

Tagungsbeitrag zu:	Jahrestagung der DBG Kommission III
Titel der Tagung:	Böden - eine endliche Ressource
Veranstalter:	DBG, September 2009, Bonn
Berichte der DBG	(nicht begutachtete online Publikation) http://www.dbges.de/

Bewirtschaftungsinduzierte Populations- veränderungen von Archaeen in Paddy Soils

Stefan Knauth*, Thilo Eickhorst
und Rolf Tippkötter

Zusammenfassung

Die Produktion des Treibhausgases Methan durch Archaeen im Nassfeldanbau von Reis ist von großer Relevanz für das Weltklima. In einem Mikrokosmenexperiment wurden die Bewirtschaftungsphasen im Anbau von Nassreis simuliert und die Populationsdynamik der Archaeen in drei unterschiedlichen Reisböden untersucht. Die molekularbiologische Analyse ausgesuchter Bewirtschaftungszustände (flooded und drained) mit Hilfe von DGGE zeigte deutliche Populationsshifts der Archaeen. Chemische und strukturelle Veränderungen des Bodens wurden ebenfalls beobachtet.

Paddy soil, Archaeen, DGGE, Reis, Klima, Methan

1 Einleitung

Die Kultivierung von Reis (*Oryza sativa* L.) auf überfluteten Böden (Paddy Soils) liefert einen bedeutenden Beitrag zur Emission des klimarelevanten Gases Methan, welches im letzten Schritt des mikrobiellen anaeroben Abbaus organischer Substanzen durch methanogene Archaeen gebildet wird (Liesack et al., 2000).

Institut für Bodenkunde, Universität Bremen
Leobener Str. - UFT, 28359 Bremen
*sknauth@uni-bremen.de

Im Verlauf der unterschiedlichen Bewirtschaftungsphasen (Puddling, Überflutung und Dränierung) erfahren diese Böden erhebliche Zustandsänderungen, die sich direkt auf die Lebensbedingungen und Habitate der Archaeen auswirken.

In zahlreichen Untersuchungen zur Populationsdynamik von Archaeen ist der Einfluss der bewirtschaftungsinduzierten Zustände des Bodens bisher kaum berücksichtigt worden. Zur Erfassung dieses Einflusses wurden in einem Mikrokosmenexperiment die verschiedenen Bewirtschaftungsphasen simuliert (Eickhorst, 2007) und die Populationsentwicklung der Archaeen in drei unterschiedlichen Böden Süd-Ost Chinas mit Hilfe molekularbiologischer Methoden analysiert.

2 Material und Methoden

Ungestörte Bodenproben von drei unterschiedlichen Reisböden wurden in Mikrokosmen (Höhe = 30 cm, \varnothing = 25 cm) in Süd-Ost China, in der Nähe von Wujiang, Jiangsu Province (HC) und Yingtan, Jiangxi Province (LC, MC) entnommen.

In einer Klimakammer wurden die Mikrokosmen mit Reis (*Oryza sativa* L.) bepflanzt und die Bewirtschaftungsphasen entsprechend den subtropischen Klimabedingungen Süd-Ost Chinas simuliert (Eickhorst, 2007). Die Grundcharakterisierung der Böden (Tab. 1) und die kontinuierliche Erfassung zustandsrelevanter Parameter (Tab. 2) erfolgten nach Eickhorst (2007).

Tab. 1: Textur und chemische Grundparameter der untersuchten Böden.

	LC	MC	HC
Ton [%]	12,5	23,3	41
Schluff [%]	26,2	44	58,1
Sand [%]	61,3	32,7	0,9
Organ. Subst.	1,8	3,42	3,2
Gesamt C	1,05	1,99	1,86
C/N	10,2	10,6	11,1
pH (CaCl ₂)	4,7	4,6	4,7
Elektr. Leitf. [μ S/cm]	34	51	174

Zur Darstellung des Porenraumes zum Zeitpunkt der Bewirtschaftungszustände eine Woche vor (flooded) und nach der Ernte (drained), wurden ungestörte Bodenproben aus dem Oberboden entnommen. Diese wurden nach der Entwässerung durch eine aufsteigende Acetonreihe (70, 80, 90 und 100 %) unter Vakuum mit farbigem Polyester-Harz (Palatal P50) imprägniert (Eickhorst, 2007). Parallel wurden Bodenproben aus den Tiefen (1) 0 - 0,5 cm, (2) 2,0 - 2,5 cm und (3) 3,5 - 4,0 cm zur molekularbiologischen Untersuchung der Populationsveränderungen der Archaeen mit Hilfe der Denaturierenden Gradienten Gelelektrophorese (DGGE) entnommen. Die DNA wurde mit dem FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP Bio-medicals) extrahiert.

