

Tagungsbeitrag zu:	Jahrestagung der DBG Kommission III
Titel der Tagung:	Böden verstehen Böden nutzen Böden fit machen
Veranstalter:	DBG, September 2011, Berlin
Berichte der DBG	(nicht begutachtete online Publikation)
<a href="http://www.dbges.de">http://www.dbges.de</a>	

## **Räumlich-zeitliche Charakterisierung mikrobieller Gemeinschaften im Wurzel- raum eines Nassreisbodens**

Hannes Schmidt\*, Thilo Eickhorst und  
Rolf Tippkötter

### **Zusammenfassung**

Die lokal begrenzte Verfügbarkeit von Sauerstoff im anoxischen Wurzelraum von Nassreisböden induziert gegensätzliche physiko-chemische Rahmenbedingungen, deren Einfluss auf die räumlich-zeitliche Dynamik mikrobieller Populationen untersucht wurde. In einem Rhizotronexperiment wurden während einer Anbauphase von Nassreis (*Oryza sativa* L.) Bodenproben aus unterschiedlichen Bereichen im Wurzelraum entnommen, die mit Hilfe der molekularbiologischen Methoden PCR-DGGE und CARD-FISH ausgewertet wurden. Die auf domänenspezifischer Ebene untersuchten mikrobiellen Gemeinschaften wiesen für die beprobten Bereiche deutliche Unterschiede hinsichtlich ihrer Struktur sowie ihrer Individuenzahl auf. Neben der Verfügbarkeit von Sauerstoff erwies sich die variierende Wurzelaktivität im Verlauf der Anbauphase als entscheidender Faktor für die Ausbildung einer heterogenen Verteilung mikrobieller Habitate im Wurzelraum von Nassreis.

### **Keywords**

Wurzelraum, mikrobielle Gemeinschaften, Rhizosphäre, Nassreis, CARD-FISH, PCR-DGGE

### **1 Einleitung**

Der Wurzelraum gefluteter Nassreisböden stellt hinsichtlich seiner biochemischen und mikrobiologischen Eigenschaften ein heterogenes Ökosystem dar. Die partielle Freisetzung von Sauerstoff aus aktiven Wurzeln in die Rhizosphäre führt zu deutlich ausgeprägten Redoxgradienten, deren räumlich-zeitliche Dynamik in einem Rhizotronexperiment gezeigt werden konnte (Schmidt et al., 2011). Um den Einfluss dieser physiko-chemischen Rahmenbedingungen auf mikrobielle Gemeinschaften im Wurzelraum eines Nassreisbodens zu untersuchen, sollen die Domänen Archaea und Bacteria sowohl qualitativ (PCR-DGGE) als auch quantitativ (CARD-FISH) analysiert werden.

### **2 Material und Methoden**

In einem Klimakammerexperiment wurden Rhizotrone mit einem frisch gepuddelten, chinesischen Nassreisboden (Hydragric Anthrosol; Tab. 1) befüllt und mit je einem Reiskeimling (*Oryza sativa* L., cultivar: IR 36) bepflanzt. Während der Bestockungs-, Blüte- und Reifephase der Reispflanzen wurden Bodenproben der Rhizosphäre (RH), des Oxidierten Layers (OL), der Reduzierten Bereiche (RB) sowie des Wurzel-fernen Bodens (WB) entnommen (Abb. 1). Zur Amplifikation von Archaeen- und Bakterien- 16S rDNA wurden die Primerpaare 357F-691R (Watanabe et al., 2004) und GM5F-907R (Muyzer et al., 1995) verwendet. Anschließend wurden DGGE-Fingerprints angefertigt und deren Bandenverteilung per Clusteranalyse (Dice, UPGMA) interpretiert. Zur Bestimmung archaeeller und bakterieller Abundanzen mittels CARD-FISH wurden die domänenspezifischen Oligonukleotidsonden ARC915 (Stahl und Amann, 1991) sowie EUB338 (Amann et al., 1990) eingesetzt. Die Gesamtzellzahlen wurden mit einer DAPI-Färbung ermittelt.

