

# BULLETIN

# 25

---

Jahrestagung vom 23. und 24. März 2001 auf dem Monte Verità, Ascona

## **BODEN UND (MIKRO-) BIOLOGIE**

Referate, Texte zu den Postern

---

# BODENKUNDLICHE GESELLSCHAFT DER SCHWEIZ

## SOCIÉTÉ SUISSE DE PÉDOLOGIE

**Adresse:** Geographisches Institut der Universität Zürich (GIUZ)  
Winterthurerstrasse 190  
CH-8057 Zürich

**Telefon** 01 635 51 22 oder 01 635 51 21 (Sekretariat) **Fax** 01 635 59 06

**E-Mail** fitze@geo.unizh.ch

**Postcheck-Konto:** BGS Bern 30-22131-0 Bern

### Vorstand / Comité 2002

Präsidentin / Présidente:	C. Strehler, Yverdon	024 425 18 88	E-Mail	c.strehler@grande-caricaie.ch
Vizepräsident / Vice-président:	M. Achermann, Luzern	041 228 64 58	E-Mail	matthias.achermann@lu.ch
Beisitzer / Assesseur:	R. Schulín, Schlieren	01 633 60 71	E-Mail	schulín@ito.umnw.ethz.ch
Sekretär / Secrétaire:	P. Fitze, Zürich	01 635 51 22	E-Mail	fitze@geo.unizh.ch
Rechnungsführer / Comptable:	M. Jozic, Root	041 450 26 57	E-Mail	mj@agrolab.ch

### Redaktion / Rédaction

M. Müller  
Schweizerische Hochschule für Landwirtschaft, 3052 Zollikofen  
Telefon 031 910 21 24/11 Fax 031 910 22 99/96 E-Mail Moritz.Mueller@shl.bfh.ch

### Dokumentationsstelle / Service des documents

Landwirtschaftliche Lehrmittelzentrale LMZ, Länggasse 79, 3052 Zollikofen  
Telefon 031 911 06 68 Fax 031 911 49 25  
E-Mail lmz@pop.agri.ch Internet <http://combi.agri.ch/lmz>

### Vorsitzende der Arbeitsgruppen / Président(e)s des groupes de travail

Klassifikation und Nomenklatur:	J. Presler, Zürich	01 388 20 42	E-Mail	j.presler@babu.ch
Bodenschutz und Werthaltung:	S. Tobias, Birmensdorf	01 739 23 49	E-Mail	silvia.tobias@wsl.ch
Bodenkartierung:	M. Knecht, Zürich	01 383 70 71	E-Mail	ambio@bluewin.ch
Reflexion/Strategie	P. Germann, Bern	031 631 38 54	E-Mail	germann@giub.unibe.ch

**BODENKUNDLICHE GESELLSCHAFT DER SCHWEIZ  
SOCIÉTÉ SUISSE DE PÉDOLOGIE**

**Bulletin 25**

**2001**

**Jahrestagung vom  
23. und 24. März 2001  
auf dem Monte Verità, Ascona**

**BODEN UND (MIKRO-) BIOLOGIE**

**Referate, Texte zu den Postern**

**Schriftleitung: Moritz Müller, Zollikofen**

---

ISSN 1420-6773

ISBN 3 260 05454 5

Juris Druck und Verlag  
Dietikon 2002

ISSN 1420-6773

ISBN 3 260 05454 5

Copyright: 2002 Bodenkundliche Gesellschaft der Schweiz

**Tagung vom 23. und 24. März 2001: Referate, Texte zu den Postern**

S. EGLI Erkenntnisse, Entwicklungen und Methoden auf dem Gebiet der Mykorrhiza- forschung	5
M.H. GERZABEK, G. HABERHAUER, E. KANDELER, A. SESSITSCH UND H. KIRCHMANN Bodenbewirtschaftung - Einfluss auf Kohlenstoffumsatz und mikrobielle Aktivität im Boden	9
C. MAURER Bodenbiologie im Vollzug. Erste Erfahrungen im Kanton Bern	15
P. MÄDER UND A. FLIESSBACH Biologische Indikatoren der Bodenfruchtbarkeit	23
L. WEISSKOPF, N. FROMIN, E. MARTINOIA ET M. ARAGNO Diversité bactérienne associée aux racines de <i>Lupinus albus</i> et interactions entre plante et bactéries	29
J. HAMELIN, N. FROMIN, N. SYED, S. TEYSSIER-CUVELLE, N. DUVANEL ET M. ARAGNO Inventaire moléculaire des bactéries fixatrices d'azote associées à la rhizosphère de <i>Molinia coerulea</i>	35
C. WÜTHRICH, M. VON RUNKEL UND M. CONEDERA Veränderungen von Bodenrespiration und mikrobieller Biomasse nach Waldbränden in der Süd-Schweiz	41
M. CASTALDINI, M. EGLI, A. MIRABELLA, A. FABIANI, F. SANTOMASSIMO, AND N. MICLAUS Influence of climate on soil development and microbial community in Trentino mountains - Italy	49
M. EGLI Organische Substanz, Mineralien und Verwitterungsraten in alpinen Böden als Funktion der Zeit	55
J. NIEVERGELT UND M. PETRASEK Neuer Ansatz zur Ansprache des Bodengefüges	61
R. BUDAVÁRY, P. LÜSCHER, M. SCHÜTZ, H. FLÜHLER UND A. PAPRITZ Multivariate Analyse bodenkundlicher Felddaten	67



## ERKENNTNISSE, ENTWICKLUNGEN UND METHODEN AUF DEM GEBIET DER MYKORRHIZAFORSCHUNG

Simon Egli

Eidg. Forschungsanstalt WSL, CH-8903 Birmensdorf

### Abstract

The field of mycorrhizal research has undergone tremendous changes during the last decades. In the past, most research efforts were devoted to describing physiological or growth responses of plants to mycorrhizas and to the application of mycorrhizal fungi to enhance agricultural and forest productivity. Today new research tools from molecular biology provide new opportunities to study biodiversity of mycorrhizal associations and their roles in structuring communities and ecosystems.

### Résumé

La recherche sur les mycorhizes a beaucoup progressé au cours des dernières décennies. Dans le passé, elle consistait principalement à décrire le rôle physiologique des mycorhizes pour la plante et à utiliser des champignons mycorrhiziens pour améliorer la productivité dans l'agriculture et la forêt. Aujourd'hui, de nouveaux outils de recherche provenant de la biologie moléculaire fournissent de nouvelles possibilités d'étudier la biodiversité des associations mycorrhiziennes et leurs rôles dans les communautés et les écosystèmes.

Ueber 90% aller heute bekannten höheren Pflanzenarten sind mit Mykorrhizapilzen vergesellschaftet. Mehrjährige, verholzte Pflanzen leben mit Ektomykorrhizapilzen, einjährige, krautige Pflanzenarten mit vesikulär-arbuskulären (VA-) Mykorrhizapilzen in einer Lebensgemeinschaft. Mykorrhizapilze stellen die eigentliche Schnittstelle dar zwischen Boden und Pflanze und sind aufgrund ihrer funktionellen Bedeutung ein wichtiger Bestandteil der Bodenfruchtbarkeit: sie unterstützen die Pflanze bei der Aufnahme von Wasser und Mineralstoffen aus dem Boden, was besonders auf nährstoffarmen Böden oder bei Trockenstress von grosser Bedeutung ist. Zudem schützen Mykorrhizapilze die Feinwurzeln vor pathogenen Krankheitserregern und vermögen gewisse Schadstoffe auszufiltern. Mykorrhizapilze ihrerseits sind auf höhere Pflanzen angewiesen, indem sie von Ihnen lebensnotwenige Kohlehydrate beziehen, die sie als Kohlenstoff-heterotrophe Organismen nicht selbst produzieren können.

Die Mykorrhiza als Symbiose zwischen Pilzen und höheren Pflanzen ist seit Erinde des 19. Jahrhunderts bekannt. Die Forschung auf diesem Gebiet setzte jedoch erst ab Mitte des 20-igsten Jahrhunderts intensiv ein. In den letzten 20 Jahren hat sich

der Kenntnisstand dank neuer methodischer Ansätze enorm rasch weiterentwickelt. Einige wegweisende Erkenntnisse aus dieser Zeit werden hier vorgestellt.

Ende der 60iger-Jahre wurden in den USA grosse Impfprojekte gestartet, um die Vorteile der Mykorrhizasymbiose für die Praxis nutzbar zu machen. Durch künstliche Beigabe von Mykorrhizapilzen in Landwirtschaftsböden sollte das Wachstum von Kulturpflanzen beschleunigt werden und dadurch die Düngermenge reduziert werden können. In Aufforstungen wurden Mykorrhizapilze künstlich geimpft, um den Anwuchserfolg von Waldbäumen zu verbessern. Auch in der Schweiz wurde diese Idee aufgenommen, mit der Absicht, den Aufforstungserfolg an der Waldgrenze zu verbessern, dort wo das Aufkommen einer Verjüngung wegen klimatischer Extrembedingungen erschwert ist. Doch die künstliche Mykorrhizaimpfung hat sich nicht, wie ursprünglich erhofft, durchsetzen können. Die Erfolgchancen, dass sich eine eingeführte „fremde“ Pilzart im Wettbewerb mit standorteigenen Pilzarten und Mikroorganismen durchsetzen kann, haben sich als zu gering erwiesen. Zwar wird die künstliche Impfung heute noch zur Produktion von Speisepilzen eingesetzt, die schwarze Perigord-Trüffel (*Tuber melanosporum*) wird zum Beispiel im Süden Frankreichs auf aufgegebenen Rebflächen erfolgreich angebaut. Aber auch hier sind die Erfolgchancen relativ klein und kommerziell sind solche Vorhaben nur in Ausnahmefällen von Interesse.

Mykorrhizapilze sind nicht nur Schnittstelle zwischen Boden und Pflanze, sie können auch verschiedene Pflanzen miteinander vernetzen und damit Stoffe zwischen einzelnen Pflanzen austauschen. Dies ist bekannt seit den Experimenten mit markiertem C<sub>14</sub> aus den frühen 80iger-Jahren (READ, 1985). In diesen Versuchen wurde der Transport von Kohlenstoff von einer Pflanze zur andern nachgewiesen. Dies gibt der Mykorrhizasymbiose eine neue Dimension. Mykorrhizapilze muss man sich also als unterirdisches Netzwerk vorstellen, über welches Pflanzen miteinander in Verbindung stehen. Stärkere Pflanzen können dabei schwächere Pflanzen mit Kohlehydraten versorgen. Die Mechanismen, welche diese Flüsse regulieren, sind bis heute jedoch erst ansatzweise bekannt.

Pilzmycelien besiedeln normalerweise kleine Areale, können aber auch sehr grosse Dimensionen erreichen. In den USA wurde ein Pilzmycel der auch bei uns bekannten Hallimaschart *Armillaria bulbosa* entdeckt, das eine Fläche von 15 ha besiedelte (SMITH ET AL. 1992). Das Alter des Pilzes wurde auf 1500 Jahre geschätzt und sein Gewicht auf 10'000 kg. Pilze gehören seit dieser Entdeckung zu den grössten heute bekannten lebenden Organismen.

Eine weitere, vor allem für die Biodiversitätsforschung wichtige Erkenntnis war die, dass Mykorrhizapilze die Zusammensetzung der assoziierten Pflanzenflora beeinflussen können. Experimentell wurde nachgewiesen, dass bei reduzierter Mykorrhizadiversität auch die Artenvielfalt der Pflanzen kleiner bleibt: auf einem Boden mit einer tief gehaltenen Mykorrhizadiversität keimten weniger Grasarten als auf einem Boden mit einer hohen Mykorrhizadiversität und auch die Biomasseproduktion blieb tiefer (VAN DER HEIJDEN ET AL. 1998). Um möglichst artenreiche Oekosysteme zu erhalten, sind also auch Begleitorganismen, wie die Mykorrhizapilze, miteinzubeziehen.

Artenschutzkonzepte müssen in grössere Zusammenhänge gestellt werden; es reicht nicht mehr unbedingt aus, einzelne Organismengruppen zu schützen.

Einen Quantensprung in der Mykorrhizaforschung haben neue Methoden aus der Molekularbiologie ausgelöst. Die PCR-Methode (Polymerase Chain Reaction), die man bisher vor allem aus der Medizin und Kriminalistik kannte, erlaubt die Analyse von kleinsten Mengen pilzlicher DNA (GARDES AND BRUNS, 1996). Fragmente von Mykorrhizen genügen, um genetische Fingerprints des assoziierten Mykorrhizapilzes herzustellen. Diese Fingerprints werden mit Referenzdatenbanken verglichen und unbekannte Mykorrhizen können so identifiziert werden. Diese Technik ermöglicht neue Einblicke in die unterirdische Welt der Mykorrhizapilze. Die Beschreibung der Mykorrhizadiversität war früher nur über aufwendige Fruchtkörperinventuren möglich. Solche Inventuren müssen über mehrere Jahre durchgeführt werden, da Mykorrhizapilze nur unregelmässig Fruchtkörper bilden. Dank dieser neuen Methode kann die Mykorrhizadiversität anhand einer einmaligen Wurzelprobenahme beschrieben werden.

Umwelteinflüsse gefährden die Artenvielfalt der Mykorrhizapilze. Seit den Beobachtungen von ARNOLDS (1991) aus stark stickstoffbelasteten Gebieten der Niederlande vermutet man, dass atmosphärischer Eintrag von Stickstoff mindestens mitverantwortlich sein muss für den europaweit festgestellten Rückgang von Mykorrhizapilzen. Eigene langjährige Fruchtkörperbeobachtungen in einem Pilzreservat in der Westschweiz bestätigen diese Tendenz: Mykorrhizapilze haben in den vergangenen 20 Jahren auf Kosten von saproben Pilzarten abgenommen. Um diesen Befund experimentell zu bestätigen, wurde im Rahmen eines Stickstoff-Düngungsversuchs mithilfe molekularbiologischer Techniken untersucht, ob auch die Ektomykorrhiza-Gemeinschaft im Boden reagiert. Tatsächlich konnten auch unterirdisch Verschiebungen in der Artenzusammensetzung der Mykorrhizen nachgewiesen werden (PETER ET AL. 2001). Dies bedeutet, dass gewisse Mykorrhizapilze bei erhöhtem Stickstoffeintrag nicht nur die Fruchtkörperbildung einstellen, sondern dass irreversible Verluste an Ektomykorrhizapilzarten zu befürchten sind. Auswirkungen solcher Veränderungen auf der funktionellen Ebene für die Symbiosepartner können heute kaum abgeschätzt werden. Ein Rückgang der Mykorrhizapilze ist aufgrund der Funktionen, welche die Mykorrhizapilze für die Pflanzen ausüben, in jedem Fall beunruhigend.

Gerade weil Mykorrhizapilze funktionell so wichtige Bodenorganismen sind, sollen sie in Zukunft vermehrt miteinbezogen werden bei der qualitativen Beurteilung von Böden. Die Arbeitsgruppe Vollzug Bodenbiologie (VBB) hat eine Projektgruppe beauftragt, eine entsprechende Mykorrhiza-Standardmethode auszuarbeiten, die die bodenbiologischen Referenzmethoden der Eidg. Forschungsanstalten ergänzen sollte. Die neue Methode, welche Auskunft gibt über die Präsenz und Aktivität von Mykorrhizapilzen in einer Bodenprobe, wird gegenwärtig in einem Ringversuch getestet und soll – falls die Tests positiv verlaufen – demnächst in das Referenzmethodenbuch aufgenommen werden.

## Literatur

- ARNOLDS, E. 1999. Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 35: 209-244.
- GARDES, M. AND BRUNS, T.D. 1996. ITS-RFLP-matching for identification of fungi. In: Clapp, J.P. (ed) *Methods in molecular biology*, Vol. 50. Humana Press Inc., Totowa, USA, 177-186.
- PETER, M., AYER, F., AND EGLI, S. 2001. Nitrogen addition in a Norway spruce stand altered macromycete sporocarp production and below-ground ectomycorrhizal species composition. *New Phytologist* 149:311-325.
- READ, D.J., FRANCIS, R. AND FINLAY, R.D. 1985. Mycorrhizal mycelia and nutrient cycling in plant communities. In: Fitter A.H., Atkinson, D., Read D.J. and Usher M.B. (eds) *Ecological Interactions in Soil*. Blackwell Scientific Oxford, UK. Pp 193-217.
- SMITH, M.L., BRUHN, J.N. AND ANDERSON, J.B. 1992. The fungus *Armillaria bulbosa* is among the largest and oldest living organisms. *Nature* 356: 428-431.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.A., KLIRONOMOS, J.N., URSIC, M., MOUTOGLIS, P., STREITWOLF-ENGEL, R., BOLLER, T., WIEMKEN, A. AND SANDERS. R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.

## **Bodenbewirtschaftung - Einfluss auf Kohlenstoffumsatz und mikrobielle Aktivität im Boden**

M.H. Gerzabek<sup>a</sup>, G. Haberhauer<sup>a</sup>, E. Kandeler<sup>b</sup>, A. Sessitsch<sup>a</sup> and H. Kirchmann<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Österreichisches Forschungszentrum Seibersdorf GmbH, Umweltforschung, A-2444 Seibersdorf, Österreich

<sup>b</sup>Universität Hohenheim, Institut für Bodenkunde, Emil-Wolff-Straße 27, D-70599 Stuttgart, Deutschland

<sup>c</sup>Schwedische Landwirtschaftsuniversität, Institut für Bodenkunde, Postfach 7014, S-75007 Uppsala, Schweden

### **Zusammenfassung**

In einem Langzeitversuch in Ultuna/Schweden sind nach 42 Jahren der unterschiedlichen organischen und mineralischen Düngung bzw. Brache deutliche Änderungen in der organischen Substanz der Oberböden zu beobachten.

Die physikalische Fraktionierung ermöglichte es, Kohlenstofffraktionen mit signifikant unterschiedlicher Stabilität und biologischer Aktivität zu isolieren. Die Schlufffraktion kann als mittelfristige Senke für organischen Kohlenstoff betrachtet werden – die Sandfraktion zeigte die direkteste Reaktion und kann als Indikatorfraktion verwendet werden. In der Tonfraktion wurden die geringsten Änderungen festgestellt.

Die <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C im Gesamtboden und Fraktionen zeigten eine deutliche Abhängigkeit vom Input.

Die enzymatischen Untersuchungen unterstützten die Beobachtungen bezüglich der Umsetzungsdynamik. Ein optimaler Umsatzbereich bezüglich Kohlenstoff wurde gefunden. Invertase wurde hauptsächlich in den Schluff- und Tonfraktionen gefunden, Xylanase vorwiegend im Sand.

Eine auf 16S-rRNA-basierende Analyse zeigte eine ansteigende bakterielle Diversität in kleiner werdenden Partikelgrößen.

### **Résumé (Traduction J.A. Neyroud)**

Après 42 ans de traitements différenciés, on a observé d'importantes modifications des teneurs en matière organique dans les couches de surface. Ces différences s'expliquent à la fois par des quantités d'apports organiques différentes (jachère, procédés sans fumure organique) et par les stabilités différentes (coefficients de minéralisation) des divers composés apportés.

La fraction silt est considérée comme un puit de carbone pour le moyen terme, la fraction sable réagit le plus rapidement et peut servir d'indicateur, alors que la fraction argile montre les modifications les moins importantes.

Le rapport <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C mesuré dans le sol et dans chaque fraction granulométrique est clairement dépendant de l'input organique.

Les activités enzymatiques dépendent des quantités et qualités d'apports organiques. L'invertase est plus active dans les fractions silt et argile, la xylanase plus active dans la fraction sable.

L'analyse 16S-rRNA montre que la diversité bactérienne croît en proportion inverse de la taille des particules granulométriques, elle est clairement influencée par les apports d'engrais organiques.

## 1. Einleitung

Die Stabilisierung von organischen Kohlenstoff in Böden wird im Moment intensiv diskutiert. Zum einen stellt der organische Kohlenstoff im Boden einen bedeutenden Beitrag zum landwirtschaftlichen Ertrag und Nutzen dar, andererseits spielt der Boden als Quelle oder Senke von Kohlenstoff eine wichtige Rolle im globalen Kohlenstoffkreislauf. Die Grösse des sogenannten 'stabilen Pools' des organischen Kohlenstoffes ist von physikalischen, chemischen und biologischen Faktoren beeinflusst. Trotz intensiver Untersuchungen sind die einzelnen Prozesse die zur Stabilisierung beitragen auch heute noch nicht vollständig aufgeklärt (GOLCHIN et al., 1995; WANNIARACHCHI et al., 1999; STEMMER et al., 1999a).

Unterschiedliche Bewirtschaftungsformen oder Veränderungen im Klima können den Gehalt an organischen Kohlenstoff in Böden beeinflussen. Derartige Veränderungen können jedoch in der Regel nur in Langzeitexperimenten Zeit detektiert werden (AOYAMA et al., 1999). Durch Betrachtung einzelner Pools – z. B. durch physikalische Fraktionierung nach Korngrössen – könnten in sensitiven Pools bereits Veränderungen frühzeitig festgestellt werden. Vielfach wurde gezeigt, dass mit kleiner werdender Partikelgrösse der Anteil des organischen Materials ansteigt, wobei gleichzeitig das C/N Verhältnis enger wird (CHRISTENSEN, 1986; MONOROZIER et al. 1991).

Landwirtschaftliche Bearbeitungsmethoden beeinflussen die Akkumulation von organischen Kohlenstoff in Böden. Umsatzraten und der Einfluss des Bodenkohlenstoffes in den Bodenpartikeln wurden auch schon untersucht (TISDALL and OADES, 1980; CABARDELLA and ELLIOTT, 1994). Wobei insbesondere  $^{13}\text{C}$  sich als ausgezeichneter Tracer für Abbau und Aufbau organischer Substanz verwendet worden ist (PICCOLO, 1999). Da ist insbesondere die Abhängigkeit der  $^{13}\text{C}$  Signatur des Bodens vom Bewuchs und organischer Düngung gezeigt werden (GERZABEK et al., 1997). Relativ wenig Information ist jedoch über Veränderungen der mikrobiellen Population und Enzymaktivitäten hierzu bekannt (STEMMER et al., 1999b; KANDELER et al., 1999).

Anhand eines Langzeitversuches in Ultuna/Schweden wurde versucht, sowohl Umsätze der organischen Substanz zu quantifizieren, als auch erprobte und innovativere Methoden der Bodenbiologie anzuwenden und die Ergebnisse in einen Zusammenhang zu stellen.

## 2. Material und Methoden

Seit 1956 wird das Feldexperiment in Uppsala, Schweden, auf einen Eutric Cambisol (FAO) Boden (37% Ton, 41% Schluff) durchgeführt. Sieben Behandlungsvarianten des 14 Varianten in jeweils vierfacher Wiederholung umfassenden auf einer neutralen eutrophen Braunerde angelegten Kleinparzellenversuches, Dauerschwarzbrache (SB), kein N-Dünger (No-N),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , Gründünger (GD, Grasschnitt), Stalldünger (SD), Torf (T) und Klärschlamm (KS) wurden für die Untersuchung ausgewählt. Der Versuch zeichnet sich dadurch aus, dass die Gaben an organischen Düngern genau nach der Fracht an organischem Kohlenstoff bemessen werden ( $2000 \text{ kg C}_{\text{org}} \text{ ha}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$ ). Eine genau Dokumentation ist in KIRCHMANN et al. (1994) zu finden.

Die Fraktionierung des Bodens erfolgte gemäss STEMMER et al. (1998). Die Bestimmung des organischen Kohlenstoffes erfolgte mittels Elementaranalysator (Carlo Erba NA 1500). Die  $^{13}\text{C}$  Messung wurde mit einem Finnigan MAT 251 durchgeführt. Die isotopischen Ergebnisse werden als Deltawerte angegeben:  $\delta^{13}\text{C}\text{‰} = (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1) \times 10^3$ , wobei  $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , und auf den Pee Dee Belemnite (PDB) – Standard bezogen sind.

Die Messung der Enzymaktivitäten wurden wie in SCHINNER et al (1996); KANDELER und GERBER (1988) beschrieben durchgeführt. Die Isolierung der Boden-DNA erfolgte leicht modifiziert gemäss der von VAN ELSAS and SMALLA (1995) beschriebenen Prozedur. Für die DGGE Analyse wurde die gesamte DNA als Template für die Amplifikation eines etwa 470 bp langer Region der 16S rRNA verwendet. Als Primer wurden U968/GC und 1385R (die Nummer beschreibt die Position des 5' Endes des Primers in *Escherichia coli* 16S rRNA) verwendet (FELSKE et al., 1996). DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) und Einfärbung wurde wie MUYZER et al. (1998) beschrieben durchgeführt. Zur T-RFLP (terminal-restriction fragment length polymorphism) Analyse wurden fluoreszenzmarkierte PCR-Fragmente verwendet, die mit den Restriktionsenzymen *HhaI* und *HaeIII* geschnitten wurden. Die fluoreszenzmarkierten terminalen Restriktionsfragmente wurden auf einem Polyacrylamidgel aufgetrennt, wobei die exakte Länge der Fragmente durch einen automatischen DNA Sequenzierer bestimmt wurde.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Die Kohlenstoffgesamtgehalte stiegen in folgender Reihe an: Schwarzbrache (SB) < No-N <  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  < Gründünger (GD) < Stallmist (SD) < Klärschlamm (KS) < Torf (T). Nach 42 Jahren der unterschiedlichen Bewirtschaftung hatte SB 1.08, No-N 1.17 % Ca-Nitrat 1.42%, GD 1.82, SD 2.25, KS 2.58 und T 3.2 % organischen Kohlenstoffes im Gesamtboden. Die Reihenfolge spiegelt direkt die Stabilität des eingebrachten organischen Materials wieder.

In den Fraktionen wurde folgendes beobachtet: Die Schluff-, aber auch die Sandfraktionen wiesen stark steigende Anteile am Gesamtkohlenstoff mit steigenden Gesamthumusgehalten auf, während die wahrscheinlich stabilsten Fraktionen (Ton und Feinton) abnehmende relative Beiträge zeigten.

Im Jahre 1956 war der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Oberbodens -26.3 ‰. Die Schwarzbrache zeigte einen Anstieg um 0.5 ‰, was sich auf eine bevorzugte Mineralisierung des leichteren Isotops zurückzuführen lässt. Die genau Analyse der stabilen Isotope des Kohlenstoffes ließ einerseits auf die Akkumulation der älteren Humusfraktionen in den kleineren Teilchengrößen schließen und deutete andererseits, nach geeigneter Clusteranalyse auf Ähnlichkeiten zwischen GD und SD,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  und No-N und SB, KS und Torf hin.

