

Schlußfolgerungen aus dem Projekt “Biologische Reetzertifizierung”

W.-D. Jülich^{1, 2}, M. Borriss¹, R. Dosdall²,
V. Hahn², R. Schlüter², A. Quooß¹, J.-M. Greef³, K. Engemann¹, F. Schauer²

¹Nord_Reet UG
Wolgaster Straße 114
17489 Greifswald
Kooperationspartner:
Univ. Zahnklinik

²Institut für Mikrobiologie
Abteilung für Angewandte
Mikrobiologie
Friedrich-Ludwig-Jahn-Straße 15
17489 Greifswald

³Julius Kühn-Institut
Bundesallee 50
38116 Braunschweig

Faktoren, die die Qualität von Reet bestimmen

- Ausgewogenes Verhältnis von Elastizität und Bruchfestigkeit
- Geeignete Halmstärke
- Erntezeitpunkt
- Vermeidung von Transportschäden
- Widerstand der Reethalme gegen mikrobielle Zersetzung

Das Zusammenwirken von Cellulose und Hemicellulose mit Lignin (Cellulose-Lignin-Verbund) bedingt die besonderen Eigenschaften des Reets

Beim Reet werden die reißfesten biegsamen Cellulosefasern von dem dichten und starren Polymer Lignin als Füllmaterial durchdrungen.

Die Skerenchymfasern bedingen die hohe Zugfestigkeit des Reets

Durch das eingelagerte Lignin entsteht ein Material, das gleichzeitig eine beträchtliche Biegefestigkeit aufweist.

Zum Bruch kommt es bei einem Druck zwischen 5 und 50 N



Zugfestigkeit
zwischen
380 N und
450 N



Biegefestigkeit zwischen 5 und 50 N

Das schwer abbaubare Lignin-Cellulose-Verbund verleiht dem Reet auch seine hohe Widerstandsfähigkeit gegen mikrobiellen Abbau.

Der Aufbruch des Lignin-Cellulose-Verbundes ist ein sehr energieaufwändiger Prozess.

Nur wenige Pilze sind dazu fähig.

Von geschädigten Dächern wurden als Lignin-abbauende Pilze vorwiegend *Mycena*-Arten isoliert.

Pilze der artenreichen Gattung *Mycena* (Helmlinge) leben saprophytisch vorwiegend in Wäldern auf dem Boden oder an totem Holz.

Im Wald zersetzen sie in einem mehrjährigen Prozess am Boden liegende Nadeln und Laub und sind an der Zersetzung von Totholz beteiligt.

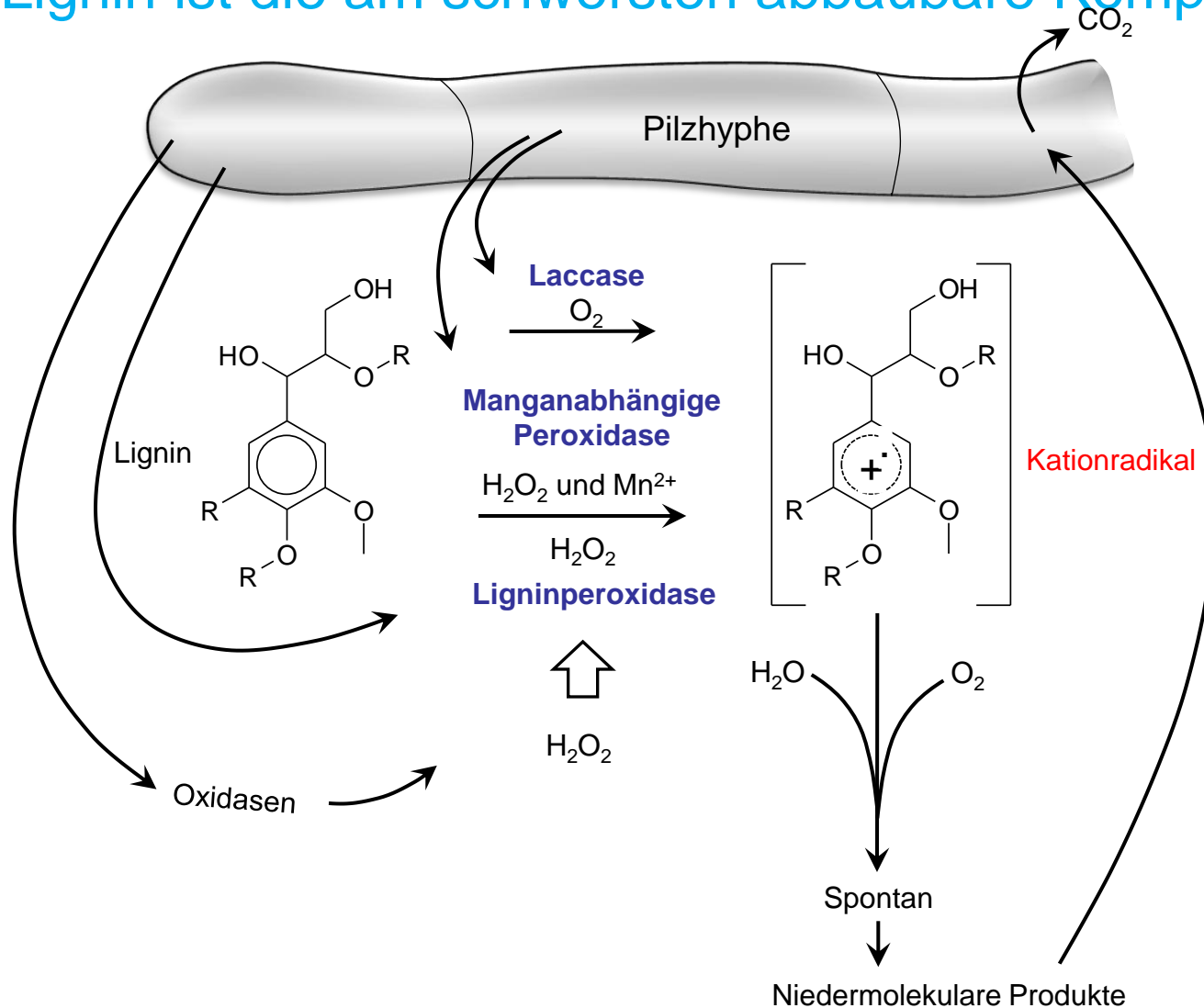
Sporen dieser Pilze befinden sich vom Frühjahr bis zum Herbst in der Luft und können auf Reetdächern abgelagert werden.

Einige Arten bilden biozide Wirkstoffe, um sich gegen Fraßfeinde und Nahrungskonkurrenten zu wehren.

Für den Aufbruch des Cellulose-Lignin-Verbundes sind Cellulose-, Hemicellulose- und Lignin-abbauende Fähigkeiten erforderlich

Pilz	Cellulose- Abbau	Hemicellulose -Abbau	Lignin- Abbau	Gewichtsabnahme in %	
				45 Tage	70 Tage
Kontrolle				0,4	0,4
Braunfäulepilze	+++	++	-	4,6	4,5
<i>Mycena epip.</i>	(+)	+	++	3,5	9,3
<i>Mycena metata</i>	++	+	++	1,8	13,7
<i>Mycena arcangeliana</i>	+	+	++	5,7	17,2
<i>Phlebia tremellosa</i>	+++++	+++++	+++	35,4	49,0
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	+++++	+++++	+++++	33,0	68,0

Lignin ist die am schwersten abbaubare Komponente



Der Lignin-Abbau ist ein radikalischer Prozess, der nur in wässriger Lösung stattfindet

Phasen des Reetabbaus

- Nach den sich aus unserem Projekt ergebenden Annahmen verläuft die Reetschädigung in 4 Phasen:
- Phase I: Besiedlung mit nicht zum Lignin-Abbau fähigen Pilzen und Bildung von Biofilmen.
- Phase II: Ansiedlung von Lignin-abbauenden Pilzen im Biofilm.
- Phase III: Abbau des Lignins, der Cellulose und der Hemicellulose.
- Phase IV: Reetzersetzung nach Abbau des Lignins (exponentielle Reetzersetzung)

