

## Einfluss von Bewirtschaftungsmaßnahmen auf die Struktur und Funktion der Bodenmikroflora

Influence of management measures on the structure and function of the soil microflora

**FKZ: 11OE001**

**Projektnehmer:**

Helmholtz Zentrum München GmbH  
Abteilung für vergleichende Mikrobiomanalysen  
Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg  
Tel.: +49 89 3187-2304  
Fax: +49 89 3187-2136  
E-Mail: [schloter@helmholtz-muenchen.de](mailto:schloter@helmholtz-muenchen.de)  
Internet: [www.helmholtz-muenchen.de/comi](http://www.helmholtz-muenchen.de/comi)

**Autoren:**

Schloter, Michael; Cania, Barbara; Schulz, Stefanie

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

## Schlussbericht

### Einfluss von reduzierter Bodenbearbeitung auf die Struktur und Funktion der Bodenmikroflora

<b>Förderkennzeichen:</b>	2811OE001
<b>Zuwendungsempfänger:</b>	Helmholtz Zentrum München GmbH 85764 Neuherberg
<b>Ausführende Stelle:</b>	Helmholtz Zentrum München GmbH Abteilung Vergleichende Mikrobiomanalysen (COMI) Ingolstädter Landstraße 1 85764 Neuherberg
<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Michael Schloter <a href="mailto:schloter@helmholtz-muenchen.de">schloter@helmholtz-muenchen.de</a> Telefon 089-3187-2304 Fax: 089-3187-2136
<b>Laufzeit &amp; Berichtszeitraum:</b>	1.1.2015 - 31.5.2018



## Kurzfassung

Im ökologischen Landbau gilt es unter umweltschonender Bewirtschaftung trotzdem hohe Erträge zu erzielen. Bisher wurde dies durch konventionelle Pflügung realisiert, diese Maßnahme zerstört aber die Bodenstruktur und damit den Lebensraum wichtiger Organismengruppen. Daher ist es wünschenswert die im konventionellen Landbau schon übliche reduzierte Bodenbearbeitung auch im ökologischen Landbau zu etablieren. Im Rahmen dieses Projektes wurde daher untersucht wie sich die reduzierte Bodenbearbeitung auf das Mikrobiom auswirkt. Da Pflügen insbesondere die Bodenstruktur zerstört, lag der besondere Fokus auf dem bakteriellen Potential strukturbildende Substanzen wie Exo-(EPS) und Lipopolysaccharide (LPS) zu produzieren. Dazu wurden vier Standorte mit unterschiedlicher Bodentextur untersucht.

Das Potential zur Bildung von EPS/LPS war generell im Pflughorizont am größten. Als Indikatorgene wurden *wza* für die EPS-Synthese und *lptG* und *lptF* für den LPS Transport identifiziert. Während die Abundanz der Gene nicht durch die Bodenbearbeitung beeinflusst wurde, hat sich die Zusammensetzung der Schlüsselorganismen je nach Standort, Tiefe und Bodenbearbeitung unterschieden. Da die strukturbildenden Eigenschaften der Polysaccharide bei jedem Organismus anders sind, können kleine Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung zu großen Unterschieden in der Aggregatstabilität führen. So hat sich gezeigt, dass trotz vergleichbarer relativer Genabundanzen schluffiger Boden am sensibelsten auf die Bodenbearbeitung reagiert, mit höheren Werten unter reduzierter Bodenbearbeitung. Die sowieso schon schlechte Aggregation in sandigen Böden, konnte nicht verbessert werden. Alternativ könnte man hier aber durch reduzierte Bodenbearbeitung die Entwicklung von BBK unterstützen, die wie sich gezeigt hat ein großes Potential für die Speicherung von Nährstoffen haben, als auch die Bildung von EPS/LPS. Interessanterweise haben die Netzwerkanalysen ergeben, dass insbesondere Bakterien, die das Pflanzenwachstum unterstützen wie Micromonapsora und Actinobacteria durch die Bodenbearbeitung beeinflusst werden. Sie akkumulieren im Oberboden bei reduzierter Bearbeitung und unter dem Pflughorizont bei den Pflugvarianten und folgen somit der Wurzelpenetrationstiefe.

## **The impact of reduced tillage on the structure and function of the soil microbiota**

Improving the productivity of organic farming systems is of major importance for the development of a more sustainable production. This is often realized by applying conventional tillage practices, which in turn destroy the structure of the topsoil and thus the environment for many soil organisms. Therefore it is desirable to establish reduced tillage practices, which is already state of the art in conventional farming. It was the aim of this project to compare the impact of reduced (RT) and conventional tillage (CT) on the microbiome under organic farming. As CT especially alters the soil structure we focused on bacteria, which are able to produce soil structure stabilizing compounds like exo- (EPS) and lipopolysaccharides (LPS). Therefore we analyzed samples from 4 trials across Europe, which mostly differ in soil texture.

The potential to produce EPS/LPS was always highest in the tillage horizon. As indicator genes *wza* for the EPS synthesis and *lptG* and *lptF* for the LPS transport have been identified. While the abundance of those genes didn't change under different tillage regimes, the bacterial community behind differed with sampling depth, tillage regime and trial. This indicates that even small changes in the bacterial community composition could disturb the overall capacity of EPS and LPS to stabilize soil structure as gluing properties differ strongly. Thus, it became obvious, that despite stable gene abundances silty soil was most sensitive towards different tillage regimes, with higher aggregate stability under RT. The generally low aggregate stability of sandy soils couldn't be improved, but alternatively reduced tillage might favour the establishment of biocrusts, which improved nutrient input as well as soil stability due to an extreme increase of EPS/LPS genes.

Interestingly, co-occurrence analysis revealed that indicator organisms, which reacted strongest towards tillage, belonged to the plant growth promoting bacteria (PGPB) like *Micromonospora* and Actinobacteria. Those PGPB accumulated in the topsoil under RT and in deeper soil layers under CT, and thus followed the root growth.

## **1. Einführung**

### **1.1 Gegenstand des Vorhabens**

Zahlreiche Studien der letzten Jahrzehnte haben belegt, dass ökologischer Landbau im Vergleich zu konventionellen Landnutzungssystemen deutliche Vorteile hat, gerade in Bezug auf den nachhaltigen Erhalt der Bodenqualität, verringerte Erosion oder Schutz der natürlichen Biodiversität. Allerdings wurden oftmals signifikant geringere Erträge im ökologischen Landbau beschrieben im Vergleich zu herkömmlichen Nutzungssystemen (Maeder et al., 2002; Chirinda et al., 2010; Gattinger et al., 2012; Seufert et al., 2012). Dieses Dilemma liegt darin begründet, dass ökologischer Landbau in starkem Maße davon abhängig ist, dass Nährstoffe effizient „recycled“ und primär organisch gebundene Nährstoffe aus dem Boden wieder bioverfügbar gemacht werden. Vor allem die Nährstoffmobilisierung und Bodenstruktur wird unter anderem durch die Bodenmikroflora gesteuert. Deren Struktur und Funktion steht aber auch in unmittelbarem Zusammenhang mit anderen wichtigen Ökoystemdienstleistungen des Bodens (Speicherung von Kohlenstoff, Abbau von Schadstoffen etc.). Daher werden Bodenqualität und –fruchtbarkeit in hohem Maße durch die Zusammensetzung und Aktivität der Bodenmikroflora bestimmt. Umgekehrt wird die Bodenmikroflora maßgeblich durch ihre abiotische Umwelt und damit durch Bewirtschaftungsmaßnahmen, Bodentyp und Klima unmittelbar gesteuert.

### **1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes**

Ziel des Projektes ist es daher, auf der Basis von Langzeitversuchen an verschiedenen Standorten in Europa, die ein Nord-Südtranssekt abdecken, festzustellen, (i) wieviel Zeit nötig ist, bis sich nach einer Umstellung auf eine kombinierte minimale Bodenbearbeitung gemeinsam mit Gründüngerapplikation stabile Ertragsmuster ergeben, ii) inwieweit dieses Verfahren Bodenqualität in unterschiedlichen Bodentiefen beeinflussen, iii) ob die gewonnenen Daten abhängig von der jeweiligen klimatischen Region und den entsprechenden Bodenparametern sind und iv) sich gegebenenfalls durch spezifische Anpassungen auf lokaler Ebene die Nachhaltigkeit der Methode noch verbessern lässt.

Aus den gewonnenen Daten sollen Möglichkeiten für ein nachhaltiges Management der Flächen abgeleitet werden die im Rahmen des ökologischen Landbaus ohne Pflug bzw. mit reduzierter Pflugbearbeitung bearbeitet werden. Die zu entwickelnde Nachhaltigkeitsstrategie soll sowohl einen Schutz der tierischen und pflanzlichen Diversität beinhalten, als auch auf eine erhöhte Kohlenstoffsequestrierungsrate der Böden und verringerte Emission von klimarelevanten Spurengasen aus den Böden abzielen. Das Ziel dieses Projektes war es die Konsequenzen der jeweiligen landwirtschaftlichen Managementformen auf die Struktur und Funktion des Mikrobioms zu untersuchen. Es wurden an Hand verschiedener Fallstudien die Auswirkungen der verschiedenen Formen

der Bodenbearbeitung auf das Mikrobiom des Bodens und dessen funktionalen Merkmale in Abhängigkeit von Bodentyp bzw. Geo-Positionierung beschreiben.

### 1.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Um diese Ziele zu erreichen erfordert es einen interdisziplinären Forschungsansatz, da sowohl Fragen des landwirtschaftlichen Managements, des Pflanzenbaus, der Bodenkunde und der Mikrobiologie adressiert werden müssen. Darüber hinaus muss ein solches Vorhaben starke Bezüge zur Sozioökonomik haben um die Akzeptanz der Methoden bei den Landwirten der entsprechenden Regionen zu fördern. Aus dieser Motivation heraus wurde ein Verbundvorhaben, das von Wissenschaftlern des FIBL (Schweiz) koordiniert wird, entwickelt. Im Rahmen dieses Verbundes haben wir Zugang zu verschiedenen Langzeitversuchen in Europa bekommen. Die erhobenen Daten wiederum sind in das Verbundvorhaben eingeflossen. Wir haben das Mikrobiom an 4 (Juchowo-Polen, Moskanjci-Slowenien, Frick-Schweiz, Agroscope-Schweiz) verschiedenen Standorten untersucht. Die Standorte unterscheiden sich hauptsächlich in den klimatischen Randbedingungen, als auch der Bodentextur (sandig, tonig und schluffig). Zunächst wurden bestimmte mikrobielle Eigenschaften und Netzwerke an einem Standort untersucht. Der Fokus lag auf der Analyse von bodenstabilisierenden Komponenten. Die daraus abgeleiteten Indikatoren wurden dann an mehreren Standorten untersucht und validiert. An allen Standorten wurden Bodenproben von konventioneller Bodenbearbeitung mit reduzierter Bodenbearbeitung verglichen. Die Proben wurden in verschiedenen Tiefen genommen um das Mikrobiom im Pflughorizont und darunter zu erfassen. Die geplanten Meilensteine sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Meilenstein	Beschreibung	WP	Zeitpunkt
1	Beschreibung mikrobieller Aktivitäten im Bezug auf Bodenmanagement	1	12 Monate
2	Charakterisierung von Enzymaktivitäten in Abhängigkeit der Bodenbearbeitung	2	16 Monate
3	Rekonstruktion von Nahrungsnetzen und Nährstoffkreisläufen der 3 Referenzstandorte	3	20 Monate
4	Ableitung von Indikatoren	4	24 Monate
5	Erfassung der Indikatoren an Bodenproben aus den unterschiedlichen Versuchen	5	35 Monate

**Tabelle 1:** Ablauf und Meilensteine des Projektes

## 2. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Aufgrund der stark wachsenden Weltbevölkerung muss die Versorgung mit Nahrungsmitteln mittelfristig gesteigert werden. Im konventionellen Landbau wird eine Ertragssteigerung durch den Einsatz anorganischen Düngers und den Einsatz organischer Pflanzenschutzpräparate, um Pflanzen vor dem Befall von phytopathogenen Organismen zu schützen und das Wachstum von Unkräutern zu verhindern, erzielt. Im ökologischen Landbau dagegen wird weitestgehend auf den Einsatz solcher Substanzen verzichtet und versucht durch die Nutzung alternativer Managementstrategien ein stabiles Pflanzenwachstum zu gewährleisten, insbesondere da in vielen Studien gezeigt wurde, dass „Unkräuter“ nicht nur die Diversität von Agrarökosystemen erhöhen (Norris and Kogan, 2017) sondern auch viele natürliche Interaktionen zwischen Organismen und die Entwicklung stabiler Nahrungsnetze fördern (Altieri, 1999).