Xylanase- und Invertaseaktivitäten nahmen im Gesamtboden nach Langzeitausbringung von GD, SD und KS zu, wobei die Xylanase vor allem in den Teilchen mit Sandgröße, die Invertase in der Schluff- und Tonfraktion zu finden war. Generell war eine Art Optimumfunktion der Enzymaktivitäten mit zunehmenden Humusgehalten der Kleinparzellen zu beobachten (Abbildung 1).

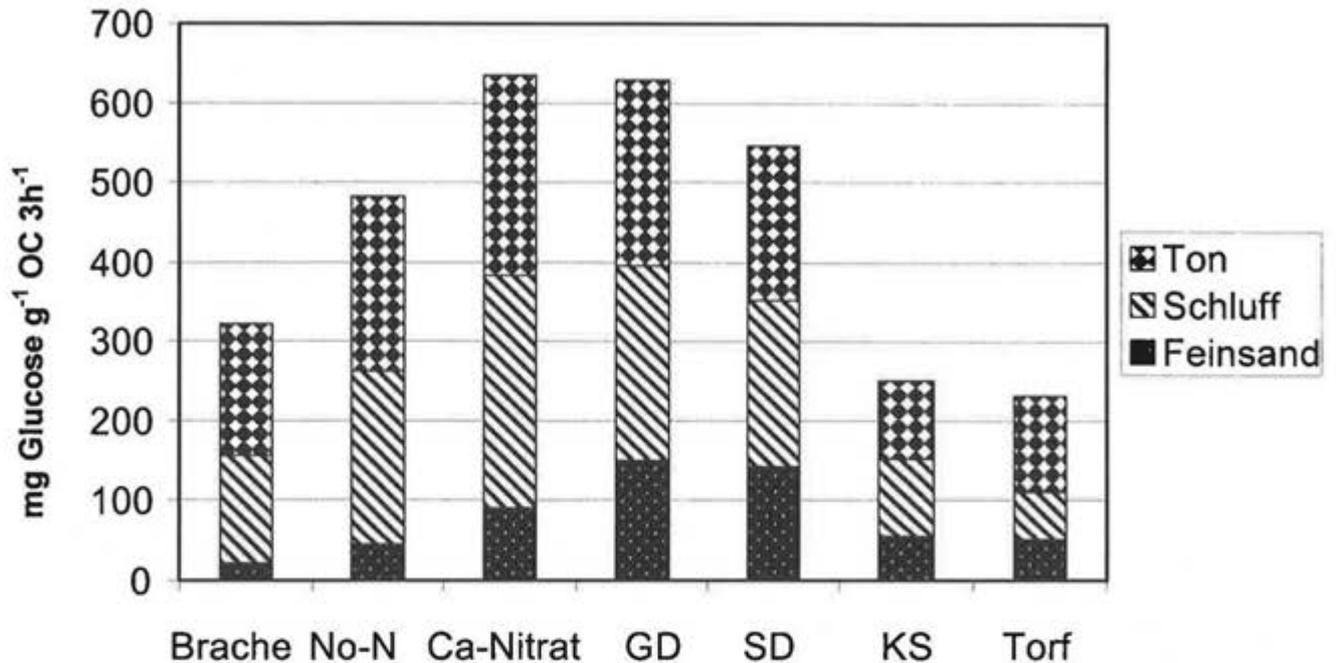


Abbildung 1. Invertase-Aktivität in den Fraktionen bezogen auf organischen Kohlenstoff (n = 4) (berechnet nach KANDELER et al. (2001)). GD: Gründünger, SD: Stalldünger, KS: Klärschlamm.

Es konnte auch kein signifikanter Zusammenhang zwischen Menge an organischen Kohlenstoffs und Enzymaktivität festgestellt werden (KANDELER et al., 2001).

Die Verteilung von Invertase in den Fraktionen bestätigt unsere bereits publizierten Ergebnisse (STEMMER et al., 1999b; KANDELER et al., 1999). Nachdem Invertase sehr stark an Ton-Humus Komplexen gebunden vorliegt, kann das Enzym über einen langen Zeitraum stabil bleiben (GINAFREDA et al., 1991). Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Invertaseaktivität in den Schluff und Tonfraktionen den resistenten Enzympool repräsentiert.

Xylanase, ein extrazelluläres Enzym, war hauptsächlich in den Sand und Schlufffraktionen zu finden. Xylanase ist ein grossteils von Pilzen produziertes Enzym. Ein verstärkte Enzymaktivität von Xylanase kann also auf eine Änderung der mikrobiellen Population hin zu einer verstärkt von Pilzen dominierten System gedeutet werden (KANDELER et al., 2000). In ersten Korrelationen der enzymatischen Aktivität mit 16S rRNA Daten, welche die mikrobielle Diversität wiedergeben, konnte diese Annahme bestätigt werden.

Die mikrobielle Diversität wurde mittels Analyse der 16S rRNA Gene untersucht und zeigte Unterschiede sowohl in den verschiedenen Behandlungen als auch in den unterschiedlichen Korngrößenfraktionen. Es konnte festgestellt werden, dass die Diversität generell in den kleineren Partikelgrößen ansteigt. Während Feinsandpartikeln eine niedrige bakterielle Diversität zeigten, wiesen die Enzymdaten auf eine hohe Pilzaktivität in dieser Korngrößenfraktion hin. Die Zusammensetzung der Bakterienpopulationen wurde stärker durch die Partikelgröße als durch die Behandlungsvariante bestimmt, obwohl auch letzterer Faktor deutlich nachzuweisen war. Die Gesamtböden zeigten unterschiedliche T-RFLP Muster in den Behandlungen,

wobei einige Fragmenten in allen Varianten zu finden waren und andere nur in spezifischen Behandlungen auftraten. Die organischen Dünger wie Grasschnitt, Stallmist und Klärschlamm bewirkten die größten Veränderungen in der mikrobiellen Diversität im Vergleich zur Brachebehandlung.

## Referenzen

- AOYAMA, M., ANGERS, D.A., N'DAYEGAMIYE, A., BISSONETTE, N., 1999: Protected organic matter in water-stable aggregates as affected by mineral fertilizer and manure applications. *Can. J. Soil Sci.* 79, 419-425.
- CAMBARDELLA, C. A., ELLIOTT, E.T., 1994: Carbon and nitrogen dynamics of soil organic matter fractions from cultivated grassland. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 123-130.
- CHRISTENSEN, B. T. 1986: Straw incorporation and soil organic matter in macro-aggregates and particle size separates. *J. Soil Sci.* 37, 125-135.
- FELSKE, A., ENGELEN, B., NÜBEL, U., BACKHAUS, H., 1996: Direct ribosomal isolation from soil to extract bacterial rRNA for community analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 4162-4167.
- GERZABEK, M.H., PICHLMAYER, F., KIRCHMANN, H., HABERHAUER G., 1997: The response of soil organic matter to manure amendments in a long-term experiment in Ultuna, Sweden. *Europ. J. Soil Sci.* 48, 273-282.
- GINAFREDA, L., RAO, M.A., VIOLANTE, A., 1991: Invertase ( $\alpha$ -fructosidase): effects of montmorillonite, Al-hydroxide and Al(OH)<sub>x</sub>-montmorillonite complex on activity and kinetic properties. *Soil Biol. Biochem.* 23, 581-587.
- GOLCHIN, A., OADES, J.M., SKJEMSTAD, J.O., CLARKE, P., 1995: Structural and dynamic properties of soil organic matter as reflected by <sup>13</sup>C natural abundance, pyrolysis mass spectrometry and solid-state <sup>13</sup>C NMR spectrometry in density fractions of an oxisol under forest and pasture. *Austr. J. Soil Res.* 33, 59-76.
- KANDELER, E., GERBER, H., 1988: Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology & Fertility of Soils* 6, 68-72.
- KANDELER, E., PALLI, S., STEMMER, M. GERZABEK, M.H., 1999: Tillage changes microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1253-1264.
- KANDELER, E., TSCHERKO, D., BRUCE, K.D., STEMMER, M., HOBBS, P.J., BARDGETT, R.D., AMELUNG, W. (2000): Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biol. Fertil. Soils.* 33, 390-400.
- KANDELER, E., TSCHERKO, D., SESSITSCH, A., KIRCHMANN, H., GERZABEK, M.H., (2001): unpublished data.
- KIRCHMANN, H., PERSSON, J., CARLGREN, K., 1994: The Ultuna long-term soil organic matter experiment, 1956 - 1991. Reports and Dissertation 17, Dep. Soil Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- MONROZIER, L.J., LADD, J.N., FITZPATRICK, R.W., FOSTER, R.C., RAUPACH, M., 1991: Components and microbial biomass content of size fractionations in soils of contrasting aggregation. *Geoderma* 49, 37-62.
- MUYZER, G., BRINKHOFF, T., NÜBEL, U., SANTEGOEDS, C., SCHÄFER, H., WAWER, C., 1998: Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial

- ecology. In (F.J. de Bruijn, A.D.L. Akkermans, J.D. van Elsas, eds.) *Molecular Microbial Ecology Manual* 3.4.4, pp. 1-27, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- PICCOLO, A., SPACCINI, R., HABERHAUER, G., GERZABEK, M.H., 1999: Increased sequestration of organic carbon in soil by hydrophobic protection. *Naturwissenschaften* 86, 496-49.
- SCHINNER F., ÖHLINGER, R., KANDELER, E., MARGESIN, R., 1996: *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag, Berlin.
- STEMMER, M., GERZABEK, M.H., KANDELER E: 1998. Soil organic matter and enzyme activity in particle size fractions of soils obtained after low-energy sonication. *Soil Biol. Biochem.* 30, 9-17.
- STEMMER, M., GERZABEK, M.H., KANDELER, E., 1999b: Invertase and xylanase activity of bulk soil and particle-size fractions during maize straw decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 31, 9-18.
- STEMMER, M., VON LÜTZOW, M., KANDELER, E., PICHLMAYER, F., GERZABEK, M.H., 1999a: The effect of maize straw placement on mineralisation of C and N in soil particle size fractions. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 73-86.
- TISDALL, J. M., OADES, J.M., 1980: The effect of crop rotation on aggregation in a red-brown earth. *Austr. J. Soil Res.* 18, 423-433.
- VAN ELSAS, J.D., SMALLA K., 1995: Extraction of microbial community DNA from soils. In (F.J. de Bruijn, A.D.L. Akkermans, J.D. van Elsas, eds.) *Molecular Microbial Ecology Manual* 1.3.3, pp. 1-11, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- WANNIARACHCHI, S.D., VORONEY, R.P., VYN, T.J., BEYAERT, R.P., MACKENZIE, A.F., 1999: Tillage effects on the dynamics of total and corn-residue-derived soil organic matter in two southern Ontario soils. *Can. J. Soil Sci.* 79, 473-480.

## **Bodenbiologie im Vollzug**

### **Erste Erfahrungen im Kanton Bern**

Claudia Maurer-Troxler, Abteilung Umwelt und Landwirtschaft, Rütli, CH-3052 Zollikofen

#### **Résumé**

*La conservation de la fertilité du sol à long terme est le but principal de la protection des sols. D'un point de vue juridique, la loi sur la protection de l'environnement (LPE 1995) et l'ordonnance sur les atteintes portées aux sols (Osol 1998) en constituent les bases légales. Le groupe de travail „Biologie du sol - application“ est une plate-forme destinée à coordonner les travaux relatifs à l'exécution de la loi dans le domaine de la biologie du sol et à favoriser l'échange d'informations entre les autorités d'exécution et la recherche. Selon le concept mis sur pieds, quatre domaines d'activités ont été recensés dans lesquels les connaissances de la biologie du sol sont utilisées pour la mise en œuvre des bases légales. Dans les domaines des relations publiques et de l'observation du sol à long terme, les cantons peuvent déjà être actifs. Dans beaucoup d'autres domaines, les connaissances de base font défaut. Les premières données du canton de Berne concernant les vers de terre sont discutées.*

#### **Bedeutung und Funktion der Bodenlebewesen**

Der Boden wird von einer Vielzahl unterschiedlichster Lebewesen bevölkert. Deren mengenmässigen Anteil am Boden ist zwar gering: nur etwa 0,3 bis 1% der Bodenmaterie sind Organismen, davon ca. 75% Pilze und Bakterien und 25% unterschiedlich grosse Tiere. Ihre Individuenzahlen und Biomassen sind eindrücklich und überwiegen bei weitem diejenigen auf dem Boden.

Ihre Funktionen sind von zentraler Bedeutung für das Ökosystem Boden:

- sie zersetzen das abgestorbene organische Material über verschiedenste Stufen in die Einzelbestandteile und stellen so den Pflanzen die Nährstoffe wieder zur Verfügung;
- sie bauen an der Bodenstruktur, lockern und durchmischen den Boden und ihre stabilen und fruchtbaren Ton-Humus-Komplexe regulieren den Wasser- und Lufthaushalt;
- sie sind ein wichtiges Nährstoffreservoir, mit ihrem Tod werden Nährstoffe freigesetzt;
- schliesslich ist ihre Artenvielfalt wichtig für die Stabilität des Ökosystems Boden.

#### **Gesetzliche Grundlagen**

Bodenbildung und Bodenfruchtbarkeit sind unmittelbar mit einer Vielzahl von Organismen im Boden verknüpft. Ein gesunder fruchtbarer Boden definiert sich gemäss VBBo über eine artenreiche und biologisch aktive Tier- und Pflanzenwelt, über eine standorttypische Struktur und über eine ungestörte Abbaufähigkeit.

Die langfristige Erhaltung gesunder Böden ist das oberste Ziel im Bodenschutz, gesetzlich verankert im **Umweltschutzgesetz** (USG 1995) und in der **Verordnung über Belastungen des Bodens** (VBBo 1998): der Schutz vor chemischen Belastungen (Schadstoffe), vor physikalischen Belastungen (Bodenverdichtung, Erosion) sowie vor biologischen Belastungen (gentechnisch veränderte oder pathogene Organismen).

Boden schützen erfordert Wissen über die im Boden ablaufenden Prozesse, über die komplexen Vorgänge und Wechselwirkungen. Es erfordert Informationen über den biologischen Zustand und die biologische Entwicklung der Böden. Es bedeutet aber auch, dass bodenbiologische Analysen vergleichbar sein müssen und Interpretationsgrundlagen vorliegen. Dies war zu Beginn unserer Arbeit kaum der Fall.

## Organisation und Ziele der VBB

Schon früh suchten deshalb diejenigen Kantone, die bodenbiologische Aspekte in ihre Bodenschutzarbeit miteinbeziehen wollten, die Zusammenarbeit mit der Forschung. Die meisten Grundlagen sind nur durch wissenschaftliche Forschung lieferbar.

Zu Beginn beschränkte sich unsere Arbeit im Bodenschutz v.a. auf den Bereich Bodenbeobachtung. Weil aber weitere Themen wie Öffentlichkeitsarbeit oder Boden sanierung verfolgt und diskutiert werden sollten und weitere Projekte im Bereich Bodenbiologie entstanden, wuchs der Bedarf an **Koordination und Informationsaustausch sowohl zwischen den Vollzugsbehörden als auch zwischen Vollzug und Forschung.**

1995 wurde deshalb die Arbeitsgruppe „Vollzug BodenBiologie VBB“ gegründet. Sie versteht sich als Plattform, um vollzugsorientierte Arbeiten im Bereich Bodenbiologie zu koordinieren, d.h. sie

- gewährleistet die Kontakte und Koordination zwischen den verschiedenen Bodenbio-Akteuren im Vollzug,
- stellt den Informationsaustausch sicher,
- erarbeitet ein längerfristiges Konzept „Vollzug Bodenbiologie“,
- stellt bodenbiologische Methoden für den Vollzug bereit,
- setzt gemeinsam Prioritäten,
- setzt vorhandene Mittel optimal ein
- und sensibilisiert die Bevölkerung und die Bodennutzer für die Bodenbiologie im Zusammenhang mit der Bodenfruchtbarkeit.



Abb. 1: Organigramm der Arbeitsgruppe VBB Vollzug BodenBiologie. BUWAL: Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft; FA: Forschungsanstalten; FiBL: Forschungsinstitut für biologischen Landbau

In der VBB sind im Moment die Kantone AG, BE, BL, SO, SG und ZH vertreten, das BUWAL sowie die Forschungsinstitutionen FAL, FAW, WSL und FiBL.

Die eigentliche Detailarbeit wird in den **Projektgruppen** geleistet, das sind momentan die Bereiche **Mikrobiologie**, **Mykorrhiza** und **Fauna**, wo aufgrund von Literaturrecherchen Methoden ausgewählt, standardisiert und in konkreten Projekten für den Einsatz im Vollzug getestet werden. Damit werden erste Vergleichswerte (Referenzwerte-Bereiche) erarbeitet, die für die Interpretation notwendig sind. Eine weitere Projektgruppe beschäftigt sich mit der **Öffentlichkeitsarbeit**, wo Ausstellungen und Lehrmittel animiert und unterstützt werden. Im Bereich **Langzeitbeobachtung** sollen biologische und physika-

liche Parameter für den Einsatz im Nationalen Bodenbeobachtungsnetz NABO erarbeitet und innerhalb der Kantonalen Bodenbeobachtung KABO's koordiniert werden.

Bei Bedarf werden in den Projektgruppen weitere Fachleute von Hochschulen und privaten Büros oder Labors beigezogen.

Das jährlich erscheinende VBB-Bulletin informiert über die Arbeiten der Projektgruppen sowie über abgeschlossene Arbeiten im In- und z.T. auch Ausland (VBB-Bulletins Nr. 1-5).

### Konzept Bodenbiologie und Bodenschutz

Eine der ersten Aufgaben bestand in der Formulierung eines Konzeptes über Bodenbiologie im Bodenschutz (VBB 1999).



Abb. 2: Vier Handlungsebenen der Bodenbiologie im Bodenschutz

Die Bodenbiologie kommt auf vier Handlungsebenen zum Tragen:

- **Beobachten und überwachen**

Die Bandbreite oder Wertebereiche von Mengen, Aktivitäten, Artenvielfalt und Funktionen von Lebewesen müssen erfasst werden: es wird definiert, was „normal“ ist, dies in Abhängigkeit von Nutzung und Bodentyp. Erst dadurch sind Belastungen erkennbar und beurteilbar. Biologische Untersuchungen bilden zusammen mit chemischen und physikalischen Messungen eine Einheit.

- **Öffentlichkeitsarbeit**

Die Informationen über gesunde und belastete Böden müssen der Öffentlichkeit und auch den direkt Betroffenen kommuniziert werden. Durch Beratung, Ausbildung und Öffentlichkeitsarbeit kann der schonende Umgang mit dem Boden gefördert werden. Bodenorganismen können dabei die Brücke bilden für den emotionalen Bezug zu Boden.

- **Handeln:** Bei bekannten Belastungen und Störungen der Bodenfruchtbarkeit sind Massnahmen zu ergreifen, die Belastungen sind zu stoppen oder zu vermindern, die Nutzung muss geändert oder eingeschränkt werden. Eine biologische Sanierung von

chemischen oder physikalischen Belastungen ist möglich z.B. durch den mikrobiologischen Abbau von Schadstoffen, durch Schadstoffakkumulation ausgewählter Pflanzen oder die Auflösung von Bodenverdichtungen durch tiefgrabende Tiere und tiefwurzelnde Pflanzen.

- **Überprüfen:** Erfolgskontrolle getroffener Massnahmen soll mit Hilfe geeigneter Indikatoren erfolgen, z.B. das Regenerationspotenzial von Regenwürmern bei Rekultivierungen.

### **Stand der Arbeiten**

Der momentane Stand der Anwendung von Bodenbiologie für die Kantone zu diesen Einsatzfeldern ist sehr unterschiedlich. Am meisten Grundlagen und damit auch die Möglichkeit zur Anwendung für die Vollzugsbehörden liegen in den Bereichen **Öffentlichkeitsarbeit** und langfristige Bodenüberwachung vor. In vielen Kantonen wurden und werden vorhandene Ausstellungen gezeigt wie der Garten-Lehrpfad, die Regenwurmausstellung und die Ausstellung „Erlebnis Boden“. Diese entstanden in Zusammenarbeit mit etlichen Vollzugsstellen und bilden die Grundlage für den Kontakt mit der Bevölkerung und Schulen. Für die Schulen werden zusätzlich Lehrmittel initiiert und unterstützt.

Der Bereich **langfristige Bodenüberwachung** ist eine der ältesten Aufgaben im Vollzug. Allerdings wurde bis jetzt der Bodenzustand v. a. aufgrund von chemischen Messungen und Richtwerten beurteilt. Damit auch biologische Parameter miteinbezogen werden können, braucht es Grundlagen. Diese wurden und werden in den Projektgruppen der VBB erarbeitet in den Bereichen Mikrobiologie, Mykorrhiza und Fauna (Tab. 1).

Als erstes mussten Methoden gefunden werden, die aussagekräftige Resultate liefern und vom zeitlichen und finanziellen Aufwand her machbar sind. Abklärungen durch Literaturrecherchen und Kontakten im In- und Ausland führten zu einer ersten Auswahl von Basisparametern. Es sind dies im Bereich Mikrobiologie die Atmung, die Biomasse und die N-Mineralisation, für den Bereich Mykorrhiza das Mykorrhiza-Infektionspotenzial und im Bereich Fauna die Erhebung der Regenwurmpopulation.

Alle Methoden wurden bzw. werden genau beschrieben und mittels Ringversuchen standardisiert. Schliesslich finden sie Eingang im Referenzmethodenhandbuch der Landwirtschaftlichen Forschungsanstalten. Denn nur gleich durchgeführte Analysen führen zu vergleichbaren Daten. Abgeschlossen ist dieses Verfahren für die mikrobiologischen Parameter. In diesem Bereich besteht auch bereits eine Datenbank an der Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau FAL. Solche Datenbanken sind die Grundlage für die Erarbeitung von Vergleichswerten und damit die Voraussetzung für die Interpretation der Resultate.

Der Parameter Mykorrhiza-Infektionspotenzial steht auf der Stufe Ringversuch, die Methode Regenwurmerhebungen wird nach der Vernehmlassung in der Beschreibung überarbeitet. Allerdings bestehen für diesen Parameter bereits die ersten Vergleichswertebereiche für Böden unter Dauerwiesen im Mittelland.

Erste biologische Erhebungen im Bereich langfristige Bodenüberwachung sind also mit den vorliegenden standardisierten Methoden möglich und sollten zur Erhebung des IST-Zustandes angegangen werden. Die Vollzugsbehörden sprechen sich ab bei der Wahl der Standorte, den Referenzmethoden und den Analyselabors.

Für alle weiteren erwähnten Bereiche – belastete Böden, Bodensanierung, Erfolgskontrolle, Nutzungseinschränkungen, biologische Belastungen - liegen noch zu wenig Grundlagen vor, seien dies aussagekräftige standardisierte Methoden und/oder Interpretationsgrundlagen. Eine direkte Anwendung für die Kantone ist nicht möglich.

Tab. 1: Stand der Arbeit. FI: Forschungsinstitutionen

	Methode	Literatur-recherche	Beschreibung	Ringversuch	Erste Anwendung	Referenzwerte-Bereiche	Zentrale Datenbank
Mikrobiologie	Biomasse	vorhanden	vorhanden	durchgeführt	FI, Kantone	in Arbeit	in Arbeit
	Atmung	vorhanden	vorhanden	durchgeführt	FI, Kantone	in Arbeit	in Arbeit
	N-Mineralisation	vorhanden	vorhanden	durchgeführt	FI, Kantone	fehlt	in Arbeit
	Dehydrogenase-aktivität	vorhanden	vorhanden	durchgeführt	FI	fehlt	in Arbeit
	Phospholipid-fettsäuren PLFA	nicht vorhanden	in Arbeit	in Arbeit	in Arbeit	fehlt	fehlt
Mykorrhiza	Infektionspotenzial	vorhanden	vorhanden	geplant	FI	fehlt	fehlt
Fauna	Regenwürmer	nicht vorhanden	in Arbeit	fehlt bzw. nicht geplant	FI, Kantone	Naturwiesen	fehlt

fehlt	In Arbeit	vorhanden
-------	-----------	-----------

Tab. 2: Vollzugs- und Forschungsaufgaben im Bereich Bodenbiologie.

FAL: Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau Zürich-Reckenholz; FiBL: Forschungsanstalt für biologischen Landbau; ETH: Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, FAW: Forschungsanstalt Wädenswil; WSL: Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft Birmensdorf; BLW: Bundesamt für Landwirtschaft; BUWAL: Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft; ItÖ: Institut für terrestrische Ökologie.

Priorität: 1=höchste Priorität und/oder kurzfristig realisierbar; 2=mittlere Stufe und/oder mittelfristig realisierbar; 3=wünschenswert und/oder wegen fehlendem Wissen erst längerfristig realisierbar; 1-2 bzw. 1-3=höchste Priorität aber wegen fehlendem Wissen erst längerfristig realisierbar.

INHALT	PRIORITÄT	INSTITUTIONEN/KOORDINATION
Referenzmethode Regenwurmextraktion	1	FAL, FiBL, VBB-Fauna
Referenzdatenbanken	1	FAL, VBB-Mikrobiologie
Ringversuche (Qualitätssicherung) Mikrobiologie	1	FAL, FiBL, VBB-Mikrobiologie
Literaturstudie Belastungsindikatoren	1	FAL, FiBL
Mykorrhiza-Infektionspotenzial standardisieren	1	ETH, FAW, Uni Bern/Basel, WSL, VBB-Mykorrhiza
Öffentlichkeitsarbeit als Vollzugsaufgabe	1-2	BUWAL, Kantone
Pathogene oder gentechnisch veränderte Organismen im Boden	1-3	BLW, BUWAL, FAL, FAW, FiBL
Zeitliche und räumliche Variabilität von Bodenlebewesen	1-3	FAL, FiBL, Kantone
Interpretations- und Bewertungsschemen	1-3	FAL, FiBL
Methoden zur Erfassung der mikrobiologischen Diversität	2	FAL, FiBL, VBB-Mikrobiologie
Erfolgskontrolle bei Bodensanierungen und Rekultivierungen	2	BLW, BUWAL, FAL, ItÖ, Kantone
Wechselwirkungen Bodenbiologie, -physik und -chemie	3	FAL, FiBL, Kantone
Weitere mikrobiologische Methoden	3	FAL, FiBL, VBB-Mikrobiologie
„Wegleitung zur Beurteilung der Bodenfruchtbarkeit“ überarbeiten	3	BLW, BUWAL, FAL, Kantone

Es müssen weitere Anstrengungen für die Erarbeitung dieser Grundlagen unternommen werden. Dazu sind die Vollzugsbehörden auf die Zusammenarbeit mit den Forschungsinstitutionen angewiesen, weil viele Lücken nur durch reine Forschungsarbeiten zu schliessen sind.