Phase I der Reetzersetzung

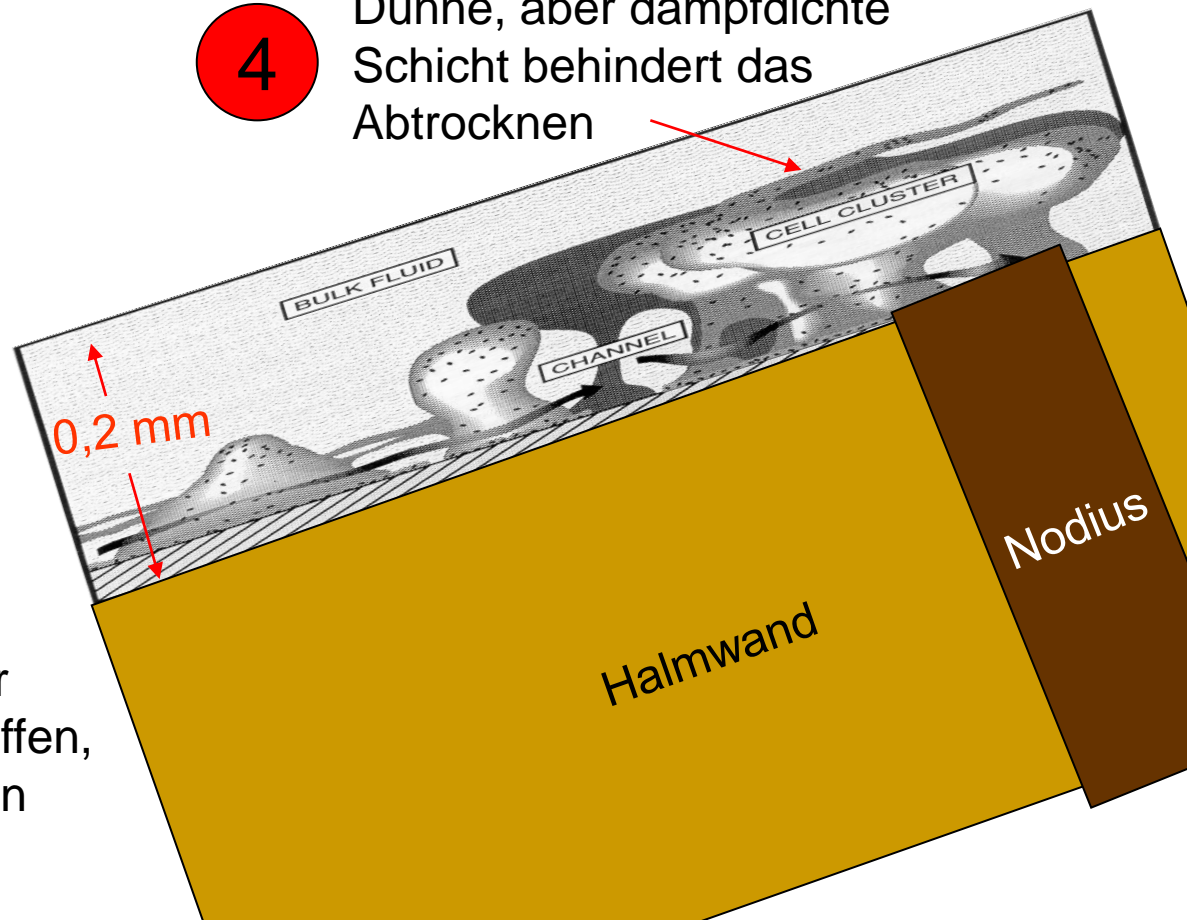
Ohne visuell erkennbare Reetschädigung

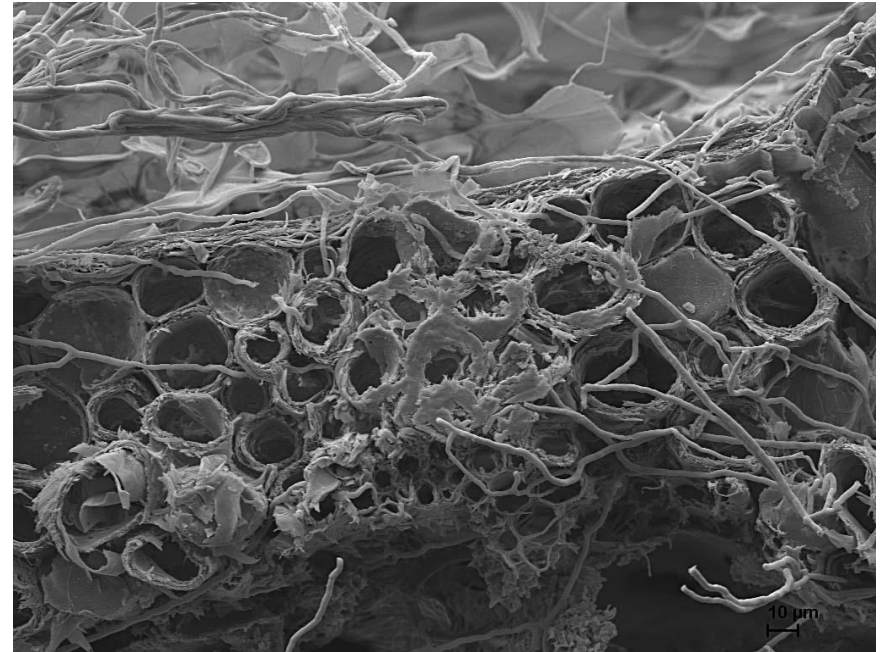
1 Reet dient als Haftgrund für die Ansiedlung von Algen, Bakterien und Pilzen

2 Die Mikroorganismen scheiden extrazelluläre polymere Substanzen aus und bilden einen Biofilm.

3 Der Biofilm lebt von aus der Luft eingetragenen Nährstoffen, teilweise von abgestorbenen Mikroorganismen

4 Dünne, aber dampfdichte Schicht behindert das Abtrocknen





Aus einem ausreichend kompakten Mycel diffundieren in den Halm

- Laccasen
- Manganabhängige Peroxidasen
- Lignin-Peroxidase und andere Exoenzyme

.

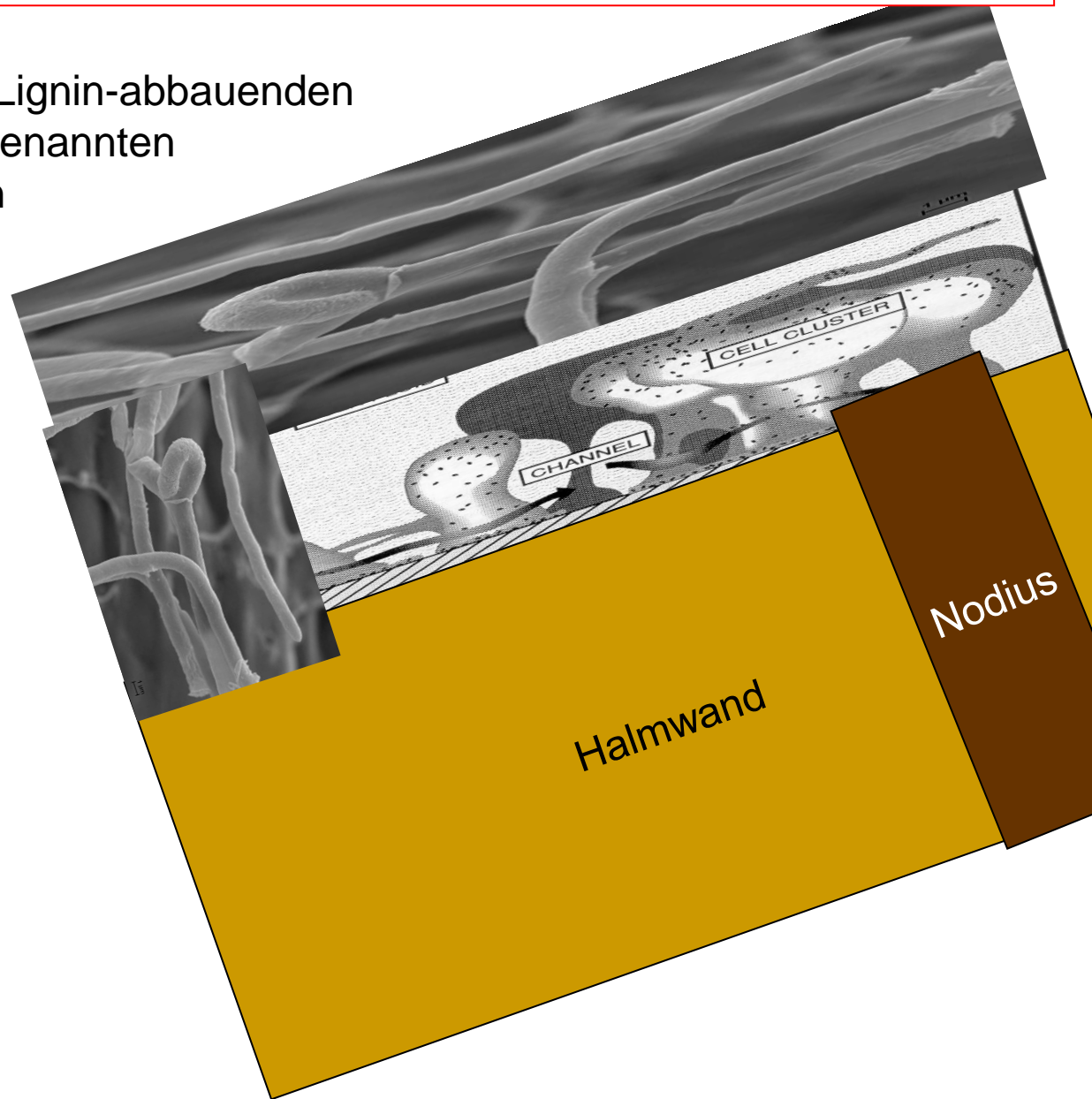
Damit wird die Phase II der Reetzersetzung eingeleitet.

