

## Strukturelle und funktionelle Charakterisierung von mikrobiellen Gemeinschaften in ökologisch und konventionell bewirtschafteten Agrarböden

### Structural and functional characterisation of microbial communities in organically and conventionally managed agricultural soils

J. Esperschütz<sup>1</sup>, A. Gattinger<sup>1</sup>, M. Schloter<sup>1</sup>, A. Fließbach<sup>2</sup>

**Key words:** soil fertility, microbial communities, PLFA, stable isotopes, DOK-trial

**Schlüsselwörter:** Bodenfruchtbarkeit, mikrobielle Gemeinschaften, PLFA, stabile Isotope, DOK-Langzeitfeldversuch

#### Abstract:

*Soil samples from the DOK long-term field trial were investigated to study influences of different farming systems on structure and function of soil microbial communities. The DOK long-term field trial in Switzerland consists of plots managed bio-dynamically (D), bio-organically (O), conventionally (K) and of those which are managed conventionally but only receive mineral fertilizer (M).*

*In spring 2003 soil samples from these differently managed plots were taken. All investigated fields were planted with winter wheat in 2003, but with different croppings in 2002: potato and maize cultivation, respectively. Analyses of phospholipid fatty acids (PLFA) and phospholipid etherlipids (PLEL) were carried out to determine bacterial, eukaryotic and archaeal phenotypic diversity. By combining this technique with isotope ratio mass spectrometry (GC/MS-C-IRMS) it was possible to analyse simultaneously <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratios in PLFA and PLEL biomarkers for functional analyses of the soil microbiota.*

*First results revealed differences in the total microbial biomass and community structure among the compared farming systems. Furthermore, the incorporation of the maize derived carbon could be detected in several PLFA at the natural abundance level. This may be an indication for the role of different microbial groups during organic matter degradation.*

#### Einleitung und Zielsetzung:

Im Zusammenhang mit der steigenden Bedeutung von ökologischem Landbau ist eine Verknüpfung der mikrobiellen Diversität mit wichtigen ökologischen Funktionen des Bodens von großem Interesse. Um die mikrobielle Diversität in Böden zu beschreiben, bedient man sich Methoden, welche ohne vorangehende Kultivierung von Organismen auskommen (BOSCHKER und MIDDELBURG, 2002). Solche Methoden beruhen unter anderem auf der Untersuchung von genetischen Eigenschaften (DNA-basierende Methoden) oder phänotypischen Merkmalen (z.B. Membranlipide, Proteine, RNA).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die mikrobiellen Gemeinschaften in verschiedenen, ökologischen und konventionellen Bewirtschaftungssystemen mittels Phospholipid-Biomarkern zu charakterisieren und eine Beteiligung am Abbau von organischer Substanz nachzuweisen. Abgeleitet aus dieser Zielsetzung wurde anhand von Bodenproben des DOK-Langzeitfeldversuchs folgenden Hypothesen nachgegangen:

---

<sup>1</sup> GSF-National Research Center for Environment and Health, Institute of Soil Ecology, D-85764 Neuherberg; juergen.esperschuetz@gsf.de, gattinger@gsf.de, schloter@gsf.de

<sup>2</sup> Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Ackerstrasse, CH-5070 Frick; fliesbach@fibl.ch

(I) Die Böden der Bewirtschaftungssysteme im DOK-Versuch weisen aufgrund der Menge und Zusammensetzung der Düngung sowie aufgrund unterschiedlicher Vorrüchte im Jahr 2002 unterschiedliche Biomassen und Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften auf.