Mit Hilfe der Polymerase Kettenreaktion (PCR), unter Verwendung der Primer 357Fgc und 691R (Watanabe et al., 2004), wurden Genfragmente der 16S rDNA von Archaeen amplifiziert und durch den Einsatz der DGGE ein molekularer Fingerprint erstellt. Dabei wurde ein Harnstoff-Formamid-Gradient von 40 zu 60 % Denaturant verwendet und die DGGE 16 h mit 70 V durchgeführt.

Nach dem Anfärben der DNA-Banden durch Ethidiumbromid wurde das Gel fotografiert und unter Verwendung von TotalLab TL 120 (Phoretix) die Intensität der Banden bestimmt sowie eine Neighbor-joining Cluster-Analyse (Saitou & Nei, 1987) durchgeführt.

3 Ergebnisse

Die DGGE-Fingerprints der Archaeen lassen deutliche Unterschiede der Bandenmuster als auch der Bandenintensitäten erkennen (Abb. 1). Die Cluster-Analyse dieser Fingerprints zeigt signifikante Unterschiede (a) zwischen den drei Böden LC, MC und HC sowie (b) den beiden Bewirtschaftungszuständen (flooded und drained) als auch (c) den Entnahmetiefen (Abb. 2).

Die relativen Distanzen zwischen den Tiefen besonders im dränierten Zustand variieren beim LC und beim MC stärker als beim HC. Dies verdeutlicht, dass durch die Zustands-

änderung in den Böden LC und MC stärkere Populationsveränderungen der Archaeen induziert werden als im HC.

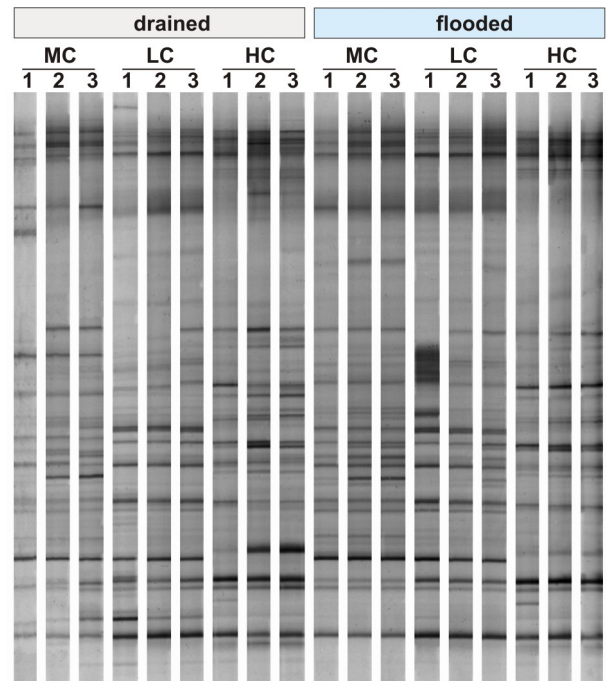


Abb. 1: DGGE-Gel der Böden LC, MC und HC zu den Bewässerungszuständen (flooded, drained) aus den Tiefen (1) 0 - 0,5 cm, (2) 2,0 - 2,5 cm und (3) 3,5 - 4,0 cm.

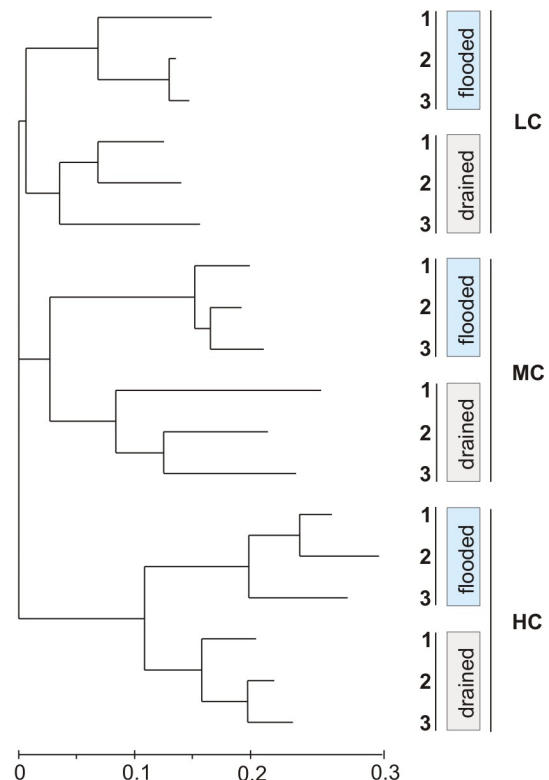


Abb. 2: Clusteranalyse (Neighbor-joining) der DGGE-Fingerprints aus Abb. 1. Tiefen: (1) 0-0,5 cm, (2) 2,0-2,5 cm und (3) 3,5-4,0 cm. Skala: relative Distanzen.

Tab. 2: Ausgewählte Bodenparameter.