Vor allem die Nährstoffmobilisierung wird primär durch die Bodenmikroflora gesteuert. Deren Struktur und Funktion steht aber auch in unmittelbarem Zusammenhang mit anderen wichtigen Ökosystemdienstleistungen des Bodens (Speicherung von Kohlenstoff, Abbau von Schadstoffen, Bodenstruktur etc.). Daher werden Bodenqualität und –fruchtbarkeit in hohem Maße durch die Zusammensetzung und Aktivität der Bodenmikroflora bestimmt. Umgekehrt wird die Bodenmikroflora maßgeblich durch ihre abiotische Umwelt und damit durch Bewirtschaftungsmaßnahmen, Bodentyp und Klima unmittelbar gesteuert. Daher gilt im ökologischen Landbausystemen weitaus mehr als in der konventionellen Landwirtschaft das „Mikrobiom“ des Bodens in seiner zeitlichen und räumlichen Dynamik zu erfassen und ggf. durch gezielte Management-Maßnahmen so zu verändern, dass ein nachhaltiges Pflanzenwachstum und ein Erhalt anderer Ökosystemdienstleistungen möglich ist.

Eine Möglichkeit Mikroorganismen in Ihrer Abundanz und Diversität zu manipulieren ist „Pflügen“. Es wird allgemein postuliert, dass vor allem Pflügen als Managementform im ökologischen Landbau äußerst positive Einflüsse hat und sowohl die mikrobielle Mobilisierung von Nährstoffen verbessert als auch die Abundanz an Unkräutern verringert (deren Potential in Form von Samenbanken aber weitestgehend erhält). Eine ganze Reihe von Studien haben bestätigt, dass durch Pflügen vor allem die mikrobielle Mineralisierung von organisch gebundenem Stickstoff im Boden verbessert wird und damit auch die Stickstoffgehalte in den Pflanzen deutlich ansteigen. Allerdings ist bekannt, dass die Nutzung des Pfluges in hohem Masse die Bodenstruktur des Oberbodens zerstört und damit den Lebensraum wichtiger Organismengruppen stark beeinträchtigt (zum Beispiel Regenwürmer). Eine wichtige Rolle für die Stabilität von Bodenaggregaten kann den Mikroorganismen zugeschrieben werden, die wichtige „Klebstoffe“, sogenannte Exo- und

Lipopolysaccharide produzieren. Deren Klebeeigenschaften sind sehr divers und hängen stark vom produzierenden Organismus ab (Sutherland, 2001; Erridge et al., 2002). Außerdem haben viele Studien gezeigt, dass mikrobielle Biomasse und deren Aktivität sowie die Diversität von Mikroorganismen in gepflügten Böden stark reduziert ist (Vian et al., 2009). Daher ist es nicht verwunderlich, dass wichtige Bodenfunktionen wie das Potential Kohlenstoff zu speichern verringert sind, wenn Böden häufig und tiefgründig gepflügt werden.

Daher wurde in den letzten Jahren vermehrt versucht alternative Strategien zu entwickeln, durch die eine Pfluglose oder minimierte Pflugnutzung auch im ökologischen Landbau möglich wird. Eine erfolgsversprechende Möglichkeit ist der Anbau von Zwischenfrüchten, die als „Gründünger“ in den Boden eingebracht werden und entsprechend die Stickstoffnachlieferung aus Böden verbessert. Ohne Pflugbearbeitung akkumulieren die Nährstoffe im Oberboden und führen zu einer sehr stratifizierten Bodenschichtung, was in den meisten Fällen zu einem besseren Wurzelwachstum führt und auch die Abundanz und Aktivität von Bodentieren wie Regenwürmern positiv beeinflusst. Allerdings sind diese Effekte in hohem Maß von dem C:N-Verhältnis der Pflanzen, die als Gründünger verwendet werden abhängig, sodass hier meist nur Leguminosen eingesetzt werden.

Das beschriebene bessere Wurzelwachstum kann die Wasser und Nährstoffversorgung der Pflanze positiv beeinflussen und zu einem erhöhten Ertrag führen, zu einer besseren Pflanzenqualität und zu einer erhöhten Widerstandskraft gegen Phytopathogene. Allerdings werden die genannten Eigenschaften in starkem Maß durch die Struktur und Funktion der Mikroflora im Wurzelraum beeinflusst, welche insbesondere für den Transport von Nährstoffen (zum Beispiel durch Mykorrhizapilze) aber auch für die Resistenz gegenüber pathogenen Organismen verantwortlich sind. Teile der Bodenmikroflora können die Pflanzengesundheit durch die Ausscheidung von pflanzenwachstumsfördernden Hormonen, die Stimulierung des pflanzlichen Immunsystems und antagonistische Biokontrolle beeinflussen. Einige Studien der letzten Jahre haben das Pflanzenassoziierte Mikrobiom sogar als das „zweite Genom der Pflanze“ bezeichnet (Berg et al., 2014). Ähnlich wie für das Bodenmikrobiom gilt aber auch hier, dass über die Diversität und funktionale Möglichkeiten der Mikroflora insbesondere am Interface zwischen Boden und Pflanzenwurzel (Rhizosphäre) sehr wenig bekannt ist.

Die meisten Daten über die Konsequenzen einer reduzierten Bodenbearbeitung im ökologischen Landbau mit oder ohne der Applikation von Zwischenfrüchten beruhen auf Kurzzeitstudien (< 5 Jahre). Allerdings ist davon auszugehen, dass es weitaus länger dauert, bis sich stabile Prozessstrukturen und Nahrungsnetze nach einer Minimierung der Bodenbearbeitung entwickeln (Bockstaller et al., 2009). Daher gilt es primär Daten aus Langzeitversuchen zu generieren, auszuwerten und für eine Bewertung heranzuziehen.



Darüber hinaus werden die Konsequenzen von unterschiedlichen Bodenbearbeitungsmaßnahmen ohne Zweifel durch Standortfaktoren wie Klima und Bodentyp mit bestimmt, sodass entsprechende Studien auf mehreren Standorten basiert, erfolgen sollten um Daten für lokale, regionale und globale Managementstrategien zu entwickeln.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Bodenprobenahme

Bodenproben wurden im Frühjahr vor der Aussaat und Düngung genommen. Es wurden zwei Bodenbearbeitungsvarianten verglichen und zwar konventioneller Pflug (15-18 cm Tiefe) und reduzierte Bodenbearbeitung mit einem Magerpflug (5-10 cm Tiefe). Jede Variante wurde dreimal wiederholt. Pro Plot wurden 10 Bodenkerne (50cm) genommen und in drei Schichten aufgeteilt (0-10 cm, 10-20 cm und 20-50 cm). Diese wurden dann zu einer Gesamtprobe pro Plot vereinigt. Die Proben für mikrobiologische Untersuchungen wurden vor Ort sofort eingefroren und bei -80°C gelagert. Proben für bodenchemische Analysen wurden auf Eis gekühlt. Insgesamt wurden Proben von vier verschiedenen landwirtschaftlichen Standorten untersucht. Details zu den Standorten finden sich in Tabelle 2.

Standort	Textur	Bodenbearbeitung	Standort	Landbau
<b>Frick</b>	22 % Sand, 33 % Schluff, 45 % Ton	Konventionell, Reduziert	Schweiz	organisch
<b>Moškanjci</b>	34% Sand, 44% Schluff, 22% Ton	Konventionell, Reduziert	Slowenien	organisch
<b>Juchowo</b>	92% Sand, 6% Schluff, 2% Ton	Konventionell, Reduziert	Polen	organisch
<b>Zürich</b>	43% Sand, 33% Schluff, 24% Ton	Konventionell, Reduziert	Schweiz	organisch vs konventionell

**Tabelle 2:** Landwirtschaftliche Probenahmestandorte

In den Feldversuchen hat sich die wichtige Rolle von Exopolysaccharid- (EPS) und Lipopolysaccharid- (LPS) produzierenden Bakterien herauskristallisiert. Während der Probenahmen wurden außerdem Bodenkrusten auf den Feldern gefunden. Da EPS/LPS produzierende Bakterien in biologischen Bodenkrusten (BSC) eine essentielle Rolle spielen und gerade die Bodenbearbeitung einen starken Einfluss auf die Etablierung von BSC hat, haben wir in einem Inkubationsversuch Böden mit unterschiedlichem pH Wert und Kohlenstoffgehalt verglichen, um den Einfluss der beiden Faktoren unter ansonsten

konstanten Randbedingungen auf die Krustenbildung zu untersuchen. Die verwendeten Böden stammen aus der Binnendüne Lieberose (Brandenburg) (Fischer et al., 2010) und dem künstlich konstruierten Einzugsgebiet Hühnerwasser (Gerwin et al., 2010).

### **3.2. Mikrobielle Aktivität**

Um den Einfluss der Bodenbearbeitung auf die mikrobielle Aktivität zu erfassen, wurden standardisierte Teebeutel (Grüner Tee, Lipton) an den verschiedenen Standorten vergraben, dazu zählen Frick, Aesch, Juchowo, Moskanjci. Die Teebeutel wurden 3 Monate über Winter inkubiert und im Frühjahr 2016 wieder entnommen. Als Maß für die mikrobielle Aktivität wird die Abbaurrate mittels des „Tea-bag-index“ ermittelt (Keuskamp et al., 2013). Da die Teebeutel den Winter nicht unbeschadet überstanden haben, wurde der Versuch wiederholt. Aber auch hier war eine große Ausfallrate zu verzeichnen, so dass eine finale Auswertung der Daten nicht möglich war. Um wenigstens einen Anhaltspunkt für das mikrobielle Wachstum zu haben, wurde in allen Versuchen die mikrobielle Biomasse erfasst.

### **3.3 Bodenchemische Analysen**

Die Aggregatstabilität wurde wie in Murer et al. (1993) beschrieben, mittels Sieben des feuchten Bodens ermittelt. Der gesamte organische Kohlenstoff im Boden wurde durch Oxidation von 1 g trockenem, gemahlenem Boden in 20 ml konzentrierter 2M  $K_2Cr_2O_7$  extrahiert. Löslicher und mikrobieller Kohlenstoff wurde durch Chloroform-Fumigation Extraktion ermittelt (Joergensen, 1995) und am DIMA-TOC 100 analyzer (Dimatec Analysetechnik GmbH, DE) gemessen. Löslicher Stickstoff, Ammonium und Nitrat wurden in 0.01M  $CaCl_2$  extrahiert und am Skalar Continuous Flow Analyzer SA5100 (Skalar Analytical B.V., NL) gemessen.

### **3.4 DNA Extraktion und Sequenzierung**

Die DNA Extraktion wurde nach der Phenol-Chloroform-Extraktionsmethode nach Lüders et al. (2004) durchgeführt. Die DNA Konzentration wurde mit dem Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Life Technologies, USA) ermittelt. Anschließend wurden die DNA-Extrakte bei -20°C gelagert.