Phase II der Reetzersetzung

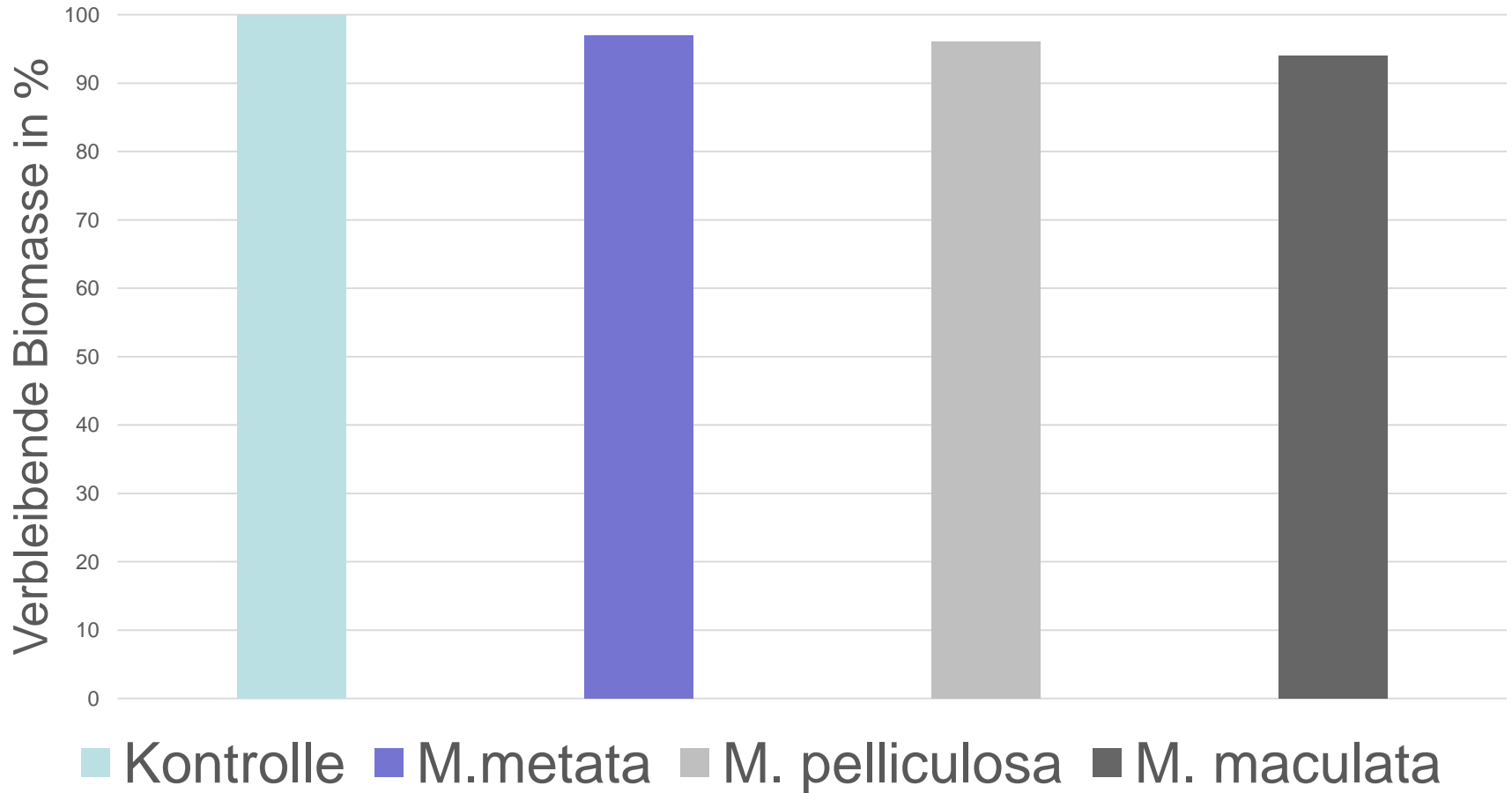
Eindringen von Lignin-abbauenden Pilzen in den Biofilm.

8

Bei Besiedlung mit Lignin-abbauenden Pilzen werden die genannten Enzyme abgegeben



In den ersten 45 Tagen ist der Abbau von Biomasseabbau durch diese Enzyme auch unter optimalen Laborbedingungen sehr gering (etwa 5 %)



Beispiele für den Lignin-Abbau in den ersten 45 Tagen

Nach Inkubation mit *Phlebia*

Ligninbestimmung nach Säure-Extraktionsaufschluss

Probe	Anfangs-Lignin-Gehalt	Lignin-Gehalt nach 45 Tagen
	Angaben in % pro Gewichtseinheit Trockenmasse	
R III	9,65	10,78
TSM	11,2	13,08
U	8,77	11,1

Nach der Lockerung des Cellulose-Lignin-Verbundes wird zunächst nur Cellulose und Hemicellulose abgebaut.

Der Lignin-Abbau beginnt erst nach dem Abbau von Cellulose und Hemicellulose

9 Lockerung des Cellulose-Lignin-Verbundes in dieser Phase

Der Nachweis einer Lockerung des Cellulose-Lignin-Verbundes durch diese Enzyme ist uns mit physikalischen Methoden gelungen.

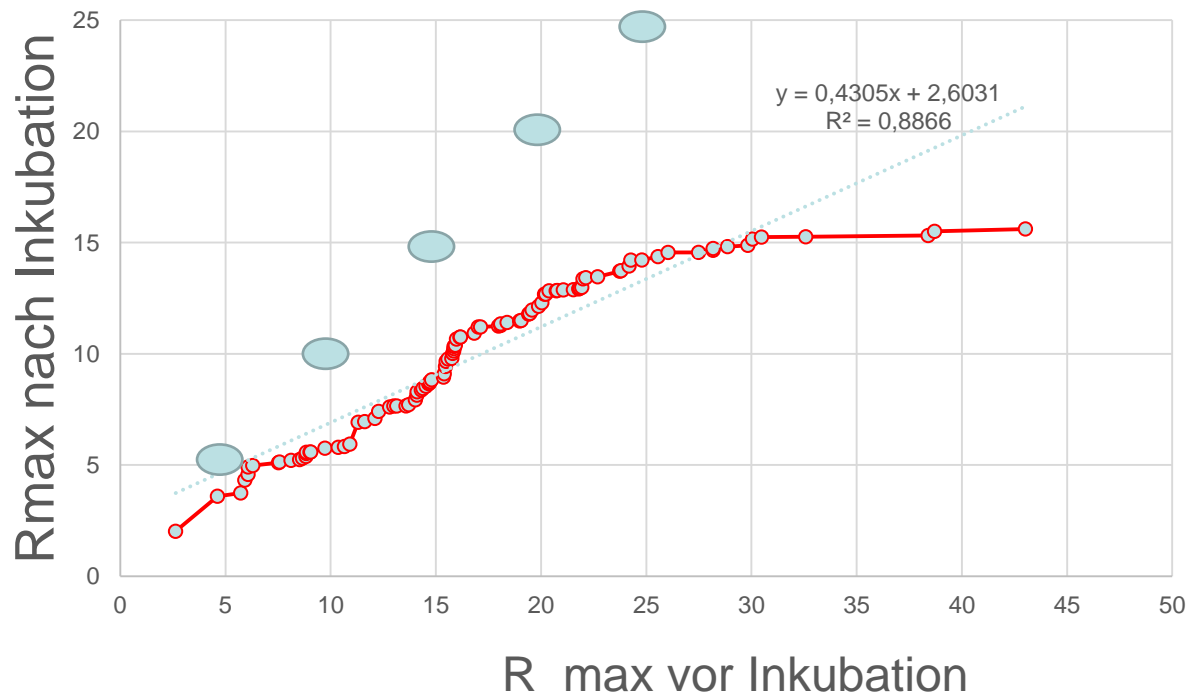
Rmax: Die höchste an der Elastizitätsgrenze zu ertragende Spannung

Die Elastizitätsgrenze **ϵ -Fmax**, die mit verschiedenen anderen Reetparametern korreliert.

Der **Reetbiegefaktor Q** ist das Verhältnis zwischen der Dehnung an der Elastizitätsgrenze **ϵ -Fmax** (in %) und der korrespondierenden Spannung Rmax.

Vorereignisse zeigen an, dass durch die wachsende Dehnung die Verbindung von Cellulose und Lignin verändert wird, ohne dass es zu einem Bruch kommt. Durch Vorereignisse wird die Elastizität des Halmes erhöht.

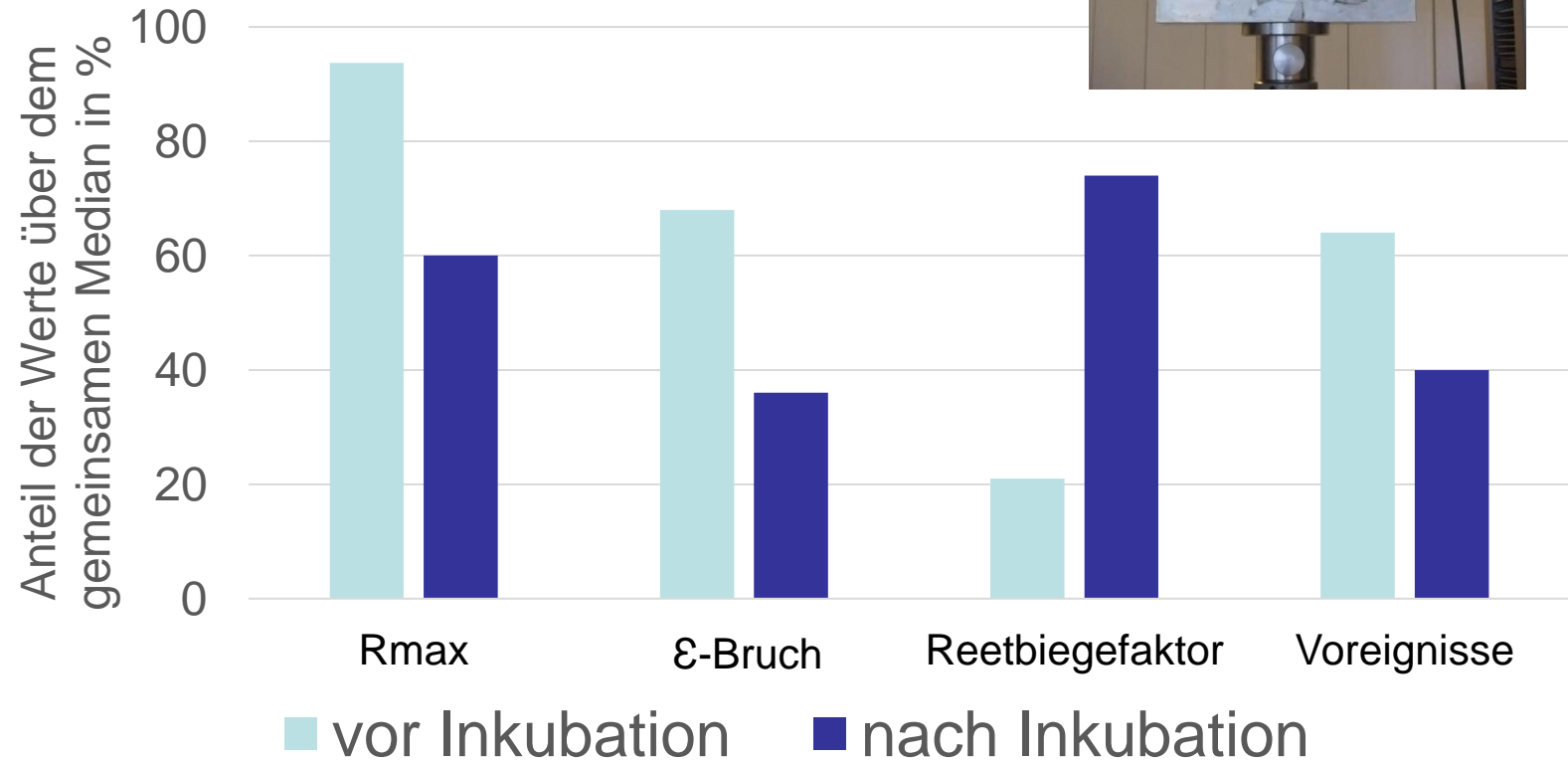
Die höchste an der Elastizitätsgrenze zu ertragende Spannung R_{max} wird bereits 1 Woche nach Inkubation mit *Phlebia* vermindert