Boden Zustand	LC		MC		HC	
	flooded	drained	flooded	drained	flooded	drained
pH (CaCl ₂)	6,4	6,2	6,1	6,1	6,2	6,1
Redoxpotential (Eh) [mV]	-218	763	-196	365	-255	72
C/N	10,1	11,9	9,9	11,6	10,7	12,3
Vol. Wassergehalt θ [%]	46,4	19,6	55,5	33,9	56,7	36,7
Besiedelbarer Porenraum [%]	42,8	45,8	37,2	25,2	31,4	10,9

Die Unterschiede zwischen den Böden und den Bewirtschaftungszuständen sind ebenso bei ausgewählten chemischen und physikalischen Bodenparametern reflektiert (Tab. 2).

Im Verlauf der Austrocknung ist eine Verschiebung des Redoxpotentials (Eh) von negativen zu positiven Werten zu beobachten, während sich der pH-Wert nur geringfügig ändert.

Gleichfalls verringerte sich der besiedelbare Porenraum besonders in den Böden mit höheren Tongehalten (MC, HC). Die zugrunde liegende Veränderung der Bodenstruktur im Zuge der Austrocknung des Reisbodens ist in Abb. 3 dargestellt.

Der volumetrische Wassergehalt (θ) nimmt bei allen drei Böden im Zuge der Austrocknung ab. Die ermittelten Differenzen zwischen den Wassergehalten der Bewässerungsphasen "flooded" und "drained" lagen für den Boden LC bei 27 %, beim Boden MC bei 21 % und beim Boden HC bei lediglich 20 %.

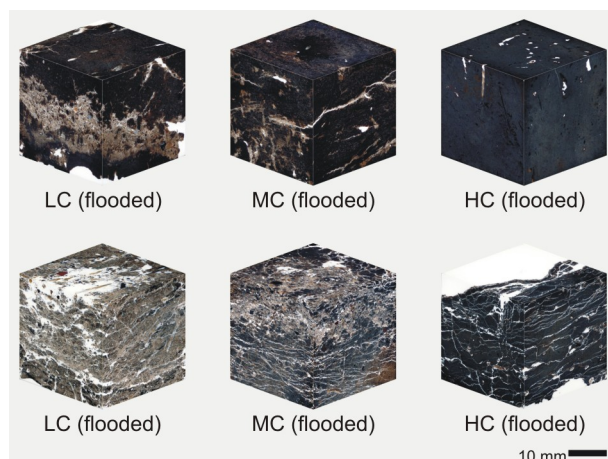


Abb. 3: Dreidimensionale Darstellung imprägnierter, polierter Bodenblöcke der zwei Bewirtschaftungszustände.

4 Schlussfolgerungen

Die beobachteten Veränderungen der Bodenstruktur (Abb. 3) und chemischer Parameter (Tab. 2) wirken sich auf die Habitate der Mikroorganismen so aus, dass ein Populationsshift der anaerob lebenden Archaeen zu beobachten ist (Abb. 1 und 2). Die Böden zeigten dabei unterschiedlich starke Veränderungen der relativen Ähnlichkeiten zwischen den Zuständen und den Tiefen (Abb. 2), von denen angenommen wird, dass sie durch die unterschiedliche Struktur und Textur der Böden beeinflusst wurde.

Für die beobachteten Populationsshifts wird u. a. das Redoxpotential der Habitate verantwortlich gemacht, welches sowohl durch das Überstands- und Bodenwasser als auch durch die Textur und Struktur der Böden beeinflusst wird. Hinzu kommt, dass die Böden unterschiedlich schnell entwässert und ebenfalls ungleich schnell belüftet wurden.

Die beobachteten Populationsveränderungen der Archaeen können vermutlich darauf zurückgeführt werden, dass sich nicht alle Spezies der Archaeen in kurzer Zeit an den veränderten Sauerstoffgehalt und das resultierende Redoxpotential im Boden anpassen konnten (Pesaro et al., 2004).

Die unterschiedliche Textur eines Bodens, die sich entscheidend auf verschiedene Parameter wie Wassergehalt und Redoxpotential auswirkt, beeinflusst somit indirekt die Entwicklung der mikrobiellen Population.

Literatur

Eickhorst, T. (2007). Mikrohabitate in Paddy Soils - Anwendung molekularbiologischer Detektionsverfahren zur Charakterisierung bewirtschaftungsinduzierten Änderungen der mikrobiellen Dynamik. Dissertation, Universität Bremen.

Liesack, W., Schnell, S. und Revsbach, N. P. (2000). Microbiology of flooded rice paddies. *FEMS Microbiol. Rev.* 24, 625-645.

Pesaro, M., Nicollier, G., Zeyer, J. und Widmer, F. (2004). Impact of soil drying-rewetting stress on microbial communities and activities and on degradation of two crop protection products. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2577-2587.

Saitou, N. und Nei, M. (1987). The Neighbor-joining method: A new method for reconstruction phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.

Watanabe, T., Asakawa, S., Nakamura, A., Nagaoka, K. und Kimura, M. (2004). DGGE method for analyzing 16S rDNA of methanogenic archaeal community in paddy field soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 232, 153-163.