Für das Scheren der DNA wurde 1µg pro Probe eingesetzt. Das Scheren wurde mit dem E220 Focused-ultrasonicator (Covaris, USA) nach den Angaben des Herstellers durchgeführt, um eine finale Zielgröße von 500 bp zu erreichen (conditions: peak incident power – 175 W, duty factor – 5 %, cycles per burst – 200, treatment time – 35 s, temperature – 7 °C, water level – 6, sample volume – 50 µl, intensifier – yes). Von der gescherten DNA wurden 50-100ng verwendet um die Libraries für die Sequenzierung herzustellen. Dazu wurde das NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit für Illumina, und die NEBNext® Multiplex

Oligos als Barcodes für Illumina (New England Biolabs, UK) verwendet. Um auf die richtige Größe zu selektieren (400-500bp) und die PCR Produkte aufzureinigen, wurden eine Aufreinigung mit den Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter, USA) durchgeführt (1:0.6 DNA to bead ratio). Um schlussendlich die tatsächliche Größe der Libraries zu bestimmen, wurde das High Sensitivity DNA Analysis Kit mit dem 2100 Bioanalyser (Agilent, USA) verwendet. Die finalen Libraries wurden dann auf 4nM verdünnt und zu gleichen Teilen vereinigt. 10pM der Mischung wurde verwendet um auf dem MiSeq Sequenzierer mit dem MiSeq Reagent Kit v3 for 600 cycle (Illumina, USA) sequenziert zu werden.

### **3.5 Bioinformatische Auswertung**

Die Sequenzierrohdaten wurden wie von Vestergaard et al (Vestergaard et al., 2017) vorgeschlagen gefiltert. Die verbliebenden Adaptoren wurden mit dem Programm AdapterRemoval (Schubert et al., 2016) entfernt und die Reads wurden zugeschnitten (Settings: 5'/3' terminal minimum Phred quality = 15, minimum read length = 50). PhiX Kontaminationen wurden mit Hilfe von DeconSeq entfernt (Schmieder and Edwards, 2011). Für die taxonomische Zuordnung wurden die gefilterten Reads mit Hilfe von Diamond (version 0.5.2.32) (Buchfink et al., 2014) gegen die National Center for Biotechnology Information Non-Redundant (NCBI-NR) protein sequences Datenbank (Oktober 2015) geblasted. Basierend auf den 25 Top-Blast-Hits wurden für jeden Read eine spezifische Taxon-ID vergeben. Dafür wurde die Software MEtaGenome Analyzer (MEGAN, version 5.10.6) verwendet (Huson et al., 2011) (Settings: MinScore = 50.0, MaxExpected = 0.01, TopPercent = 10.0, MinSupport = 1, MinComplexity = 0). Zusätzlich wurden mittels SortMeRNA (Version 2.) (Kopylova et al., 2012) 16S rRNA Gensequenzen identifiziert und mittels QIIME (Version 1.9.1) und der SILVA Datenbank (Release 123) taxonomisch annotiert (Caporaso et al., 2010).

Für die Zuordnung der EPS und LPS Gene zu den Sequenzen wurden die entsprechenden Proteinsequenzen direkt von der online Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Orthology Datenbank heruntergeladen (Oktober 2016). Die Proteinsequenzen wurden auf funktionsspezifische Domänen hin untersucht. Dazu wurde CD-search verwendet (Marchler-Bauer et al., 2015). KEEG Orthology (KO) Einträge, die solche Domänen aufwiesen, wurden für die Konstruktion einer spezifischen Datenbank benutzt. Die entsprechenden Hidden Markov Models (HMMs) der spezifischen Domänen wurden von der TIGRFAMs (Version 15) (Haft et al., 2013) und Pfam Datenbank (Version 30) heruntergeladen (Finn et al., 2016). Offene Leserahmen der Sequenzen wurden mit FragGeneScan (Version 1.19) ermittelt, welche anschließend mit HMMER (Version 3) gescanned wurden. Sequenzen, die mit den HMMs übereinstimmten wurden gegen die konstruierte KO Datenbank geblasted. Sequenzen bei denen die ersten 25 Blast-Hits

übereinstimmten, wurde eine KO ID zugeordnet. Am Ende wurden 14 spezifische KO Nummern verifiziert (siehe Tabelle 3). Nach den offenen Leserahmen der EPS und LPS Sequenzen wurden in den kompletten Pfam und TIGRFAMs Datenbanken gesucht.

Protein	KO number	HMM ID
polysaccharide export outer membrane protein Wza	K01991	PF02563
alginate export outer membrane protein AlgE	K16081	PF13372
alginate biosynthesis acetyltransferase AlgJ	K19295	PF16822
colanic acid biosynthesis acetyltransferase WcaB	K03819	TIGR04016
colanic acid biosynthesis acetyltransferase WcaF	K03818	TIGR04008
colanic acid/amylovoran biosynthesis pyruvyl transferase WcaK/AmsJ	K16710	TIGR04006
capsular polysaccharide export system permease KpsE	K10107	TIGR01010
exopolysaccharide biosynthesis transmembrane protein EpsG	K19419	PF14897
exopolysaccharide biosynthesis tyrosine kinase modulator EpsA	K19420	TIGR01006
levansucrase SacB	K00692	PF02435
lipopolysaccharide transport system ATP-binding protein Wzt	K09691	PF14524
LptBFGC lipopolysaccharide export complex permease LptF	K07091	TIGR04407
LptBFGC lipopolysaccharide export complex permease LptG	K11720	TIGR04408, PF03739
LptBFGC lipopolysaccharide export complex inner membrane protein LptC	K11719	TIGR04409, PF06835

**Tabelle 3:** Hidden Markov Modelle (HMM) für Proteine, die an der Synthese, dem Transport und der Assemblierung von Exopolysacchariden (EPS) beteiligt sind.

## 4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

### 4.1 EPS/LPS Synthese in unterschiedlichen Bodentiefen

Um den Einfluss der Bodenbearbeitung auf mikrobielle Nahrungsnetzwerke und mikrobielle Funktionen (Nährstoffumsetzung, Exopolysaccharidproduktion zur Bodenstabilisierung) genauer zu untersuchen, haben wir im Laufe des letzten Jahres an 18 ausgewählten Proben Metagenomanalysen durchgeführt. Die Proben stammen vom Frick Versuch am FIBL (3 Replikate, 3 Tiefen (0-10, 10-20, 20-50 cm), 2 Pflugtiefen (reduziert, konventionell), gegüllt) und wurden im März 2015 genommen.

Die bodenchemischen Analysen (Tabelle 4) haben gezeigt, dass die Aggregatstabilität bei beiden Managementvarianten vergleichbar ist. Die Verteilung der Nährstoffe aber stark von der Bodenbearbeitung abhängt. Bei konventioneller Bodenbearbeitung werden die Horizonte vermischt, während bei reduzierter Bodenbearbeitung eine Anreicherung von SOC, DOC und Cmic in der obersten Bodenschicht erfolgt.

Bodenbearbeitung	Konventionell			Reduziert			
	Tiefe	0-10cm	10-20cm	20-50cm	0-10cm	10-20cm	20-50cm
<b>SAF (%)</b>		56.19 ± 8.98	48.58 ± 3.05	65.21 ± 9.62	50.35 ± 8.30	51.52 ± 6.73	69.02 ± 2.26
<b>SOC (%)</b>		2.30 ± 0.41	2.15 ± 0.33	1.25 ± 0.37	2.92 ± 0.28	2.31 ± 0.26	1.23 ± 0.22
<b>DOC (mg kg<sup>-1</sup>)</b>		62.44 ± 9.79	53.61 ± 15.84	58.41 ± 10.23	99.49 ± 19.84	62.32 ± 7.62	51.97 ± 8.45
<b>Cmic (mg kg<sup>-1</sup>)</b>		981.81 ± 158.92	849.18 ± 106.23	352.12 ± 121.46	1306.73 ± 122.07	932.26 ± 67.23	374.75 ± 58.22

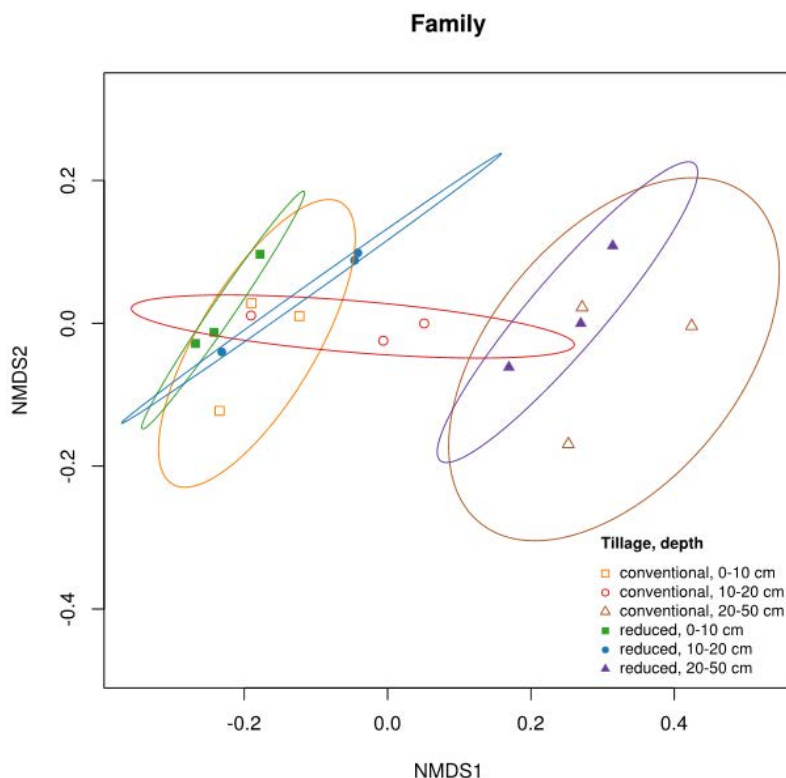
**Tabelle 4.** Aggregatstabilität (SAF), gesamter organischer Kohlenstoff (SOC), löslicher organischer Kohlenstoff (DOC) und mikrobieller Kohlenstoff (Cmic).

Anschließend wurden die Proben mittels der MiSeq Technologie (Illumina Inc.) sequenziert. Nach verschiedenen Filterschritten ergaben sich insgesamt 17.430.159 identifizierte Sequenzen, d. h. durchschnittlich 968.342 Sequenzen pro Probe. Die erhaltenen Daten wurden anschließend auf ihre taxonomische Zusammensetzung hin untersucht. Dazu wurden die Sequenzen gegen die NCBI-nr Datenbank mit DIAMOND geblasted und anschließend mit MEGAN analysiert. Um die Varianz der Metagenome und den Einfluss von Beprobungstiefe und Bodenbearbeitung zu ermitteln, wurde eine Nichtmetrische Multidimensionale Metrische Skalierung (NMDS) durchgeführt und zwar für Bakterien, Pilze und Archaeen zusammen und getrennt. Es hat sich gezeigt, dass:

1. Die Gesamtdiversität der Archaeen und Pilze wird weder von der Bodentiefe noch

der Bearbeitung beeinflusst.