Untersuchung an Reetproben aus verschiedenen Herkunftsländern

n = 110

Nachweis der Veränderung weiterer Reetparameter während der Phase II



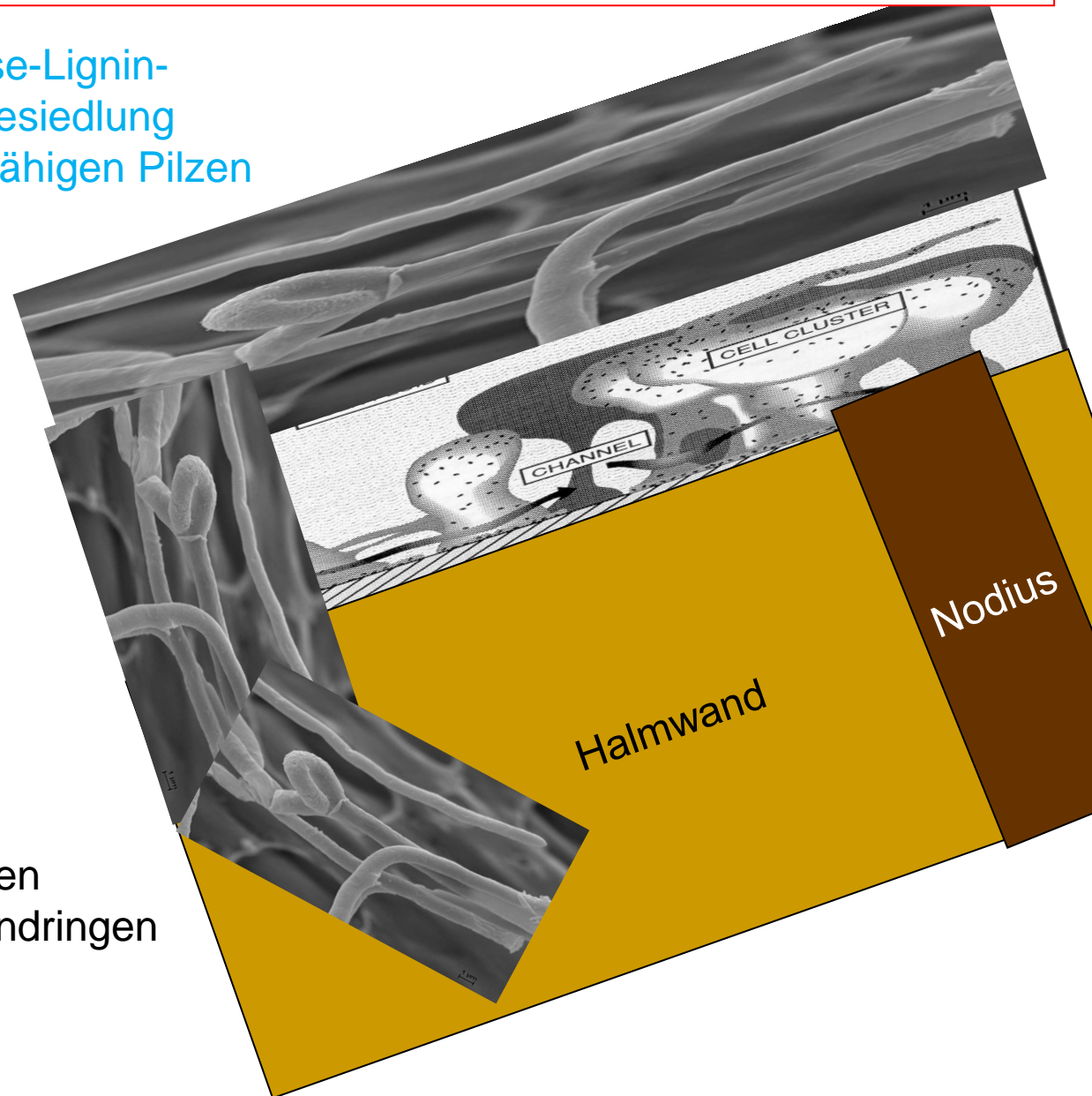
n = 110

Phase II der Reetzersetzung

Eindringen von Lignin-abbauenden Pilzen in den Biofilm.

9

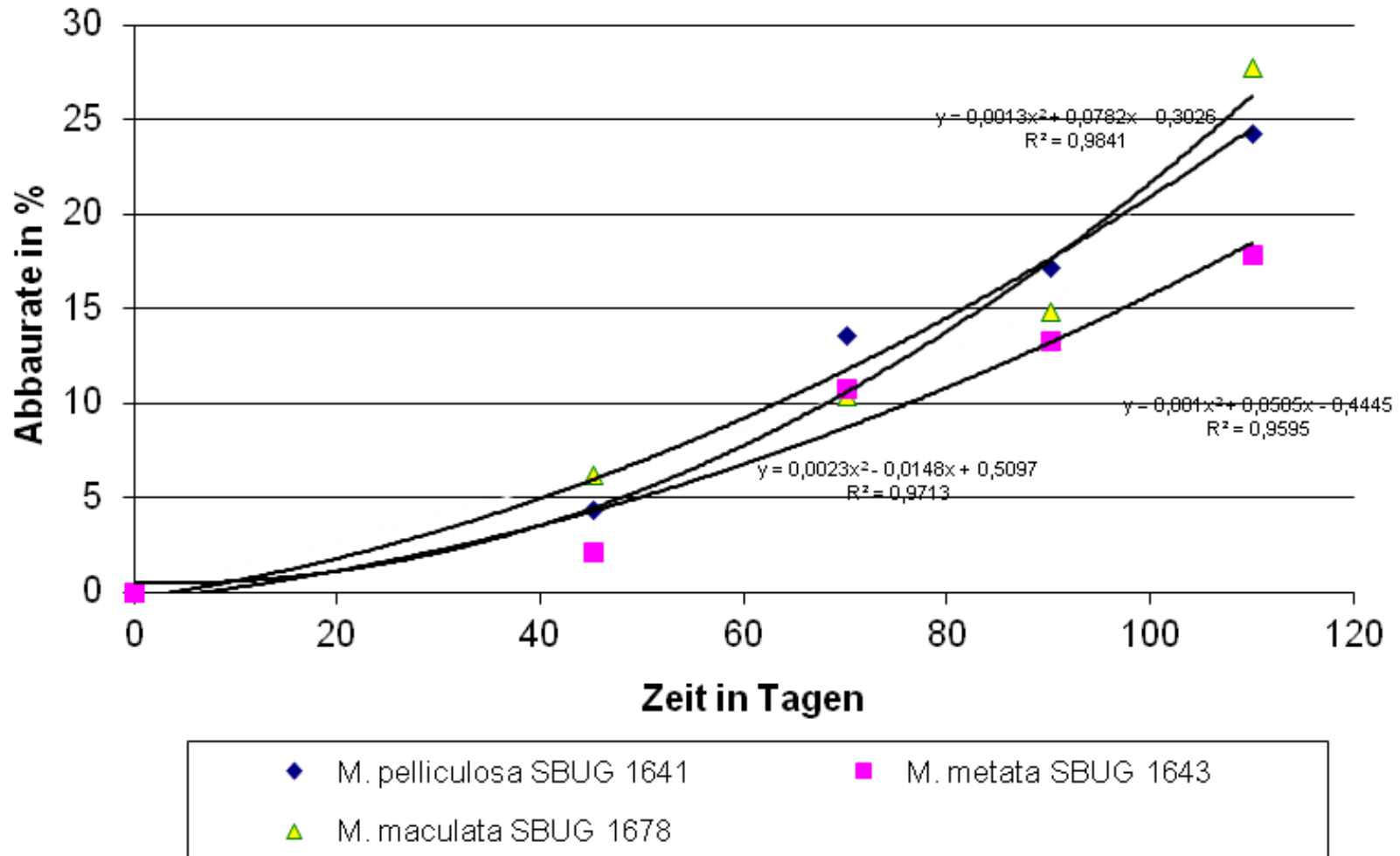
Lockerung des Cellulose-Lignin-
Verbundes durch die Besiedlung
mit zum Lignin-Abbau fähigen Pilzen