Der Abschluss des Konzeptes Biologie und Bodenschutz bildet deshalb eine Liste mit Vollzugs- und Forschungsarbeiten, geordnet nach Priorität bzw. zeitlicher Realisierbarkeit und der Nennung der möglichen beteiligten Institutionen (Tab. 2).

### Erste Erfahrungen mit Bodenbiologie im Kanton Bern

Im Kanton Bern werden bereits seit 10 Jahren regelmässig bodenbiologische Erhebungen durchgeführt, z. B. im Rahmen der Kantonalen Bodenbeobachtung KABO. Das primäre Ziel der Bodenbeobachtung ist es, eine zeitliche Beobachtungsreihe zu erarbeiten. Die Resultate dienen in Zukunft als vergleichendes Referenznetz.

Im Kanton Bern werden auf ausgewählten Landwirtschaftsbetrieben in Ackerflächen und vergleichbaren Naturwiesen chemische, physikalische und biologische Parameter erhoben. Im Bereich Biologie sind dies Regenwurmerhebungen und seit kurzem auch mikrobiologische Parameter. Die Resultate der ersten 10 von insgesamt 19 Standorten wurde 1997 veröffentlicht (Bodenschutzfachstelle des Kantons Bern, 1997).

Anhand eines Beispiels wird gezeigt, wieweit Resultate von Regenwurmerhebungen schon interpretierbar sind und wo Lücken bestehen.

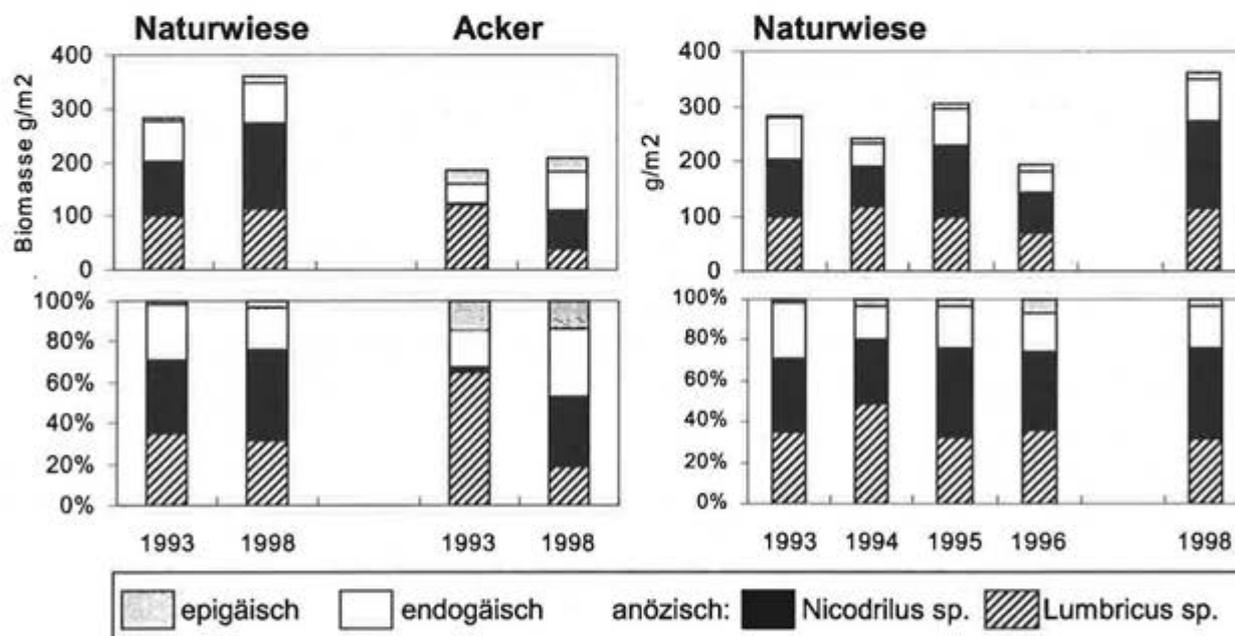


Abb. 3: Regenwurmbiomassen und prozentuale Zusammensetzung der Regenwurmpopulation am Standort Niederösch 1993 und/bzw. bis 1998 im Rahmen der Kantonalen Bodenbeobachtung KABO Bern.

Die Erstbeprobung der Naturwiese und des Ackers – die Beprobung erfolgt immer im 2. Hauptnutzungsjahr als Kunstwiese – erfolgte am Standort Niederösch 1993. Dargestellt sind die Biomassen für die vier unterschiedenen Lebensformen epigäische oder Streubewohner, endogäische oder Mineralbodenbewohner und die beiden Tiefgräber.

Die Naturwiese hat eine statistisch gesicherte höhere Gesamtbiomasse als die Kunstwiese. Auch in der prozentualen Zusammensetzung unterscheiden sich die beiden Flächen. Die Resultate der Naturwiese kann ich einordnen und interpretieren, es liegen

Referenzwertebereiche für Dauergrünlandböden im Schweizer Mittelland vor. Ein Vergleich mit diesen Werten zeigt, dass die vorliegende Naturwiese sowohl bezüglich Gesamtbiomasse als auch bezüglich Zusammensetzung der vier Gruppen im normalen Bereich liegt. Für die Interpretation der Ackerdaten fehlen entsprechende Referenzwerte, es braucht daher den Vergleich mit der Naturwiese. Dieser Vergleich zeigt, dass die Regenwurmpopulation durch die Bewirtschaftung beeinflusst wird, die Gesamtbiomasse ist im Durchschnitt aller Standorte um 30% tiefer. Das Ziel wären auch hier Referenzwertebereiche für Ackerflächen.

An diesem Standort erfolgte bereits 1998 die Zweitbeprobung. Diese zeigt leicht höhere Gesamtbiomassen für Natur- und Kunstwiese und eine deutlich veränderte Zusammensetzung der Regenwurmpopulation in der Ackerfläche.

Sind diese Unterschiede normale Schwankungen oder liegen andere Gründe vor? Dazu braucht es Informationen über die zeitlichen und räumlichen Schwankungen, sowie über die Einflüsse der Kulturen.

Auf der Naturwiese wurden deshalb zusätzlich im Herbst 94, 95 und im Frühling 96 Daten erhoben. Diese zeigen die natürlichen Schwankungen der Biomassen. Die prozentuale Zusammensetzung dagegen ist sehr stabil.

Die Beurteilung weit auseinanderliegender Einzeldaten ist nur möglich, wenn Informationen über die zeitliche Variabilität vorliegen. Für den Parameter Regenwurmerhebungen ist dies leider noch weitgehend nicht der Fall.

Dieser kurze Einblick zeigt, dass im Bereich Regenwurmerhebungen einige Grundlagen vorliegen, andere noch fehlen. Für die **Erhebung des IST-Zustandes** liegen aber genügend Methoden vor, die schon angewendet werden können.

Die Arbeitsgruppe VBB möchte dabei den Kantonen den Einstieg bzw. die Weiterarbeit erleichtern. Die erhobenen Daten fliessen in den Datenpool der Forschungsinstitutionen ein und führen damit zu den notwendigen Interpretationsgrundlagen.

## Literatur

Autorenkollektiv: Bodenbeobachtung im Kanton Bern. Ein physikalisch-biologisch-chemischer Ansatz. Bodenschutzfachstelle des Kantons Bern, Rütli, CH-3052 Zollikofen. 1997.

USG Umweltschutzgesetz 1983, Änderung 1995. 814.01.

VBB 1999: Bodenbiologie und Bodenschutz. Konzept. Bezug Sekretariat VBB.

VBB 1997: Bulletin Nr. 1 (Bezug: Sekretariat VBB, FiBL, Postfach, CH-5070 Frick).

VBB 1998: Bulletin Nr. 2 (Bezug: Sekretariat VBB, FiBL, Postfach, CH-5070 Frick).

VBB 1999: Bulletin Nr. 3 (Bezug: Sekretariat VBB, FiBL, Postfach, CH-5070 Frick).

VBB 2000: Bulletin Nr. 4 (Bezug: Sekretariat VBB, FiBL, Postfach, CH-5070 Frick).

VBB 2001: Bulletin Nr. 5 (Bezug: Sekretariat VBB, FiBL, Postfach, CH-5070 Frick).

VBBö Verordnung über Belastungen des Bodens 1998. 814.12.



## BIOLOGISCHE INDIKATOREN DER BODENFRUCHTBARKEIT

Paul Mäder und Andreas Fließbach

Forschungsinstitut für biologischen Landbau, CH-5070 Frick

### Grundlagen für den Einsatz bodenbiologischer Methoden

Bodenorganismen steuern und unterstützen zahlreiche Bodenfunktionen, wie zum Beispiel den Abbau der organischen Substanz, die Ertragsbildung und die Bildung von stabilen Bodenaggregaten. Damit sind sie auch für den Erosionsschutz zentral. Weil sie empfindlich auf Störungen durch die landwirtschaftliche Bewirtschaftung und auf Schadstoffe aus der Umwelt reagieren, eignen sie sich sehr gut als Indikatoren der Bodenfruchtbarkeit (Turco et al., 1994). Sie haben integrativen Charakter, da sie sowohl chemische als auch physikalische Belastungen des Bodens über einen längeren Zeitraum widerspiegeln. Dieser Beitrag fokussiert auf die Gruppe der Bodenmikroorganismen.

**Tab. 1:** Variationskoeffizienten von bodenmikrobiologischen Messungen.

Parameter	Variationskoeffizient innerhalb Labors (%)	Variationskoeffizient zwischen Labor (%)
Biomasse (Fumigation-Extraktion)	4	n.b. (n = 2)
Biomasse (Substratinduzierte Respiration)	5	6
ATP-Gehalt	4	n.b. (n = 2)
Bodenatmung	8	5-10
Zelluloseabbau	10	4-8
N-Mineralisierung	11	16
Dehydrogenaseaktivität	3	15 *

Ausgeführt im Auftrag der Bodenschutzfachstellen der Kantone Aargau, Bern und Solothurn

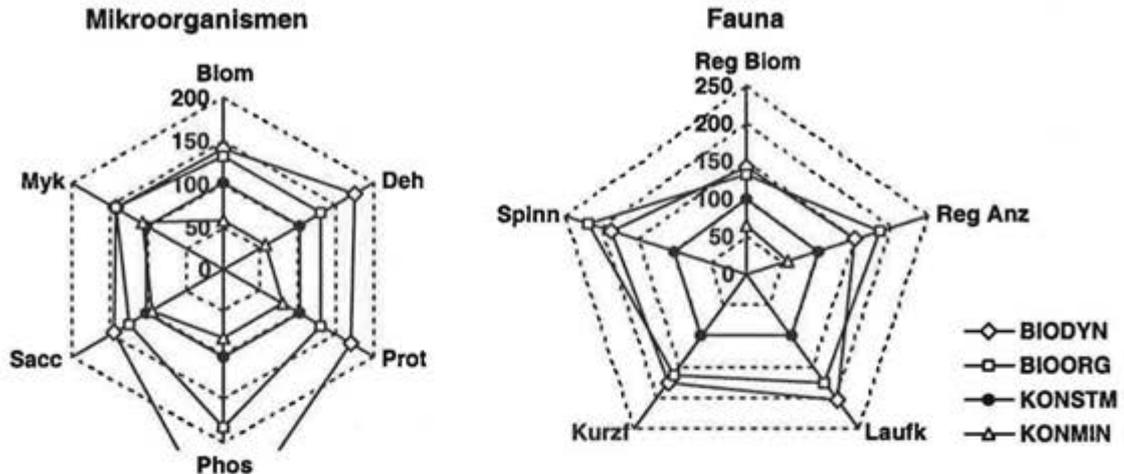
\* Relativ hoch aufgrund unterschiedlicher TTC-Chargen

In der BUWAL-Arbeitsgruppe Vollzug Bodenbiologie (VBB) wurden in den vergangenen Jahren – basierend auf Literaturstudien (Mäder et al., 1993a) und Fallstudien zur zeitlichen und räumlichen Variabilität (Nowack und Mäder, 1995) – Probenahme-konzepte für mikrobiologische Untersuchungen entwickelt und es wurden Referenzmethoden ausgearbeitet (FAL, 1996). In Ringuntersuchungen zeigte sich, dass die Reproduzierbarkeit von bodenmikrobiologischen Methoden ausreichend ist (Tab. 1) (Fry et al., 1997). Damit sind die Voraussetzungen für eine breitere Anwendung dieser Methoden gegeben. Hier werden Fallstudien zum Einsatz bodenbiologischer Methoden in der Landwirtschaft (Vergleich biologische *versus* integrierte Bewirtschaftung) und im Bodenschutz (Einfluss von Schwermetallen im Richtwertbereich) vorgestellt.

### 2. Fallstudien Landwirtschaft

In komplementär aufgebauten Projekten erarbeiteten das FiBL (Frick) und die FAL (Reckenholz) Grundlagen für die Beurteilung der Bodenfruchtbarkeit unter dem Einfluss biologischer und konventioneller Anbausysteme. Die Untersuchungen wurden im 21-jährigen DOK-Langzeitversuch (Dubois et al., 1999; Mäder et al., 2000a), auf 14 Bio-IP-Paarbetrieben und im FiBL-Pilotbetriebsnetz in 99 Getreideschlägen durchgeführt.

Im DOK-Versuch wurde eine breite Palette von Parametern gemessen (mikrobielle Biomasse, Aktivität und Diversität, Mykorrhiza, Regenwürmer, Raubarthropoden, bodenphysikalische Parameter, Nährstoffe). Auf den Betrieben schränkten wir die Messungen meist auf die mikrobielle Biomasse und Aktivität sowie auf Nährstoffe ein.

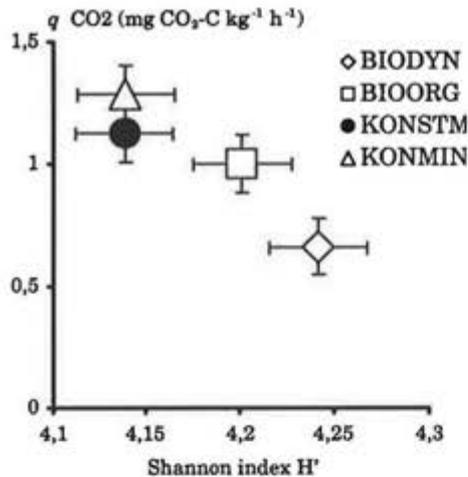


**Abb. 1:** Polarkoordinatendarstellung von mikrobiologischen und faunistischen Bodeneigenschaften des DOK-Vergleichsversuches. **Biom** = mikrobielle Biomasse, **Deh** = Dehydrogenaseaktivität, **Prot** = Proteaseaktivität, **Phos** = Phosphataseaktivität, **Sacc** = Saccharaseaktivität, **Myk** = Mykorrhizierungsgrad, **Reg Biom** = Regenwurm Biomasse, **Reg Anz** = Regenwürmer Anzahl, **Laufk** = Laufkäferaktivität, **Kurzfl** = Kurzflügleraktivität, **Spinn** = Spinnenaktivität, **BIODYN** = Biologisch-dynamisch, **BIOORG** = Biologisch-organisch, **KONSTM** = konventionell mit Stallmist, **KONMIN** = konventionell mineralisch. Alle Werte in Prozent relativ zum KONSTM-System.

In den biologischen Anbausystemen des DOK-Versuches war die mikrobielle Biomasse und die Aktivität von Bodenenzymen um 30 bis 85 % höher als in den integriert bewirtschafteten; die höchsten Werte wies stets das biologisch-dynamische Verfahren auf (Abb. 1) (Mäder et al., 1993b; Oberholzer et al., 2000a). Diese Ergebnisse werden von drei weiteren Langzeituntersuchungen in Järna (S), Darmstadt (D) und Neuhof (D) bestätigt (Mäder et al., 1995). In den Bio-Anbausystemen des DOK-Versuchs ging mit einer Steigerung der mikrobiellen Biomasse auch eine Ertragszunahme einher, was die Bedeutung der Mikroorganismen für den Nährstoffumsatz bei organischer Düngung veranschaulicht. Zudem korrelierte die mikrobielle Biomasse signifikant mit der Krümelstabilität, bestimmt mit feldfeuchten Bodenproben. Langjährig biologisch bewirtschaftete Böden wiesen markant höhere Enzymaktivitäten und eine stärkere Kolonisierung der Wurzeln mit Mykorrhizapilzen auf (Mäder et al., 2000b). Dies zeigte sich auch in einer erhöhten mikrobiellen Nährstoffnachlieferung, was für biologische Anbausysteme mit einem relativ niedrigen Nährstoffinput bedeutsam ist (Oberson et al., 1996; Oehl, 1999; Langmeier et al., 2000). Die biologische Bewirtschaftung förderte auch die Bodentiere deutlich (Abb. 1).

Im Betriebspaarvergleich war der Unterschied weniger deutlich (Oberholzer et al., 2000b). Bei rund 50 % aller Paare war zwischen den Anbausystemen kein bedeutender Unterschied vorhanden. Bei rund einem Drittel der Vergleiche der gemessenen Parameter war der Wert in der Bioparzelle eindeutig höher.

Auf den Pilotbetrieben, die sich auf das gesamte Schweizerische Mittelland verteilten, war der Unterschied zwischen Bio und IP noch weniger deutlich (10 % Differenz). Ton- und Schluffgehalt, der pH-Wert sowie der Gehalt an organischer Substanz, die sehr stark standortgeprägt sind, bestimmten hier die Höhe der mikrobiologischen Eigenschaften sehr stark (Brunner et al., 1999).



**Abb. 2:** Diversität der bakteriellen Substratnutzung (Shannon index H') im DOK-Versuch in Relation zum metabolischen Quotienten ( $q\text{CO}_2$ ). Legende siehe Abb. 1.

Über den Nutzen der Biodiversität im Ökosystem wird heute intensiv diskutiert. Im DOK-Versuch ergaben sich Hinweise, dass eine höhere funktionelle Diversität der Mikroorganismen mit einer besseren Energienutzungseffizienz zusammenhängt (Abb. 2) (Fließbach und Mäder, 1997). Die erhöhte Effizienz der Mikroorganismenpopulationen in den biologischen Anbausystemen zeigte sich auch in einem effizienteren Einbau organischen Kohlenstoffs in die mikrobielle Biomasse (Fließbach et al., 2000a) und in einem intensiveren *in situ* Abbau der (spezifisch leichten) frischen organischen Substanz (Fließbach et al., 2000b). Diese Resultate machen den Nutzen von Biodiversität für ökologische Bodenprozesse deutlich.

### Fallstudie Umweltschutz

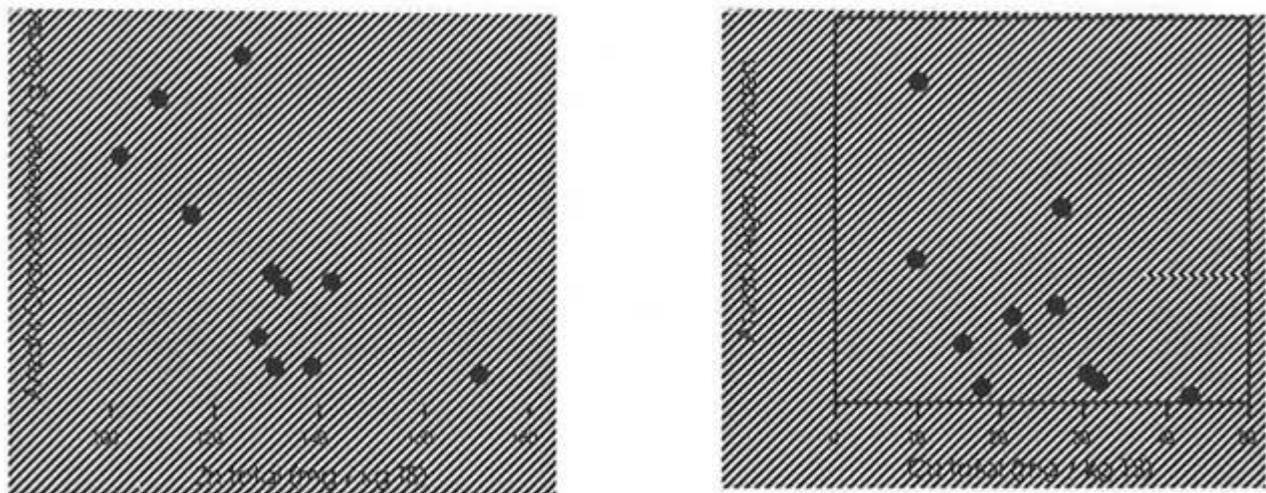
Ein Boden gilt nach VBBo als fruchtbar, wenn er einen für seinen Standort typische artenreiche, biologisch aktive Lebensgemeinschaft und typische Bodenstruktur sowie eine ungestörte Abbaufähigkeit aufweist. Die Frage, welchen Einfluss Schwermetalle auf die Bodenmikroorganismen haben, gewinnt an Bedeutung, da die Schwermetallbelastungen teilweise immer noch zunehmen und vielerorts die bestehenden Richtwerte nach VBBo schon erreicht sind. Möglicherweise führen auch geringe, chronische Schwermetallbelastungen im Bereich der Richtwerte zu einer Veränderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen und zu einer Verschiebung des Artenspektrums hin zu schwermetalltoleranten oder -resistenten Arten.

In einer Fallstudie an drei Standorten in Gerlafingen, Rheinfelden und Nenzlingen haben wir untersucht, wie die im Rahmen der VBB ausgewählten mikrobiologischen Basisparameter Biomasse und Bodenatmung auf Schwermetalle im Boden reagieren (Scherr et al., 2000). Zusätzlich wurden als Referenz Böden eines Parzellenversuchs der FAL Braunschweig beprobt, welche mit schwermetallbelastetem Klärschlamm kontaminiert waren.

Erwartungsgemäss übten auch hier die Standortfaktoren einen entscheidenden Einfluss auf die mikrobiologischen Parameter aus (positive Korrelationen). Weil diese Standortfaktoren innerhalb des ausgewählten Schwermetallgradienten auch variierten, wurden mögliche Schwermetalleffekte auf die Mikroorganismen überlagert. Unter Anwendung mehrfacher linearer Regressionsberechnungen wurden aber teilweise signifikante negative Korrelationen zwischen den Schwermetallwerten im Boden und

der mikrobiellen Biomasse und ihrer Aktivitäten sichtbar (mikrobielle Biomasse-C und -N, Dehydrogenaseaktivität, Bodenatmung zu mikrobieller Bio-masse). Die N-Mineralisierung, die Nitrifizierung und die Bodenatmung allein reagierten nicht auf die Schwermetalle im Richtwertbereich.

Zusätzlich zu diesen Summenparametern charakterisierten wir die Artenvielfalt der Bodenmikroorganismen mit zwei verschiedenen Methoden. Die Substratnutzungs (Biolog)-Methode gibt ein Mass für die funktionelle Diversität der Bakteriengemeinschaft und die PLFA (Phospholipid-Fettsäuren)-Methode über die strukturelle Diversität der Bodenmikroorganismen. Diese Methoden sind von besonderem Interesse, weil sie im Gegensatz zu Summenparametern Aufschluss über eine mögliche Verschiebung im Artenspektrum der Mikroorganismen geben. Im Parzellenversuch bewirkten die Schwermetalle Blei, Cadmium, Kupfer, Zink und Chrom im Bereich des doppelten VBBo-Richtwertes eine signifikante Verringerung der mittels der Biolog- und der PLFA-Methode erfassten mikrobiellen Diversität. Im Gegensatz dazu blieben die mikrobiologischen Summenparameter auch bei den erhöhten Schwermetallgehalten unverändert. Diese Ergebnisse zeigen, dass die mikrobielle Diversität ein sensibler Indikator für Schwermetallbelastungen des Bodens sein kann.



**Abb. 3:** Effekt von Zink und Kupfer auf das Cyanobakterien- und Algenwachstum. (Quelle: VBB-Bulletin Nr. 5).

Wir suchten auch nach spezifischen Organismen, von denen bekannt ist, welche Rolle sie im Ökosystem Boden einnehmen. Als Parameter zur Beurteilung der Schwermetalleinflüsse auf photoautotrophe Bodenmikroorganismen wurden die Lebendkeimzahlen von Bodenalgeln und stickstofffixierenden Cyanobakterien herangezogen.

In unseren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die photoautotrophen Bodenmikroorganismen der schwermetallbelasteten Bodenproben auf eine Belastung mit Zink, Kupfer und Cadmium im Richtwertbereich empfindlich reagieren. Die Keimzahl der stickstofffixierenden Cyanobakterien wurde durch die Schwermetalle signifikant negativ, die der Algen tendenziell negativ beeinflusst (Abb. 3). Die photoautotrophen Bodenmikroorganismen können daher zusätzlich zu den bisher verwendeten mikrobiellen Parametern als Indikatoren zur frühzeitigen Erfassung von chronischen Schwermetallbelastungen im Richtwertbereich eingesetzt werden. Ähnlich sensibel reagierten Mykorrhizapilze, wie eine Parallelstudie der ETH zeigte. Am Standort Gerlafingen mit Belastungen an Blei und Zink bis zum doppelten Richtwert

verringerte sich das Mykorrhizainfektionspotenzial gegenüber nicht belasteten Böden deutlich. Hingegen führten erhöhte Cadmiumwerte geogenen Ursprungs am Standort Nenzlingen nicht zu einer Verminderung der Mykorrhizakolonisierung.

### **Zusammenfassung und Schlussfolgerungen**

Zur Zeit steht eine Auswahl von gut standardisierten bodenmikrobiologischen Methoden zur Erfassung von Pool- und Aktivitätsgrößen für die Gesamtheit der mikrobiellen Biomasse zur Verfügung, welche auf Bewirtschaftungseinflüsse und teilweise auch auf eine niedrige Schwermetallkonzentration sensibel reagieren. Im Parzellenversuch treten diese Einflüsse deutlicher zu Tage als in Praxisschlägen, weil Standortfaktoren mögliche stressbedingte Unterschiede überdecken.

Es zeigt sich, dass sich die komplexen Vorgänge im Ökosystem Boden nicht hinreichend durch einzelne Parameter beschreiben lassen. Nur durch die Kombination von mikrobiellen Summenparametern, Parametern zur Beschreibung der Diversität und die Verwendung empfindlicher Indikatororganismen wie zum Beispiel Cyanobakterien, Algen und Mykorrhizapilze entsteht ein Gesamtbild der Veränderungen innerhalb einer Mikroorganismengemeinschaft.