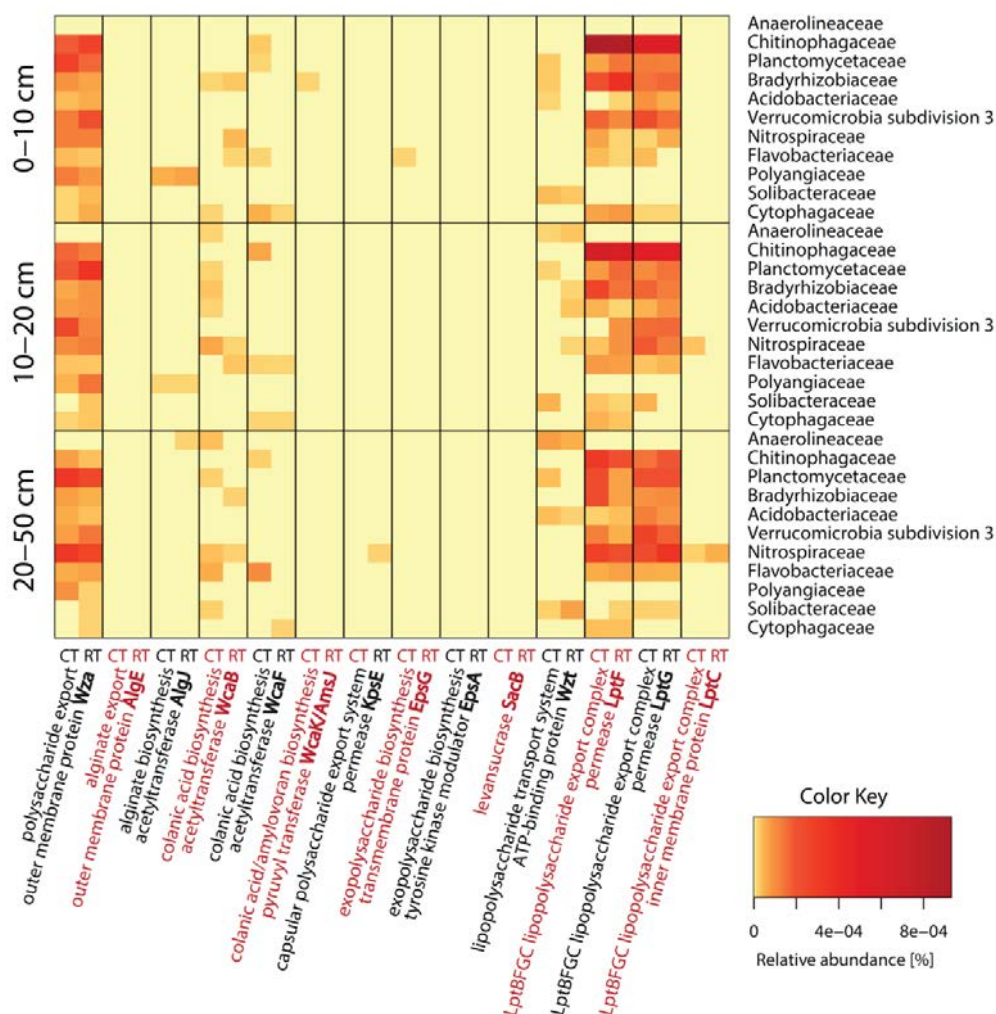
2. Die Cluster-Bildung nach Bodentiefe wird maßgeblich durch die bakterielle Gemeinschaft beeinflusst. Daher sind die NMDS Plots für die Bakterien alleine (Abbildung 1) und Bakterien-Pilze-Archaeen zusammen nahezu identisch.
3. Die Varianzanalyse macht deutlich, dass bei konventioneller Bodenbearbeitung die Vermischung im 10-20 cm Horizont deutlich ausgeprägter ist, als bei der reduzierten Bodenbearbeitung, die generell eine deutlich geringere Varianz in den verschiedenen Tiefen hervorruft. Diese Beobachtung untermauert die Beobachtung, dass eine reduzierte Bodenbearbeitung eine deutlichere Stratifizierung begünstigt.
4. Der Unterschied zwischen der bakteriellen Gemeinschaft von 0-20 cm und 20-50 cm wird durch Änderungen in der Abundanz dominanter Familien verursacht. So sind zum Beispiel Chitinophagaceae, Cytophagaceae und Bradyrhizobiaceae deutlich abundanter in 0-20 cm während die Ktedonobacteriaceae, Nitrospiraceae und Anaerolinaceae in 20-50 cm eine höhere Abundanz aufweisen. Im Gegensatz dazu ist der Effekt der Bodenbearbeitung am größten auf weniger abundante Familien (kleiner 0,3 %) wie Nakamurellaceae, Ignavibacteriaceae, Fibrobacteraceae.



**Abbildung 1:** NMDS Plot aller bakteriellen Sequenzen auf Familien-Ebene. Die Berechnung beruht auf der Bray-Curtis Ungleichheit. Die Ellipsen zeigen das 95%-ige Konfidenzintervall.

Die Kernergebnisse der Analyse sind (Abbildung 2):

1. Die Abundanz der detektierten Gene hängt stark von ihrer Universalität ab z.B. sind *wza* und *lptFG* am häufigsten im Metagenom vertreten, beide kodieren für Polysaccharid-Export-Proteine. Gene, die für die spezifische Synthese der Colanic-Acid-abhängigen EPS kodieren (*wcaBF*) oder für den Transport des O-Antigens der LPS an die Oberfläche (*wzt*), sind deutlich seltener vertreten.
2. Fast alle detektierten abundanten Familien (>0,5%) sind auch in der Lage EPS/LPS zu produzieren. Die einzige Ausnahme sind Mitglieder der Anaerolineaceae, welche kein Potential zur EPS/LPS Produktion aufweisen.
3. Die chemische Zusammensetzung und Eigenschaft der EPS/LPS sind Bakterien-spezifisch. In der Regel gibt es nur einen Syntheseweg pro Bakterium. Daher führt ein Diversitätsverlust auch zu Änderungen der EPS/LPS Zusammensetzung und Wirkung.



**Abbildung 2:** Heatmap der relativen Abundanz der EPS/LPS Gene und der beteiligten bakteriellen Familien (> 0.5%) unter konventioneller und reduzierter Bodenbearbeitung in drei verschiedenen Bodentiefen.

4. Unabhängig von der Art der Bodenbearbeitung ist das bakterielle Potential zur Produktion von EPS/LPS im Pflughorizont am höchsten.

#### 4.2 EPS/LPS Synthese in Abhängigkeit von der Bodentextur

Nach der Etablierung einer Analyse-Pipeline für EPS/LPS Gene sollte die Methode an mehreren Standorten validiert werden, damit der Einfluss der Bodenbearbeitung bei unterschiedlicher Bodentextur und Bodenchemie erfasst werden konnte. Im Gegensatz zur qPCR erlaubt diese Vorgehensweise die gleichzeitige Analyse mehrerer Gene, in diesem Fall 12, sowie der Untersuchung der Zusammensetzung der entsprechenden bakteriellen Gemeinschaft.

Die drei Standorte Frick, Moskanjci und Juchowo unterscheiden sich in der Textur, der Tongehalt nimmt von Frick nach Juchowo stetig ab. Außerdem zeigten biochemische Analysen (Tabelle 5), dass mit dem Tongehalt auch die Aggregatstabilität und mikrobielle Biomasse signifikant abnimmt. Die niedrigsten Werte für löslichen Kohlenstoff und Stickstoff wurden in Moskanjci gemessen. Nur die mikrobielle Biomasse wurde signifikant durch die Bodenbearbeitung beeinflusst und war niedriger bei konventioneller Bodenbearbeitung.

Standort	BB	SAF [%]		DOC [mg/kg]		DON [mg/kg]		Cmic [mg/kg]		Nmic [mg/kg]		pH	
Frick	CT	94.32	± 3.38	69.32	± 18.00	10.47	± 2.36	1147.20	± 5.37	164.8	± 4.37	7.3	± 0.2
	RT	90.83	± 0.75	68.23	± 16.78	13.50	± 2.65	1536.49	± 233.3	217.9	± 37.58	7.1	± 0.3
Moškanjci	CT	69.32	± 3.02	20.46	± 0.28	2.75	± 1.30	248.40	± 27.17	35.5	± 0.83	6.4	± 0.0
	RT	84.27	± 2.10	24.50	± 1.76	3.48	± 1.37	435.95	± 81.56	70.5	± 11.79	7.0	± 0.1
Juchowo	CT	5.49	± 0.59	40.52	± 2.59	11.00	± 0.20	118.88	± 11.88	16.8	± 5.35	6.3	± 0.4
	RT	5.36	± 1.39	43.86	± 5.42	10.67	± 3.81	124.06	± 66.58	20.2	± 10.78	6.2	± 0.2

**Tabelle 5:** Bodenchemische Daten. BB = Bodenbearbeitung, SAF = Aggregatstabilität

Die relative Abundanz der EPS/LPS Gene ist in Abbildung 3 zusammengefasst. Zusammenfassend kann man sagen, dass die Abundanz der Gene *lptF* und *lptG* für die LPS Synthese in allen Proben am höchsten waren. Für die EPS Synthese waren die Gene des Wzy-abhängigen Syntheseweges am häufigsten. Davon zeigte *wza* als einziges Gen einen signifikanten Anstieg mit steigendem Tongehalt des Bodens (Frick < Moskanjci < Juchowo). Während die Bodenbearbeitung keinen signifikanten Einfluss auf die EPS/LPS Genabundanz hatte, unterschieden sich die EPS/LPS Produzenten maßgeblich (Abbildung 4). Generell spiegelt die bakterielle Zusammensetzung der EPS/LPS Produzenten auch die allgemeine bakterielle Diversität wieder. Zu den Hauptproduzenten zählen *Sphingomonadaceae*, *Bradyrhizobiaceae*, *Gemmatimonadaceae*, *Chitinophagaceae* und *Comamonadaceae*, welche sich allerdings an den verschiedenen Standorten in ihrer



Häufigkeit signifikant unterscheiden.

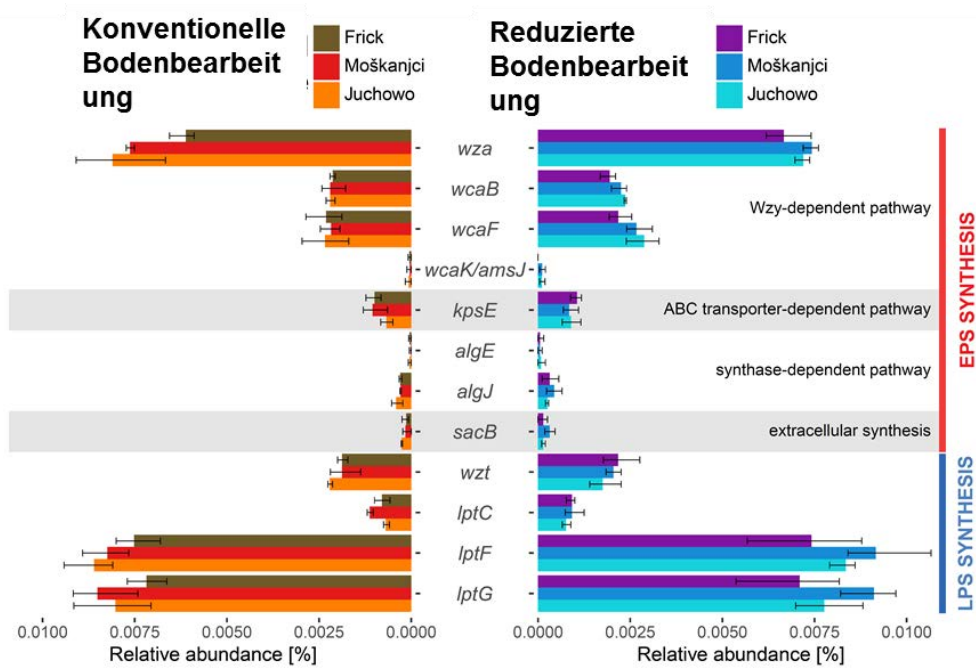


Abbildung 3: Relative Abundanz der EPS/LPS Gene.

Zum Beispiel steigt die Abundanz der *Bradyrhizobiaceae* und *Gemmatimonadaceae* signifikant an, wenn der Tongehalt abnimmt, während es sich bei den *Chitinophagaceae* genau umgekehrt verhält.