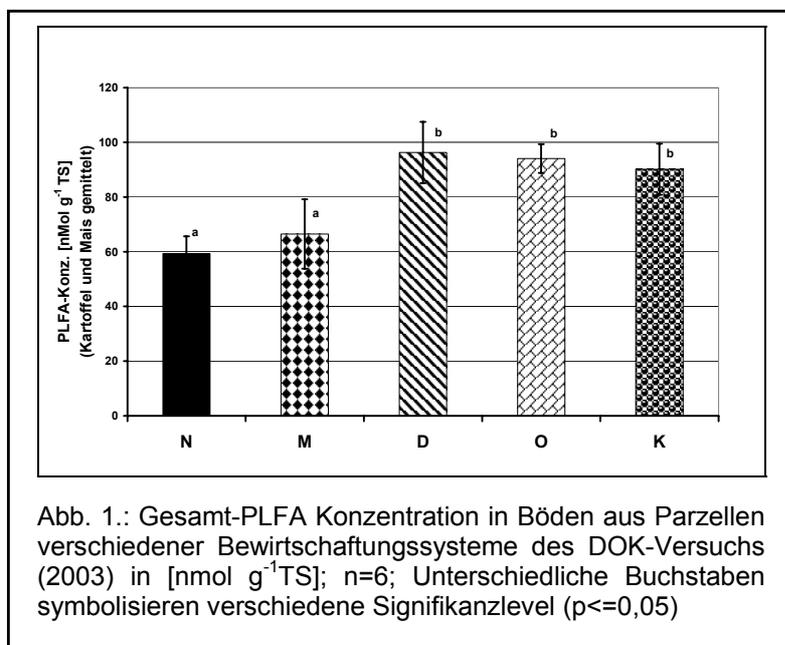
(II) Der Nachweis von am Ab- bzw. Umbau von organischer Substanz beteiligten Organismen ist durch Isotopenverhältnismassenspektrometrie möglich: Der Umbau von Maisstroh kann aufgrund des hohen C-Isotopenverhältnisses ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) der Maispflanze ( $-9 > \delta^{13}\text{C} > -16\text{‰}$ ) durch hohe  $\delta^{13}\text{C}$ -Verhältnisse in den daran beteiligten Organismengruppen nachgewiesen werden.

(III) Der Ab- bzw. Umbau von organischer Substanz erfolgt durch unterschiedliche taxonomische Gruppen und unterscheidet sich in den Böden der Bewirtschaftungssysteme des DOK-Versuchs.

### Methoden:

Der DOK-Langzeitfeldversuch in Therwil (CH) vergleicht seit 1978 die Anbausysteme biologisch-dynamisch (D), biologisch-organisch (O) und konventionell (K) mit einem rein mineralisch gedüngten (M) sowie einem ungedüngten System (N). Der Hauptunterschied zwischen den Varianten liegt in der Strategie der Düngung und des Pflanzenschutzes, während Fruchtfolge und Bodenbearbeitung weitgehend identisch gehalten sind. Die Beprobung fand im Frühjahr des Jahres 2003 statt, wobei sich auf allen untersuchten Parzellen die gleiche Sorte Winterweizen befand. Als Vorrücht wurde zwischen Kartoffel und Silomais unterschieden. Aufgrund des erstmaligen Anbaus von Silomais und dessen im Vergleich zu Kartoffeln ( $-22 > \delta^{13}\text{C} > -34\text{‰}$ ) höherem  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnis ist eine Umsetzung des schweren Maiskohlenstoffs durch höhere Isotopenverhältnisse in den daran beteiligten Organismen nachweisbar. Aus den Proben wurden nach GATTINGER et al. (2002) Phospholipide extrahiert und in Phospholipidfettsäuren (PLFA) Phospholipid-Etherlipide (PLEL) aufgetrennt. Die Identifizierung sowie die Bestimmung von  $^{13}\text{C}$ -Verhältnissen der Fettsäuren erfolgte

mit Hilfe einer Gaschromatograph-Massenspektrometer Kopplung, verbunden mit einem Isotopenverhältnis-Massenspektrometer (GC/MS-C-IRMS).