Damit sind die Voraussetzungen für einen breiteren Einsatz bodenmikrobiologischer Methoden in der angewandten agronomischen Forschung und im Bodenschutz erfüllt. Die weitere Standardisierung von Parametern für die Diversität der Mikroorganismen (PLFA, Biolog) sowie von wichtigen Indikatororganismen ist nötig. Ein grosser Forschungsbedarf liegt auch in der Ausarbeitung von Beurteilungsschemen für bodenmikrobiologische Parameter, insbesondere bei fehlenden Referenzflächen (Oberholzer, 2000c).

### **Résumé et conclusions**

Actuellement, les méthodes de biologie du sol sont bien standardisées pour mesurer les contenus et les activités de la totalité des organismes. Ceux-ci réagissent sensiblement à l'impact de l'agriculture ainsi qu'à des teneurs faibles en métaux lourds. Les effets sont plus clairs dans l'essai randomisé comparé à la variabilité des parcelles des exploitations agricoles.

Les processus complexes dans l'écosystème du sol ne sont pas expliquables d'une méthode seule. C'est l'ensemble des méthodes holistiques (biomasse, respiration, ...) et spécifiques (enzymes, PLFA, DNA, ...) qui permet de décrire la diversité des fonctions et de la structure de la communauté des organismes du sol. Il existe un nombre d'organismes indicateurs comme les cyanobactéries, les algues ou les mycorrhizes qui sont notamment sensibles.

Les méthodes de la microbiologie du sol sont bien applicables dans l'agronomie et la protection du sol. La standardisation des méthodes pour mesurer la diversité des microorganismes est souhaitable. Afin d'apporter une crédibilité meilleure aux analyses de sol, la recherche a besoin d'un modèle d'évaluation en particulier car nous manquons des parcelles de référence propres (Oberholzer, 2000c).

### **Literatur**

- Brunner, T., Oberholzer, H.R., Bosshard C. und Mäder, P. 1999: *Bodenzustand und Mineralstoffgehalt von Winterweizen auf Biobetrieben in Abhängigkeit von der Umstellungszeit auf biologischen Landbau*. Teilprojekt Bodenmikrobiologie. FiBL, CH-5070 Frick. 26 S.
- Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Stauffer, W., Spiess, E., Mäder, P., Alföldi, T., Fließbach, A., Frei, R. und Niggli, U., 1999: DOK-Versuch: Ertragsentwicklung und Energieeffizienz. *Agrarforschung* 6, 71-74.
- FAL, 1996: *Schweizerische Referenzmethoden der Eidg. Landwirtschaftlichen Forschungsanstalten*. Band 2: Bodenuntersuchung zur Standort-Charakterisierung. Eidg. Forschungsanstalten FAL, RAC, FAW.
- Fließbach, A. und Mäder P., 1997: Carbon source utilization by microbial communities in soils under organic and conventional farming practice. In: Insam H. und Rangger A. (Hrsg.): *SUBMECO - Substrate use for characterization of microbial communities in terrestrial ecosystems*. Springer, Berlin, Innsbruck, 109-120.

- Fließbach, A., Mäder, P. und Niggli, U., 2000a: Mineralization and microbial assimilation of <sup>14</sup>C-labeled straw in soils of organic and conventional agricultural systems. *Soil Biology & Biochemistry* **32**, 1031-1039.
- Fließbach, A. und Mäder, P., 2000b: Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. *Soil Biology & Biochemistry* **32**, 757-768.
- Fry, P., Laczko, E., Maire, N., Maurer-Troxler, C., Nowack, K., Jäggi, W. und Mäder, P., 1997: *Vergleichbarkeit von bodenmikrobiologischen Messungen*. Bodenschutzfachstellen der Kantone Aargau, Bern und Solothurn (Hrsg.). Abteilung Umweltschutz, Entfelderstrasse 16, 5001 Aarau. 46 S.
- Langmeier, M., Oberson, A., Dubois, D., Mäder, P. und Frossard, E., 2000: Nitrogen fertilizer efficiency of cattle manure. Part II: Influence of farming system. Proceedings of the 13th International IFOAM Scientific Conference. 28. to 31. August 2000 in Basel (Switzerland). S. 82.
- Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P. und Niggli, U., 2000a: *Erkenntnisse aus 21 Jahren DOK-Versuch*. Bio fördert Bodenfruchtbarkeit und Artenvielfalt. FiBL Dossier 1, FiBL, CH-5070 Frick. 16 S.
- Mäder, P., Edenhofer, S., Boller, T., Wiemken, A. und Niggli, U., 2000b: Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. *Biology and Fertility of Soils* **31**, 150-156.
- Mäder, P., Fließbach, A., Wiemken, A. und Niggli, U., 1995: Assessment of soil microbial status under long-term low input (biological) and high input (conventional) agriculture. *Fertilization Systems in Organic Farming* (concerted action AIR3-CT94-1940). Proceedings of the second meeting in Oberwil (Switzerland), September 15th to 16th 1995, 24-38.
- Mäder, P., Nowack, K. und Alföldi, T., 1993a: *Literaturstudie zur Wahl der Methode für die Schätzung der mikrobiellen Biomasse im Boden sowie zur zeitlichen und räumlichen Variabilität der mikrobiellen Biomasse, der Bodenatmung und des Zelluloseabbaus*. Ausgeführt im Auftrag der Arbeitsgruppe Bodenbiologie der Bodenschutzfachstellen der Kantone Aargau, Bern und Solothurn. 146 S.
- Mäder, P., Pfiffner, L., Jäggi, W., Wiemken, A., Niggli, U. und Besson, J.-M., 1993b: DOK-Versuch: Vergleichende Langzeituntersuchungen in den drei Anbausystemen biologisch-Dynamisch, Organisch-biologisch und Konventionell. III. Boden: Mikrobiologische Untersuchungen. *Schweizerische Landwirtschaftliche Forschung* **32**, 509-545.
- Nowack, K. und Mäder, P., 1995: *Literaturstudie zur Empfindlichkeit der mikrobiellen Biomasse und der Bodenatmung auf die Schwermetalle Blei, Kupfer, Cadmium und Zink*. FiBL, CH-5070 Frick, ausgeführt im Auftrag der Bodenschutzfachstelle des Kantons Aargau. Baudepartement des Kantons Aargau, Bodenschutzfachstelle, Buchenhof, 5001 Aarau.
- Oberholzer, H.R., Mäder, P. und Fließbach, A., 2000a: DOC-trial: 20 years of organic and conventional farming affect soil microbial properties. Proceedings of the 13th International IFOAM Scientific Conference. 28. to 31. August 2000 in Basel (Switzerland). S. 14.
- Oberholzer, H.R., Nowack, K. und Mäder, P., 2000b: Soil microbial aspects in winter cereal fields of organic and integrated farms. Proceedings of the 13th International IFOAM Scientific Conference. 28. to 31. August 2000 in Basel (Switzerland). S. 15.
- Oberholzer, H.R., 2000c: Entwicklung eines Beurteilungsschemas für Böden mittels mikrobiologischer Parameter mit Bezug auf abiotische Standortfaktoren. *VBB-Bulletin* 4/2000: 8-9.
- Oberson, A., Besson, J.M., Maire, N. und Sticher, H., 1996: Microbiological processes in soil organic phosphorus transformations in conventional and biological cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* **21**, 138-148.
- Oehl, 1999: *Microbial mediated phosphorus transformation processes in cultivated soils*. Dissertation Swiss Federal Institute of Technology, Zurich (CH), Nr. 13496. 147 S.
- Scherr, C., Fließbach, A. und Mäder, P., 2000: *Bodenbiologische Erfassung der Bodenfruchtbarkeit – Fallstudie an belasteten Standorten*. Bericht zu Handen des BUWAL. Projektbegleitung: Arbeitsgruppe Vollzug BodenBiologie. FiBL, CH-5070 Frick. 56 S.
- Turco, R., Kennedy, A. und Jawson, M., 1994. Microbial indicators of soil quality. In: Doran, J., Coleman, D., Bezdicek, D. und Stewart, B. (Hrsg.). *Defining soil quality for a sustainable environment*. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. Special Publication No 35: 73-90.

## Diversité bactérienne associée aux racines de *Lupinus albus* et interactions entre plante et bactéries

WEISSKOPF, L.<sup>1</sup>, FROMIN, N.<sup>1</sup>, MARTINOIA, E.<sup>2</sup> & ARAGNO, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Neuchâtel, Suisse

<sup>2</sup> Laboratoire de Physiologie végétale de l'Université de Neuchâtel, Suisse

### Abstract

*In contrast to most herbaceous plants, Lupinus albus does not form any mycorrhizal association. However, this plant is highly resistant to phosphate starvation. This resistance is based on several mechanisms, such as the formation of dense cluster-roots called 'proteoid roots'. These roots exude large amounts of organic acids, especially citrate, which have important effects on the root environment, and principally on the pH of the rhizospheric soil. Consequently, there is no doubt that the chemical modification of the root environment largely influences the associated bacterial communities. The two main goals of this study are first a description of the bacterial communities associated to the roots of Lupinus albus by cultural and molecular methods. In this case, fingerprinting methods based on the 16S rDNA gene pool, such as SSCP, will be used in order to obtain a pattern of the communities as a function of time and proteoid root elongation. The second aim of the study is an attempt to better understand the function of the microflora in the «plant-soil-microflora» system by physiological tests like phosphate solubilization or production of siderophores and auxine on strains isolated from the rhizosphere of the plant.*

### Introduction

Le lupin blanc, *Lupinus albus*, est une des rares herbacées non mycorhizées ; il résiste pourtant très bien à la carence en phosphate, et forme alors des racines très ramifiées qu'on appelle racines protéoïdes ou 'cluster roots'. Ces racines protéoïdes sécrètent des acides organiques en grande quantité, surtout du citrate et du malate, et cette exsudation varie au fil du développement racinaire : les jeunes racines sécrètent du malate, les matures beaucoup de citrate (jusqu'à 23% du carbone fixé) et les sénescents moins de citrate (Neumann et al., 2000).

La rhizosphère de *Lupinus albus*, et plus particulièrement ces zones d'intense activité métabolique que représentent les racines protéoïdes, constituent donc un environnement où les ressources nutritives et les paramètres physico-chimiques, notamment le pH, changent rapidement et fortement. Ces changements ont sans doute une influence sur les bactéries environnantes, qui à leur tour pourraient être impliquées dans la nutrition de la plante ou dans la formation des racines protéoïdes.

Nous avons étudié les bactéries associées aux différents stades (jeune, mature et sénescents) des racines protéoïdes, par des méthodes culturales (comptages de colonies) et moléculaires (analyse de diversité). De plus, nous avons recherché des activités bactériennes susceptibles d'influencer la physiologie racinaire ou la nutrition de la plante, dans l'idée que les bactéries pourraient favoriser la croissance de *Lupinus albus* en solubilisant le phosphate pour le rendre accessible à la plante ou en produisant des sidérophores, des molécules qui se lient au fer avec une grande affinité et qui peuvent d'une part rendre le fer accessible à la plante et d'autre part entraîner une carence chez

d'autres micro-organismes, potentiellement phytopathogènes. Enfin, on sait aussi que certaines bactéries produisent de l'auxine (AIA, 'acide indole-3-acétique'), une hormone régulatrice de la croissance et de la morphogenèse des tissus végétaux. Toutes ces activités peuvent conférer aux bactéries associées aux racines du lupin blanc des propriétés de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), de bactéries favorables à la croissance de la plante (Glick, 1995).

## Matériel et méthodes

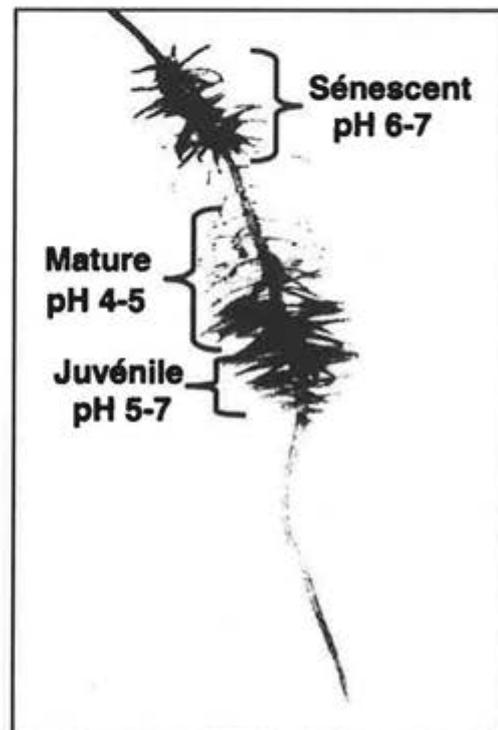
### Culture des plantes et récolte des stades racinaires

Les lupins ont été cultivés en microcosme, dans des bacs en plexiglas. Une graine germée a été plantée dans chaque bac, rempli d'environ 850g de sable. Les plantes ont été arrosées tous les 2 à 3 jours avec une solution nutritive sans phosphate et récoltées après 9 semaines.

Le principe de la méthode utilisée ici pour différencier les stades racinaires a été repris et adapté d'une technique mise au point par Dinkelaker et al. (1989). Elle se base sur l'acidification importante du milieu autour des racines protéoïdes matures. Cette acidification est révélée en appliquant sur les racines un gel contenant un indicateur de pH (Figure 1). Lorsque le stade mature est localisé sur l'axe racinaire, on en déduit les positions respectives du stade sénéscent (en amont) et du stade juvénile (en aval) (Figure 2).



**Figure 1:** Révélation des stades racinaires. Un gel contenant un indicateur de pH permet de visualiser les différents stades racinaires.



**Figure 2:** Les 3 stades principaux d'une racine protéoïde de *Lupinus albus*.

Dans chaque microcosme, on a récolté 4 types de racines (protéoides jeunes, matures, sénescents et non protéoides) et un échantillon de sol distant. Les racines, auxquelles adhère un manchon de sol rhizosphérique, ont été ensuite lavées et on a conservé l'eau de lavage, contenant le sol rhizosphérique en suspension. Les racines lavées ont été broyées. Chaque type de racines a donc été séparé en deux fractions, endorhizosphère et rhizoplan d'une part, sol rhizosphérique d'autre part. Ceci porte à neuf le nombre de fractions récoltées dans chaque microcosme: quatre échantillons de racines broyées (RE), 4 de sol rhizosphérique (RS) et un de sol distant (BS). Ces neuf fractions ont été récoltées dans trois microcosmes différents, considérés comme des répétitions.

### **Traitement des échantillons**

Les communautés bactériennes ont été décrites par deux approches complémentaires : culturale et moléculaire.

#### **Approche culturale**

Les 27 échantillons prélevés (9 fractions dans trois microcosmes) ont été dilués et mis en culture sur trois milieux nutritifs différents. Le milieu de base était adapté à la composition de la solution du sol (Angle et al., 1991) et chacun des trois milieux contenait une source de carbone différente : citrate, malate ou glucose. On a compté les colonies après 4 jours. Pour chaque échantillon, on a observé les étalements obtenus et isolé toutes les colonies 'morphologiquement différenciables'.

#### **Tests d'activités de type PGPR**

Les souches isolées des différents types de racines, du sol rhizosphérique associé et du sol distant ont été soumises aux tests physiologiques suivants :

- Solubilisation du phosphate (Kim et al., 1997)
- Production d'auxine (Bric et al., 1991)
- Production de sidérophores (Schwyn et Neilands, 1997)

#### **Approche moléculaire**

Les différents échantillons ont été évalués du point de vue de leur composition génétique globale, sur la base du gène qui code pour l'ARNr 16S. Les profils obtenus peuvent être considérés comme les 'empreintes digitales' des communautés bactériennes. Dans ces profils de communautés, les populations se visualisent par des bandes et on peut déduire des informations quant à la diversité bactérienne, à partir du nombre de bandes (quantitatif) et de leur position (qualitatif). Ce type d'analyse commence par une extraction d'ADN, suivie d'une amplification par PCR du signal recherché. L'étape finale, qui permet de révéler la diversité dans un échantillon, est la séparation des fragments par électrophorèse.

L'ADN a été extrait au moyen du kit d'extraction FastDna Spin Kit for Soil (Bio 101) à partir de 0.5g d'échantillon (Borneman et al., 1996). Les 500 premières paires de bases du gène 16S ont été ensuite amplifiées par PCR nichée (amorces GM3F et UNIV 518). Pour séparer les différents gènes 16S du produit PCR, on a utilisé la méthode SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) (Lee et al., 1996), qui sépare les fragments amplifiés selon la conformation tridimensionnelle des ADN simple-brins, et donc selon leur séquence.

## Résultats et discussion

### Dénombrements des bactéries cultivables

Les fortes variations physico-chimiques dues aux sécrétions racinaires laissaient supposer des différences dans l'abondance des bactéries associées aux différents types de racines. Contrairement à ce qui était attendu, on n'a pas observé de différence significative dans les nombres de germes (UFC, Unité Formant Colonie) entre les différents stades des racines protéoïdes, entre protéoïdes et non protéoïdes, ou encore entre les différents milieux de culture. On n'observe notamment pas de corrélation, pour un stade racinaire donné, entre l'acide organique majoritairement excrété et la source de carbone utilisée préférentiellement par les bactéries. Toutefois, on a remarqué (cf. figure 3) une tendance du nombre de bactéries cultivables à diminuer du stade juvénile au stade mature, pour la fraction RE, la plus intimement liée à la racine.

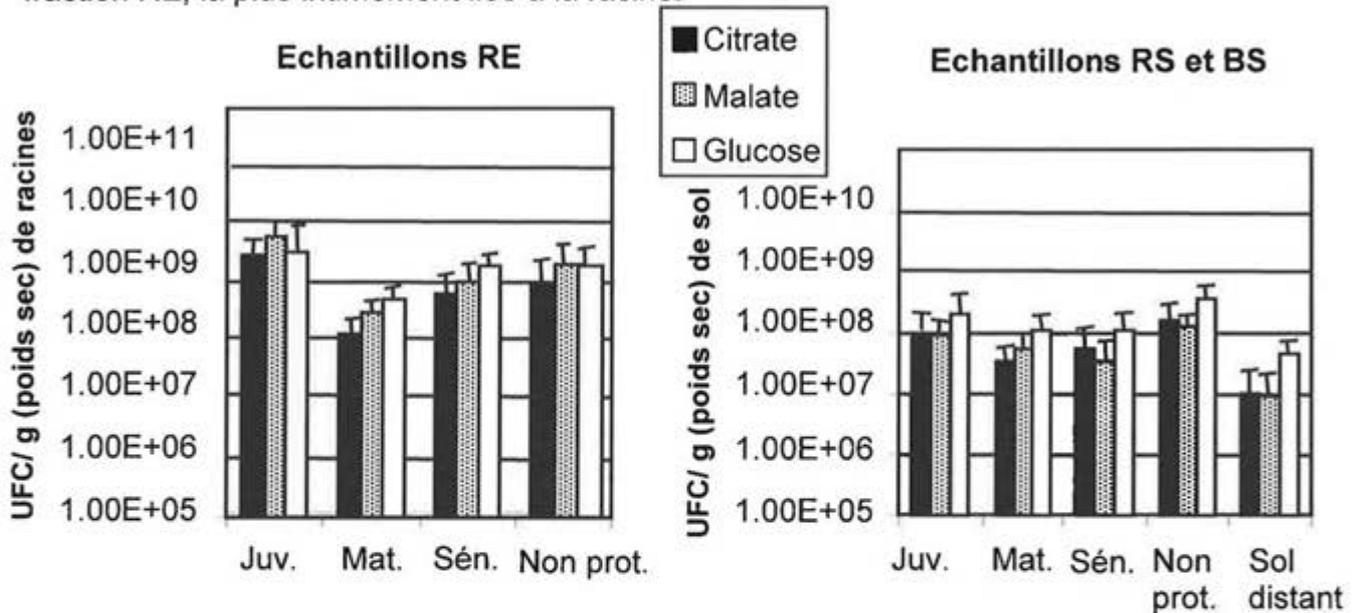


Figure 3: Nombres de germes cultivables en fonction du type de racine

### Activités physiologiques des souches isolées

On a testé 67 souches au total (entre 6 pour le sol distant et 17 pour les racines non protéoïdes) et comparé les différents types de racines (fractions RE et RS confondues) ainsi que le sol distant.

Les résultats ont montré que dans l'ensemble, les activités de PGPR sont plus élevées chez les bactéries proches de la racine que chez celles qui vivent dans le sol distant.

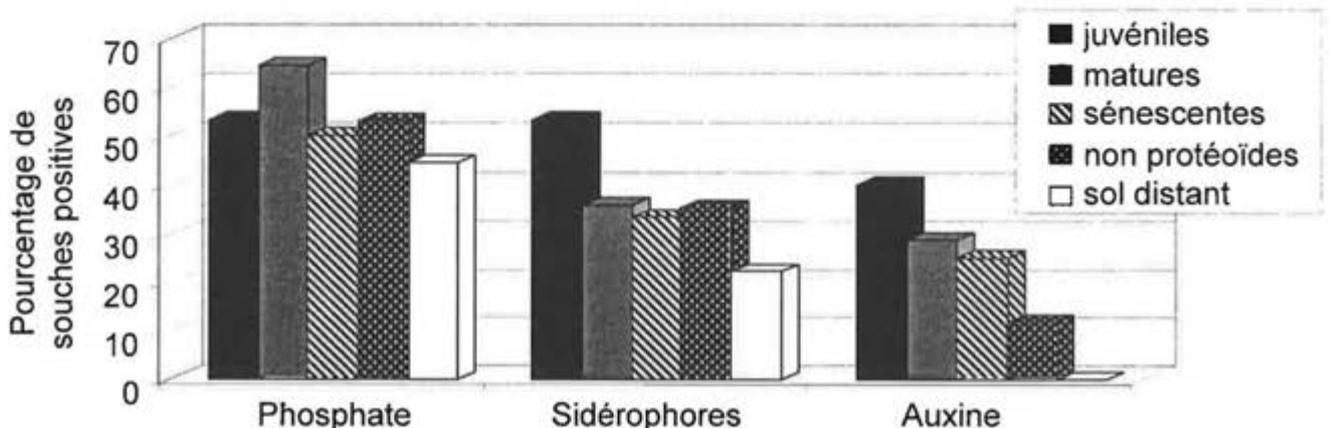


Figure 4: Souches PGPR dans les différents types racinaires

### *Solubilisateurs de phosphate*

On a trouvé 44% de souches solubilisatrices dans le sol distant ; cette proportion relativement élevée pourrait s'expliquer par la faible teneur en phosphate du sable utilisé comme substrat (0.23mg P/g sable).

Dans tous les types de racines, plus de la moitié des souches était capable de solubiliser le phosphate. On a observé la plus forte proportion de souches positives (64%) dans les racines protéoïdes matures. Il semblerait donc qu'une microflore efficace dans la mobilisation de cet élément soit aussi responsable de l'adaptation de la plante à la carence en phosphate.

### *Producteurs de sidérophores*

On a trouvé la plus grande proportion de producteurs de sidérophores (53%) dans les racines protéoïdes jeunes, un peu moins dans les autres types de racines et encore moins dans le sol distant (22%). Peut-être est-ce dû au fait que les racines protéoïdes créent autour d'elles une zone dépourvue de fer et que les bactéries doivent développer un système efficace pour compenser cet effet.

### *Producteurs d'auxine*

Ici aussi, la proportion est la plus forte au stade juvénile des racines protéoïdes, avec 40% de souches productrices d'AIA, contre 12% dans les racines non protéoïdes et aucune souche dans le sol distant. Cette activité est la plus directement reliée à l'interaction plante-bactéries et les résultats obtenus laissent supposer une sélection des souches productrices d'AIA au stade juvénile, au moment où la croissance racinaire est la plus importante.

### **Diversité révélée par l'approche moléculaire**

L'analyse des profils SSCP permet de se faire une idée sur la diversité bactérienne, révélée par le nombre et la position des bandes. Les profils obtenus ici ont révélé entre 5 et 7 bandes pour les échantillons RE, entre 8 et 11 pour les fractions de sol rhizosphérique et entre 9 et 12 pour le sol distant. D'une manière générale, on s'attendait à une diversité plus grande, l'analyse SSCP de communautés rhizosphériques associées à d'autres plantes ayant montré jusqu'à une vingtaine de bandes (Schwieger et Tebbe, 1998), mais les plantes étaient dans ce cas cultivées sur du sol. La relative pauvreté observée dans notre étude peut s'expliquer par deux phénomènes : d'une part par une sélection importante de la microflore due aux sécrétions racinaires acides et d'autre part par le substrat de culture des lupins, qui était constitué de sable et non de sol. De plus, les profils moléculaires de communautés ne permettent de mettre en évidence que les populations dominantes dans un échantillon. Il faut remarquer ici que les populations dominantes mises en évidence par les bandes SSCP ne correspondent pas forcément aux bactéries cultivables dominantes, qu'on observe après mise en culture: Les deux approches, culturale et moléculaire, sont donc bel et bien complémentaires.

## Conclusions

- Travailler avec le lupin blanc s'est révélé être un bon choix à plusieurs égards : la sécrétion racinaire très étudiée permet d'orienter les hypothèses et d'interpréter les résultats, la production de biomasse racinaire est élevée et la délimitation du sol rhizosphérique aisée.
- La tendance du nombre de germes cultivables à diminuer au stade mature des racines protéoïdes, dans la fraction racinaire, pourrait être due à la baisse rapide de pH à la surface racinaire ou à d'autres mécanismes de défense de la plante envers de potentiels consommateurs des sécrétions racinaires.
- La plante semble favoriser dans son entourage une forte proportion de bactéries physiologiquement actives et qui sont susceptibles de l'aider, comme l'ont révélé les tests PGPR.
- On trouve la proportion la plus importante de souches productrices d'auxine dans les racines protéoïdes juvéniles. Connaissant le rôle de cette phytohormone dans la physiologie racinaire, on peut supposer un impact des bactéries productrices d'auxine dans la formation des racines protéoïdes. Des tests d'inoculation réalisés actuellement nous permettront d'étudier de plus près ce rôle potentiel des bactéries dans la physiologie de la plante.