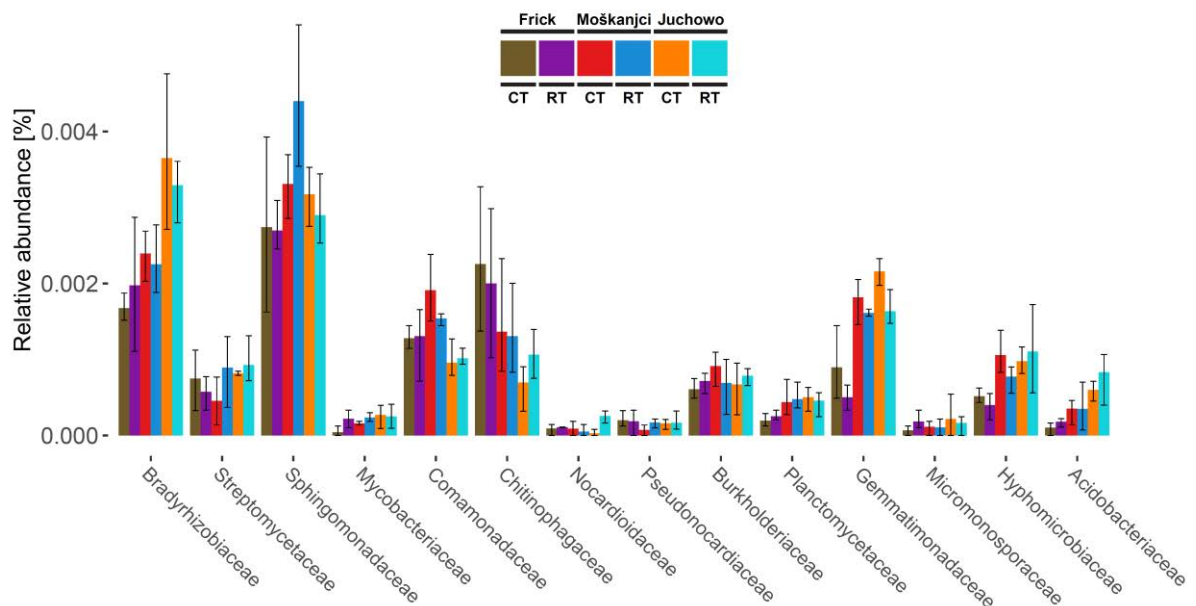


Abbildung 4: Relative Abundanz von Bakterien, die an der Synthese von EPS/LPS beteiligt sind.

### 4.3 Der Einfluss von pH auf die Bildung von EPS/LPS

Der große Einfluss des pH-Wertes auf die Zusammensetzung und Aktivität der bakteriellen Gemeinschaft ist hinlänglich bekannt (Fierer and Jackson, 2006). Um diesen Einfluss auf die Fähigkeit von Bakterien zur Bildung von LPS/EPS zu untersuchen, wurde ein Topfexperiment mit zwei verschiedenen Böden durchgeführt. Es war Ziel dieses Versuches an der Oberfläche der Böden biologische Bodenkrusten (BBK) wachsen zu lassen, da diese auch vermehrt im Feld gefunden wurden und bekannt dafür sind ein Reservoir für EPS/LPS produzierende Bakterien zu sein. Die Böden stammen von einer Binnendüne in Brandenburg, Lieberose (pH 5) und dem Hühnerwassereinzugsgebiet (pH 8) nahe Cottbus, welches 2005 künstlich konstruiert wurde um Ökosystementwicklung zu verfolgen.

Bodenchemische Analysen (Tabelle 6) haben ergeben, dass besonders löslicher organischer Kohlenstoff und Stickstoff in den BBK angereichert wurde, während Ammonium und Nitrat kaum beeinflusst wurden.

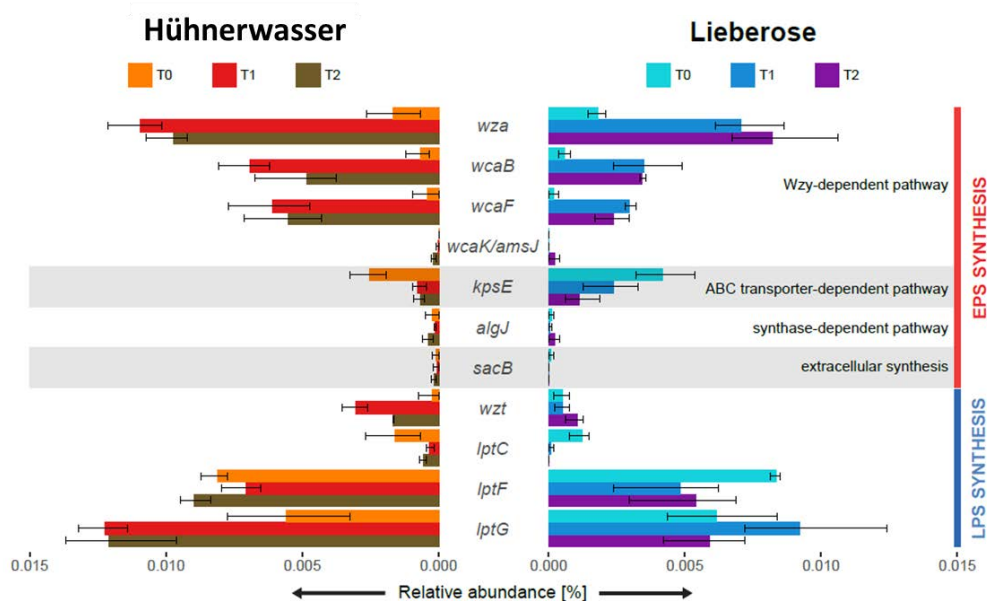
Standort	Zeit	DOC [ $\mu\text{g/g}$ ]		DON [ $\mu\text{g/g}$ ]		NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> [ $\mu\text{g/g}$ ]		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [ $\mu\text{g/g}$ ]	
Hühnerwasser	T0	4.92	± 1.27	bdl		0.12	± 0.01	0.51	± 0.05
	T1	30.93	± 8.25	1.18	± 0.34	0.01	± 0.00	bdl	
	T2	47.46	± 12.97	1.06	± 0.28	bdl		0.16	± 0.15
Lieberose	T0	8.19	± 2.94	bdl		0.04	± 0.01	0.63	± 0.08
	T1	36.77	± 9.22	0.79	± 0.12	0.03	± 0.01	bdl	
	T2	84.80	± 29.44	1.19	± 0.18	0.01	± 0.01	0.08	± 0.00
ANOVA (omega squared and significance levels)									
Standort		0.06	ns	0.00	ns	0.05	***	0.00	ns
Zeit		0.66	***	0.83	***	0.65	***	0.91	***
Standort x Zeit		0.05	ns	0.03	ns	0.25	***	0.02	ns

**Tabelle 6:** Löslicher organischer Kohlenstoff (DOC), löslicher organischer Stickstoff (DON) und mineralischer Stickstoff.

Für die mikrobiellen Analysen wurden 18 Proben sequenziert (3 Replikate, Zeitpunkt 0, 4 Monate, 10 Monate und zwei Böden), die insgesamt 59,710,640 Sequenzen ergaben. Die taxonomische Zuordnung der gesamten Sequenzen hat ergeben, dass in den BBK von Lieberose *Ktedonobacteraceae*, *Bradyrhizobiaceae* und *Acidobacteriaceae* dominieren, während in den BBK vom Hühnerwasser *Oscillatoriaceae*, *Leptolyngbyaceae*, *Microcoleaceae*, *Tolypothrichaceae* und *Nostocaceae* am häufigsten vorkommen. Im nächsten Schritt wurden die Sequenzen den EPS/LPS Genen zugeordnet. Abbildung 5 zeigt die relative Abundanz der untersuchten Gene. Statistische Analysen haben gezeigt, dass die

relative Abundanz der Gene sowohl vom Probenahmezeitpunkt als auch vom Ausgangsboden abhing. Prinzipiell hat sich gezeigt, dass *wza*, *wcaB*, *wcaF*, *wzt* und *lptG* in den BBK signifikant erhöht waren. Dieser Effekt war besonders ausgeprägt in den BBK vom Hühnerwasser. Die relative Abundanz des Gens *wzt* war in den BBK vom Hühnerwasser bereits nach 4 Monaten signifikant erhöht und in den BBK von der Lieberose nach 10 Monaten.

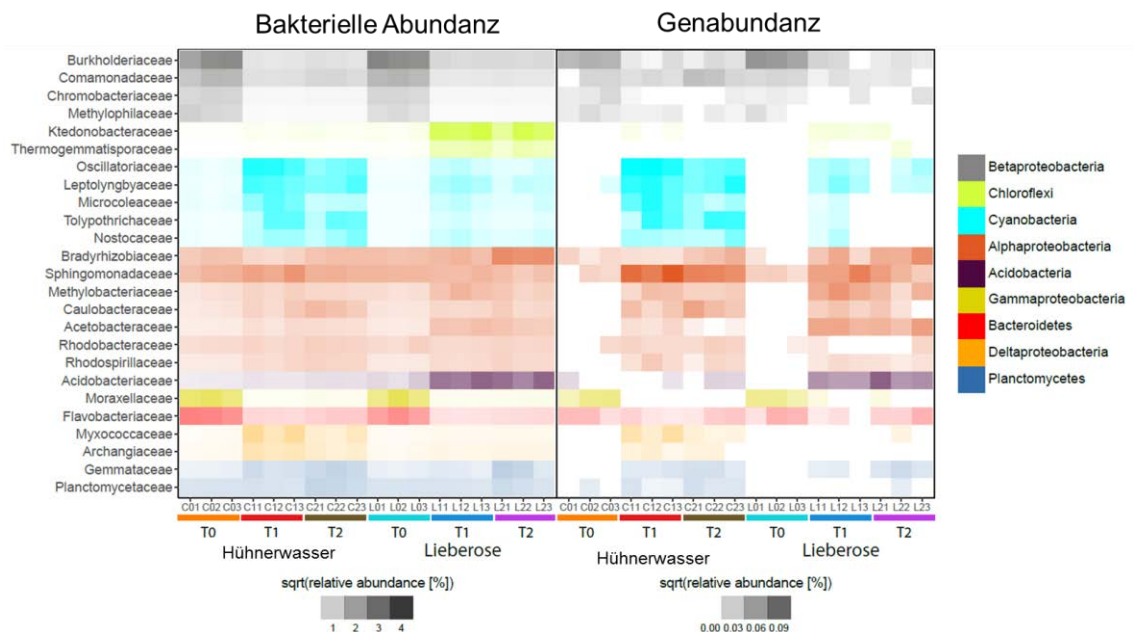
Die taxonomische Zuordnung der EPS/LPS produzierenden Bakterien hat substratspezifische Unterschiede gezeigt. In den BBK vom Hühnerwasser dominieren Cyanobacteria, während in den BBK von der Lieberose Chloroflexi und Acidobacteria am häufigsten waren. Außerdem wurde deutlich, dass die Anzahl an Familien, die für der EPS/LPS Synthese zuständig sind, sprunghaft von 33 auf 150 für die Hühnerwasserkrusten und von 34 auf 100 Familien für die Lieberosekrusten anstiegen, so dass wir eine Anreicherung in den BBK nachweisen konnten. Um bestimmte Indikatorfamilien zu ermitteln, wurden Korrelationsanalysen der Genabundanz und der Abundanz der EPS/LPS produzierenden Familien durchgeführt. Dadurch wurden insgesamt 57 Familien identifiziert, die eine positive Korrelation zwischen EPS/LPS Genen und ihrer Abundanz aufwiesen.