10

Diese Veränderungen
unterstützen das Eindringen
von Pilzhyphen

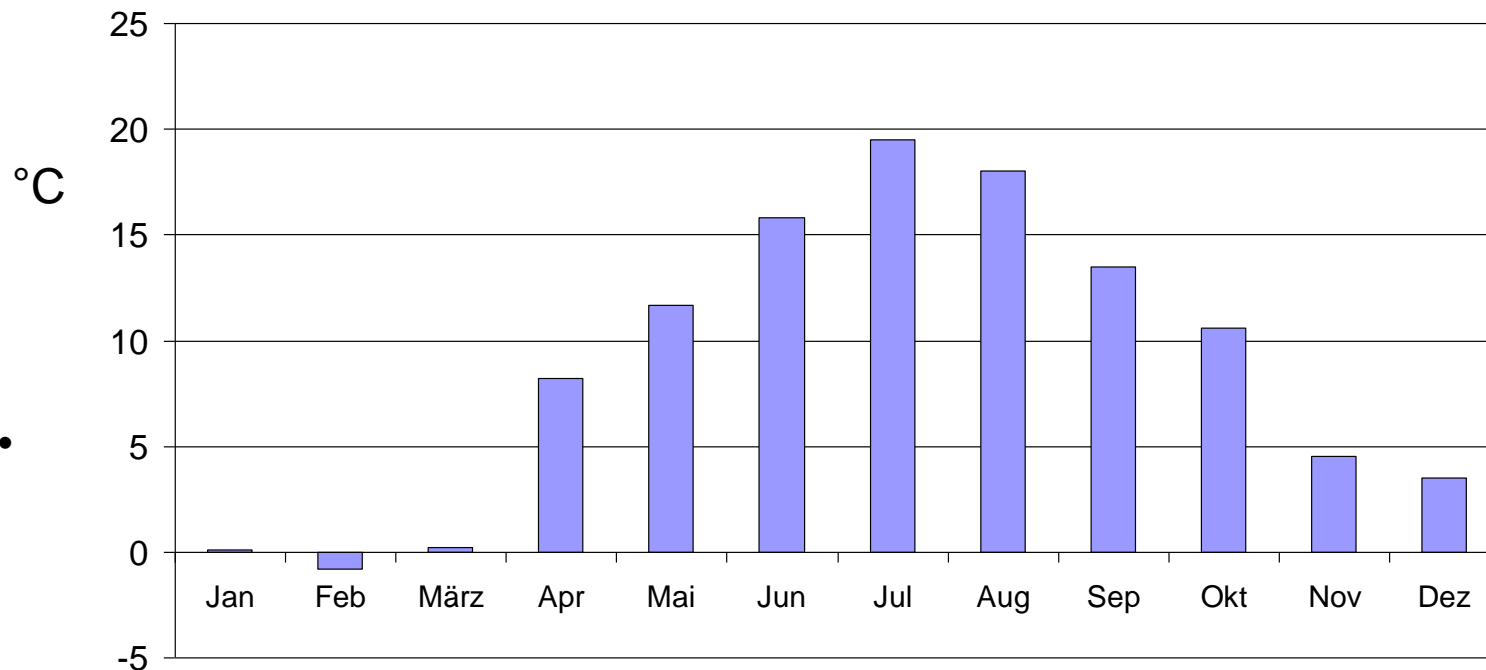
Ein Abbau von Reetkomponenten erfolgt nur sehr langsam



Der Reetabbau ist ein Wettlauf mit der Zeit

- Unter optimalen Bedingungen benötigen die von geschädigten Dächern isolierten *Mycena*-Arten 120 d, um einen Reetabbau von 25 % zu erreichen.
- Das Temperaturoptimum liegt bei 20 -25 °C.

Durchschnittstemperaturen 2013



Auf der Halmoberfläche wachsende *Mycena*-Pilze werden durch Hitze, UV-Strahlung, regelmäßige Reetpflege usw. inaktiviert.

- Für die Reetzersetzung durch *Mycena* steht nur eine begrenzte Zeitspanne im Jahr zur Verfügung, bei der die Temperaturen eine Pilzvermehrung ermöglichen
- Ein Überleben während der Hitzeperioden ist nur in Schattenbereichen bzw. im geschützten Halminneren möglich.

Fazit der Untersuchungen zur Phase I und II

- Die Besiedlung mit zum Lignin-Abbau fähigen Pilzen erfolgt zufällig.
- Durch Ausscheidung von Enzymen können Lignin-abbauende Pilze den Cellulose-Lignin-Verbund lockern.
- Dadurch werden Reeteigenschaften verändert, bevor es zu einem signifikanten Abbau von Reetbestandteilen kommt.
- Eine Lockerung des Cellulose-Lignin-Verbundes begünstigt das Eindringen von Pilzhyphen.
- Wahrscheinlich führt erst eine wiederholte Besiedlung mit Lignin-abbauenden Pilzen zu einem Übergang in Phase III.

Schlussfolgerung

Obwohl in der Phase I bzw. II keine visuellen Schäden erkennbar sind, sollten auf Grund der von uns nachgewiesenen Veränderungen in der Reetstruktur bereits zu diesem Zeitpunkt vorbeugende Maßnahmen ergriffen werden.

Maßnahme	Ziel	Bemerkung
Regelmäßige Säuberung und Festigung des Reetdaches	Durch die Beseitigung verwitterter Halmenden werden die wichtigsten Eintrittspforten Lignin-abbauender Pilze beseitigt.	Kostengünstigste Maßnahme, die die Lebensdauer eines Daches um ein Vielfaches verlängert.

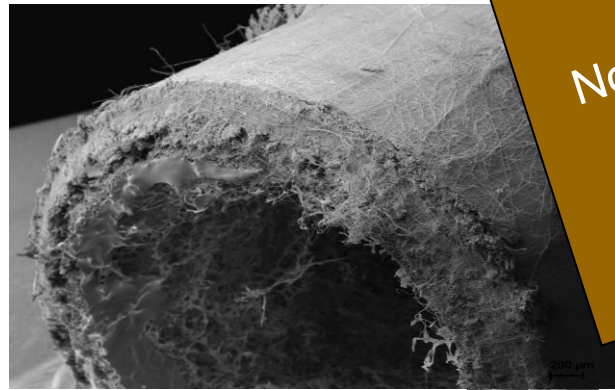
Übergang in Phase III

Abbau des Lignins, der Cellulose und der Hemicellulose.

- Der Abbau von Lignin ist ein radikalischer Prozess, der in wässriger Lösung stattfindet. Eindringende Feuchtigkeit, z. B. durch Bauschäden, begünstigt den Lignin-Abbau.
- Wiederholte Besiedlung mit zum Lignin-Abbau fähigen Pilzen führt – auch wenn sie in der Phase II endet - im Laufe der Jahre zu einer Lockerung des Cellulose-Lignin-Verbundes
- Reet aus unterschiedlichen Herkunftsgebieten setzt dem mikrobiellen Abbau unterschiedlichen Widerstand entgegen.

12

Der darunter liegende
Halm wird angegriffen



Nodus

Darüber liegendes
Halmende

Obere Halmwand

Eindringen von Wasser,
das über den Nodien
gestaut wird.

Ausreichend Wasser
für einen radikalischen
Angriff führt zur
Auflösung des Cellulose-
Lignin-Verbundes