## Références

- Angle, J.S., McGrawth, S.P., Chaney, R.L.**, 1991: New culture medium containing ionic concentrations of nutrients similar to concentrations found in the soil solution. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 3674-3676.
- Borneman, J., Skroch, P.W., O'Sullivan, K.M., Palus, J.A., Rumjanek, N.G., Jansen, J.L., Nienhuis, J., Triplett, E.W.**, 1996: Molecular microbial diversity of an agricultural soil in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1935-1943.
- Bric, J.M., Bostock, R.M., Silverstone, S.E.**, 1991: Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 535-538.
- Dinkelaker, B., Römheld, V., Marchner, H.**, 1989: Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell Environ.* 12, 285-292.
- Glick, B.R.**, 1995: The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41, 109-117.
- Kim, K.Y., McDonald, G.A., Jordan, D.**, 1997: Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherichia coli* in culture medium. *Biol. Fertil. Soils* 24, 347-352.
- Lee, D.-H., Zo, Y.-G., Kim, S.-J.**, 1996: Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-Single-Strand-Conformation Polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3112-3120.
- Neumann, G., Massonneau, A., Langlade, N., Dinkelaker, B., Hengeler C., Römheld, V., Martinoia, E.**, 2000: Physiological aspects of cluster root function and development in phosphorus-deficient white lupin (*Lupinus albus* L). *Ann. Bot.* 85, 909-919.
- Schwieger F, Tebbe C.C.**, 1998: A new approach to utilize PCR-Single-Strand-Conformation-Polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4870-4876.
- Schwyn B, Neilands J.B.**, 1987: Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 160, 47-56.

## Inventaire moléculaire des bactéries fixatrices d'azote associées à la rhizosphère de *Molinia coerulea*

HAMELIN, J., FROMIN, N., SYED, N., TEYSSIER-CUVELLE, S., DUVANEL, N., and ARAGNO, M.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Neuchâtel (LAMUN), Emile Argand 11, Case Postale 2, 2007 Neuchâtel, Suisse

### Abstract

*Molinia coerulea* is a perennial hemicryptophytic grass with a root system permanently anchored in the soil. Moreover, it is an indicator of soils with low-nitrogen contents. This grass has a broad ecological amplitude, as it naturally occurs in contrasted oligotrophic environments such as acidic peat bogs or littoral prairies like at the south shore of lake Neuchâtel, our study site. Assuming that associative N<sub>2</sub> fixation may be important for plant growth in N-limited conditions, our study aims at determining the presence, the activity and the diversity of N<sub>2</sub>-fixers in *Molinia* rhizosphere. Two fractions were studied: the non-rhizospheric soil (Sol) and the washed roots (Racine). The N<sub>2</sub> fixation activity was measured by Acetylene Reduction Assays (ARA) on soil cores. The comparison of *nifH* sequences (a gene encoding for the nitrogenase reductase, a key enzyme in the N<sub>2</sub> fixation process) allowed us to characterise the N<sub>2</sub>-fixing communities present in all the fractions. About 92% of the *nifH* sequences had no relatives or were affiliated to *nifH* sequences from environmental DNA. One single group of sequences represented 56% and 43% of the N<sub>2</sub>-fixing bacteria from root and soil respectively.

### Introduction

Le terme de 'rhizosphère' a été définie par Hiltner en 1904 comme la région de sol qui est sous influence de la plante. Elle peut être considérée comme une oasis dans un désert énergétique que constitue le sol. Les exsudats racinaires produits par les racines jeunes (15 à 20% des sucres provenant de la photosynthèse) constituent un substrat privilégié qui profite à de nombreuses bactéries rhizosphériques.

La plante modèle choisie dans cette étude, la Molinie bleue (*Molinia coerulea*), réunit plusieurs propriétés intéressantes pour l'étude des interactions entre les plantes et les bactéries qui leur sont naturellement associées. Contrairement aux plantes de grande culture annuelle (blé, maïs, riz), *Molinia coerulea* repousse au même emplacement d'une année à l'autre (plante pérenne) par régénération du système racinaire qui a survécu à l'hiver (hémicryptophyte). Cette graminée possède un système racinaire très dense avec la présence simultanée de racines jeunes en croissance et de vieilles racines en décomposition. Cette plante semble être en perpétuelle activité du point de vue du microbiologiste du sol.

Sachant que *Molinia coerulea* est naturellement présente dans les milieux oligotrophes, nous avons choisi de nous intéresser aux bactéries fixatrices d'azote car elles sont susceptibles d'améliorer la nutrition azotée de la plante dans ces environnements défavorables. Nous avons postulé que la communauté bactérienne présente dans la rhizosphère de cette graminée pérenne pouvait jouer un rôle dans l'adaptation de la plante aux milieux oligotrophes et devait être bien adaptée.

Nous avons étudié en particulier les bactéries fixatrices d'azote en mesurant leur activité de fixation et leur diversité par des outils moléculaires. Les techniques de biologie

moléculaire sont complémentaires aux méthodes culturales classiques car elles évitent le biais de l'isolement sélectif de certaines bactéries adaptées aux substrats riches. Comme les bactéries fixatrices d'azote ne forment pas un ensemble homogène et sont phylogénétiquement diverses, nous nous sommes intéressés à l'ensemble des gènes *nifH* comme marqueur génétique (Widmer, 1999). Le gène *nifH* est présent et très conservé chez tous les organismes fixateurs d'azote car il code pour une enzyme clé dans le processus de fixation d'azote, la dinitrogénase réductase. De plus, la séquence de ce gène apporte une certaine information sur la phylogénie de l'organisme qui le possède (Young, 1992).

## Matériels et méthodes

### *Sites d'étude et prélèvement*

Les plantes ont été prélevées dans un *Molinietum coeruleae* situé dans la réserve naturelle de Cudrefin sur la rive sud du lac de Neuchâtel (VD, Suisse). Le sol de surface était composé de 4.7% d'argile, 9.5% de limon, 85.8% de sable, contenant 5.9% de carbone organique et 0.25% d'azote total (Buttler, 1987) avec un pH de 8.4. Pour les analyses moléculaires, les mottes de Molinie ont été séparées en une fraction constituée par les particules de sol se détachant spontanément des racines, et une autre fraction constituée de racines lavées (Gobat, 1998). Les mesures d'activité ont aussi été réalisées sur des Molinies provenant des tourbières acides (pH=5) de Chapelle-des-Bois (Doubs, France).

### *Observations microscopiques*

Des échantillons de racine et de sol environnant ont été observés au microscope électronique à balayage environnemental (E-SEM) au Centre Suisse d'Électronique et de Microtechnique de Neuchâtel (CSEM). Ce procédé possède les mêmes potentialités que la microscopie électronique à balayage classique mais ne nécessite aucune préparation préalable, ce qui permet des observations non destructives d'échantillons biologiques.

### *Mesure d'activité fixatrice d'azote atmosphérique*

Le complexe enzymatique de la nitrogénase, qui transforme naturellement l'azote atmosphérique ( $N_2$ ) en  $NH_3$ , est aussi capable de réduire d'autres triples liaisons. Cette propriété versatile de la nitrogénase est utilisée pour estimer indirectement l'activité de fixation en mesurant la réduction de l'acétylène ( $C_2H_2$ ) en éthylène ( $C_2H_4$ ) (ARA, Acetylene Reduction Assay). Les mesures ont été réalisées avec une colonne Porapak N de 1,8m x 3mm (Brechtbühler) montée sur un chromatographe en phase gazeuse (Fractovap 4130, Carlo Erba) couplé à un détecteur FID (Flamme Ionization Detector). Les carottes de sol contenant des racines ont été incubées sous atmosphère contenant 10% de  $C_2H_2$ , 85% de  $N_2$ , 5% d' $O_2$ . Le  $C_2H_4$  produit a été mesuré toutes les heures. L'activité ARA est exprimée en nmol  $C_2H_4$  produit par heure et par gramme de matériel sec.

### *Inventaire de la diversité des gènes nifH*

L'ADN génomique total du sol et des racines a été extrait avec le FastDNA Spin Kit for Soil (Bio101 Inc., La Jolla, CA) à partir de 500 mg d'échantillon frais (Borneman, 1996)

provenant de la prairie littorale. Cet ADN représentatif de la diversité des organismes vivants présents dans les échantillons a été soumis à une amplification sélective du gène *nifH* par PCR nichée en utilisant des amorces spécifiques du gène *nifH* développées par Widmer (1999). Les produits PCR composés d'un mélange de gènes *nifH* ont ensuite été clonés (pGEM, Promega corp., Madison, WI) puis séquencés individuellement. La technique de clonage-séquençage constitue une technique d'inventaire de la biodiversité microbienne laborieuse mais très informative.

### *Analyse de la diversité du gène nifH*

Chaque séquence a été comparée à la base de donnée GenBank en utilisant le logiciel BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) (Altschul, 1997). L'ensemble des analyses a été réalisé sur les séquences en acides aminés après traduction des séquences nucléotidiques. Afin d'évaluer notre travail, nous avons réalisé des courbes de raréfaction qui représentent le nombre de séquences NifH différentes en fonction du nombre de clones échantillonnés. D'autre part, comme le gène *nifH* possède une valeur taxonomique (Young, 1992), il est possible d'évaluer la diversité des populations fixatrices d'azote dans notre échantillon à différents niveaux taxonomiques en considérant les séquences ayant 100%, 95% ou 90% de similarité comme relevant d'un même taxon (Figure 3).

## Résultats et Discussion

### *Observations microscopiques*

Les observations au E-SEM (Figure 1) permettent de visualiser et de localiser les bactéries sur la surface racinaire et dans le sol. Les bactéries rhizosphériques (A) sont nombreuses et profitent directement des exsudats de la plante. Les bactéries du sol (B) sont plus petites en règle générale car les apports de nutriments sont moins réguliers. Les bactéries telluriques se concentrent sur les particules fines du sol, plus riches en matière organique. D'une manière générale, les bactéries observées en conditions naturelles sont plus petites que celles observées sur boîte de Petri.

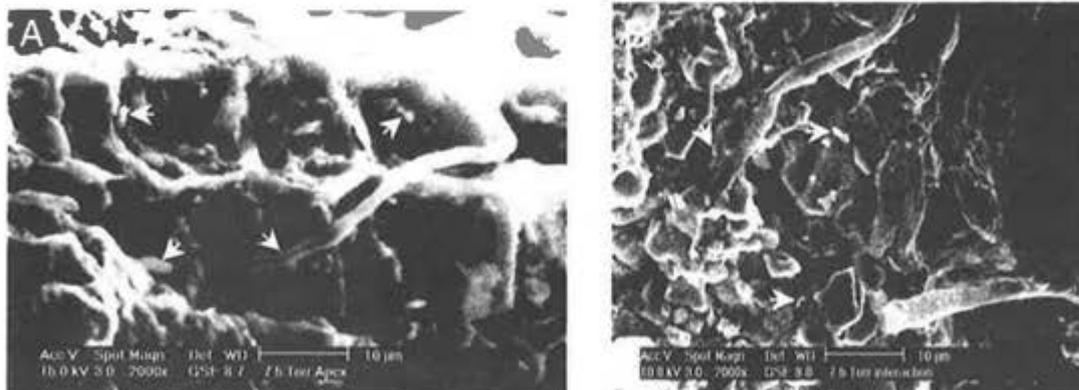


Figure 1: Photographies au E-SEM d'un apex racinaire de Molinie (A) et du sol environnant (B). Les photos ont été prises au grossissement 2000x. La barre horizontale indique une taille de 10 µm. Les flèches indiquent l'emplacement de quelques microorganismes adhérents.

### Mesure d'activité fixatrice d'azote atmosphérique

Une activité fixatrice d'azote a été détectée dans les racines et le sol environnant de la Molinie provenant aussi bien de la prairie littorale que de la tourbière acide du Jura (Figure 2). Les valeurs de fixation d'azote sont en accord avec celles mesurées dans une prairie naturelle où une étude moléculaire sur les fixateurs d'azote a été menée (Poly, 2000).

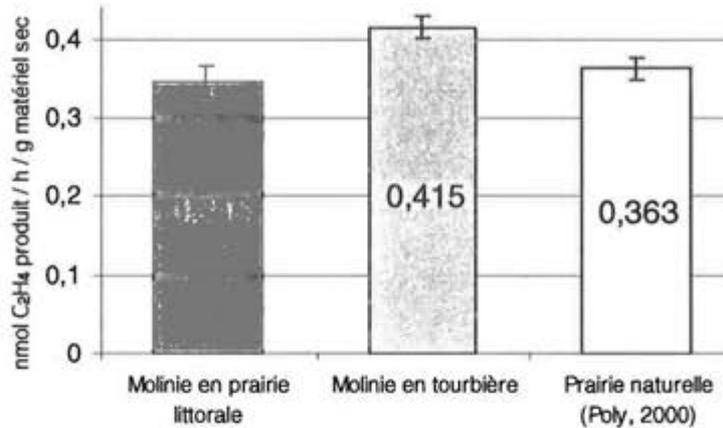


Figure 2: Activité fixatrice d'azote mesurée *in vitro* par ARA dans différentes prairies sur des cylindres de sol contenant les systèmes racinaires

### Niveau de diversité global estimé par analyse de raréfaction

Les courbes de raréfaction présentées dans la figure 3 permettent d'estimer le nombre de séquences NifH différentes en fonction du nombre de clones analysés. Ces courbes reflètent la diversité observée des séquences issues du gène *nifH*. Comme on ne connaît pas le niveau de similarité du gène *nifH* permettant d'affirmer que ces séquences sont issues d'organismes de la même espèce, l'analyse est réalisée plusieurs fois en considérant différents niveaux de similarité appartenant à un même taxon.

Par exemple, l'apparente diversité illustrée par la courbe de raréfaction prenant en compte les séquences identiques masque la dominance d'un groupe ayant plus de 90% de similarité, et qui représente 53% de l'ensemble des séquences.

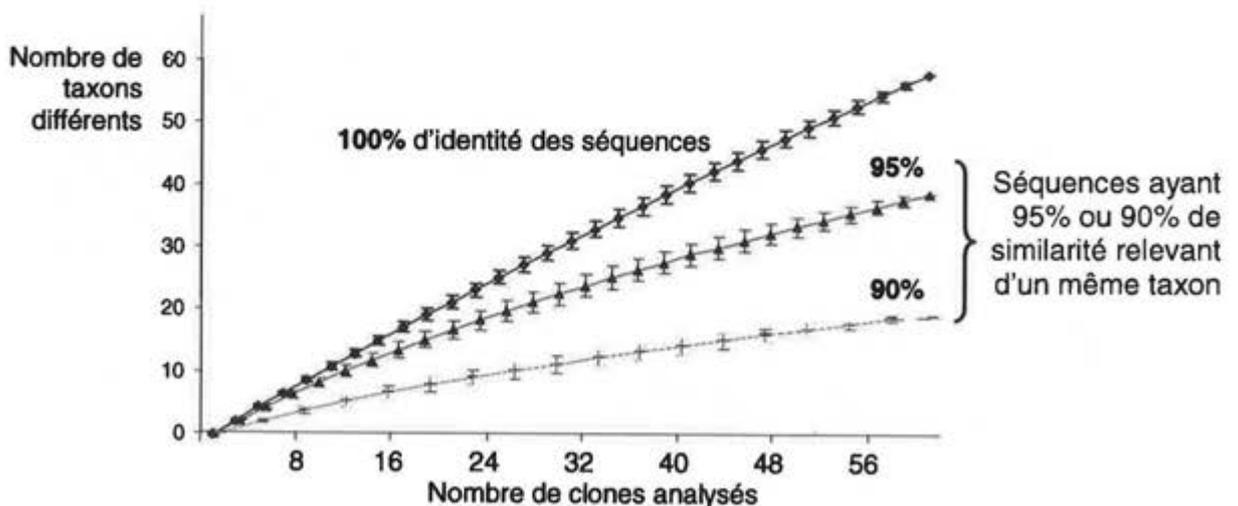


Figure 3: Courbes de raréfaction des séquences NifH intégrant l'ensemble des 66 clones analysés, du sol et de la racine. Le nombre de séquences différentes est représenté en considérant trois seuils de coupure.

## *Inventaire moléculaire des bactéries fixatrices d'azote*

Globalement, l'environnement racinaire est propice à la prolifération d'organismes cultivables fixateurs d'azote par rapport au sol environnant (Balandreau, 1986). Cependant, grâce aux techniques moléculaires d'inventaire de la biodiversité, il est maintenant clairement établi que moins de 1% des bactéries du sol et moins de 10% des bactéries de la rhizosphère sont habituellement cultivables (Amann, 1995). Dans notre étude, 8% des séquences NifH détectées sont apparentées à celles d'organismes fixateurs d'azote connus (*Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Clostridium*). Ces bactéries font toutes partie de la microflore banale du sol.

L'analyse des séquences a révélé la présence et la dominance d'un groupe particulier, aussi bien dans la racine que dans le sol environnant. La proportion de ce groupe de séquences NifH est de 56% dans la racine (sur 52 séquences analysées) et de 43% dans le sol (sur 14 séquences analysées).

Des séquences appartenant à ce groupe majoritaire ont été retrouvées dans les bases de données, et correspondaient à des clones *nifH* provenant de racines de riz (Engelhard, 2000; Ueda, 1995) et d'eaux lacustres (Zani, 2000). Contrairement à notre étude, les séquences de ce groupe étaient faiblement représentées. De plus, ce groupe ne contient à ce jour aucune séquence appartenant à un organisme fixateur d'azote cultivable.

Habituellement, les tentatives d'isolement des bactéries encore non cultivées sont guidées par les exigences trophiques des organismes qui leurs sont proches par analogie de séquences. Comme ce groupe dominant de bactéries fixatrices d'azote ne semble pas avoir de proche parent cultivable, il est difficile d'obtenir les conditions appropriées pour isoler ces bactéries. Il existe cependant des méthodes moléculaires qui permettent de déterminer si ces populations sont métaboliquement actives sans avoir à les cultiver (Zani, 2000).

## **Conclusions**

Une activité fixatrice d'azote (ARA) et la présence de séquences *nifH* ont été détectées dans les racines de *Molinia coerulea* et dans le sol environnant. De plus, il semble qu'un groupe de bactéries fixatrices d'azote ait été particulièrement favorisé par *Molinia coerulea*. La fixation biologique de l'azote atmosphérique pourrait constituer une source d'azote non négligeable pour la plante et expliquer sa présence sur des sols oligotrophes.

## *Remerciements*

Ce travail a été financé par le projet n°31-55899.98 du Fond National de la Recherche Scientifique (FNRS).

## **Bibliographie**

ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T.L., SCHAFFER, A.A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., and LIPMAN, D.J., 1997: Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389-3402.

- AMANN, R.I., LUDWIG, W., and SCHLEIFER, K.H., 1995: Phylogenetic identification and *in situ* detection of microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59,143-169.
- BALANDREAU, J., 1986: Ecological factors and adaptative processes in N<sub>2</sub>-fixing bacterial populations of the plant environment. *Plant Soil.* 90, 73-92.
- BORNEMAN, J., SKROCH, P.W., O'SULLIVAN, K.M., PALUS, J.A., RUMJANEK, N.G., JANSEN, J.L., NIENHUIS, J., and TRIPLETT, E.W., 1996: Molecular microbial diversity of an agricultural soil in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1935-1943.
- BUTTLER, A., 1987: Thèse. Université de Neuchâtel, Suisse.
- ENGELHARD, M., HUREK, T., and REINHOLD-HUREK, B., 2000. Preferential occurrence of diazotrophic endophytes, *Azoarcus* spp., in wild rice species and land races of *Oryza sativa* in comparaison with modern races. *Environ. Microbiol.* 2, 131-141.
- GOBAT, J.M., ARAGNO, M., and MATTHEY, W., 1998: Le sol vivant. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, Suisse.
- HILTNER, L., 1904: Über neuer erfahrungen und probleme auf dem gebiet der bodenbakteriologie und under besonderer berücksichtigung der gründüngung und brachte. *Arb. Dtsch. Landwirtschaft.* 98, 59-78.
- POLY, F., 2000: Thèse. Université de Lyon, France.
- UEDA, T., SUGA, Y., YAHIRO, N., and MATSUGUCHI, T., 1995: Remarkable N<sub>2</sub>-fixing bacterial diversity detected in rice roots by molecular evolutionary analysis of *nifH* gene sequences. *J. Bacteriol.* 177, 1414-1417.
- WIDMER, F., SHAFFER, B.T., PORTEOUS, L.A., and SEIDLER, R.J., 1999: Analysis of *nifH* gene pool complexity in soil and litter at a Douglas fir forest site in the Oregon cascade mountain range. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 374-380.
- YOUNG, J.P.W., 1992: Phylogenetic classification of nitrogen-fixing organisms, p. 43-86. *In* G. Stacey, R. Burris, and H. Evans (ed.), *Biological nitrogen fixation*. Chapman and Hall, N.Y.
- ZANI, S., MELLON, M.T., COLLIER, J.L., and ZEHR, J.P., 2000: Expression of *nifH* genes in natural microbial assemblages in Lake George, New York, detected by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 3119-3124.

## Veränderungen von Bodenrespiration und mikrobieller Biomasse nach Waldbränden in der Süd-Schweiz.

Christoph Wüthrich<sup>1</sup>, Markus von Runkel<sup>1</sup> & Marco Conedera<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Geographisches Institut der Universität Basel, CH-4055 Basel

<sup>2</sup> WSL, Sottostazione Sud delle Alpi, CH-6504 Bellinzona

### Zusammenfassung

Nach einem künstlich gelegten Feuer und nach einem Wildbrand im Kastaniengürtel der Süd-Schweiz wurden die Brandeffekte der für die Süd-Schweiz typischen Oberflächenfeuer auf die Bodenatmung und die mikrobielle Biomasse verfolgt. Die Messungen zeigen, dass sofort nach dem Brandereignis eine stark gesteigerte Bodenrespiration auf der Brandfläche vorherrscht, die mehrere Monate lang anhält, und auf den Abbau von brandgeschädigter Biomasse durch Mikroorganismen zurückgeführt werden kann. Die mikrobielle Biomasse im Boden zeigt kaum brandinduzierte Veränderungen und kann nicht als temporärer Speicher für die freigesetzten Nährstoffe wirksam sein. Die starke Veränderung des  $qCO_2$  nach dem Brand liefert einen Hinweis darauf, dass nach dem Brand auf der Populationsebene der Mikroorganismen ein Wechsel von konkurrenzstarken, aber langsam reproduzierenden Organismen (K-Strategen) zu rasch reproduzierenden, eine Nährstoffquelle rasch erschliessenden Organismen (r-Strategen) stattgefunden hat.

### Abstract

We measured soil respiration and soil microbial biomass after a field-scale fire experiment and after a wildfire in the Chestnut belt of Southern Switzerland. Our data show, that immediately after both surface fires soil respiration was strongly increased and remained high for several months. Soil microbial biomass, however, showed no fire-induced increase. Hence microbial biomass plays no role as a temporary nutrient sink after fire. The strong change of  $qCO_2$  is a hint on the change from K-selected microorganism populations to r-selected populations after the fire event.

### 1. Einleitung

Feuer spielen in vielen verschiedenen Ökosystemen eine wichtige Rolle bei der Erhaltung einer vielfältigen, mosaikartig strukturierten Landschaft (MUSHINSKY & GIBSON, 1991). Wichtige Prozesse dabei sind das Aufbrechen der Dominanz von konkurrenzstarken Arten und das Freisetzen von Nährstoffen, die ohne Feuer auf Jahrzehnte hin im Humus festgelegt wären. In manchen Feuerökosystemen begünstigt diese Nährstofffreisetzung eine Bodendegradation, indem die Infiltration reduziert und der Oberflächenabfluss erhöht wird, und angrenzende Gewässerökosysteme mit grossen Nährstoffmengen belastet werden (z.B. IMESON & VERSTRATEN, 1992; YOSHIDA, 1997; CERDA, 1998; THOMAS et al., 1999; DOERR et al., 2000). Die Freisetzung basischer Ionen in der Asche führt oft zu einem Anstieg des Boden-pH-Wertes, wobei das erhöhte Nährstoffangebot und der gleichzeitige pH-Anstieg auf sauren Böden in der Regel eine Ankurbelung der pflanzlichen und mikrobiellen Aktivität bedeuten (BARA & VEGA, 1993; KORSMAN & SEGERSTROM, 1998). In der Biomasse gebundene Nährstoffe werden durch Brände in eine Form überführt, in der sie oberflächlich grobpartikulär (z.B. MEYER & WELLS, 1997; MARXER, 1997), sowie suspendiert oder gelöst im Bodenwasser ausgespült werden. Ein Teil des organischen Materials im Boden wird durch das Feuer direkt mineralisiert (FERNÁNDEZ et al., 1997, 1999). Modellrechnungen mit globalen Zirkulationsmodellen zeigen, dass im Rahmen der Klimaerwärmung weltweit mit einer Zunahme von Waldbränden

gerechnet werden muss (CRUTZEN & GOLDAMMER, 1993; GOLDAMMER & PRICE, 1998).

In der Süd-Schweiz führt - wie auch in gewissen Regionen Norditaliens - die nachlassende Pflege der Kastanienwälder zu einer höheren Feuerintensität und -häufigkeit (BOVIO, 1996; CONEDERA et al., 1997; MARXER, 1997; CONEDERA & TINNER, 2000), deren Einflüsse auf den Boden bisher kaum untersucht wurden. So ist beispielsweise nicht bekannt, wie stark die mikrobielle Biomasse von den für diese Gebiete typischen Oberflächenfeuern betroffen ist und ob es allenfalls nach einem Feuer zu einer „Lag“-Phase („Anlaufphase“) kommt, in der sich die mikrobielle Biomasse und die primär darauf basierende Bodenatmung nur langsam wieder aufbaut. Andererseits erwarteten wir nach dem Brand und nach der vermuteten „Lag“-Phase eine ausgeprägte Zunahme der Bodenrespiration, die aufgrund der reichlich vorhandenen Nährstoffe mit einem ebenso ausgeprägten Wachstum der mikrobiellen Biomasse einhergehen sollte. Eine signifikante Zunahme mikrobieller Biomasse könnte den Austrag von biologisch wichtigen Elementen wie Stickstoff und Phosphor vermindern. Zur Klärung dieser Fragen wurde die Bodenrespiration und die mikrobielle Biomasse im Rahmen eines Feuerexperimentes (künstlich erzeugtes Abbrennen eines Waldstückes) bei St. Antonino und nach einem Wildbrand bei Gordola (beide Kt. Tessin) hochaufgelöst untersucht.