**Abbildung 5.** Relative Abundanz der LPS/eps Gene.

Die 25 häufigsten Familien sind in Abbildung 6 zusammengefasst. Zusammengefasst haben die Analysen gezeigt, dass Betaproteobacteria (insbesondere *Burkholderiaceae*), Gammaproteobacteria (*Moraxellaceae*) und Bacteroidetes (*Flavobacteriaceae*) Indikatorfamilien für die EPS/LPS Produktion im Boden sind. Deltaproteobacteria

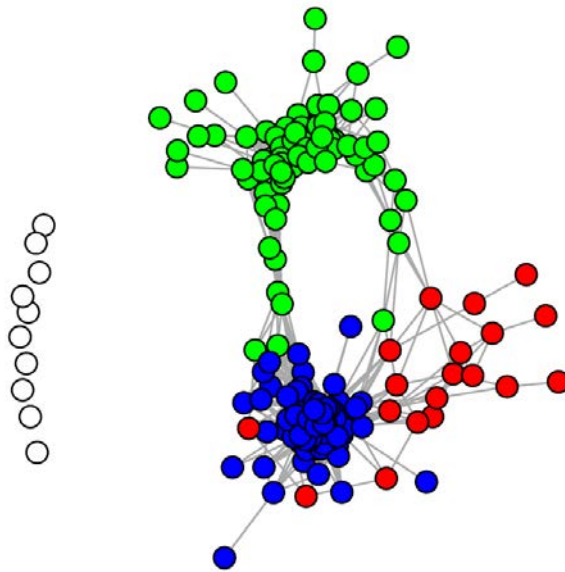
(*Myxococcaceae* und *Archangiaceae*) und Planctomycetes (*Gemmataceae* und *Planctomycetaceae*), Cyanobakterien sind Indikatoren für die EPS/LPS Produktion in den BBK vom Hühnerwasser und Chloroflexi (*Ktedonobacteraceae* und *Thermogemmatissporaceae*) und Acidobacteria (*Acidobacteriaceae*) für BBK von der Lieberose.



**Abbildung 6.** Potentielle Indikatorfamilien für die Produktion von EPS/LPS basierend auf Korrelationsanalysen der Genabundanz und Abundanz der assoziierten Familien.

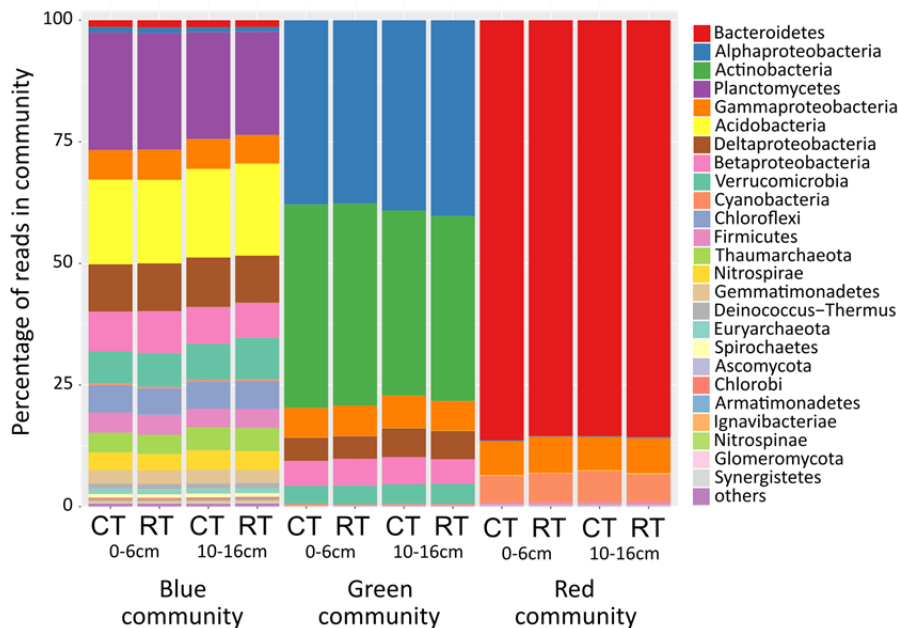
#### 4.4 Mikrobielle Netzwerke in unterschiedlichen Bodentiefen

In einem weiteren Feldversuch (durchgeführt von Agroscope in der Nähe von Zürich, mit einem Vergleich von reduzierter Bodenbearbeitung versus konventionelle Bodenbearbeitung) wurde basierend auf Metagenomdaten eine detaillierte Analyse der Netzwerke in 0-6 und 10-16 cm durchgeführt. Mittels Co-occurrence Analysen wurde gezeigt, dass die bakterielle Gemeinschaft in 3 Netzwerke geteilt werden kann (Abbildung 7). Die bakterielle Gemeinschaft hinter dem roten Netzwerk wird weder von der Tiefe noch von der Bodenbearbeitung beeinflusst. Das blaue Netzwerk wird durch Bakterien gebildet, die hauptsächlich durch die Tiefe beeinflusst werden und das grüne Netzwerk beinhaltet Bakterien, deren Interaktion auch durch die Bodenbearbeitung angetrieben wird. Des Weiteren setzt sich das grüne Netzwerk hauptsächlich durch hochabundante Bakterien zusammen.



**Abbildung 7:** Netzwerkanalyse der bakteriellen Gemeinschaft basierend auf Korrelationsanalysen. Um eine Co-Occurrence zu definieren, wurde ein Abundanz- (>50 Sequenzen in > 3 Proben) und ein Korrelations-Cut -Off ( $R^2 > 0,6$ ) verwendet.

Die taxonomische Zuordnung der Bakterien in den verschiedenen Netzwerken ergab, dass das rote Netzwerk von Bacteroidetes und Cyanobacteria dominiert wird. Das grüne Netzwerk wird von Actinobacteria und Alphaproteobacteria dominiert. Im Vergleich zu den anderen beiden Netzwerken, umfasst das blaue Netzwerk doppelt (im Vergleich zu grün) bzw. 8-mal (im Vergleich zu rot) mehr bakterielle Familien. Die häufigsten Phyla hier gehören zu den Planctomycetes, Acidobacteria, Chloroflexi, Nitrospirae, Firmicutes und Thaumarchaeota.



**Abbildung 8:** Relative Abundanz der bakteriellen Familien im roten (Red community), grünen (Green community) und blauen Netzwerk (Blue community).

## 5. Diskussion der Ergebnisse

### 5.1. Einfluss von Bodenbearbeitung auf die EPS/LPS produzierende Gemeinschaft

EPS und LPS spielen eine wichtige Rolle für den Erhalt der Bodenqualität, da sie die Stabilität von Bodenaggregaten maßgeblich bestimmen. Bodenbearbeitung jedoch zerstört Bodenaggregate, so dass bodenchemische als auch bodenphysikalische Eigenschaften verändert werden, was wiederum einen Einfluss auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft hat (Souza et al., 2013; Carbonetto et al., 2014; Miura et al., 2016). Daher ist es ein Ziel des ökologischen Landbaus reduzierte Bodenbearbeitung zu etablieren. Unsere Untersuchungen in allen Feldversuchen haben gezeigt, dass Cmic bei reduzierter Bodenbearbeitung im Oberboden erhöht ist, gleichzeitig sind auch die relativen Abundanzen der EPS/LPS Gene im Oberboden erhöht, so dass sich daraus absolut ein höheres Potential für die Synthese von EPS/LPS im Oberboden ergibt. Die Wichtigkeit dieser Funktion zeigt sich auch darin, dass über die Hälfte der detektierten Familien auch Gene für die EPS/LPS Synthese aufwiesen. Der Vergleich mehrerer Standorte hat gezeigt, dass sich das erhöhte Potential für die Synthese von EPS/LPS nur bei schluffigem Boden (Moskanjci) auf die Aggregatstabilität auswirkt, die hier bei reduzierter Bodenbearbeitung höher ist. Der hohe Tongehalt des Bodens in Frick erlaubt *per se* eine bessere Bodenstruktur (Cooper et al., 2016), während der Sandboden in Juchowo eine Aggregierung unter allen Bedingungen erschwert.

Die Bodenbearbeitung wirkt sich aber nicht nur auf die bakterielle Abundanz aus, sondern auch die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft. Dies kann insbesondere bei der Synthese von EPS/LPS zu schwerwiegenden Konsequenzen führen, da die chemischen „Klebeeigenschaften“ der Polysaccharide stark vom produzierenden Organismus abhängt, da die chemischen Strukturen mannigfaltig sind (Sutherland, 2001; Erridge et al., 2002). An allen Standorten dominierten Bakterien mit dem Wzy-abhängigen EPS Syntheseweg und LptF und LptG Transportern für das Ausschleusen der LPS Moleküle. Alle die zugrundeliegenden Gene wurden in sehr vielen verschiedenen Taxa gefunden, so dass eine hohe Abundanz dieser Gene ein Anzeiger für eine relativ stabile EPS/LPS Synthese sein kann. Sollte allerdings die Abundanz dieser Gene massiv zurückgehen, kann man davon ausgehen, dass dies negative Auswirkungen auf die Bodenstruktur hat.

Obwohl die relative Abundanz von EPS/LPS produzierenden Bakterien bei reduzierter und konventioneller Bodenbearbeitung gleich ist, wurden doch Unterschiede bei den zugrundeliegenden Schlüsselorganismen gefunden, welche wiederum zu veränderten Klebeeigenschaften der Polysaccharide führen können. Schlussendlich zeigten unsere Analysen, dass das Potential zur Synthese von EPS/LPS im Pflughorizont am höchsten ist. Dies kann durch die wiederholte Zerstörung der Bodenstruktur begründet werden, aber auch der höheren Nährstoff- und Sauerstoffverfügbarkeit, welche wichtig sind für die Energie- und Kohlenstoff-zehrende Produktion der Polysaccharide. In tieferen Bodenschichten wurden daher strikt anaerobe Familien wie Anaerolinaceae als dominante Schlüsselorganismen detektiert (Yamada et al., 2006).

Der Vergleich der EPS/LPS produzierenden Bakterien an verschiedenen Standorten hat gezeigt, dass das Potential in allen geographischen Lagen und Bodenbeschaffenheiten hoch ist. Gleiche Beobachtungen wurden in jüngster Zeit für verschiedene bakterienbetriebene Prozesse beobachtet (de Vries et al., 2015; Grafe et al., 2018). Unterschiede zeigen sich allerdings bei den Schlüsselorganismen. In Standorten wo die mikrobielle Biomasse N-limitiert ist, wie in Juchowo, dominieren Bakterienfamilien wie *Bradyrhizobiaceae*, die potentiell auch N-fixieren können (Spaink, 2000).

## **5.2. Einfluss von pH-Wert auf die EPS/LPS produzierende Gemeinschaft**

Der Vergleich der verschiedenen Standorte hat gezeigt, dass gerade unter sandigen Bedingungen die Aggregatstabilität sehr gering ist. Eine Möglichkeit den Boden zu stabilisieren, ist die Bildung und der Erhalt von biologischen Bodenkrusten (BBK), welche auch an den Standorten beobachtet wurden. Daher haben wir einen Topfversuch durchgeführt in dem wir zwei verschiedene Sandböden kultiviert haben (pH 8 vs. pH 5) und das Potential für die EPS/LPS Synthese im Boden und den BBK verglichen haben. Unser Experiment hat gezeigt, dass unter stabilen Bedingungen eine BBK-Bildung sehr schnell

gehen kann und bereits nach 4 Monaten signifikante BBK Biomasse aufgebaut wurde. Dies wurde auch im Feld durch Maestre et al. (2006) verifiziert. Die Bildung der BBK ging einher mit einem massiven Anstieg von EPS/LPS produzierenden Bakterien, so dass man davon ausgehen kann, dass die erfolgreiche Etablierung von BBK in sandigen Böden einen großen Vorteil für die Bodenstabilität aber auch die Nährstoffspeicherung hat. Denn zum einen haben wir signifikant mehr löslichen Kohlenstoff und Stickstoff in den BBK gemessen und zum anderen werden insbesondere in alkalischen Böden Cyanobacteria angereichert, die sowohl in der Lage sind CO<sub>2</sub> als auch N<sub>2</sub> zu fixieren. In sauren Böden findet man erfahrungsgemäß keine Cyanobacteria, dort wird deren Aufgabe durch Algen bzw. andere bakterielle Familien übernommen wie *Ktedonobacteraceae*, *Bradyrhizobiaceae* und *Acidobacteriaceae*, die zum Einen säuretolerant sind oder zum Anderen auch N<sub>2</sub> fixieren können (Campbell, 2014; Hanada, 2014; Marcondes de Souza et al., 2014). In anderen Studien wurde gezeigt, dass die akkumulierten Nährstoffe in den BBK mit der Zeit auch in tiefere Bodenschichten transportiert werden (Beymer and Klopatek, 1991; Dümig et al., 2014), so dass sie als ein Nährstoffreservoir gesehen werden können.