13

Nodus

Untere Halmwand

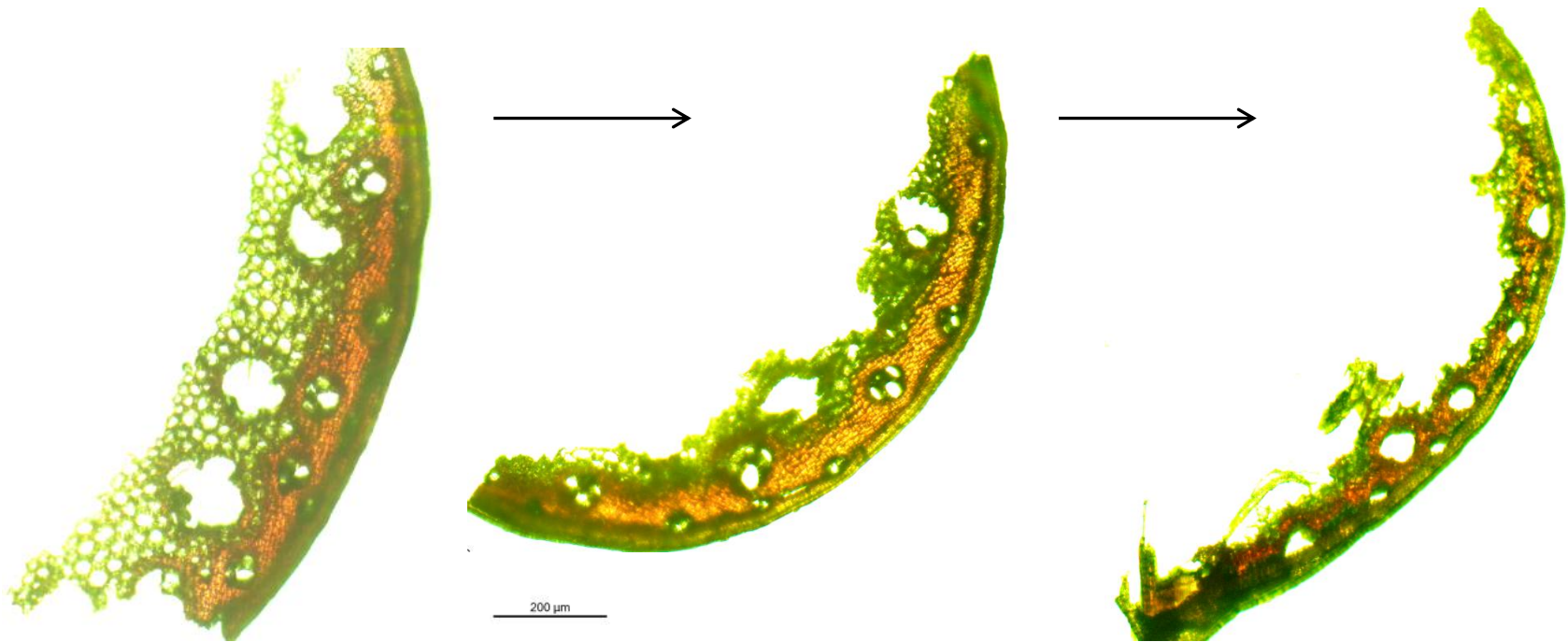
Phase III

Phase III der Reetschädigung durch Lignin-abbauende Pilze

Visualisierung der Reetschädigung durch Weißfäulepilze

Der Cellulose-Lignin-Verbund nimmt an Kompaktheit von „innen“ nach „außen“ zu

primäres **Angriffsziel**: Innerer **Sklerenchymgewebeverband**



- der **Abbau** von Reet erfolgt von „**innen**“ nach „**außen**“

Phase III: Ligninolytische Pilze durchwachsen das gesamte Halminnere

Nodiale und Internodiale Segmente



Stamm	Halmsegment	Substanzverlust in [%] nach 70 Tagen
<i>P. tremellosa</i>	Internodium	67,7
SBUG 1630	Nodium	39,5

Das Durchwachsen des gesamten Halms durch entsprechende Lignin-abbauende Pilze ist ein sehr langwieriger unter Umständen mehrjähriger Prozess.





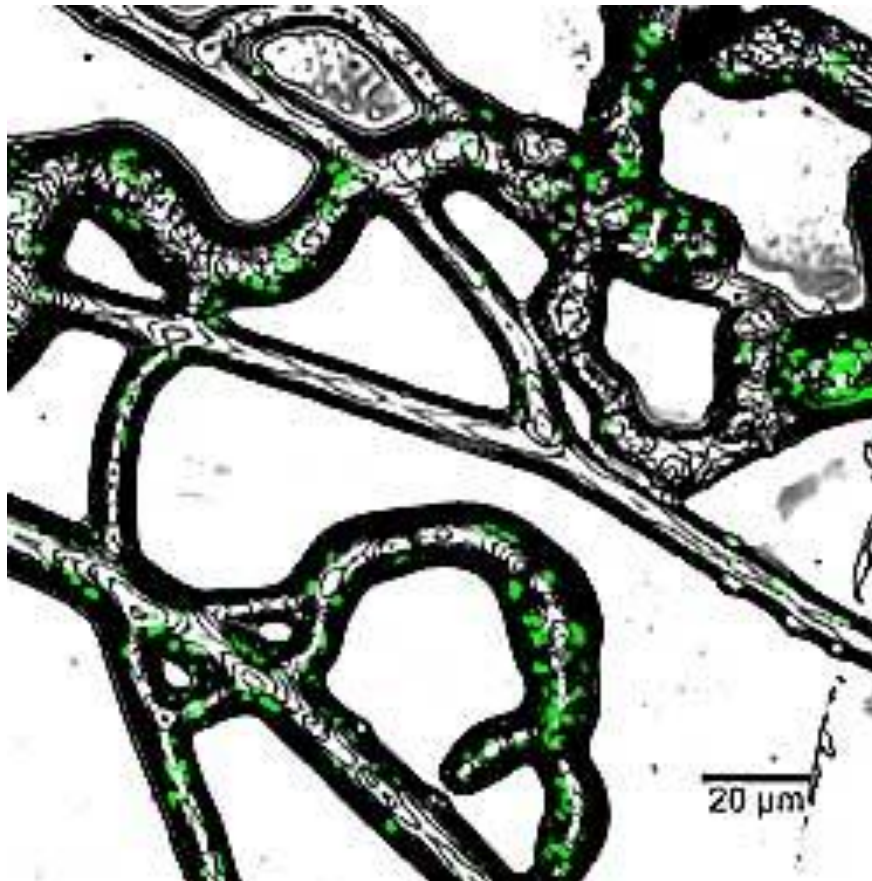
Wenn im Herbst am Halm-Ende charakteristische Fruchtkörper erscheinen, führt das zu einer hohen Sporenbelastung für das gesamte Dach

Zusammenfassung der Phase III

- Von befallenen Dächern wurden bisher überwiegend sehr langsam wachsende *Mycena*-Arten isoliert.
- Für die Dauerhaftigkeit des Reets scheint entscheidend zu sein, ob das Einwachsen zum Lignin-Abbau Pilze fähiger Pilze ins Halminnere erfolgen kann.
- Zwischen Reet aus verschiedenen Herkunftsländern bestehen deutliche Qualitätsunterschiede, die sich vor allem in der Phase III bemerkbar machen.

Phase IV: Reetzersetzung nach Abbau des Lignins (exponentielle Reetzersetzung)

- Nach dem Abbau des Cellulose-Lignin-Verbundes verliert das Reet seine Festigkeit.
- Je mehr der Ligninabbau voranschreitet, desto mehr Mikroorganismen beteiligen sich am Reetabbau

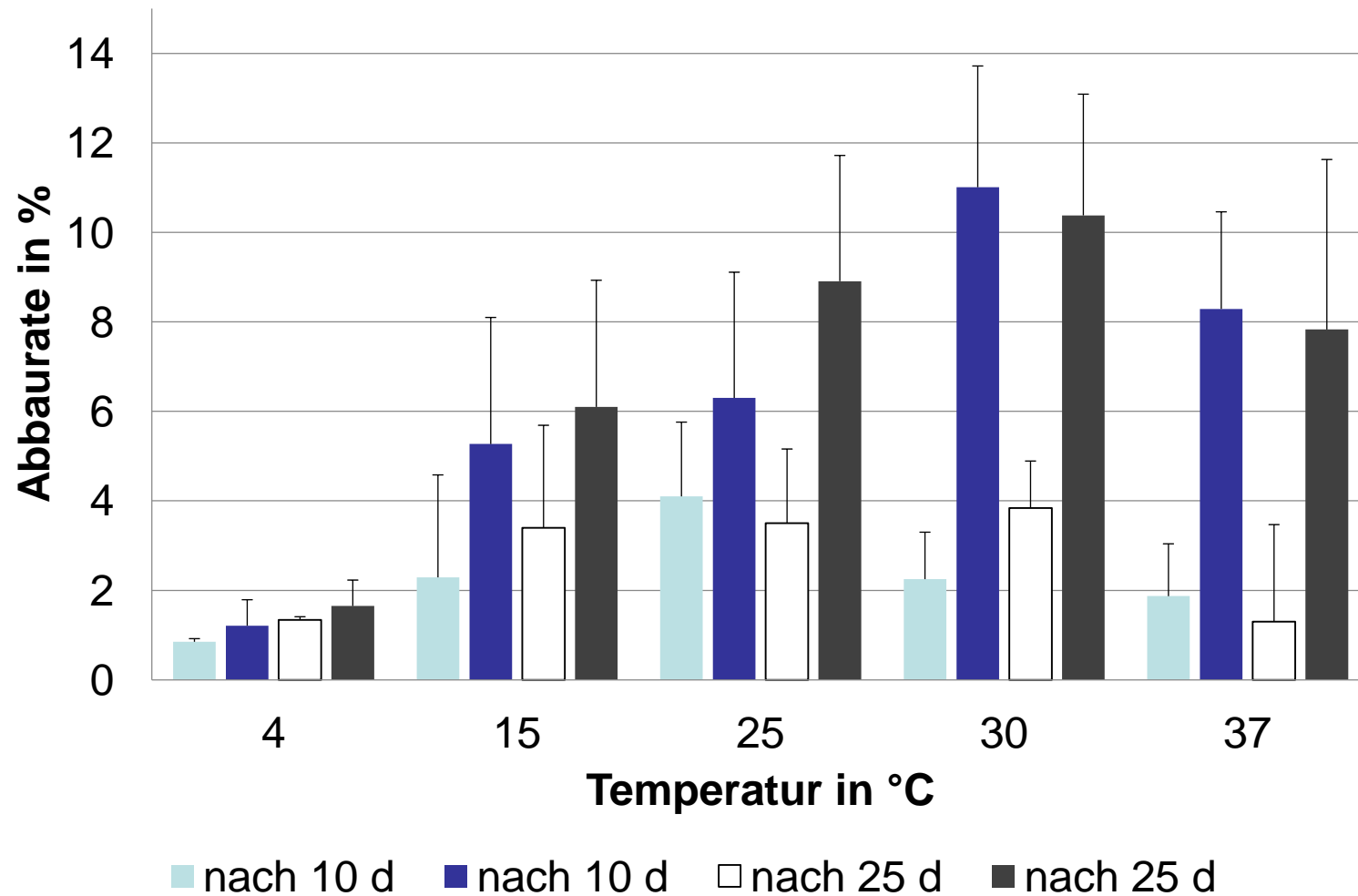


Bakterien (grün markiert) auf Pilzgeflecht

Foto: Katrin Pötzsch/Helmholtz-Zentrums für Umweltforschung

Die Bakterien dringen auf dem Pilzgeflecht in das Halminnere ein

Vorschädigung durch M.metata



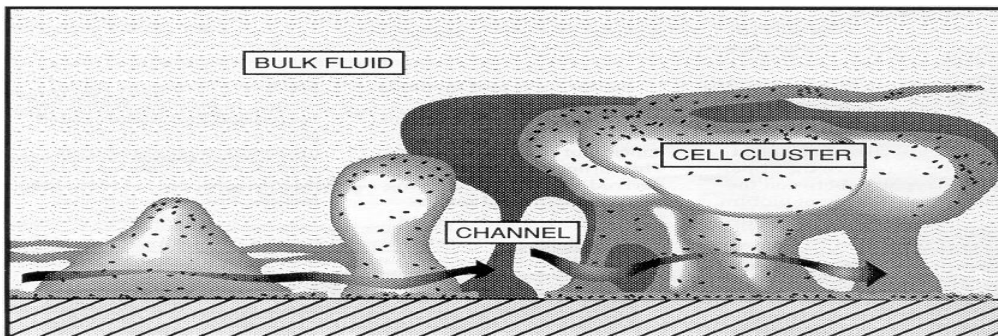
Bildung eines Biofilms auf dem durch Lignin-abbauende Pilze angegriffenen Dach