## 2. Untersuchungsgebiete und Methoden

### 2.1 Untersuchungsgebiete

Das Feuerexperiment von St. Antonino (Abb. 1) wurde am 28. März 1998 durchgeführt, wobei eine Waldfläche von 0.225 ha abgebrannt wurde. Die Waldbrandfläche befand sich rund 500 m.ü.M. auf einem NNW exponierten Hang mit einer mittleren Hangneigung von 30° auf silikatischem Gestein. Die Vegetation wird durch eine seit 50 Jahren aufgegebene Kastanienselva gebildet, in der sich die Gesellschaften des *Arunco-Fraxinetum castanosum* sowie des *Phyteuma betonicifoliae-Quercetum castanosum* (nach KELLER et al., 1998) etabliert haben. Die Feuerfrequenz im Untersuchungsgebiet ist sehr niedrig (kein Waldbrand innerhalb der letzten 100 Jahre). Die Böden in diesem Gebiet sind Krypto-Podsole (FAO: Haplic Podzol; vgl. BLASER et al., 1997) mit Mächtigkeiten zwischen 0.25 m und 1.3 m. Die Böden sind kalkfrei und reagieren sauer (pH 3.5-4.3). Die Kohlenstoffgehalte im Ah-Horizont liegen bei rund 10% und nehmen mit der Tiefe auf 0.43% ab. Das C/N-Verhältnis im Humushorizont liegt bei etwa 16.

Der Wildbrand von Gordola ereignete sich am 21.03.2000 auf einem südexponierten Hang mit einer mittleren Hangneigung von rund 30° (Abb. 1). Die Vegetation wird durch einen überalterten Kastanienniederwald gebildet, in den einige Eichen (v.a. *Quercus petraea*) eingewandert sind. Die Feuerfrequenz im Untersuchungsgebiet wird als sehr hoch eingeschätzt. Der letzte Brand fand im Vorjahr statt, wobei in beiden Fällen Brandstiftung als Brandursache vermutet wird. Die Böden in diesem Gebiet sind geringmächtige Ranker mit sehr variabler Mächtigkeit. Die Böden sind kalkfrei und reagieren sauer (pH um 4.2). Die Kohlenstoffgehalte liegen in den obersten 20 cm bei etwa 15 % (MW, n=10). Das C/N-Verhältnis im Humushorizont liegt bei etwa 19.

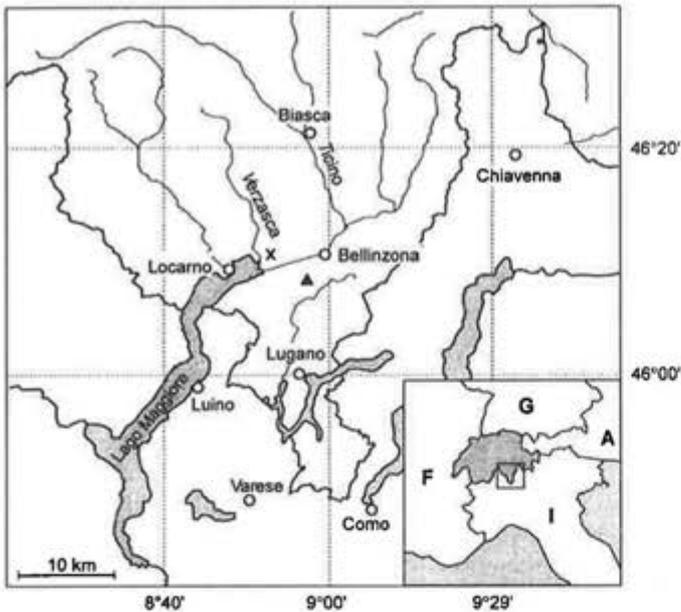


Abb. 1: Übersichtskarte der Süd-Schweiz mit den Brandflächen von St. Antonino (▲ 28.3.1998) und Gordola (x 21.3.2000).

## 2.2 Methoden

Beim Feuerexperiment in St. Antonino wurde ein Brand hoher Intensität simuliert, indem das vorhandene Brandgut verdoppelt wurde. Beim Wildbrand in Gordola wurde die Überwachungsfläche an einer Stelle eingerichtet, die wegen ihrer weissen Asche als Intensivbrandfläche gedeutet wurde. Als Referenz-Standorte dienten jeweils möglichst gleichartige Standorte ausserhalb der Brandflächen. In St. Antonino wurden auf der Brandfläche und auf der Referenzfläche je drei Metallrahmen 3 cm in den Boden eingelassen und während der gesamten Dauer der Überwachung als Fundamente für die Gaswechsellmessungen im Gelände belassen. Für den Wildbrand von Gordola wurde die Anzahl der Messstellen auf je 5 Metallrahmen erhöht.

Ein Messtermin für Bodenrespiration und mikrobielle Biomasse vor dem Brand diente beim Feuerexperiment zur Festlegung des Ausgangszustandes. Während des Brandexperimentes konnten zahlreiche Parameter (Boden- und Flammentemperaturen, Dauer des Feuers, Aschezustände etc.) erfasst werden, die belegen, dass im Brandgut der hier dargestellten Brandfläche rund 650°C erreicht wurden und in einer Tiefe von 2.5 cm die Temperaturen nicht über 35°C stiegen (vgl. MARXER & CONEDERA, 1999). Für den Wildbrand von Gordola fehlen Temperaturdaten aus direkten Messungen.

In der ersten, rund vierwöchigen Monitoring-Phase nach den Bränden wurden in engem Zeitintervall (beim Feuerexperiment: täglich für die Bodenrespiration und dreimal wöchentlich für die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse; beim Wildbrand: wöchentlich) Messungen durchgeführt. In der zweiten Monitoring-Phase wurden die Intervalle zwischen den Messterminen verlängert, um die langfristige Wiederherstellung der Ausgangssituation verfolgen zu können. Die letzte dargestellte Messung fand in beiden Gebieten mehr als ein Jahr nach dem Brand statt. Im Falle des Wildfeuers dauert die Überwachung momentan noch an.

### 2.2.1 Bestimmung der Bodenrespiration

Die Messung der Bodenrespiration geschah mit einer mobilen Gaswechselanlage (IRGA, LICOR, LI-6252), die an jedem Messtermin von Messplatz zu Messplatz

transportiert wurde. Die CO<sub>2</sub>-Flüsse wurden differentiell im offenen Gaskreislauf (Umsatz 1 l/min) gemessen. Dabei wurde die Messkammer auf die vorbereiteten Stahlfundamente aufgesetzt. Die in der Messkammer resultierende Konzentrationsdifferenz zu einer leeren Referenzkammer wurde mit dem IRGA gemessen und unter Berücksichtigung der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit und des herrschenden Luftdrucks auf eine flächenbezogene Rate umgerechnet (vgl. WÜTHRICH et al., 1999).

## 2.2.2 Bestimmung der mikrobiellen Biomasse im Boden

Parallel zur Bestimmung der Bodenrespiration erfolgte die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse im Boden nach der Fumigations-Extraktionsmethode (CFE) von VANCE et al. (1987). Die Proben wurden mit einem Probenstecher bis in 20 cm Tiefe entnommen und in feldfrischem Zustand durch ein 2 mm Sieb gedrückt. Anschließend wurden die von Auge sichtbaren pflanzlichen Wurzelteile während zwei Minuten mit einer Pinzette entfernt. Eine Teilprobe diente zur Bestimmung des Wassergehaltes. Die feldfeuchte Restprobe wurde in vier Bechergläser eingewogen (entsprechend je 20 g Trockengewicht). Zwei der Bechergläser wurden anschliessend während 24 Std. mit Chloroform fumigiert und mit Kaliumsulfatlösung während 30 Minuten extrahiert (Extraktionsverhältnis 1:4). Die zwei anderen Proben wurden ohne vorherige Fumigation extrahiert. Alle Extrakte wurden anschliessend im TOC-Analyser (TOC 5000A, SHIMADZU, Japan) gemessen. Die Differenz zwischen den fumigierten und den nicht-fumigierten Proben entspricht dem mikrobiellen Anteil des Kohlenstoffs im Boden. Die resultierenden TOC-Gehalte wurden durch ein  $k_{EC}$  von 0.45 dividiert (JÖRGENSEN, 1996).

## 3. Resultate

### 3.1 Entwicklung der Bodenrespiration nach den beiden Bränden

Die Verläufe der Bodenatmung nach beiden Bränden zeigen, dass bereits wenige Stunden nach dem Feuerereignis die Bodenrespiration deutlich höher ist als zuvor (Abb. 2). Trotz hoher Variabilität nach dem Brand in den Brandflächen, unterscheiden sich die Mittelwerte der Brandflächen signifikant von den Referenzflächen ausserhalb der Brandgebiete (t-Test;  $p = 0.035$  für St. Antonino;  $p = 0.04$  für Gordola). Da die Vegetation zum Zeitpunkt der Brände (beide im März) keinerlei Aktivitäten zeigt, ist diese Reaktion vorwiegend als eine Reaktion der Bodenmikroorganismen zu deuten.

Selbst wenn ein Teil der Mikroorganismen, die vor dem Feuer direkt im oder am Brandgut vorhanden waren, während des Feuers abgetötet wurden, zeigte sich zu keinem Zeitpunkt eine Verminderung der Bodenrespiration. Bezüglich der ursprünglich erwarteten „Lag-Phase“ nach dem Brandereignis bedeutet dies, dass die Mikroorganismen in der Humusschicht des Bodens weder durch das Feuerexperiment in St. Antonino noch durch den Wildbrand in relevantem Masse abgetötet wurden. Eine für die Humus-bewohnenden Organismen letale Temperatur wird bei diesen süd-schweizerischen Oberflächenfeuern offenbar nicht erreicht, so dass über den gesamten CO<sub>2</sub>-Austausch des Bodens kein negativer Effekt nachweisbar war.

Kurz- wie längerfristig zeigt der Verlauf der Bodenrespiration nach dem Feuer eine ausgeprägte Stimulation in der Brandfläche, wobei sich die Bodenrespiration gegenüber der Kontrollmessung vor dem Feuer für St. Antonino und gegenüber der Refe-

renzmessung auf der ungebrannten Fläche vervierfachte, und für Gordola im Vergleich zur Referenzfläche etwa verdoppelte. Auffallend sind bei beiden Kampagnen besonders hohe Ausschläge der Bodenatmung in der Brandfläche an einzelnen Terminen, welche mit starken Regenereignissen zusammenfielen. Diese Schwankungen erscheinen jeweils nur in den Brandflächen und sind somit als Feuereffekt zu deuten.

Die Effekte der Brände bleiben überraschend lange nachweisbar. Auf der Brandfläche von St. Antonino war die Bodenrespiration der Brandfläche noch 6 Monate nach dem Brand (am 16.10.98) signifikant von der Referenzfläche unterscheidbar ( $p = 0.031$ ). Erst im Laufe des Winters glich sich die Bodenrespirationsrate auf das Niveau der Referenzfläche an. Ansonsten widerspiegeln die Daten den saisonalen Verlauf der Bodenrespiration mit hohen Raten im Frühsommer und niedrigen Raten im Winter.

Beim Wildbrand am feuerangepassten Südhang von Gordola fiel die Reaktion der Bodenatmung sehr viel moderater aus: die anfangs ganz deutlich gesteigerte Bodenrespiration in der Brandfläche glich sich innerhalb von drei Wochen wieder nahe an die Referenzfläche an. Allerdings zeigte die Brandfläche im Sommer nach starken Regenereignissen ebenfalls jene sehr grossen  $\text{CO}_2$ -Austräge, die wir vorläufig nur als Feuereffekte deuten können (alternative Erklärungen werden momentan noch untersucht). Auch hier widerspiegeln die Daten den jahreszeitlichen Verlauf der Bodenatmung bzw. der Bodentemperatur mit einem Maximum Ende Juli und einem Minimum im Februar.

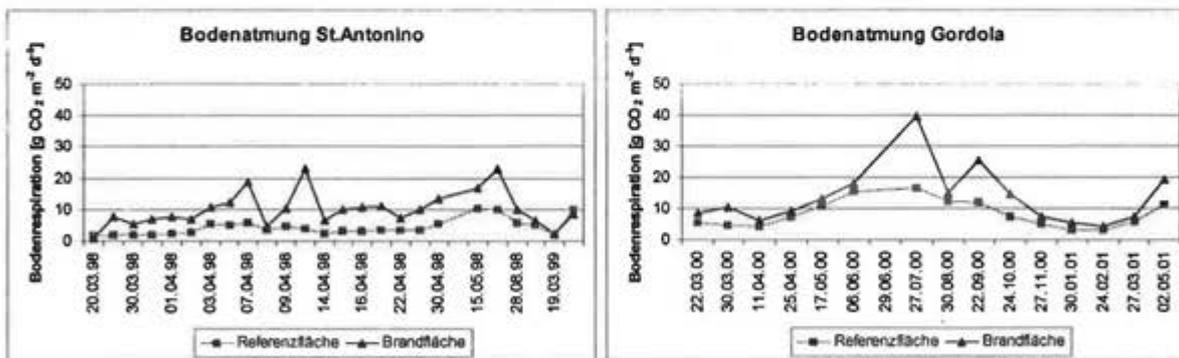


Abb. 2: Langfristige Entwicklung auf den Brandflächen und auf den ungebrannten Referenzflächen für St. Antonino und Gordola. Dargestellt sind die Mittelwerte ( $n = 3$  für St. Antonino und  $n = 5$  für Gordola).

### 3.2 Entwicklung der mikrobiellen Biomasse nach den Bränden

In Bezug auf die mikrobielle Biomasse verhielten sich Feuerexperiment und Wildfeuer unterschiedlich. Kurze Zeit nach den Bränden im März nimmt die mikrobielle Biomasse an beiden Referenzflächen mit dem Einsetzen der Vegetationszeit deutlich zu (Abb. 3). Während beim Feuerexperiment von St. Antonino auf der Brandfläche gleichzeitig eine leichte Abnahme der mikrobiellen Biomasse gemessen wurde, blieb auf der Wildbrandfläche von Gordola die mikrobielle Biomasse im gleichen Bereich wie auf der zugehörigen Referenzfläche. Damit zeigte sich also auch bei der mikrobiellen Biomasse eine moderatere Reaktion des Wildbrandgebietes, als beim Feuerexperiment. Im Vergleich zur Bodenrespiration verhält sich die mikrobielle Biomasse sowohl bezüglich saisonaler Effekte, wie auch gegenüber feuerbedingter Effekte

konservativer als die Bodenatmung. Es findet weder ein starker Rückgang der mikrobiellen Biomasse direkt nach dem Brand (keine „Lag“-Phase), noch eine starke Zunahme der mikrobiellen Biomasse in Verbindung mit den hohen Bodenrespirationsraten nach dem Feuer statt.

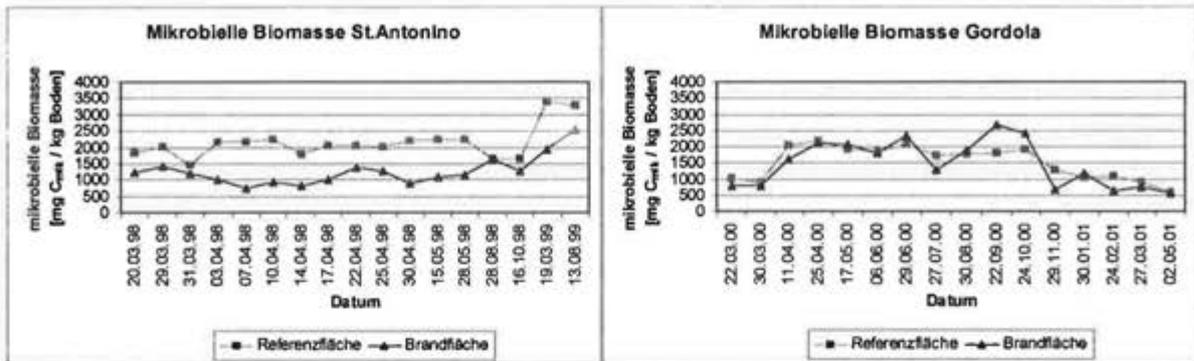


Abb. 3: Veränderungen der mikrobiellen Biomasse nach den Bränden dargestellt am Verlauf des C<sub>mic</sub> (mikrobieller Kohlenstoff) für St. Antonino und Gordola.

#### 4. Diskussion

Unsere Resultate lassen darauf schliessen, dass nach einem Brand grosse Mengen an unvollständig verbranntem organischem Material im Boden vorliegen, welche erwartungsgemäss durch mikrobiellen Abbau rasch und intensiv mineralisiert werden. Dies führt schon wenige Stunden nach dem Brand zu einer stark gesteigerten Bodenrespiration. Wir waren in unseren Arbeitshypothesen davon ausgegangen, dass die Bodenmikroflora während des Brandes durch letale Temperaturen in den obersten Bodenschichten abgetötet wird und dass es in der Folge nach dem Brand zu einer deutlichen „Lag“-Phase bei der mikrobiellen Aktivität kommt. Die Verläufe der Bodenatmung nach dem Feuerexperiment und nach dem Wildfeuer zeigen jedoch klar, dass bereits wenige Stunden nach dem Brand die Bodenrespiration deutlich höher ist als zuvor. Eine letale Wirkung auf die Mikroorganismen kann bei den erreichten Bodentemperaturen ausgeschlossen werden. Der Grund für das von uns beobachtete Fehlen einer „Lag“-Phase bei diesen Oberflächenfeuern könnte in der relativ geringen Feuerintensität und im schwachen Eindringen der Hitze in den Oberboden liegen. Während beim Feuerexperiment in St. Antonino aus Sicherheitsgründen auf einem feuchten Nordhang gearbeitet werden musste, war das Wildfeuer von Gordola an einem Hang ausgebrochen, der schon ein Jahr zuvor gebrannt hatte.

Die grossen Mengen an leicht verfügbaren Kohlenstoffquellen (geschädigte und abgetötete Biomasse pflanzlicher, tierischer und mikrobieller Natur) nach einem Feuer werden schnell von den Mikroorganismen zerlegt und führen sofort nach dem Brand zu einer signifikanten Erhöhung der Bodenrespiration. Diese Entwicklung wird überraschenderweise nicht durch eine Erhöhung der mikrobiellen Biomasse begleitet. Die extrem gesteigerte Atmung, die auf den Brandflächen festgestellt wurde, wird also nicht durch eine adäquat vergrösserte mikrobielle Biomasse geleistet, sondern durch eine erhöhte Respiration bei gleichbleibender oder sogar reduzierter mikrobieller Biomasse. Damit nimmt die Respiration pro mikrobieller Biomasse (als qCO<sub>2</sub> bezeichnet) zu. FLIESSBACH et al. (1999) beobachtete ein ähnliches Verhalten in den tieferen Bereichen von Ackerböden (Zunahme des qCO<sub>2</sub> mit der Tiefe). RÜETSCHI

et al. (1999) berichtete von einem ebenfalls mit der Bodentiefe zunehmenden  $qCO_2$  in Auenböden.

In allen Fällen wird vermutet, dass unterschiedliche Mikroorganismenpopulation für dieses Bild verantwortlich sind. Die Biomasse ist nach der Störung bzw. in grösserer Tiefe geprägt durch einen grossen Anteil an zu schnellem Wachstum befähigten Organismen (r-Strategen), die die vorhandenen C-Quellen rasch umsetzen können. Allerdings wird dabei pro Einheit Biomasse viel Energie verbraucht. Im Hinblick auf den biologischen Abbau verfolgen diese Mikroorganismen eine sehr effiziente, in Hinblick auf die Biomasse-Bildung eine sehr ineffiziente Strategie. Sowohl im Falle der Feuereffekte wie auch im Falle des mit der Bodentiefe zunehmenden  $qCO_2$  kann davon ausgegangen werden, dass eine episodisch bis stochastisch vorhandene Stoffquelle mit höchster Effizienz ausgebeutet wird, ohne dass dabei neue mikrobielle Biomasse gebildet wird.

Die Konsequenzen dieser Befunde für die untersuchten Brandgebiete im Tessin sind klar: Die mikrobielle Biomasse kann nach einem Brand nicht als Zwischenspeicher für mobile Nährstoffe angesehen werden. Im Gegenteil: Die langanhaltend hohe Bodenrespirationrate der Brandflächen muss als Zeichen dafür gewertet werden, dass mikrobielle Abbauvorgänge die durch den Brand geschädigte Biomasse verschiedenen Ursprungs langfristig zerlegen und noch über Monate potenziell auswaschungsgefährdete Stoffe freisetzen.

#### *Danksagung*

Das Feuerexperiment wurde im Rahmen eines vom Schweizerischen Nationalfonds (SNF) unterstützten Projektes (Proj. Nr. 21-43208.95) unter Leitung der WSL, Sottostazione Sud delle Alpi (Bellinzona) durchgeführt. Wir danken an dieser Stelle den zahlreichen Helfern und „Mitreitern“, besonders Peter Marxer, Markus Weber und Daniel Schaub. Die Untersuchung über die Brandeffekte eines Wildfeuers sind ein Kooperationsprojekt des Geographischen Institut der Universität Basel und der WSL.

#### **Literatur**

- BARA, S., VEGA, J.A., 1993: Effects of Wildfires on forest soil in the Northwest of Spain. In: Goldammer J.G. (ed.): DFG-Symposium Feuerökologie, Freiburg im Breisgau, 181-195.
- BLASER, P., KERNEBEEK, P., TEBBENS, L., VAN BREEMEN, N., LUSTER, J., 1997: Cryptopodsolic soils in Switzerland. *European Journal of Soil Science* **48**, 411-423.
- BOVIO, G., 1996: Come proteggerci dagli incendi boschivi. Regione Piemonte, Torino. 1-223.
- CERDA, A., 1998: Post-fire dynamics of erosional processes under Mediterranean climatic conditions. *Zeitschrift für Geomorphologie* **42(3)**, 373-398.
- CONEDERA, M., MARXER, P., MORETTI, M., TINNER, W., 1997: Waldbrandforschung an der FNP Sottostazione Sud delle Alpi. *Schweizer Wald* **97(12)**, 18-20.
- CONEDERA, M., TINNER, W., 2000: The interaction between forest fires and human activity in southern Switzerland. In: Innes, J.L., Verstraete, M.M., Beniston, M. (eds.), *Biomass Burning and its Inter-Relationships with the Climate System*. Kluwer Academic Publishers, "Advances in Global Change Research" (Series Editor: M. Beniston), Dordrecht and Boston, 247-262.
- CRUTZEN, P.J., GOLDAMMER, J.G., 1993: *Fire in the environment: The ecological, atmospheric and climatic importance of vegetation fires*. Wiley and Sons, Chichester, 1-400.
- DOERR, S.H., SHAKESBY, R.A., WALSH, R.P.D., 2000: Soil water repellency: Its causes, characteristics and hydro-geomorphological significance. *Earth Science Reviews* **51(1-4)**, 33-65.

- FERNÁNDEZ, I., CABANEIRO, A., CARBALLAS, T. 1997: Organic matter changes immediately after a wildfire in an atlantic forest soil and comparison with laboratory soil heating. *Soil Biology and Biochemistry* 29(1), 1-11.
- FERNÁNDEZ, I., CABANEIRO, A., CARBALLAS, T. 1999: Carbon mineralization dynamics in soils after wildfires in two Galician forests. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1853-1865.
- FLIESSBACH, A., IMHOF, D., BRUNNER, T., WÜTHRICH, CH., 1999: Tiefenverteilung und zeitliche Dynamik der mikrobiellen Biomasse in biologisch und konventionell bewirtschafteten Böden. *Regio Basiliensis* 40(3), 253-264.
- GOLDAMMER, J.G., PRICE, C., 1998: Potential impacts of climate change on fire regimes in the tropics based on MAGICC and a GISS GCM-derived lightning model. *Climatic Change* 39(2-3), 273-296.
- IMESON, A.C., VERSTRATEN, J.M., 1992: The effect of fire and water repellency on infiltration and runoff under mediterranean type forest. *Catena* 19, 345-361.
- JÖRGENSEN, R.G. 1996: The fumigation extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the  $k_{EC}$ -Factor. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 33-37.
- KELLER, W., WOHLGEMUT, T., KUHN, N., SCHÜTZ, M., WILDI, O., 1998: Waldgesellschaften der Schweiz auf floristischer Grundlage. *Mitt. Eidg. Forstl. Versuchsanst.* 73(2), 93-357.
- KORSMAN, T., SEGERSTROM, U., 1998: Forest fire and lake-water acidity in a northern Swedish boreal area: Holocene changes in lake-water quality at Makkassjon. *Journal of Ecology* 86, 113-124.
- MARXER, P., 1997: Oberflächenabfluss und Bodenerosion auf Kastanienwaldbrandflächen im Tessin. *Ingenieurbiologie* 97(2), 10-13.
- MARXER, P. & CONEDERA, M., 1999: Annual Report of the PROMETHEUS Project June 1998-May 1999. European Commission, Directorate D-RTD Actions: Environment, Climatology and Natural Hazards. Report FNP Sottostazione Sud delle Alpi (Switzerland). Athen, 10p.
- MEYER, G.A., WELLS, S.G., 1997: Fire related sedimentation events on alluvial fans, Yellowstone National Park, USA. *Journal of Sedimentary Research* 67(5), 776-791.
- MUSHINSKY, H.R., GIBSON, D.J., 1991: The influence of fire periodicity on habitat structure. In: Bell S.S., McCoy E.D., Muchinsky, H.R. (eds): *Habitat Structure: the physical arrangement of objects in space*. London, Chapman and Hall, 237-259.
- RÜETSCHI, D., SCHMID, M., GEISSBÜHLER, U., WÜTHRICH, CH., 1999: Trinkwassergewinnung in bewaldeten und offenen Wasserstellen der Langen Erlen: Mikrobielle Aktivität und Biomasse im Boden. *Regio Basiliensis* 40(2), 151-163.
- THOMAS, A.D., WALSH, R.P.D., SHAKESBY, R.A., 1999: Nutrient losses in eroded sediment after fire in eucalyptus and pine forests in the wet Mediterranean environment of northern Portugal. *Catena* 36(4), 283-302.
- VANCE, E.D., BROOKES, P.C., JENKINSON, D.S., 1987: An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707.
- WÜTHRICH, CH., MÖLLER, I. & THANNHEISER, D. 1999: CO<sub>2</sub>-fluxes in different plant communities of a high-Arctic tundra watershed (Western Spitsbergen). *Journal of Vegetation Science* 10: 413-420.
- YOSHIDA, M., 1997: Influence of soil heating induced by fire on soil physical properties affecting infiltrability and erodibility. *Transactions Japanese Geomorphological Union* 18, 99-116.