Wie auch für die anderen Standorte wurde der Wzy-abhängige EPS Syntheseweg und LptG und LptF Transporter für LPS als dominante Wege gefunden. Daher würde die Etablierung von BBK in landwirtschaftlichen Böden die bereits natürlich vorkommenden Potentiale verstärken. Außerdem haben Korrelationsanalysen gezeigt, dass eine starke positive Korrelation zwischen der Abundanz von verschiedenen Cyanobacteria, *Acidobacteriaceae*, *Ktedonobacteraceae* und *Bradyrhizobiaceae* und der EPS/LPS Gene besteht, so dass man diese Familien als Indikatoren für die Bildung von EPS/LPS in BBK von sandigen Böden.

### **5.3. Einfluss von Bodenbearbeitung auf mikrobielle Netzwerkstrukturen**

Um Indikatorspezies für die Bodenbearbeitung abzuleiten, haben wir Co-Occurrence Analysen durchgeführt. Dadurch ist es möglich Organismen, die auf einen Bearbeitungsfaktor reagieren isoliert darzustellen. Die meisten Bakterien wurden durch die Bodentiefe beeinflusst, was keine Überraschung ist, da diese mit einer starken Änderung der Randbedingungen verknüpft ist wie Sauerstoffabnahme, reduzierte Nährstoffverfügbarkeit etc. Am interessantesten für unsere Fragestellung nach Indikatorspezies für Bodenbearbeitung ist allerdings das grüne Netzwerk (Abbildung 7), da hier Organismen erfasst wurden, die von der Bodenbearbeitung beeinflusst werden. Die meisten Vertreter gehören zu den Alphaproteobacteria und Actinobacteria. Interessanterweise sind diese bei reduzierter Bearbeitung im Oberboden erhöht, während sie bei konventioneller Bodenbearbeitung in tieferen Bodenschichten akkumulieren. Familien beider Phyla sind bekannte pflanzenassoziierte Bakterien. *Micromonospora* zum Beispiel sind bekannte Endophyten und haben Pflanzen unterstützende Eigenschaften (Wilhelm et al., 2017).



Actinobacteria können eine große Anzahl Antibiotika produzieren und die Pflanzen dadurch vor Pathogenen schützen (Bérdy, 2005). Des Weiteren wurde gezeigt, dass die Wurzeldichte bei reduzierter Bodenbearbeitung im Oberboden größer ist, während die Wurzeln bei gepflügten Varianten auch in tiefere Bodenschichten vordringen (Bogužas et al., 2010). Gleichzeitig werden bei reduzierten Varianten mehr Wurzeln durch Bakterien kolonisiert (Huang et al., 2016). Behält man den hohen Bedarf an Kohlenstoff für die Synthese von EPS/LPS im Hinterkopf bedingt die engere Assoziation von Wurzeln und potentiellen EPS/LPS Produzenten Vorteile für beide Seiten. Die Bakterien erhalten den nötigen Kohlenstoff und können dadurch Biofilme bilden um die Pflanze vor dem Eintritt von potentiell pathogenen Organismen zu schützen. Weitere Bakterien, die durch die Bodenbearbeitung beeinflusst wurden gehören zu den Beta-, Gamma- und Deltaproteobacteria wie die *Oxalobacteraceae* und *Comamonadaceae* (Betaproteobacteria), die *Xanthomonadaceae* (Gammaproteobacteria), die Polyangiaceae, *Cystobacteraceae*, *Labilitrichaceae* und *Myxococcaceae* (Myxobacteria, Deltaproteobacteria) und die Burkholderiales (Betaproteobacteria). Zusammenfassend kann man sagen, dass viele der Bakterien, deren Abundanz durch die Bodenbearbeitung beeinflusst wird, positive Effekte für die Pflanze haben wie die Produktion von Biokontrollsubstanzen, Antibiotika und andere aber auch profitieren durch den zusätzlichen Kohlenstoffeintrag.

## **6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse.**

Die im Rahmen des Projektes erzielten Ergebnisse wurden und werden in wissenschaftlich begutachteten Fachzeitschriften publiziert und die erhobenen Daten vollumfänglich öffentlich zugänglich gemacht. Die Sequenzierdaten sind im „sequencing read archive“ (SRA) unter der Nummer PRJNA387672 hinterlegt.

Dadurch leisten sie einen dauerhaften Beitrag dazu, ackerbauliche Systeme und deren Mikrobiome zu verstehen und Managementfaktoren zu identifizieren, mit deren Hilfe solche Systeme optimiert werden können.

Der hauptsächliche Nutzen des Projektes liegt im Erlangen von Erkenntnissen im Rahmen der Grundlagenforschung, die mikrobiellen Daten alleine können nicht in eine direkte Praxisempfehlung übersetzt werden, dienen aber maßgeblich zur Interpretation weiterer Managementstrategien. Daher wurde kein Merkblatt im Sinne von III angefertigt.

## **7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen**

Die Arbeiten wurden bis auf zwei Einschränkungen wie geplant durchgeführt. Auf Grund der

massiven Weiterentwicklung der Sequenziertechnologien und Auswertesoftware konnte in WP5 ein Mehrwert erzielt werden, da die Anwendung der etablierten bioinformatischen Pipeline eine Datenanalyse über die reine Genabundanz hinaus erlaubte. Daher wurden keine Einzelstehenden Primersysteme entwickelt, sondern ein holistischer Ansatz gewählt, um die Daten auf mehreren Standorten zu validieren.

In WP1 wurde Teebeutel vergraben um die mikrobielle Aktivität durch deren Abbau zu ermitteln. Dieser Ansatz konnte leider nicht abgeschlossen werden, da die Teebeutel mehrmals über den Winter Schaden genommen haben und keine aussagekräftige Auswertung möglich war.

Zum jetzigen Zeitpunkt haben sich die Analysen auf einen Zeitpunkt im Jahr beschränkt, an dem stabile Muster verfolgt werden können (Frühjahr vor der Aussaat). Für ein effizientes Management wäre es für die Zukunft anstrebenswert Dynamiken während des Jahres zu untersuchen, um besser zu verstehen wie sich die bakteriellen Potentiale unter sich ändernden Randbedingungen anpassen und wie sich die Konkurrenz zwischen Pflanzen und Mikroorganismen auf die mikrobiologischen Potentiale auswirkt.

## **8. Zusammenfassung**

Im ökologischen Landbau gilt es unter umweltschonender Bewirtschaftung trotzdem hohe Erträge zu erzielen. Bisher wurde dies teilweise durch konventionelle Pflügung realisiert, diese Maßnahme zerstört aber in hohem Masse die Bodenstruktur des Oberbodens und damit den Lebensraum wichtiger Organismengruppen. Daher ist es wünschenswert die im konventionellen Landbau schon übliche reduzierte Bodenbearbeitung auch im ökologischen Landbau zu etablieren. Im Rahmen dieses Projektes wurde daher untersucht wie sich die reduzierte Bodenbearbeitung auf das Mikrobiom auswirkt. Da Pflügen insbesondere die Bodenstruktur zerstört, lag der besondere Fokus auf dem bakteriellen Potential strukturbildende Substanzen wie EPS/LPS zu produzieren.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass das Potential zur Bildung von EPS/LPS generell im Pflughorizont am größten ist. Als Indikatorogene wurden *wza* für die EPS-Synthese und *lptG* und *lptF* für den LPS Transport identifiziert. Während die Abundanz der zugrundeliegenden Gene nicht durch die Bodenbearbeitung beeinflusst wurde, hat sich die Zusammensetzung der Schlüsselorganismen je nach Standort, Tiefe und Bodenbearbeitung unterschieden. Da die strukturbildenden Eigenschaften der Polysaccharide bei jedem Organismus anders ist, können kleine Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung zu großen Unterschieden in der Aggregatstabilität führen. So hat sich gezeigt, dass trotz vergleichbarer relativer Genabundanzen schluffiger Boden am sensibelsten auf die Bodenbearbeitung reagiert, mit höheren Werten unter reduzierter Bodenbearbeitung. Die

sowieso schon schlechte Aggregation in sandigen Böden, konnte nicht verbessert werden. Alternativ könnte man hier aber durch reduzierte Bodenbearbeitung die Entwicklung von BBK unterstützen, die wie sich gezeigt hat ein großes Potential für die Speicherung von Nährstoffen haben, als auch die Bildung von EPS/LPS.

Interessanterweise haben die Netzwerkanalysen ergeben, dass insbesondere Bakterien, die das Pflanzenwachstum unterstützen wie Micromonospora und Actinobacteria durch die Bodenbearbeitung beeinflusst werden. Sie akkumulieren im Oberboden bei reduzierter Bearbeitung und unter dem Pflughorizont bei den Pflugvarianten und folgen somit der Wurzelpenetrationstiefe.

## 9. Literaturverzeichnis

- Altieri, M.A. (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agr Ecosyst Environ* **74**: 19-31.
- Bérdy, J. (2005) Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal Of Antibiotics* **58**: 1.
- Berg, G., Grube, M., Schloter, M., and Smalla, K. (2014) Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. *Front Microbio* **5**: 148.
- Beymer, R.J., and Klopatek, J.M. (1991) Potential contribution of carbon by microphytic crusts in pinyon - juniper woodlands. *Arid Soil Research and Rehabilitation* **5**: 187-198.
- Bockstaller, C., Guichard, L., Keichinger, O., Girardin, P., Galan, M.-B., and Gaillard, G. (2009) Comparison of Methods to Assess the Sustainability of Agricultural Systems: A Review. In *Sustainable Agriculture*. Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., and Alberola, C. (eds). Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 769-784.
- Bogužas, V., Kairyte, A., and Jodaugienė, D. (2010) Soil physical properties and earthworms as affected by soil tillage systems, straw and green manure management. *Žemdirbystė (Agriculture)* **97**: 3-14.
- Buchfink, B., Xie, C., and Huson, D.H. (2014) Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat Methods* **12**: 59.
- Campbell, B.J. (2014) The Family Acidobacteriaceae. In *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*. Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., and Thompson, F. (eds). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 405-415.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K. et al. (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Meth* **7**: 335-336.
- Carbonetto, B., Rascovan, N., Álvarez, R., Mentaberry, A., and Vázquez, M.P. (2014) Structure, Composition and Metagenomic Profile of Soil Microbiomes Associated to Agricultural Land Use and Tillage Systems in Argentine Pampas. *PLOS ONE* **9**: e99949.
- Chirinda, N., Olesen, J.E., Porter, J.R., and Schjønning, P. (2010) Soil properties, crop production and greenhouse gas emissions from organic and inorganic fertilizer-based arable cropping systems. *Agr Ecosyst Environ* **139**: 584-594.

