D. han	Sp. rub	Rh. gr	Cy. in	Tr. mul	Cr. la	C. mel	Cr. fr
ORIGINAL	W	1	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0,11	0	0	0
ORIGINAL	W	2	0	0	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	3	0	0	0	0,74	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	4	0	0	99	0,19	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	5	0	0	5	0,55	0	0	0	0	0	0	0	93,02	0
ORIGINAL	W	6	0	0	0	3,82	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	7	0	0	49	6,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	8	0	0	100	8,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	9	0	0	99	1,55	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	W	10	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	W	1	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0,16	0	0,00	0
COPY	W	2	0	0	79	0	0	0	0	0	0	4,76	0	0	0
COPY	W	3	0	0	79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	W	4	0	0	87	0	0	0	0,09	0	0	0	0	8,58	0
COPY	W	5	0	0	95	0	0	0	0	0	0	0	0	2,84	0
COPY	W	6	0	0	93	0	0	0	0	0	0	0	0	4,26	0
COPY	W	7	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0,61	0	0	0
COPY	W	8	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0,21	0
COPY	W	9	0	0	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	W	10	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0,99	0	0	0
ORIGINAL	WB	1	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0,40	0
ORIGINAL	WB	2	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0,37	0	1,47	0
ORIGINAL	WB	3	0	0	44	0	0	0	0	0	0	0	0,41	44,44	0
ORIGINAL	WB	4	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0,06	0,19	0,25	0
ORIGINAL	WB	5	0	0	48	0	0	0	0	0	0	1,20	0	47,90	0
ORIGINAL	WB	6	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	29,23	5,05	0
ORIGINAL	WB	7	0	0	94	0	0	0	0	0	0	1,41	0	4,69	0
ORIGINAL	WB	8	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0,33	1,59	0	0
ORIGINAL	WB	9	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	1,82	0,28	0
ORIGINAL	WB	10	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	1	0	0	100	0	0	8,05	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	2	0	0	96	0	0	0,87	0	0	0	0,40	0	0	0
COPY	WB	3	0	0	34	0	0	0,46	0	0,09	0	0,68	0	0	0
COPY	WB	4	0	0	100	0	0	0,38	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	6	0	0	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	7	0	0	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	8	0	0	99	0	0	63,16	0	0	0	0,20	0	0	0
COPY	WB	9	0	0	91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	WB	10	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tab.9: Werte für Waipoua Forest

PLATTE	TUBE	PACK	Tr.po	Tr. wi	Cr. ram	C. sa	Rh. fu	D. han	Sp. rub	Rh. gr	Cy. in	Tr. mul	C. mel	Cr.la	Sa. sp	C r. fr
ORIGINAL	T	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	3	0	0	0	0,74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	4	0	0	0	0,19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	5	0	0	0	0,55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	6	0	0	0	3,82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	7	0	0	0	6,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	8	0	0	0	8,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	9	0	0	0	1,55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	T	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	1	71,43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	2	18,93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	3	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	4	2,15	0	0	0	0	0	0,09	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	6	61,54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	7	68,97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	8	1,39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	9	22,73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	T	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	TB	1	91,95	0	0	8,05	0	8,05	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	TB	2	5,59	0	0	0,87	0	0,87	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	TB	3	1,95	0	0	0,46	0	0,46	0	0,09	0	0	0	0,41	0	0
ORIGINAL	TB	4	1,13	0	0	0,38	0	0,38	0	0	0	0	0	0,19	0	0
ORIGINAL	TB	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	TB	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29,23	0	0
ORIGINAL	TB	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORIGINAL	TB	8	36,84	0	0	63,16	0	63,16	0	0	0	0	0	1,59	0	0
ORIGINAL	TB	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,82	0	0
ORIGINAL	TB	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	1	0	0	0	0	6,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	2	98,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	3	93,98	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	4	98,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	6	0	0	0	0	38,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	8	95,92	0	0	0	1	0	0,12	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPY	TB	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tab.10: Werte für Tongariro National Park

Besonderer Dank

Ohne die immense finanzielle Unterstützung meiner Eltern wäre es nicht möglich gewesen, dieses entfernte Paradies zu bereisen. Deshalb danke ich Ihnen hiermit nochmals besonders, da ohne diese Reise die Idee für das hier bearbeitete Thema gar nicht erst aufgekommen wäre. Meinem Reisegleiter, biologischen Komilitonen und Partner danke ich für seine tatkräftige und aufopfernde Hilfe beim Probensammeln, welches sich in den dichten Regenwäldern Neuseelands als sehr erschwerlich herausstellte. Meinen neuseeländischen Gasteltern, den Biologen King, bin ich dankbar, dass sie mir die neuseeländischen Arten näherbrachten und mir bei der Suche nach geeigneten Standorten zu Rate standen.