## **Influence of climate on soil development and microbial community in Trentino mountains – Italy**

M. Castaldini<sup>a</sup>, M. Egli<sup>b</sup>, A. Mirabella<sup>a</sup>, A. Fabiani<sup>a</sup>, F. Santomassimo<sup>a</sup>, N. Miclaus<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo, P.zza D'Azeglio 30, 50121 Firenze, Italy

<sup>b</sup>Geographisches Institut, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, 8057 Zürich, Switzerland

### **Abstract**

Along an altitudinal transect in Trentino organic chelating compounds have led to the formation of smectitic minerals in the upper subsurface horizon of two soils developing at 1830 and 1660 m a.s.l.; this process could not be seen in the soil at 940 m a.s.l. *Nitrosomonas sp.* were the prevalent ammonia oxidisers in the soils at the higher altitudes, while *Nitrosospira sp.* could be found at 940 m a.s.l. The soil chemistry that was influenced by climate seemed to affect distinctly the microbial community.

### **Zusammenfassung**

Die Bodenbildung und die Mikrobiologie wurde entlang eines Höhengradienten im Trentino (Italien) untersucht. Die Bildung von Smektiten, welche in höher gelegenen, alpinen Regionen nachgewiesen werden konnten, wird durch die Anwesenheit niedermolekularer organischer Komplexbildner gefördert. Unter den Ammonium oxidierenden Mikroorganismen war an den höher gelegenen Standorten (1660-1830 m ü.M.) *Nitrosomonas sp.* die dominante Spezies, währenddem in tieferen Lagen (940 m ü.M.) vor allem *Nitrosospira sp.* vorgefunden wurde. Der Bodenchemismus, der wesentlich durch das Klima geprägt wurde, beeinflusst die Gemeinschaft der Mikroorganismen sehr stark.

### **1. Introduction**

In soil genesis studies, the status of eubacterial population rarely has been taken into account and little is known about how climate and soil weathering may influence the composition of the eubacterial consortium. Recent advances in molecular techniques to investigate soil microflora allow the description of the whole eubacterial population. Three soils developing along an altitudinal transect were investigated in order to study climatic effects on the microbial community structure with a deeper insight on autotrophic ammonia oxidisers. Because the climate has manifold impacts on processes in the soil, the chemistry and the clay mineralogy were considered in order to relate the degree of weathering to the microbial community structure.

### **2. Investigation sites**

A soil sequence was investigated ranging from moderate to alpine climates. The sites are in the Val Genova (Trentino, Italy). Mineralogical and microbial analyses were carried out on the two upper subsurface horizons of each soil profile.

Table 1. Characteristics of the study sites.

Profile	Altitude (m a.s.l.)	Parent material	Vegetation	Soil type
TSG2	1830	granodiorite-rich reworked till	Larici-Piceetum	Haplic Podzol
TSG3	1660	granodiorite-rich reworked till	Larici-Piceetum	Haplic Podzol
TSG5	940	granodiorite-rich reworked till	Picea abies, abies alba	Spodo-Dystric Cambisol

### 3. Materials and methods

#### 3.1 Soil chemistry

Soil pH (KCl) was determined on air-dried samples using a soil:solution ratio of 1:2.5. Exchangeable cations (and CEC) were obtained by a 1N NH<sub>4</sub>OAc extraction (THOMAS, 1982) and elemental concentrations were analysed with AAS. Exchangeable acidity was determined by the KCl method and amorphous solid phases were extracted by oxalate.

#### 3.2 Clay minerals

XRD pattern of soil clays (< 2 µm) were obtained from samples oriented on glass slides with a 3 KW Rigaku D/MAX III C diffractometer with Cu radiation. Slides were step-scanned from 2 to 15° 2θ with 0.02° steps. The following treatments were performed: ethylene glycol solvation (EG), Mg saturation, K saturation and heating at 335 °C and 550 °C.

#### 3.3 Soil biology

Molecular techniques were used to investigate the eubacterial population. Amplified rDNA restriction analysis (ARDRA) and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) are techniques that allow describing the whole eubacterial population. DNA was directly extracted from soil (MICLAUS et al., 1998) and amplified with 16S and 23S universal eubacterial primers. For DGGE analysis, the V6 to V8 region of eubacterial 16S rDNA was amplified with universal primers as described by FELSKE et al. (1998). The ARDRA was performed with *AluI* on 400 ng of 16S and 23S amplified rDNA of the eubacterial community and with *TaqI* on 16S rDNA of ammonia oxidisers population. With the digoxigenin 3'-End labelled (Roche) probes specific for subgroups of proteobacteria and ammonia oxidisers were performed.

### 4. Results

The soils at the higher altitudes (1830 and 1660 m a.s.l.) are characterised by typical podzolisation processes (Table 1 and 2) that include the eluviation of organic matter and the transfer of Al and Fe. In contrast, the profile TSG5 did not show any spodic features.

Table 2. Chemical properties of the soils.

Horizon, Site	pH KCl	Fe(o)* g/kg	Al(o) g/kg	Ca** cmol/kg	Mg** cmol/kg	K** cmol/kg	Na** cmol/kg	Al** cmol/kg	H** cmol/kg
TSG2									
E	3.4	0.74	0.33	0.3	0.4	0.2	0.0	7.8	1.5
Bhs	4.1	1.88	2.20	0.3	0.2	0.1	0.4	7.3	0.0
Bs	4.4	0.78	3.06	0.4	0.1	0.1	0.1	4.1	0.0
BC	4.6	0.30	2.28	0.1	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0
TSG3									
AE	3.1	0.50	0.29	0.5	0.7	0.3	0.0	10.1	1.8
Bhs	3.9	1.93	1.72	0.0	0.2	0.1	0.1	9.9	0.7
Bs	4.3	1.10	3.12	0.1	0.1	0.0	0.1	5.9	0.0
BC	4.3	1.95	2.91	0.6	0.1	0.0	0.1	4.6	0.0
TSG5									
AE	4.3	0.84	1.50	4.9	0.7	0.3	0.1	2.9	0.0
Bs1	4.5	0.86	1.83	1.7	0.1	0.1	0.2	1.9	0.0
Bs2	4.6	0.75	1.76	1.2	0.1	0.1	0.2	0.8	0.0
BC	4.8	0.42	1.83	1.4	0.1	0.1	0.3	0.5	0.0

\*Fe(o), Al(o) oxalate extractable fraction; \*\*Exchangeable cations

The XRD patterns of the subsurface horizons of profiles TSG2 and TSG3 showed a low charge expandable mineral (Fig. 1) that could be identified by the peak around 1.65 nm (EG). This smectite mineral was also present in the Bhs horizon of profile TSG2. The soil TSG5 did not contain this mineral in both the two subsurface horizons. Additionally, vermiculite, mica, kaolinite, and an interstratified mica/vermiculite were identified in the subsurface horizons of the profiles TSG2 and TSG3. Vermiculite was hydroxy-interlayered in the AE horizon of profile TSG3. In the Bhs horizons of the soil profiles TSG2 and TSG3 vermiculite was almost completely hydroxy-interlayered. Traces of chlorite could also be detected. The subsurface horizon of profile TSG5 contained mainly hydroxy-interlayered vermiculite, mica, kaolinite, and chlorite. The DGGE (Fig. 2) pointed out that the patterns for the soils developing at the lowest altitude were different considering the region with the most intense band. All horizons showed different patterns in the lower portion of the fingerprints; some similarities were detectable between the patterns of the two Bhs horizons. The hybridisation with probes for  $\alpha$  and  $\gamma$  proteobacteria (Fig. 3) showed an increasing signal intensity with a decrease of altitude. The hybridisation with  $\beta$  and  $\delta$  specific probes gave comparable signals in all the examined horizons (data not shown). The detection of ammonia-oxidising bacteria performed with ARDRA and subsequent hybridisa-

tion indicated that in both horizons of the soils at the higher altitude *Nitrosomonas sp.* was the prevailing genus (Fig. 4) while at the lowest site *Nitrosopira sp.* was the dominant one.

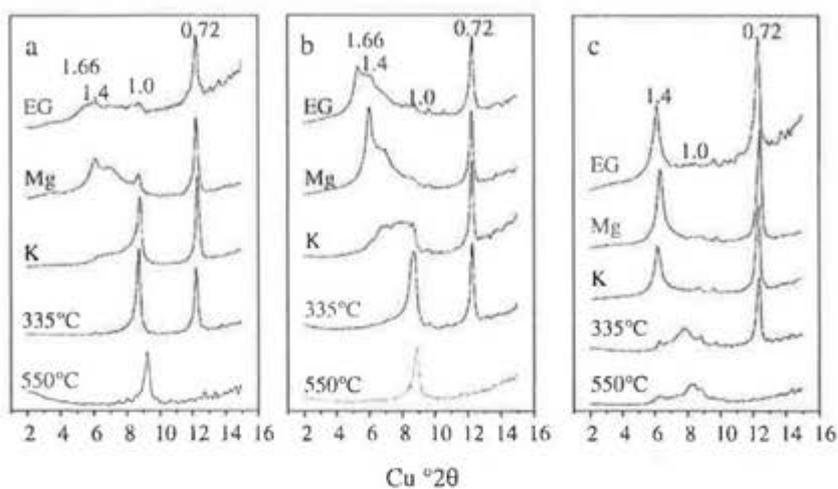


Fig. 1. X-ray patterns of the clay samples of the subsurface horizons; a) E horizon of TSG2, b) AE horizon of TSG3 and c) AE horizon of TSG5.

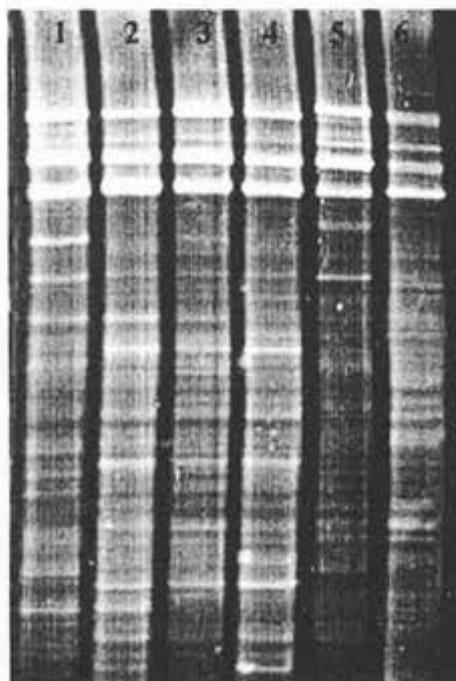


Fig. 2. DGGE patterns of 16S rDNAs of eubacterial community of forest samples: 1,2 TSG2, horizons E and Bhs; 3,4 TSG3, horizons AE and Bhs; 5,6 TSG5, horizons AE and Bs1.

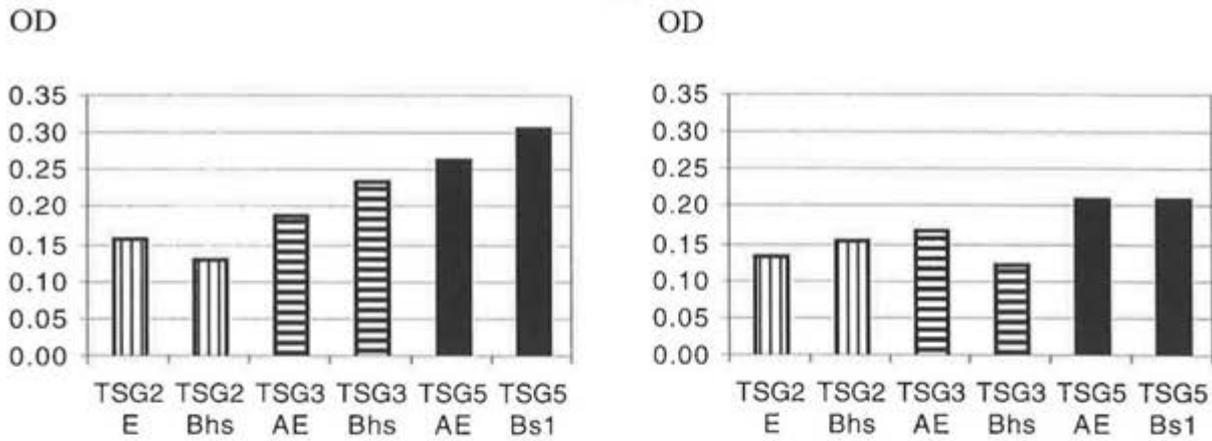


Fig. 3. Optical density values (OD) of hybridisation of 16S rDNAs from the two horizons of each profile with  $\alpha$  proteobacteria specific and with  $\gamma$  proteobacteria specific probe.

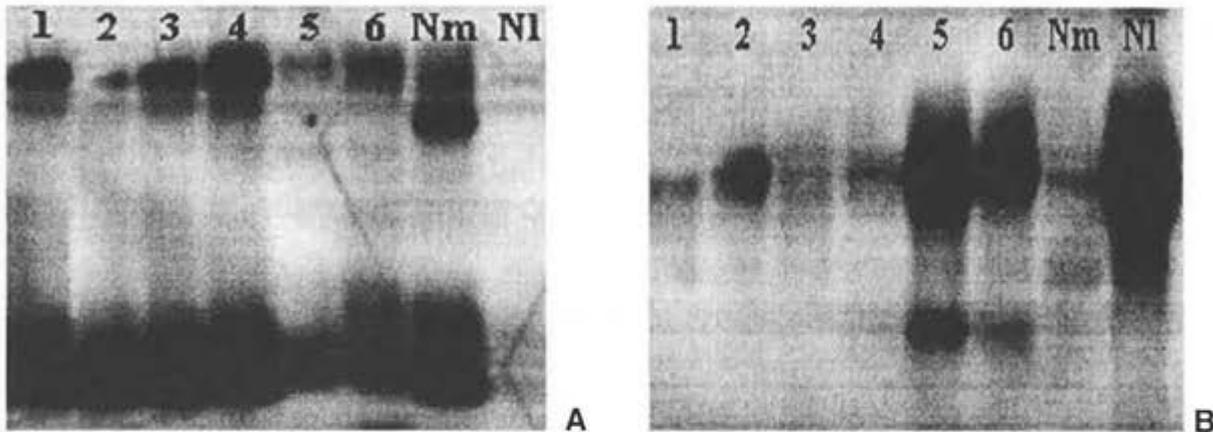


Fig. 4. **A** Hybridisation with *Nitrosomonas sp.* and **B** hybridisation with *Nitrospira sp.* 1,2 = TSG2 (E and Bhs horizon); 3,4 = TSG3 (AE and Bhs horizon); 5,6 = TSG5 (AE and Bs1 horizon). Nm: *Nitrosomonas europaea*; N1: *Nitrospira multiformis*

## 5. Discussion and conclusion

Chemical and mineralogical analyses showed a clear difference between the soils developing in the altitude range 1660 – 1830 m a.s.l. on the one hand and the soil developing at the lower altitude (940 m a.s.l.) on the other hand. In particular, higher precipitations and lower temperatures have led to the formation of eluvial horizons at the higher altitudes. These conditions have promoted the appearance of a low charge expandable mineral (smectite) that was formed from chlorite through removal of hydroxy-interlayers and reduction of layer charge, the extraction of the interlayer polymers being enhanced by organic complexing agents (CARNICELLI et al., 1997). This process was not evidenced in the soil TSG5, developing at 940 m a.s.l. due to the presence of a higher amount of hydroxy-interlayered 2:1 clay minerals and a small amount of chlorite. The different soil genetic processes also affected the diversity of the eubacterial population as shown by the

ARDRA and DGGE analysis. Due to the high resolution of these techniques, it is not possible to infer the exact number of different species in the soil, because thousands of different bacterial genomes are present in one gram of soil (TORSVIK et al., 1990). There is a different main microflora structure between the two Podzols and the Cambisol. These findings have been supported by results of the hybridisations with probes specific for the main subgroups of proteobacteria. A more intense signal with the  $\alpha$  and  $\gamma$  subgroup specific probes was found in the two horizons of the Cambisol site. If a single bacterial population is considered such as autotrophic ammonia oxidisers then distinct differences could be detected. The predominance of *Nitrosomonas* in both subsurface horizons of the two Podzol sites and of *Nitrospira* at the Cambisol site may be due to the occurrence of two types of chemolithotrophic nitrification (DE BOER et al., 1989): smectite in the subsurface horizons of the Podzol sites are stable if low molecular weight organic acids (LMWOA) and fulvic acids are present in higher amounts. LMWOA are a more readily degradable substrate and may favour the more acid-tolerant *Nitrosomonas*.

## References

- TORSVIK, K.V., GOKSOYR, J., and DAAE, F.L. 1990: High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environ. Microbiol.* **56**, 782 – 787.
- DE BOER, V. KLIEN GUNNEWIEK, P.J.A., TROELSTRA, S.R., and LAANBROEK, H.J. 1989: Two types of chemolithotrophic nitrification in acid heathland humus. *Plant and Soil* **119**, 229-235.
- CARNICELLI, S, MIRABELLA, A., CECCHINI, G., and SANESI, G., 1997: Weathering of chlorite to a low-charge expandable mineral in a spodosol on the Apennine mountains, Italy. *Clays and Clay Minerals* **45**, 28-41.
- MICLAUS, N., CASTALDINI, M., CECCHERINI, M.T., PIOVANELLI, C., and BAZZICALUPO, M. 1998: Effetti della fertilizzazione con reflui zootecnici suini sulle popolazioni microbiche del suolo. *Agricoltura Ricerca* **173**.
- FELSKE, A., WOLTERINK, R., VAN LIS, R., and AKKERMANS, A.D.L. 1998: Phylogeny of the main bacterial 16s rRNA sequences in Drentse A grassland soils (The Netherlands). *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 871-879.
- THOMAS, G.W. 1982: Exchangeable Cations. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Page, A.L. (ed.), Agronomy Monograph no. 9, SSSA, Madison, WI, pp. 159-189.

## ORGANISCHE SUBSTANZ, MINERALIEN UND VERWITTERUNGSRATEN IN ALPINEN BÖDEN ALS FUNKTION DER ZEIT

Markus Egli, Geographisches Institut, Universität Zürich-Irchel, Winterthurerstrasse 190, 8057 Zürich

### Zusammenfassung

Der Aufbau der organischen Substanz in alpinen Böden und somit deren Nettoakkumulationsrate konnte mit Chronosequenzen gut quantifiziert werden. Die Entwicklungen der Tonminerale sowie die Elementverwitterungsraten sind eine klare Funktion der Zeit und entsprechende Bezüge zur organischen Substanz lassen sich herstellen. Die wichtigsten bodenbildenden Prozesse scheinen innerhalb der ersten rund 3000 Jahre abzulaufen.

### Résumé

La formation de la matière organique dans des sols alpins et par conséquent son accumulation nette pouvait être quantifiée par des chronoséquences. De plus, le développement de la minéralogie du sol ainsi que l'export des éléments du système étaient une fonction du temps et étroitement liés à la formation de la matière organique. Les processus les plus importants ont lieu durant les premiers 3000 ans de l'évolution du sol.

### 1. Einführung

Die Bestimmung chemischer Verwitterungsraten, der Humusakkumulation sowie die Identifikation von Tonmineraltransformationen ist für die Analyse umweltrelevanter Problemstellungen wie z.B. saure Depositionen und ihre Auswirkungen auf das Bodenökosystem oder Klimaänderungen von grundlegender Bedeutung. Das wissenschaftliche Verständnis von subalpinen und alpinen Böden in den Europäischen Alpen ist sehr beschränkt (EGLI et al., 2001). Wir untersuchten anhand von Bodensequenzen auf alpiner Stufe die chemische Verwitterung von Böden, die Nettoakkumulationsrate an organischer Substanz sowie die Mineraltransformationen als Funktion der Zeit.

### 2. Methoden

Die Bestimmung der Gesamtgehalte an Ca, Mg, K, Na, Fe, Al, Mn, Si, Ti und Zr erfolgte mit einem Totalaufschluss sowohl an der Fraktion < 2 mm als auch am Skelettgehalt (Fraktion > 2 mm). Zudem wurden die dithionit- und oxalat-extrahierbaren Anteile von Fe, Al und Si bestimmt. Die mineralogische Zusammensetzung wurde an der Tonfraktion gemessen. Die Analysen erfolgten mit einem 3-kW Rigaku D/MAX III C Diffraktometer mit Cu-K $\alpha$  Strahlung nach Mg-Sättigung der Proben, Bedampfung mit Ethylen Glykol (EG), K-Sättigung und Erhitzen während 2 Stunden bei 335° und 550°C. Pulverpräparate wurden schrittweise im Bereich von 58 bis 64 °2 $\theta$  gescannt. Zusätzlich wurde ein Na-Citrat Auszug (gemäss TAMURA, 1958; mit geringfügigen Modifikationen) an der Tonfraktion vorgenommen, um Zwischenschicht-Ionen wie Al und Fe zu lösen.

### 3. Untersuchungsgebiete

Chronosequenzen wurden in Gebieten mit datierten Moränenständen und einem entsprechenden Altersspektrum (150 bis 11'500 Jahre) untersucht. Die Untersuchungsgebiete finden sich in der Nähe von Gletsch (Kanton Wallis) und im Hinteren Lauterbrunnental (Schmadri, Berner Oberland). Beide Untersuchungsgebiete sind durch ein ähnliches Klima und eine ähnliche Geologie charakterisiert (Tabelle 1). Die Sequenz umfasst schwach entwickelte Böden bis hin zu gut ausgeprägten Podsolen (Tabelle 2).

Tabelle 1. Spezifische Eigenschaften der Untersuchungsgebiete.

Lokalität	Höhe (m)	Ausgangsmaterial	Bodentyp (FAO)	Alter (Jahre)
Schmadri	2000	Granit, granithaltige Moräne	Haplic Podzol	3500
	2050	Granit, granithaltige Moräne	Haplic Podzol	11500
Gletsch	1760	Granit, granithaltige Moräne, Gneiss	Lithic Leptosol	150
	1760	Granit, granithaltige Moräne, Gneiss	Umbric Leptosol	300
	1760	Granit, granithaltige Moräne, Gneiss	Dystric Cambisol	450
	1760	Granit, granithaltige Moräne, Gneiss	Dystric Cambisol	700
	1760	Granit, granithaltige Moräne, Gneiss	Dystric Cambisol	3000 bis 5000
	1800	Granit, granithaltige Moräne, Gneiss	Haplic Podzol	11000

### 4. Resultate und Diskussion

#### 4.1 Humus (org. C und N)

Die Akkumulationsrate an N und C im Boden ergibt sich aus der Bilanz zwischen der Produktion an organischer Materie und deren Abbau. Aufgrund der gespeicherten N- und C-Menge bzw. der entsprechenden N- und C-Akkumulationsraten lassen sich die Böden zeitlich sehr gut voneinander unterscheiden (Abb. 1). Abgesehen von den ersten 100 Jahren (JENNY, 1980), bewegen sich die mittleren C- und N-Akkumulationsraten innerhalb von 400 Jahren Bodenentwicklung im Rahmen von 6.7 - 9 g/m<sup>2</sup>/J für C und 0.33 - 0.50 g/m<sup>2</sup>/J für N. Diese Werte entsprechen Resultaten aus anderen holocänen Chronosequenzen (LICHTER, 1998: 9g C/m<sup>2</sup>/y and 0.32g N/ m<sup>2</sup>/y; SCHLESINGER, 1990). Die langfristige Akkumulationsrate für die Podsole ist im Bereich von 2 - 4 g C/m<sup>2</sup>/J und stimmt mit Ergebnissen von JERSAK et al. (1995), welche für 12000 Jahre Podsole ein Rate von 1 - 3 g C/m<sup>2</sup>/J gemessen hatten, gut überein.

#### 4.2 Mineraltransformationen

Die hauptsächlichen Mineraltransformationen werden am Beispiel des Untersuchungsgebietes Schmadri erklärt. Die Hauptminerale sind Albit, Orthoklas, Anorthit, Muskovit, Biotit

Tabelle 2. Einige typische Eigenschaften der untersuchten Böden.

Site	Horizon	pH (CaCl <sub>2</sub> )	C (%)	N (%)	Fed (%)*	Al <sub>d</sub> (%)*
Schmadri						
Haplic	O	3.5	14.3	0.87	0.36	0.17
Podzol	E	3.7	6.9	0.32	0.98	0.35
(3300 J.)	Bhs	3.8	11.3	0.44	1.31	0.77
	Bws	4.3	4.6	0.17	2.08	1.29
	C	4.7	0.6	0.01	0.28	0.24
Haplic	O	3.9	38.3	1.8	0.46	0.27
Podzol	E	3.7	2.2	0.08	0.18	0.08
11500 J.)	Bhs	3.8	11.3	0.48	4.62	1.09
	Bw	4.5	1.0	0.02	0.78	0.44
	C	4.7	0.2	0.00	0.48	0.16
Gletsch						
Dystric	Ah	4.2	2.6	0.11	0.07	0.02
Leptosol (150 J.)	AC	5.3	0.4	0.02	0.04	0.01
	C	5.4	0.0	0.00	0.04	0.01
Dystric	Ah	3.7	9.8	0.61	0.18	0.05
Leptosol (300 J.)	BC	4.1	0.3	0.03	0.06	0.02
	C	4.9	0.2	0.01	0.07	0.01
Dystric	Ah	3.7	11.5	0.79	0.38	0.16
Cambisol (450 J.)	B	4.3	0.5	0.04	0.10	0.02
	C	5.1	0.0	0.00	0.07	0.02
Dystric	Ah	4	12.1	0.90	0.41	0.09
Cambisol (700 J.)	Bw	4.1	0.6	0.05	0.10	0.03
	BC	4.5	0.4	0.03	0.10	0.04
Dystric	Ah	3.7	13.3	0.62	0.38	0.15
Cambisol (3000 J.)	Bw	4	3.5	0.23	0.70	0.30
	Haplic	O	3.5	21.8	1.34	0.26
Podzol (11000 J.)	E	3.8	1.4	0.08	0.24	0.21
	Bhs	4	5.9	0.29	0.29	0.81
	Bs	4.4	1.6	0.06	0.18	0.70
	BC	5.1	0.5	0.01	0.17	0.17

\*Fed = Dithionit-extrahierbares Fe, Al<sub>d</sub> = Dithionit-extrahierbares Al

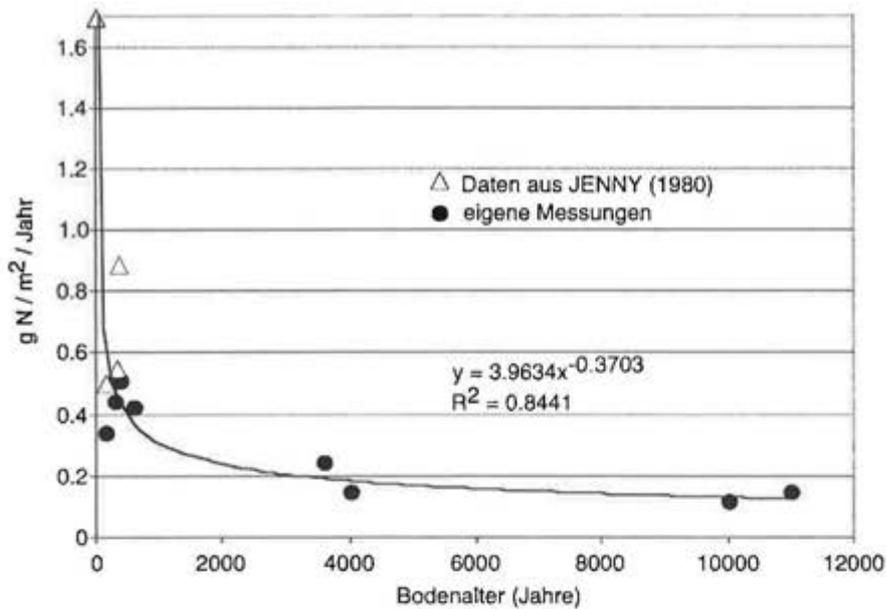


Abb. 1. Chronofunktion der Stickstoff Nettoakkumulationsrate im Boden.