Nachdem Lignin-Abbau können sich eine Vielzahl von Bakterien, Pilzen und Algen auf dem Dach ansiedeln

Untersuchung von Schleimbelägen Isolation von

26 Bakterienstämmen
2 Hefestämmen
Grünalgen

Die Mikroorganismen bilden einen Biofilm



Dadurch wird das Abtrocknen des Daches dauerhaft verhindert

Biologische Reet-Abbau-Tests

Wie Ihnen bekannt ist, haben wir ein Verfahren zur Messung der Widerstandsfähigkeit von Reet gegen mikrobielle Zersetzung durch Inkubation mit zum Lignin-Abbau fähigen Pilzen entwickelt.

Mit dem hier für die Aufnahme in das Produktdatenblatt vorgeschlagenen biologischen Reet-Abbautest steht ein Testverfahren zur Verfügung, dass die bei der Zerstörung des Reets ablaufenden natürlichen Prozesse simuliert.

Dadurch wird eine objektive Aussage über die relative Widerstandsfähigkeit des Reets gegenüber mikrobiellen Abbau erhalten.

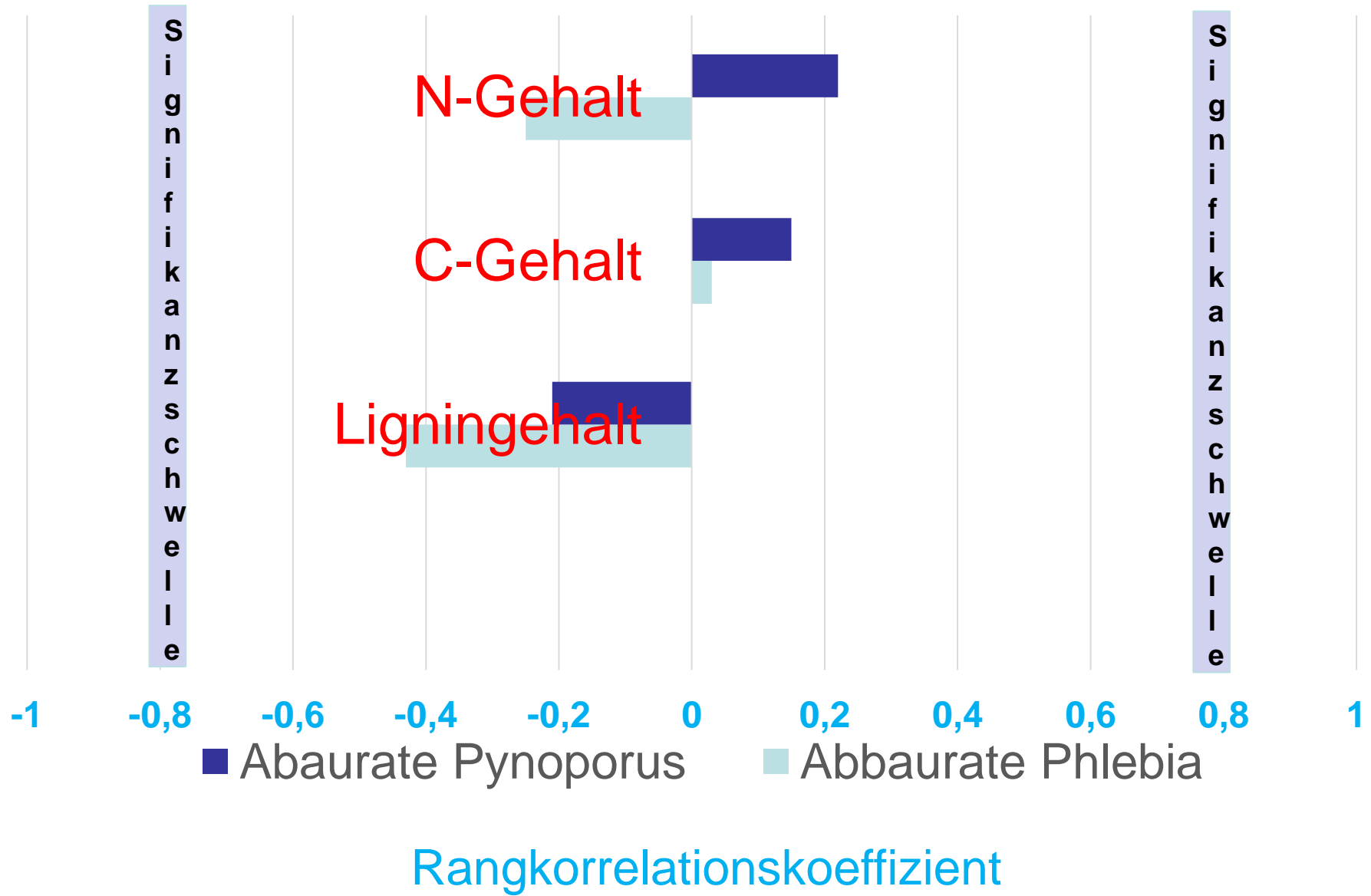
Welche chemischen oder physikalischen Parameter korrelieren mit dem biologischen Test?

Zur Überprüfung bekannter Prognoseparameter wurden Untersuchungen von Reetproben aus 11 Regionen verschiedener Länder vorgenommen.

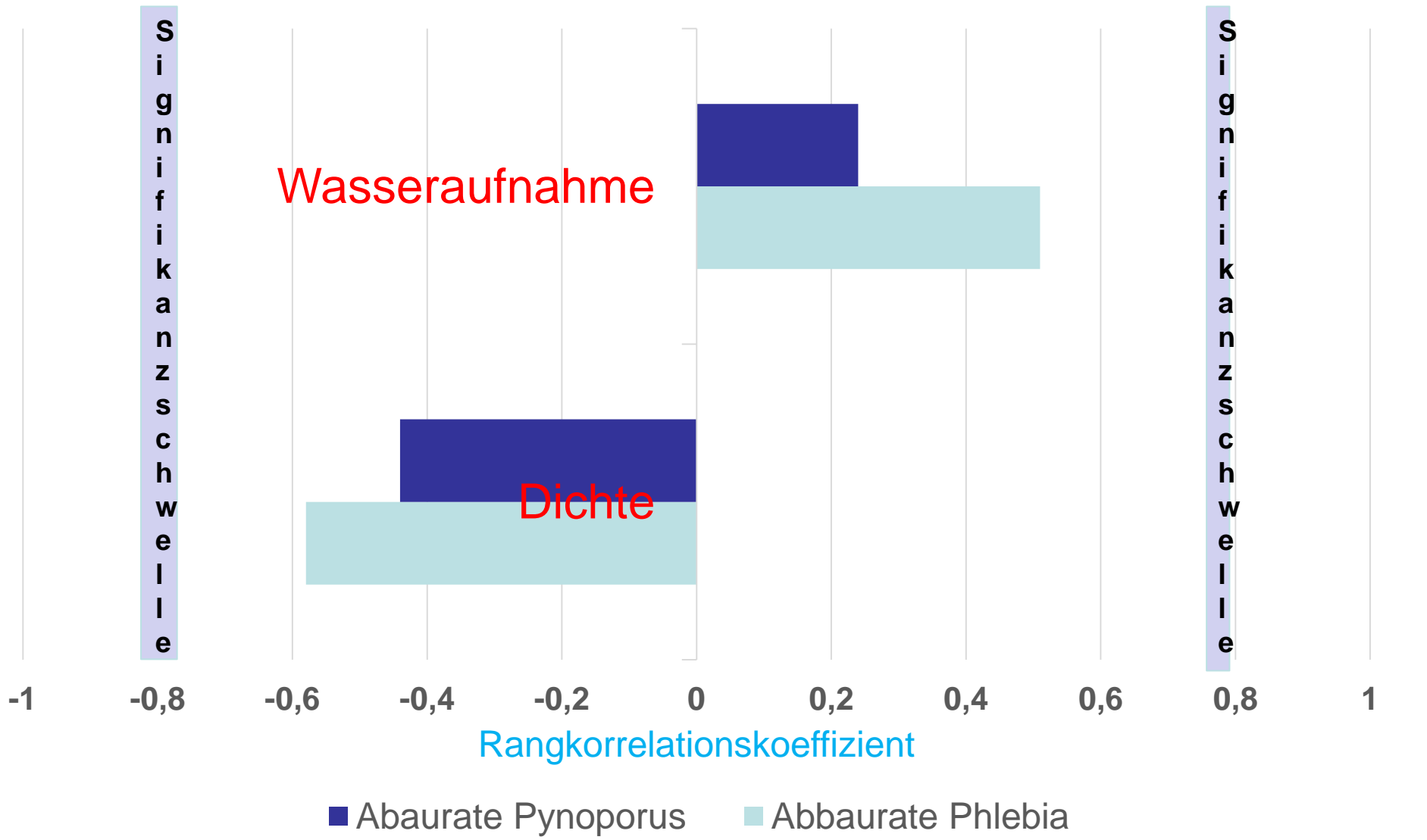
Dabei wurde der jeweilige Prognoseparameter mit dem biologischen Abbautest mit *Phlebia* und *Pycnopus* verglichen.