- Cooper, J., Baranski, M., Stewart, G., Nobel-de Lange, M., Barberi, P., Fliessbach, A. et al. (2016) Shallow non-inversion tillage in organic farming maintains crop yields and increases soil C stocks: a meta-analysis. *Agronomy for Sustainable Development* **36**.
- de Vries, M., Schöler, A., Ertl, J., Xu, Z., and Schloter, M. (2015) Metagenomic analyses reveal no differences in genes involved in cellulose degradation under different tillage treatments. *FEMS Microbiol Ecol* **91**.
- Dümig, A., Veste, M., Hagedorn, F., Fischer, T., Lange, P., Spröte, R., and Kögel-Knabner, I. (2014) Organic matter from biological soil crusts induces the initial formation of sandy temperate soils. *CATENA* **122**: 196-208.
- Erridge, C., Bennett-Guerrero, E., and Poxton, I.R. (2002) Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes and Infection* **4**: 837-851.
- Fierer, N., and Jackson, R.B. (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *PNAS* **103**: 626-631.
- Finn, R.D., Coghill, P., Eberhardt, R.Y., Eddy, S.R., Mistry, J., Mitchell, A.L. et al. (2016) The Pfam protein families database: towards a more sustainable future. *Nucleic Acids Res* **44**: D279-D285.
- Fischer, T., Veste, M., Wiehe, W., and Lange, P. (2010) Water repellency and pore clogging at early successional stages of microbiotic crusts on inland dunes, Brandenburg, NE Germany. *CATENA* **80**: 47-52.
- Gattinger, A., Muller, A., Haeni, M., Skinner, C., Fliessbach, A., Buchmann, N. et al. (2012) Enhanced top soil carbon stocks under organic farming. *PNAS* **109**: 18226-18231.
- Gerwin, W., Schaaf, W., Biemelt, D., Elmer, M., Maurer, T., and Schneider, A. (2010) The artificial catchment 'Hühnerwasser' (Chicken Creek): Construction and initial properties. In *Ecosystem Development*. Hüttl, R.F., Schaaf, W., and Gerwin, W. (eds). Cottbus: Research Centre Landscape Development and Mining Landscapes (FZLB), p. 58.
- Grafe, M., Goers, M., von Tucher, S., Baum, C., Zimmer, D., Leinweber, P. et al. (2018) Bacterial potentials for uptake, solubilization and mineralization of extracellular phosphorus in agricultural soils are highly stable under different fertilization regimes. *Environ Microbiol Rep* **10**: 320-327.
- Haft, D.H., Selengut, J.D., Richter, R.A., Harkins, D., Basu, M.K., and Beck, E. (2013) TIGRFAMs and Genome Properties in 2013. *Nucleic Acids Res* **41**: D387-D395.
- Hanada, S. (2014) The Phylum Chloroflexi, the Family Chloroflexaceae, and the Related Phototrophic Families Oscillochloridaceae and Roseiflexaceae. In *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*. Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., and Thompson, F. (eds). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 515-532.
- Huang, M., Chen, J., Cao, F., Jiang, L., and Zou, Y. (2016) Rhizosphere processes associated with the poor nutrient uptake in no-tillage rice (*Oryza sativa* L.) at tillering stage. *Soil Till Res* **163**: 10-13.
- Huson, D.H., Mitra, S., Ruscheweyh, H.-J., Weber, N., and Schuster, S.C. (2011) Integrative analysis of environmental sequences using MEGAN4. *Genome Res* **21**: 1552-1560.
- Joergensen, R.G. (1995) The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: extraction with 0.01 M CaCl<sub>2</sub>. In *Agribiol Res*, pp. 319-324.

- Keuskamp, J.A., Dingemans, B.J.J., Lehtinen, T., Sarneel, J.M., and Hefting, M.M. (2013) Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution* **4**: 1070-1075.
- Kopylova, E., Noé, L., and Touzet, H. (2012) SortMeRNA: fast and accurate filtering of ribosomal RNAs in metatranscriptomic data. *Bioinformatics* **28**: 3211-3217.
- Lueders, T., Manefield, M., and Friedrich, M.W. (2004) Enhanced sensitivity of DNA- and rRNA-based stable isotope probing by fractionation and quantitative analysis of isopycnic centrifugation gradients. *Environ Microbiol* **6**: 73-78.
- Maeder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., and Niggli, U. (2002) Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. *Science* **296**: 1694-1697.
- Maestre, F.T., Martín, N., Díez, B., López-Poma, R., Santos, F., Luque, I., and Cortina, J. (2006) Watering, Fertilization, and Slurry Inoculation Promote Recovery of Biological Crust Function in Degraded Soils. *Microb Ecol* **52**: 365-377.
- Marchler-Bauer, A., Derbyshire, M.K., Gonzales, N.R., Lu, S., Chitsaz, F., Geer, L.Y. et al. (2015) CDD: NCBI's conserved domain database. *Nucleic Acids Res* **43**: D222-D226.
- Marcondes de Souza, J.A., Carareto Alves, L.M., de Mello Varani, A., and de Macedo Lemos, E.G. (2014) The Family Bradyrhizobiaceae. In *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., and Thompson, F. (eds). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 135-154.
- Miura, T., Niswati, A., Swibawa, I.G., Haryani, S., Gunito, H., Arai, M. et al. (2016) Shifts in the composition and potential functions of soil microbial communities responding to a no-tillage practice and bagasse mulching on a sugarcane plantation. *Biology and Fertility of Soils* **52**: 307-322.
- Murer, E.J., Baumgarten, A., Eder, G., Gerzabek, M.H., Kandeler, E., and Rampazzo, N. (1993) An improved sieving machine for estimation of soil aggregate stability (SAS). *Geoderma* **56**: 539-547.
- Norris, R.F., and Kogan, M. (2017) Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Science* **48**: 94-158.
- Schmieder, R., and Edwards, R. (2011) Fast Identification and Removal of Sequence Contamination from Genomic and Metagenomic Datasets. *PLoS ONE* **6**: e17288.
- Schubert, M., Lindgreen, S., and Orlando, L. (2016) AdapterRemoval v2: rapid adapter trimming, identification, and read merging. *BMC Research Notes* **9**: 88.
- Seufert, V., Ramankutty, N., and Foley, J.A. (2012) Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature* **485**: 229.
- Souza, R.C., Cantão, M.E., Vasconcelos, A.T.R., Nogueira, M.A., and Hungria, M. (2013) Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. *Appl Soil Ecol* **72**: 49-61.
- Spaink, H.P. (2000) Root Nodulation and Infection Factors Produced by Rhizobial Bacteria. *Annu Rev Microbiol* **54**: 257-288.
- Sutherland, I.W. (2001) Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. *International Dairy Journal* **11**: 663-674.

- Vestergaard, G., Schulz, S., Schöler, A., and Schloter, M. (2017) Making big data smart—how to use metagenomics to understand soil quality. *Biology and Fertility of Soils* **53**: 479-484.
- Vian, J.F., Peigne, J., Chaussod, R., and Roger-Estrade, J. (2009) Effects of four tillage systems on soil structure and soil microbial biomass in organic farming. *Soil Use and Management* **25**: 1-10.
- Wilhelm, R.C., Cardenas, E., Leung, H., Szeitz, A., Jensen, L.D., and Mohn, W.W. (2017) Long-Term Enrichment of Stress-Tolerant Cellulolytic Soil Populations following Timber Harvesting Evidenced by Multi-Omic Stable Isotope Probing. *Front Microbio* **8**.
- Yamada, T., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Imachi, H., Ohashi, A., Harada, H., and Kamagata, Y. (2006) *Anaerolinea thermolimosa* sp. nov., *Levilinea saccharolytica* gen. nov., sp. nov. and *Leptolinea tardivitalis* gen. nov., sp. nov., novel filamentous anaerobes, and description of the new classes *Anaerolineae* classis nov. and *Caldilineae* classis nov. in the bacterial phylum Chloroflexi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56**: 1331-1340.

## **10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt**

### **Publikationen:**

#### *Eingereicht:*

Cania B., Vestergaard G., Krauss M., Fliessbach A., Schloter M., Schulz S. *A long-term field experiment demonstrates the influence of tillage on the bacterial potential to produce soil structure-stabilizing agents such as exopolysaccharides and lipopolysaccharides.* (Microbiome, revised version submitted)

Cania B, Kublik S., Köhne J. M., Fischer T., Albert A., Winkler B., Schloter M., Schulz S. *Bacterial potential to produce soil structure-stabilizing agents such as exopolysaccharides and lipopolysaccharides increases during the development of biological soil crusts.* (Microbial Ecology, submitted)

#### *Geplant:*

Cania B, Krauss M, Fliessbach A, Suhadolc M, Schloter M, Schulz S. *„Influence of tillage on the bacterial potential to produce soil structure-stabilizing agents such as exopolysaccharides and lipopolysaccharides in soils with different textures.*

### **Präsentationen/Vorträge:**

**Vortrag:** 3rd HEZagrar PhD Symposium, Freising (2017)

**Vortrag:** Mid-term meeting vom FertilCrop Verbund in Skara (2016)

**Poster:** Summerschool 2015 Functions of microbial communities in soils : Biotic interactions, Helmholtz Zentrum München

**Poster:** Thementag Terrestrial Environment, Helmholtz Zentrum München (2016)

**Poster:** BAGECO 2017 (14th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology). Aberdeen (2017)

**Poster:** Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology (VAAM) 2017+2018

## **II Erfolgskontrollbericht**

### **1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen des BLE**

In direktem Bezug zu den förderpolitischen Zielen des BLE leistete das Projekt einen Beitrag zu den Förderbereichen „ Ressourcenschonender Pflanzenbau“ und „Ökologischer Landbau“. Durch die Arbeiten wurden Analysen und Lösungsmodelle für nachhaltige Flächennutzung und Erhalt der Ressource Boden ermittelt. Mit Bezug zur Strategie der Bundesregierung, Wissenschaft und Forschung im Bereich der Bioökonomie zu internationalisieren, wurden wichtige Kooperationen im europäischen Ausland etabliert insbesondere durch die enge Zusammenarbeit mit dem FertilCrop Projekt.

### **2. Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens, erreichte Nebenergebnisse und gesammelte wesentliche Erfahrungen**

siehe Abschnitte I und II des Berichtes

### **3. Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte**

Keine

### **4. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten**

Es ist hinlänglich akzeptiert, dass ökologischer Landbau die Bodenqualität im Vergleich zum konventionellen Landbau deutlich erhöht. Um ähnliche Erträge wie im konventionellen Landbau zu erreichen, wird häufig tiefgründig gepflügt um z. B. Unkräuter zu minimieren. Dies führt allerdings auch zur Zerstörung wichtiger Lebensräume für z. B. Regenwürmer. Daher ist die Übertragung reduzierter Bodenbearbeitung wie sie im konventionellen Landbau bereits praktiziert wird, ein wichtiges Ziel für den ökologischen Landbau. Ein wichtiger Indikator für eine gute Bodenqualität ist die Aggregatstabilität die maßgeblich durch die mikrobielle Gemeinschaft beeinflusst wird, da diese wichtige Klebesubstanzen, die Exo- und Lipopolysaccharide, ausscheiden. Zu verstehen wie diese Gemeinschaften durch die Bodenbearbeitung beeinflusst werden, sind die Grundlage für Weiterentwicklungen der Bodenbearbeitung im ökologischen Landbau.



## **5. Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten**

Die in diesem Projekt erzielten Ergebnisse wurden und werden, sowohl in wissenschaftlich begutachteten Fachzeitschriften veröffentlicht als auch über Datenbanken öffentlich verfügbar gemacht (sequencing read archive (SRA)) und können dadurch einen maßgeblichen Beitrag zum besseren Verständnis über die gezielte Induzierbarkeit mikrobieller Prozesse im Boden liefern. Die erhobenen Daten wurden außerdem den Kollegen des FertilCrop Verbundes (Koordination durch FIBL, Schweiz) zur Verfügung gestellt, die diese nutzten um sozioökonomische Aspekte zu beleuchten und On-Farm Tools zur Bewertung der Bodenqualität zu entwickeln.

Des Weiteren wurden die Ergebnisse in die akademische Lehre einbezogen (Vorlesung: Mikrobielle Ökologie und Mikrobiome, Moderne Methoden der Mikrobiellen Ökologie)

## **6. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit**

Zur Erstellung zukünftiger nachhaltiger Bewirtschaftungskonzepte muss neben dem Klimawandel auch berücksichtigt werden, dass die Bodenqualität für nächste zahlenmäßig wachsende Generationen gesichert wird. Zu diesem Zweck können die erhobenen Daten wichtige Informationen über Indikatorspezies und -funktionen geben.

## **7. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer z.B. Anwenderkonferenzen (Angaben, soweit die Art des Vorhabens dies zulässt)**

Die gewonnen Daten wurden bereits im Rahmen von Workshops (z.B. Fortbildung für Landschaftsarchitekten in Baden Württemberg) präsentiert, um die Bedeutung des Bodenmikrobioms für Bodenqualität zu unterstreichen

## **8. Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung**

Kosten- und Zeitplan wurde entsprechend der im Antrag genannten Ziele eingehalten. Meilensteine wurden wie im Zeitplan angegeben erreicht.