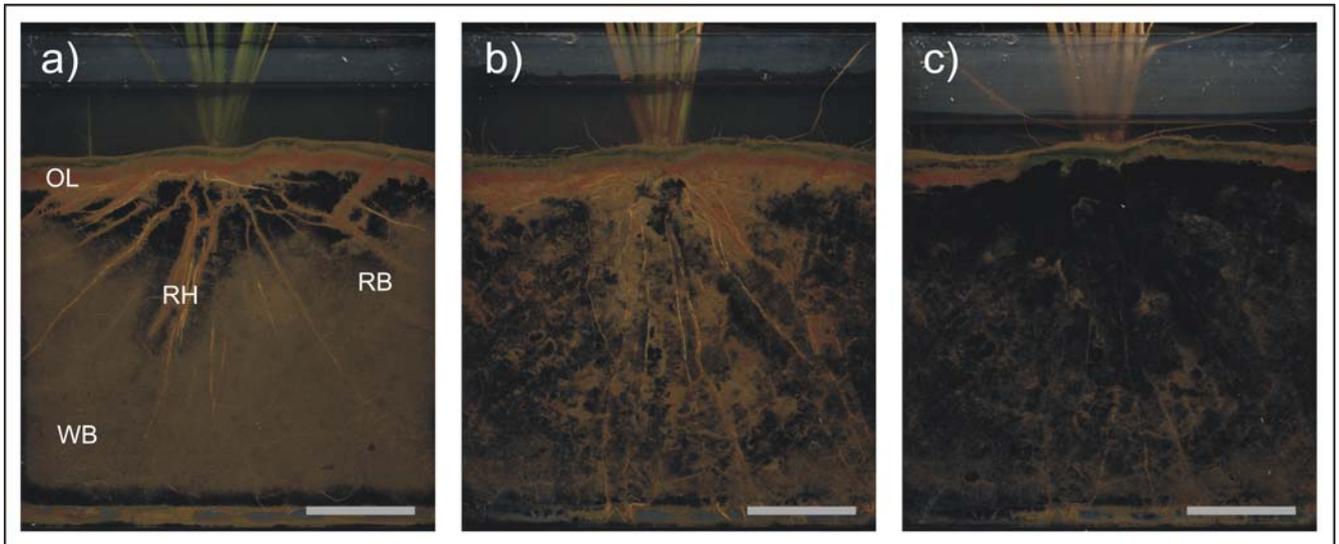


Abb. 1: Rhizotron-Scans des Wurzelraumes zu den Entwicklungsstadien Bestockung (a), Blüte (b), Reife (c). OL: Oxidierter Layer; RH: Rhizosphäre; RB: Reduzierte Bereiche; WB: Wurzelferner Boden. Maßstab: 5 cm.

Tab. 1: Ausgangsparameter des Nassreisbodens.

Textur (KA 5)	S [%]	U [%]	T [%]	C <sub>t</sub> [%]	C/N	pH (CaCl <sub>2</sub> )
Sl3	65,6	24,1	10,3	0,7	9,6	4,8

### 3 Ergebnisse und Diskussion

Die mittels Clusteranalyse untersuchten Ähnlichkeiten mikrobieller Gemeinschaften in unterschiedlichen Bereichen des Wurzelraumes eines Nassreisbodens sind in den Abbildungen 2 und 3 dargestellt. Die Strukturen mikrobieller Populationen weisen in den reduzierten und wurzelfernen Bereichen sowohl für Archaeen als auch für Bakterien hohe Ähnlichkeiten (>95 %) zueinander auf. Des Weiteren unterscheiden sie sich deutlich von den durch Sauerstoffverfügbarkeit gekennzeichneten Bereichen der Rhizosphäre und des Oxidierten Layers. Deren Gemeinschaftsstrukturen weisen jedoch deutliche Unähnlichkeiten auf (>55 % für Bakterien), die auf eine Beeinflussung der Rhizosphärenpopulationen durch Wurzelaktivität der Reispflanze schließen lassen. Dieser Rhizosphäreneffekt konnte zudem an den mittels CARD-FISH erhobenen quantitativen Daten nachgewiesen werden (Abb. 4). Während der Bestockungsphase der Reispflanze lassen sich zwischen den beprobten Bereichen des Wurzelraumes keine deutlichen Unterschiede in den Ar-

chaeen-, Bakterien- und Gesamtzellzahlen je g Boden erkennen. Zur Blütephase der Reispflanze jedoch weisen die Abundanzen der mikrobiellen Populationen in der Rhizosphäre deutlich höhere Werte auf. Zum Ende der Entwicklung der Reispflanze (Reife) ist ein Rückgang der ermittelten Zahlen der Archaeen, Bakterien und Gesamtzellen je g Boden in der Rhizosphäre erkennbar. Dies lässt sich auf eine Reduktion der Ausscheidung von Wurzelexsudaten zum Reifestadium der Reispflanze zurückführen (Aulakh et al., 2001).