Die Untersuchungen erfolgten jeweils mit 10 Halmen eines Bundes

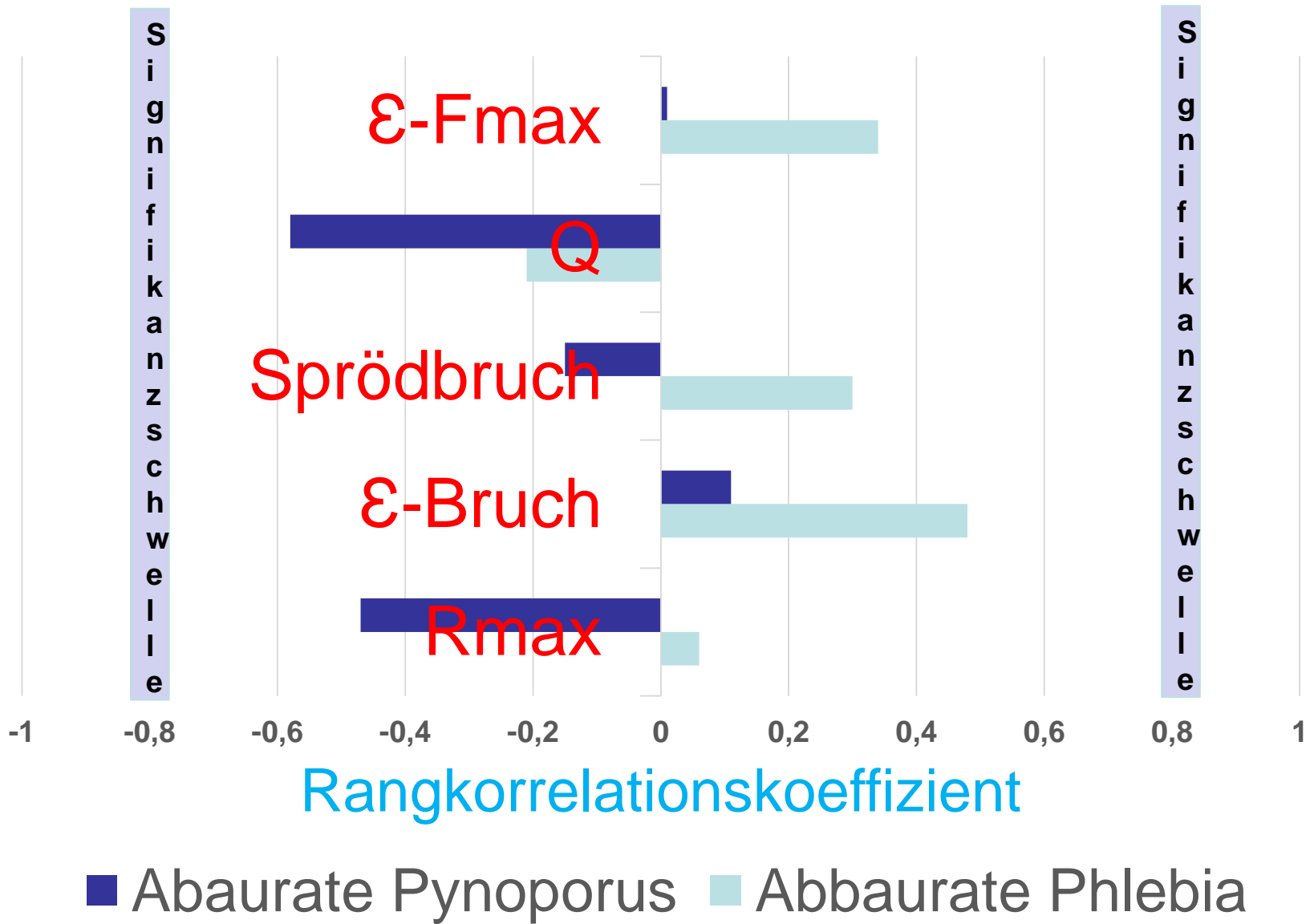
Zusammenhang zwischen chemischer Zusammensetzung und mikrobiellen Reetabbau



Zusammenhang zwischen Dichte und Wasseraufnahme und mikrobiellen Reetabbau



Zusammenhang zwischen physikalischen Parametern und mikrobiellen Reetabbau



Prognose der Widerstandsfähigkeit gegen mikrobiellen Abbau

- Keiner der untersuchten chemischen und physikalischen Parameter kann den Widerstand gegen mikrobiellen Abbau vorhersagen.
- Auf Grundlage des biologischen Tests kann eine Einteilung in Güteklassen erfolgen, die den objektiv gemessenen unterschiedlichen Widerstand verschiedener Reetchargen gegen mikrobiologische Zersetzung berücksichtigt.

Reetqualität A

Verwendungsfähig

(aus mikrobiologischer Sicht hoch widerstandsfähig)

- Bei Reet der Güterklasse A erfolgt in einer Vegetationsperiode kein Einwachsen ins Halminnere
- Der Pilz ist daher nicht gegen Hitze, UV-Strahlung, regelmäßige Reetpflege usw. geschützt.
- Kein Hinweis auf vorzeitige Reetschädigung.

Pilz	Definierte Einwirkungszeit	Biomasse- Abbau
<i>Mycena</i>	110 d	< 20 %
Schnellwachsende Gattung <i>Phlebia</i>	70 d	< 20 %

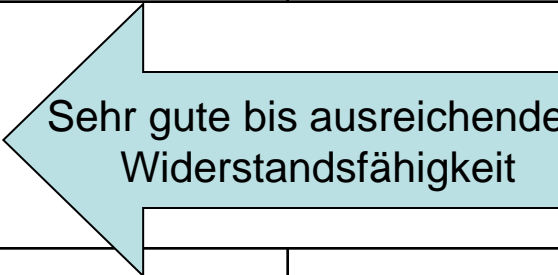
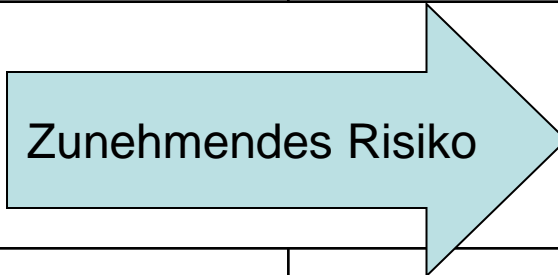
Reetqualität D

Verwendungsfähig für kleinere untergeordnete Dachflächen und kleinere Reparaturen sowie Firste (eingeschränkte Lebensdauer).

- Einwachsen ins Halminnere nicht ausgeschlossen.
- Damit Überleben im Halminneren über mehrere Jahre
- Grundlage für eine starke Sporenbelastung in den Folgejahren
- Nach weitgehendem Abbau des Cellulose-Lignin-Verbundes im Verlauf mehrerer Jahre Reetschäden durch nicht ligninolytische Mikroorganismen
- vorzeitige Reetverrottung kann nicht ausgeschlossen werden

Pilz	Definierte Einwirkungszeit	Biomasse- Abbau
<i>Mycena</i>	110 d	> 40 %
Schnellwachsende Gattung <i>Phlebia</i>	70 d	> 40 %

In der Praxis muss man mit einer kontinuierlichen Abstufung der Widerstandskraft rechnen.

Gütekategorie	A	B	C	D
Einschätzung	 Sehr gute bis ausreichende Widerstandsfähigkeit		 Zunehmendes Risiko	
Abbau-Rate durch <i>Phlebia</i> im 70-d-Test	< 20 %	20-35 %	35-40 %	> 40 %

Reetqualitäten B und C

- **B** Verwendungsfähig (aus mikrobiologischer Sicht normal widerstandsfähig)
- **C** Verwendungsfähig auf Dachflächen ohne Einbauteile und Kehlen (aus mikrobiologischer Sicht vermindert widerstandsfähig)

Güte- klasse	Gemessene Beschleunigung des initialen mikrobiellen Angriffs	Zeit bis zur Zerstörung von 30 % des Reets unter optimalen Laborbedingungen
A	1	110 Tage
B	1,4-1,6	72-75 Tage
C	2,2-2,4	57-60 Tage
D	> 2,5	47-56 Tage

Zusammenfassung

- Nach unseren Ergebnissen verläuft die mikrobiologische Reetschädigung in 4 Phasen und kann sich über Jahre hinziehen.
- Phase I entspricht der natürlichen Reetalterung.
- Nach der Besiedlung mit zum Lignin-Abbau fähigen Pilzen (Phase II) lassen sich mit physikalischen Methoden Veränderungen in der Reetstruktur nachweisen.
- Der Übergang in die Phase III kann durch regelmäßige Reetpflege verhindert oder verzögert werden.
- Für die Dauerhaftigkeit des Reets scheint entscheidend zu sein, ob das Reet dem Einwachsen von Lignin-abbauenden Pilze ins Halminnere (Phase III) genügend Widerstand leisten kann.

Zusammenfassung

- Der Abbau des Cellulose-Lignin-Verbundes erfolgt von innen nach außen.
- Zwischen Reet aus verschiedenen Erntegebieten bestehen deutliche Qualitätsunterschiede.
- Alle untersuchten chemischen und physikalischen Parameter können die Geschwindigkeit des mikrobiellen Reetabbaus nicht vorhersagen.
- Die Widerstandsfähigkeit gegen mikrobielle Zersetzung kann mit einem biologischen Reetabbau-Test beurteilt werden, der die natürlichen Verhältnisse simuliert.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