### Ergebnisse und Diskussion:

Die erzielten Ergebnisse sind gut mit bisherigen Untersuchungen im DOK-Versuch vergleichbar (FLIESSBACH et al., 2000; MÄDER et al., 2002). Phospholipidfettsäuren wiesen auf allen organisch gedüngten Varianten höhere Konzentrationen auf als auf rein mineralisch gedüngten Böden oder bei Null-düngung (vgl. Abb. 1). Die tendenziell höheren PLFA-Konzentrationen in den biologisch-dynamischen und biologisch-organischen Varian-

ten deuten einen Einfluss der ökologischen Bewirtschaftung auf die mikrobielle Biomasse im Boden an: Ökologischer Pflanzenschutz und gut zersetzter, organischer Dünger zeigten sich förderlich für die mikrobielle Biomasse. Statistische Vergleiche von PLFA-Profilen aus den Parzellen verschiedener Bewirtschaftung zeigten klare Unterschiede in der Struktur mikrobieller Gemeinschaften zwischen den organisch gedüngten Varianten (D, O und K) und den Vergleichsvarianten (nicht gezeigt).

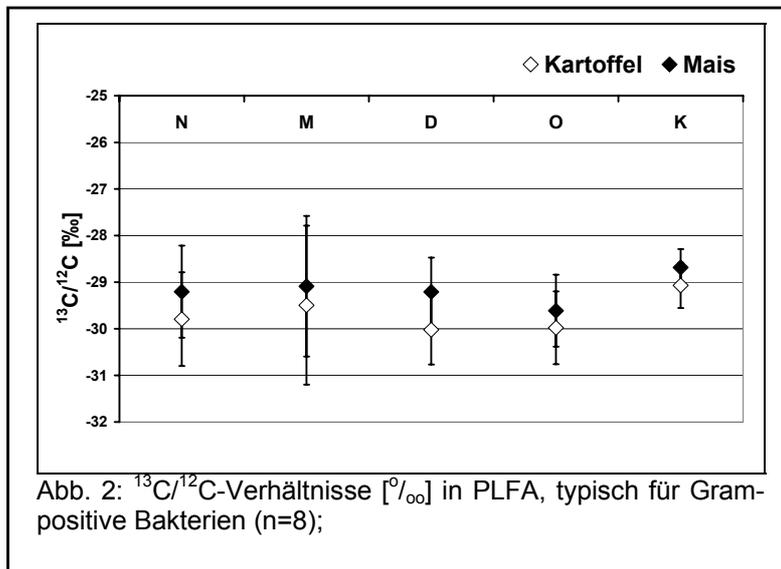


Abb. 2:  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisse [‰] in PLFA, typisch für Gram-positive Bakterien (n=8);

(vgl. Abb. 2). Der schwere Kohlenstoff der Maisstreu konnte somit in diese Organismengruppen verfolgt werden: Sie bevorzugen vermutlich den Kohlenstoff dieser  $\text{C}_4$ -Pflanze.

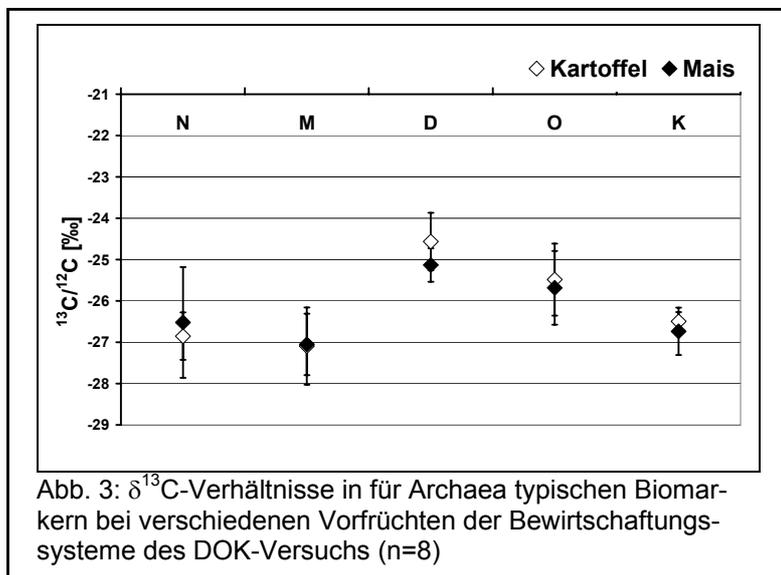


Abb. 3:  $\delta^{13}\text{C}$ -Verhältnisse in für Archaea typischen Biomarkern bei verschiedenen Vorfrüchten der Bewirtschaftungssysteme des DOK-Versuchs (n=8)