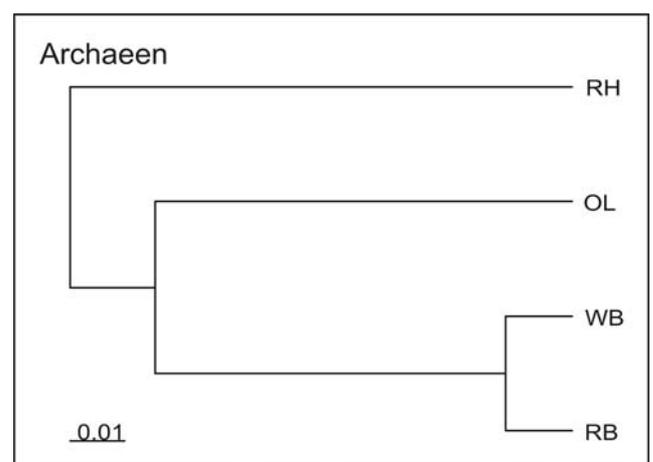


Abb. 2: Clusteranalyse (Dice, UPGMA) des DGGE-Fingerprints der Archaeen zum Zeitpunkt der Bestockung. RH: Rhizosphäre; OL: Oxidierter Layer; WB: Wurzelferner Boden; RB: Reduzierte Bereiche. Maßstab: relative Distanzen.

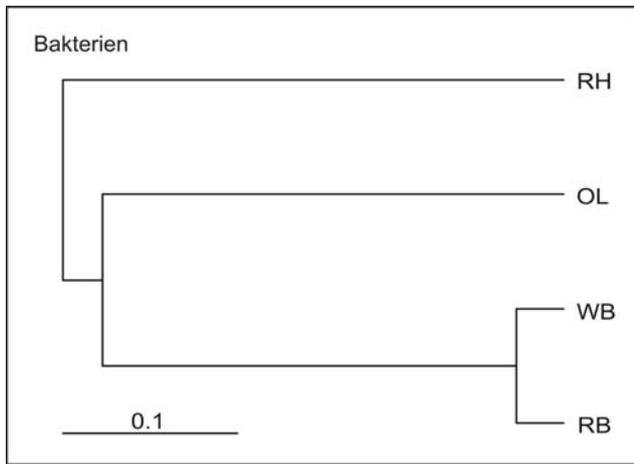


Abb. 3: Clusteranalyse (Dice, UPGMA) des DGGE-Fingerprints der Bakterien zum Zeitpunkt der Bestockung. RH: Rhizosphäre; OL: Oxidierter Layer; WB: Wurzelferner Boden; RB: Reduzierte Bereiche. Maßstab: relative Distanzen.