Der Umbau der Maisstreu wurde anhand ausgewählter Phospholipid-Biomarker untersucht: Biomarker für Gram-negative Organismen zeigten keine Unterschiede von Mais- und Kartoffelparzellen in deren  $\delta^{13}\text{C}$ -Verhältnis (nicht gezeigt). Fettsäuren, welche vorwiegend in Gram-positiven Bakterien synthetisiert werden, zeigten tendenziell höhere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Parzellen mit Mais-Vorfrucht

In Archaeen-Biomarkern konnten keine Unterschiede zwischen den Mais- und Kartoffelparzellen nachgewiesen werden (vgl. Abb. 3), allerdings zeigten sich signifikant höhere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Böden aus Parzellen organischer Bewirtschaftung. Dies lässt auf eine höhere Substratverwertung schließen, was bereits in früheren Versuchen gezeigt wurde (FLIESSBACH et al., 1997;

2000). Der unterschiedliche  $^{13}\text{C}$  Anteil in Archaeen-Markern steht somit in Zusammenhang mit unterschiedlicher Substratverwertung. Aufgrund ähnlich hoher Werte in Archaeen-Biomarkern in Mais- und Kartoffel-Parzellen konnte die Substratherkunft nicht spezifiziert werden. Archaeen sind unter ökologischer Bewirtschaftung vermutlich für andere Stoffwechselprozesse verantwortlich, wodurch verstärkt  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff in diese Organismen eingebaut wird. Nach GATTINGER et al. (2005) gelangen auch methanogene Archaeen durch Stallmistdüngung in die Böden. Die Unterschiede in

den  $^{13}\text{C}$ -Verhältnissen können sich somit bereits während der Umsetzung des unterschiedlichen organischen Düngers (Gülle, belüftete Gülle, Mistkompost, Rottemist, Stapelmist) durch verschiedene Archaeengemeinschaften ergeben.

### **Schlussfolgerungen:**

Die ökologische Bewirtschaftung führt zu einer höheren mikrobiellen Biomasse und einer unterschiedlichen Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften in Böden. Der Einbau von Maiskohlenstoff in Gram-positive Bakterien konnte mit der stabilen Isotopentechnik nachgewiesen werden. In ausgewählten Biomarkern konnten zudem Unterschiede in der Substratverwertung zwischen ökologischen und konventionellen Bewirtschaftungssystemen gezeigt werden. Aufbauend auf dieser Arbeit sind weitere Untersuchungen notwendig, um genauere Auskunft über die funktionelle Bedeutung bestimmter Mikroorganismen unter ökologischer Bewirtschaftung zu erhalten.

### **Literatur:**

Boschker H T S, Middelburg J J (2002) Stable isotopes and biomarkers in microbial ecology (MiniReview); *Microbial Ecology* 40; 85-95

Fließbach A, Mäder P (1997) Carbon source utilization by microbial communities in soils under organic and conventional farming practice; In: Insam, H., Rangger, A., (eds): *Microbial Communities – Functional versus Structural approaches*, Springer, Berlin, 109-120

Fließbach A, Mäder P, Niggli U (2000) Mineralisation and microbial assimilation of  $^{14}\text{C}$ -labeled straw in soils of organic and conventional agricultural systems; *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1131-1139

Gattinger A, Ruser R, Schloter M, Munch J C (2002) Microbial community structure varies in different soil zones of a potato field; *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 165, 421 - 428

Gattinger A, Höfle M, Schloter M, Embacher A, Böhme F, Labrenz M (2005) Traditional cattle manure in an arable european (Chernozem) soil; submitted

Mäder P, Fließbach A, Dubois D, Gunst L, Fried P, Niggli U (2002) Soil Fertility and Biodiversity in organic farming *Science* 296; 1694-1697