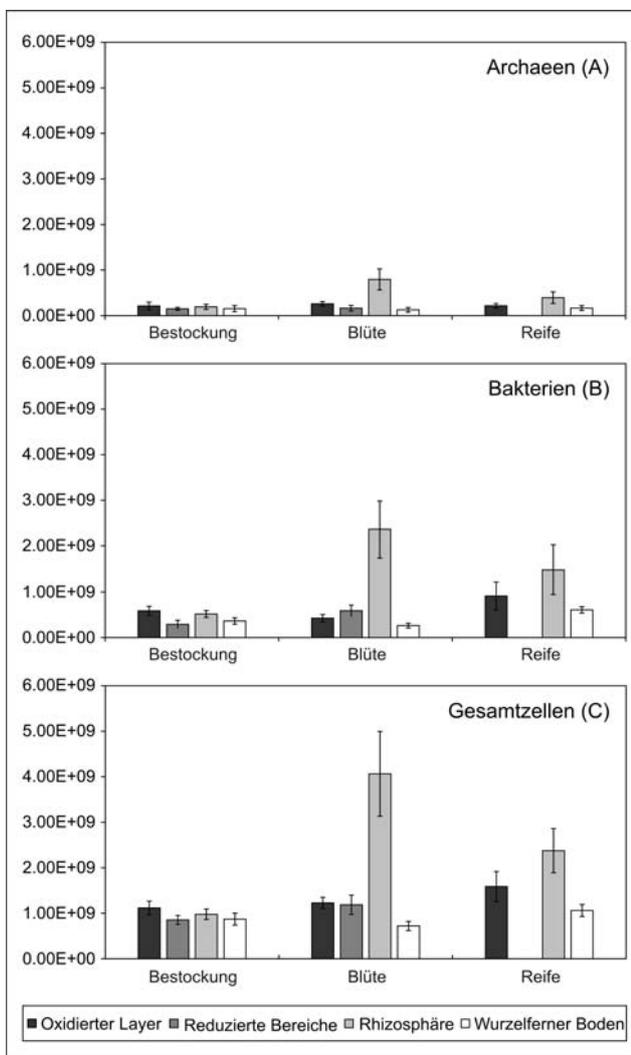


Abb. 4: Mit CARD-FISH ermittelte Zahlen je g Boden der Archaeen (A), Bakterien (B), und Gesamtzellen (C) in den beprobten Bereichen des Wurzelraumes zu unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Reis-pflanze. Fehlerbalken: Standardabweichung.

## 4 Schlussfolgerungen

Im Wurzelraum gefluteter, anaerober Nassreisböden induziert die lokal begrenzte Verfügbarkeit von Sauerstoff eine Ausbildung mikrobieller Habitate, deren Archaeen- und Bakteriengemeinschaften deutliche Unterschiede hinsichtlich ihrer Struktur sowie ihrer Individuenzahl aufweisen. Hierbei stellt das Entwicklungsstadium der Reis-pflanzen einen entscheidenden Faktor dar. Während der Reisblüte, dem Zeitpunkt höchster Exsudationsraten, ist ein positiver Effekt der Pflanzenaktivität auf die mikrobielle Abundanz in der Rhizosphäre erkennbar. Dieser Rhizosphären-effekt lässt jedoch mit fortschreitender Entwicklung der Reis-pflanze nach, was sich durch den Rückgang der Archaeen-, Bakterien- und Gesamtzellzahlen je g Boden zum Reifestadium zeigte. Die Untersuchung mikrobieller Gemeinschaften auf Domänenebene verdeutlicht die Notwendigkeit der Unterteilung des Wurzelraumes von Nassreis in drei Hauptkompartimente: den Oxidierten Layer, die Rhizosphäre und den reduzierten Wurzelfernen Boden. Des Weiteren lässt sich schließen, dass der Beprobungstermin bei Studien zu mikrobiellen Populationen im Wurzelraum eine wesentliche Einflussgröße darstellt. In zukünftigen Untersuchungen sollen Primer und Sonden auf Gruppen- bzw. Spezies-ebene eingesetzt werden, um den Einblick in die Gemeinschaftsstrukturen der jeweiligen Habitate im Wurzelraum zu vertiefen, sowie die relative Abundanz der einzelnen Mikroorganismengruppen zu bestimmen. Zusätzlich soll die räumlich-zeitliche Analyse mikrobieller Populationen im Bereich der Rhizosphäre durch eine CARD-FISH gestützte Identifizierung, Lokalisierung, Quantifizierung und Visualisierung von Mikroorganismen auf der Wurzeloberfläche erweitert werden.

## 5 Literatur

Amann et al. (1990). Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed

microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1919-1925.

Aulakh et al. (2001). Characterization of root exsudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biol.* 3, 139-148.

Muyzer et al. (1995). Phylogenetic relationships of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. *Arch. Microbiol.* 164, 165-172.

Schmidt et al. (2011). Monitoring of root growth and redox conditions in paddy soil rhizotrons by redox electrodes and image analysis. *Plant Soil* 341, 221-232.

Stahl und Amann (1991). Development and application of nucleic acid probes in bacterial systematics. In: Stackebrandt und Goodfellow. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, 205-248.

Watanabe et al. (2004). DGGE method for analyzing 16S rDNA of methanogenic archaeal community in paddy field soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 232, 153-163.