(+Illit) und Quarz. Im Verlauf des Verwitterungsprozesses werden vor allem Albit bzw. Plagioklase, K-Feldspäte und Biotite bzw. Illite aufgelöst oder umgewandelt. Als Sekundärprodukte erscheinen neue Schichtsilikate (wie bspw. Vermiculite), Al-Hydroxide, Allophane oder Imogolite sowie etwas Goethit. Die Röntgendiffraktogramme (Abb. 2) der Tonfraktion weisen auf ganz interessante Eigenschaften hin. Der C-Horizont wird durch deutliche Peaks bei 1.43, 1.0 und 0.71 nm (Fe-Chlorit, Biotite (+Illit)) charakterisiert. Nach rund 300 Jahren Bodenentwicklung können erst geringe Veränderungen nachgewiesen werden. Nach rund 300 bis 600 Jahren lassen sich in der Tonfraktion Schichtabstände bei ca. 2.3 nm und 1.15 nm messen, welche für eine regelmässige Wechsellagerung zwischen Vermiculit und Illit (Hydrobiotit) typisch sind. Nach ca. 3500 Jahren (E-Horizont, jüngerer Podsol) erkennt man eine stark veränderte mineralogische Zusammensetzung. Im Diffraktogramm (EG) lassen sich Micas (Biotit, Illit, Muskovit) bestimmen (Schichtabstand  $d=1.0$  nm). Die Werte 2.65, 1.34 und 0.93 nm entsprechen den  $d(001)$ ,  $d(002)$ , und  $d(003)$  Reflektionen einer regelmässigen Wechsellagerung von Mica/Smectit. Smectit als selbstständige Phase wird durch den Peak bei 1.70 nm angezeigt. Vermiculit-ähnliche Mineralien sowie eine geringe Menge an HIS (hydroxy interlayered smectites) sind ebenfalls vorhanden. Chlorit hingegen ist nicht mehr nachweisbar. Der Peak bei 0.71 muss vollständig Kaolinit zugeordnet werden. Ein weiterer Schritt in der Bodenentwicklung ist nach 11500 Jahren sichtbar (E-Horizont, älterer Podsol). Dieselben Mineralien wie beim jüngeren Podsol sind erkennbar. Die Peaks sind jedoch wesentlich deutlicher und enger, was auf eine bessere Kristallisation schliessen lässt. Ähnliche Tendenzen lassen sich auch in den Böden des Untersuchungsgebietes Gletsch nachweisen. Im Gegensatz zu Schmadri ist hier aber bereits zu Beginn weg hydrothermal gebildeter Smectit in der Tonfraktion auffindbar. Smectit wurde in den ersten rund 600 Jahren systematisch abgebaut bzw. transformiert (was einer Art retrograder Podsolierung entspricht), da die Umgebungsbe-

dingungen einer Persistenz nicht entsprachen. Nach 3000-10000 Jahren wurde dieses Mineral durch pedogene Prozesse langsam wieder neu gebildet.

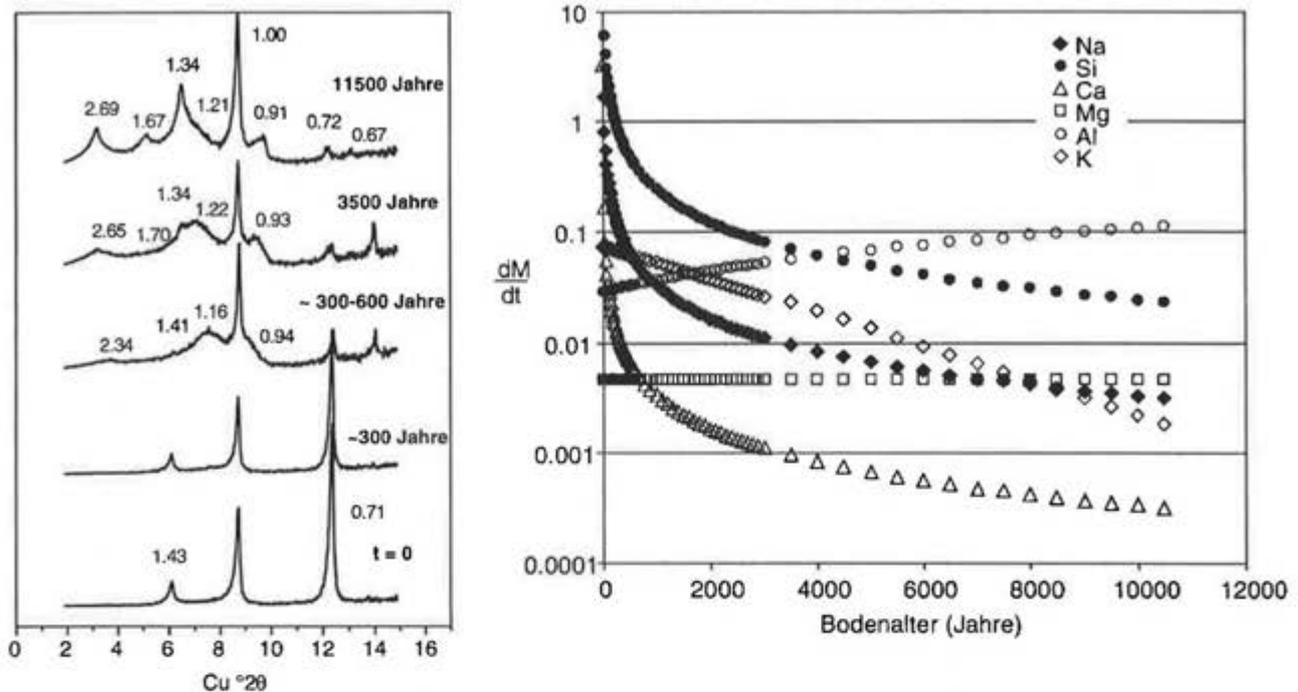


Abb. 2. Zeitliche Entwicklung der Mineralien in der Tonfraktion (die Schichtabstände sind in nm angegeben) sowie Verwitterungsraten ( $dM/dt$  als Masse pro  $m^2$  und Jahr) verschiedener Elemente als Funktion der Zeit.

#### 4.3 Verwitterungsraten

Die Verwitterungsraten (Abb. 2) wurden mit Hilfe von immobilen Elementen (Ti, Zr) bestimmt. Das genaue methodische Vorgehen ist in EGLI & FITZE (2000) beschrieben. Die Verwitterungsrate von Aluminium nimmt mit der Zeit zu. Anders verhalten sich K, Na, Ca und Si: die Austragsraten sind zu Beginn der Bodenbildung sehr hoch und nehmen mit zunehmendem Bodenalter stark ab. Die Verwitterungsrate von Mg scheint über den betrachteten Zeithorizont einen eher konstanten Wert aufzuweisen.

Ca, Na, K und Si sind wichtige Bestandteile von Primärsilikaten, deren Verwitterung zu Beginn der Bodenbildung besonders intensiv ist. Mg wird – im Gegensatz zu den anderen basischen Kationen – in den Verwitterungsprodukten (Tonmineralien) zum Teil wieder fixiert. Aluminium zeigt zu Beginn der Bodenbildung eine verzögerte Freisetzungsrates, wird aber mit zunehmender Versauerung und erhöhter Präsenz organischer Säuren freigesetzt.

### 5. Schlussfolgerungen

Die Akkumulation von organischem Material (Org. C und N) verläuft am Anfang der Bodenbildung sehr schnell und erreicht eine Asymptote nach rund etwa 3000 Jahren. Die Verwitterungsraten sind für viele Elemente (Si, Na, Ca, K) anfänglich sehr hoch und erreichen nach rund 2000 bis 4000 Jahren sehr tiefe und annähernd konstante Werte. Auch die Verwitterungssequenz bei den Tonmineralien zeigt deutlich auf, dass die entscheidenden

den Veränderungen innerhalb der ersten rund 3'000 Jahre ablaufen. Die Endprodukte der Verwitterung sind Smectite und Wechsellagerungsminerale mit Smectit und Mica, die sich im wesentlichen aus Chlorit bzw. Illit/Biotit gebildet haben. Mit zunehmendem Alter des Bodens nimmt die Konzentration an basisch wirkenden Kationen ab und die gespeicherte Humusmenge zu. Smectit ist ein Mineral, das die Präsenz erhöhter Konzentrationen niedermolekularer Säuren in der Bodenlösung anzeigt (MIRABELLA & SARTORI, 1998). Diese Bedingungen scheinen nach etwa 3000 Jahren Bodenbildung gegeben zu sein, was zu einer vermehrten Lösung von Zwischenschicht-Al(OH)<sub>3</sub> und somit zur Bildung aufweitbarer Mineralien führt.

### Literatur

- EGLI, M. and FITZE, P., 2000: Formulation of pedologic mass balance based on immobile elements: a revision. *Soil Science* 165, 437-443.
- EGLI, M., MIRABELLA, A., and FITZE, P., 2001: Weathering rates of soils formed on granitic, glacial deposits: results from chronosequences of Swiss alpine environments. *Catena* 45, 19-47.
- JERSAK, J., AMUNDSON, R., and BRIMHALL, G., 1995: A mass balance analysis of podzolization: examples from the northeastern United States. *Geoderma* 66, 15-42.
- JENNNY, H. 1980: The soil resource. Origin and Behavior. *Ecological Studies* 37, Springer-Verlag, New York.
- LICHTER, J., 1998: Rates of weathering and chemical depletion in soils across a chronosequence of Lake Michigan sand dunes. *Geoderma* 85, 255-282.
- MELKERUD, P.-A., BAIN, D.C., JONGMANS, A.G., and TARVAINEN, T., 2000: Chemical, mineralogical and morphological characterization of three podzols developed on glacial deposits in Northern Europe. *Geoderma* 94, 125-148.
- MIRABELLA, A. and SARTORI, G., 1998: The effect of climate on the mineralogical properties of soils from the Val Genova valley – Trentino (Italy). *Fresenius Envir. Bull.* 7, 478-483.
- RIGHI, D., HUBER, K., and KELLER, C., 1999: Clay formation and podzol development from postglacial moraines in Switzerland. *Clay Minerals* 34, 319-332.
- TAMURA, T., 1958: Identification of clay minerals from acid soils. *Journal of Soil Science* 9, 141-147.
- SCHLESINGER, W.H., 1990: Evidence from chronosequence studies for a low carbon-storage potential of soils. *Nature* 348, 232-234.
- TAMURA, T., 1958: Identification of clay minerals from acid soils. *Journal of Soil Science* 9, 141-147.

# NEUER ANSATZ ZUR ANSPRACHE DES BODENGEFÜGES

Jakob Nievergelt und Milan Petrasek

Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholz (FAL), CH-8046 Zürich

## 1. Methodische Ansätze der visuellen Gefügeansprache

Das Bodengefüge (= Bodenstruktur), als räumliche Anordnung der festen Bestandteile und der Hohlräume, ist bestimmend für den Wasser-, Luft- und Wärmehaushalt sowie die Durchwurzelbarkeit des Bodens. Trotzdem wird das Gefüge als Ganzes nicht häufig ins Zentrum von Standortsuntersuchungen gestellt. Komplexe Entstehungsprozesse, vielfältige und sich ändernde Erscheinungsformen mögen die Hauptgründe dafür sein, dass häufig nur Teilaspekte wie Porenverteilung und Lagerungsdichte untersucht werden. - Das von uns vorgeschlagene Verfahren der visuellen Gefügeansprache ist eine Weiterentwicklung bestehender makroskopischer Beurteilungssysteme in Richtung einer besser standardisierten, semi-quantitativen Methode.

**Gefügeklassifikation:** Es werden zwei Klassen von Aggregattypen, natürliche und anthropogen geprägte, unterschieden. Jeder Aggregattyp wird durch spezifische Entstehungs- und Entwicklungsvorgänge (Abb.1) sowie die Ausprägung sichtbarer Merkmale, z.B. Kanten, beschrieben und von den andern Typen abgegrenzt (Tab.1).

**Ansprache:** Die Ansprache des Gefüges umfasst neben der Bestimmung der Aggregattypen die Aggregatgrösse und mechanische Gefügeeigenschaften (Tab.2). Alle Aggregattypen, die in einer Bodenprobe vorkommen, werden bestimmt, da vor allem anthropogen beeinflusste Bodenschichten (Ackerkrume, Pflugsohle und Auffüllungen) meist durch mehrere Aggregattypen geprägt sind.

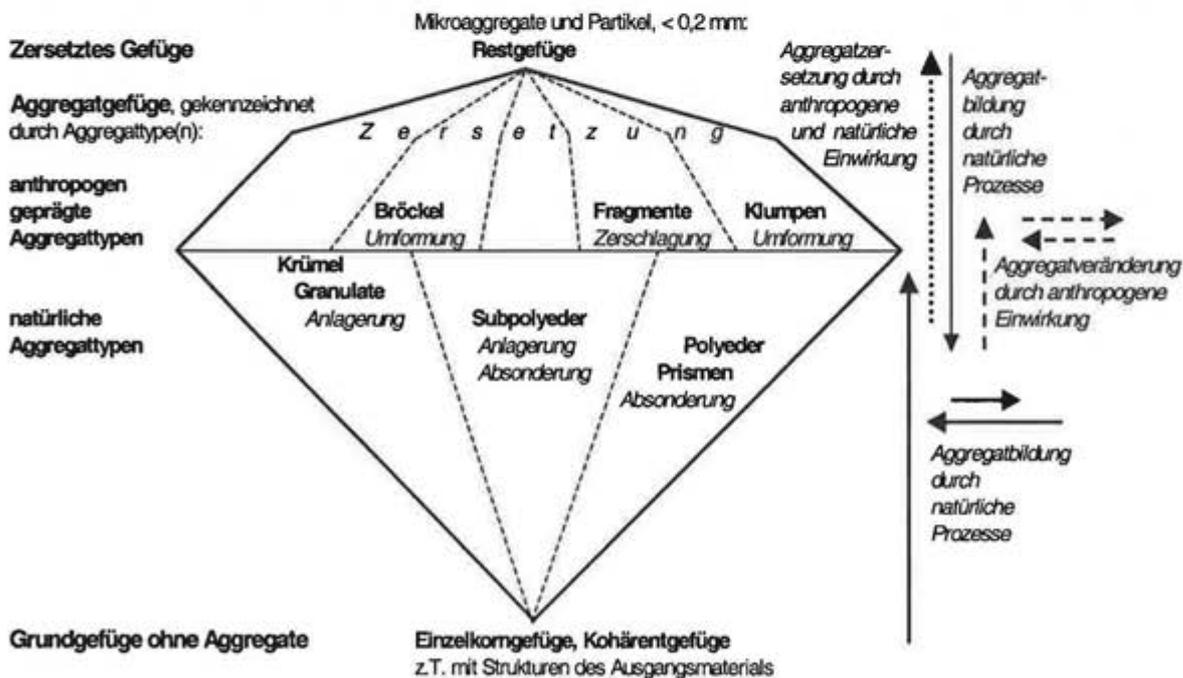


Abbildung 1. Wichtige Gefügeformen, Aggregattypen und Umwandlungsvorgänge

## **Beschreibung der wichtigen Gefügeformen, Aggregattypen und Umwandlungsvorgänge (Erläuterungen zu Abbildung 1):**

### **Aggregatbildung durch natürliche Prozesse**

- a) **Anlagerung:** Durch Verkittung von Feinkoagulaten und sonstigen losen Partikeln mit Schleimstoffen entstehen **Granulate**, meist als Kotpillen; Pilzhyphen und Feinwurzeln vernetzen Granulate und sonstige Bodenpartikel zu **Krümeln**; vorwiegend im biologisch sehr aktiven Bereich der Krume (Ah, Aa-Horizonte).
- b) **Absonderung** („Segregierung“): Durch Quellen und Schrumpfen sondern sich - vom Kohärentgefüge des biologisch wenig aktiven Unterbodenbereiches (B und BC-Horizonte) und von grossen Aggregaten, je nach Intensität und Art der Absonderung, **Prismen** oder **Polyeder** ab.
- c) **Absonderung und Anlagerung:** Oberflächen von Absonderungen werden durch ‚Lebendverbau‘ mit organischer Substanz verwebt und belegt (z. B. Humushüllen) und werden dadurch rauer; im biologisch mässig aktiven Bereich des Unterbodens (AB-Horizonte) und der Krume (Ah-Horizonte) entstehen dadurch **Subpolyeder**.

### **Aggregatveränderungen durch anthropogene Einwirkung**

- a) **Umformung:** Während mechanischer Einwirkungen auf die Ackerkrume (Ahp-Horizonte) und den angrenzenden Unterboden (AB-Horizonte) werden natürliche Aggregattypen plastisch verformt und zusammengeballt zu **Bröckeln** oder **Klumpen** (seltener zu Platten), je nach Typ der Ursprungsaggregate und Art der Einwirkung.
- b) **Zerschlagung:** Durch das Zerschlagen von grossen Bröckeln und Klumpen, seltener von grossen Subpolyedern und Polyedern, mit Bodenbearbeitungsgeräten entstehen in der Bearbeitungsschicht (Ahp-Horizonte) **Fragmente**.

### **Aggregatzersetzung durch anthropogene und natürliche Einwirkung (‚Desaggregation‘)**

Unterstützt durch bodeneigene Zersetzungsvorgänge an Kittsubstanzen werden unter mechanischer Einwirkung der Witterung, Bodenbearbeitung, Befahrung und Beweidung Teile aus Aggregaten abgetrennt bis hin zum sog. **Restgefüge**. Es besteht aus losen Mikroaggregaten, mineralischen Einzelkörnern sowie organischen Partikeln, alle < 0,2 mm. Diese Zersetzung findet am intensivsten an der Bodenoberfläche und in Ackerkrumen (Ahp-Horizonte) mit niedrigem Ton- und Humusgehalt statt.

**Tabelle 1. Visuelle Unterscheidungsmerkmale der Aggregattypen am Beispiel der Grössenklasse 3 (5 – 10 mm)**

	Natürliche Aggregate		Anthropogen umgeformte Aggregate	Natürliche Aggregate	Anthropogen zerschlagene Aggregate
<i>Typ</i>	<b>Grosse Krümel</b>	<b>Mittlere Subpolyeder</b>	<b>Kleine Bröckel</b>	<b>Sehr kleine Polyeder</b>	<b>Mittlere Fragmente</b>
<i>Umrisse</i>	<b>unregelmässig buchtig</b>	unregelmässig, <b>teils buchtig</b>	meist <b>rundlich</b>	unregelmässig <b>rundlich bis länglich</b> (Frostgare), <b>mit Ecken</b>	<b>unregelmässig, mit Ecken</b>
<i>Achsenlängen</i>	unterschiedlich bis etwa gleich	unterschiedlich bis etwa gleich	meist etwa gleich	etwa gleich bis stark unterschiedlich	häufig stark <b>unterschiedlich</b>
<i>Kanten</i>	<b>keine</b>	<b>abgerundet</b> durch Anlagerung	meist <b>deutlich gerundet</b> durch Verformung	<b>scharf</b> bis sehr scharf	<b>sehr scharf</b> (Bruchkanten)
<i>Beschaffenheit der Oberfläche</i>	<b>extrem rau</b> bis schwammartig, matt	<b>sehr rau</b> , matt, häufig <b>dunkler als das Innere</b>	rau, <b>teils geglättet und verschmiert</b> oder <b>muschelartig gerippt</b>	rau, <b>teils glatt</b>	vorwiegend rau, mit <b>ebenen Bruchflächen, matt</b>

**Tabelle 2. Ziele und Mittel der visuellen Gefügeansprache**

<i>Ziel</i>	<i>Lösungsansatz bzw. Parameter</i>	<i>Vorgeschlagene Realisierung</i>
Standardisierung der Gefügeansprache	systematische Beschreibung der Aggregattypen mittels Entstehungsvorgängen und visueller Merkmale	Bestimmen der Aggregattypen in 7 Fraktionen, die nach Grössenklassen getrennt sind, mithilfe von Bildtafeln und verbalem Schlüssel
Ansprache des mechanischen Gefügestandes	Zusammenhalt des Gefüges Druckfestigkeit der Aggregate	Beurteilen des Gefügezusammenhaltes durch Abwurftest und der Festigkeit der Aggregate durch Fingertest in den Fraktionen
(Semi-) Quantifizierung	Ordinale Stufen der mechanischen Merkmale Gewicht bzw. Volumen der Grössenfraktionen	Gefügezusammenhalt: 5 Stufen, visuell unterschieden. Festigkeit: 5 Stufen taktil unterschieden Wägen bzw. Schätzen
Beurteilung der Gefügequalität	Qualitätseinstufung des Gefüges aufgrund der erfassten Merkmale	Bewerten der 7 Fraktionen in Abhängigkeit von Typ, Grösse und mechanischen Eigenschaften bzgl. pflanzenbaulicher Gefügequalität und anderen Indikatoren

## 2. Durchführung der visuellen Gefügeansprache

Unsere Erfahrungen mit der visuellen Gefügeansprache fassen wir in einer schematischen Darstellung zusammen (Abb. 2), die den vorgeschlagenen Ablauf zeigt.



Abbildung 2. Schematischer Ablauf der visuellen Gefügeansprache

## 3. Ausblick

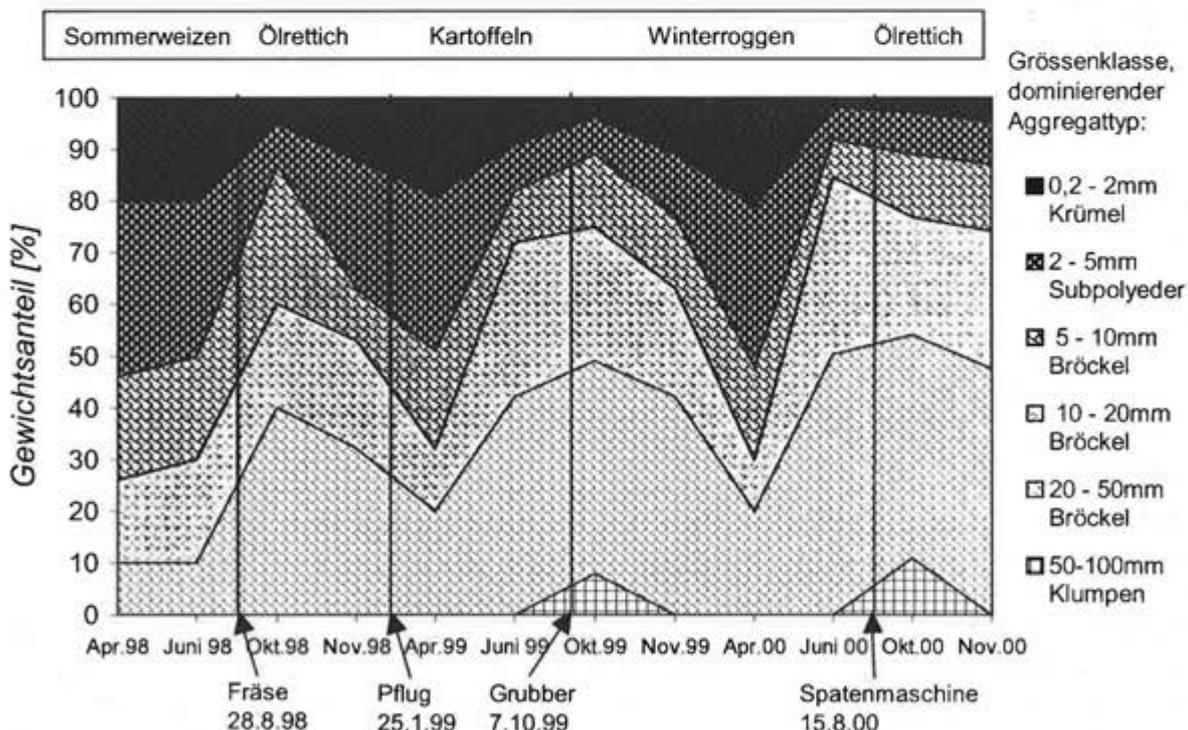
In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Klassifikation der BGS möchten wir die visuelle Gefügeansprache zu einem Standard der bodenkundlichen Standortansprache entwickeln. Für die Schriftenreihe der FAL ist eine ausführliche Publikation zur visuellen Gefügeansprache in Bearbeitung. Sie wird u.a. Bildtafeln und systematische Beschreibungen aller Aggregattypen (Beispiel in Tab. 3) bzw. Gefügeformen sowie ein Bestimmungsschlüssel und eine Anleitung zur Durchführung enthalten.

**Tabelle 3. Beschreibung des Aggregattyps „Krümel“**

Kurzbeschreibung	Typisches Vorkommen: Horizonte, Grösse	Geometrische Form	Beschaffenheit der Oberfläche	Anteil sichtbarer Poren, Vol.-%	Entstehung
Anlagerungsaggregate, vernetzt	oberste, biologisch sehr aktive Bodenschichten Ah, 0.2 - 10 mm	unregelmässig buchtige Umrisse, stark unterschiedlich lange Achsen, ohne Kanten	extrem rau bis schwammartig, matt	sehr hoch, > 10 %	Granulate, sehr kleine Bodenpartikel und infolge Wasserentzug ausgeflockte Tonminerale und Eisenoxide (=Feinkoagulate) werden mit Schleimstoffen (Polysaccharide etc.) verklebt und mit Feinwurzeln und Pilzhyphen vernetzt

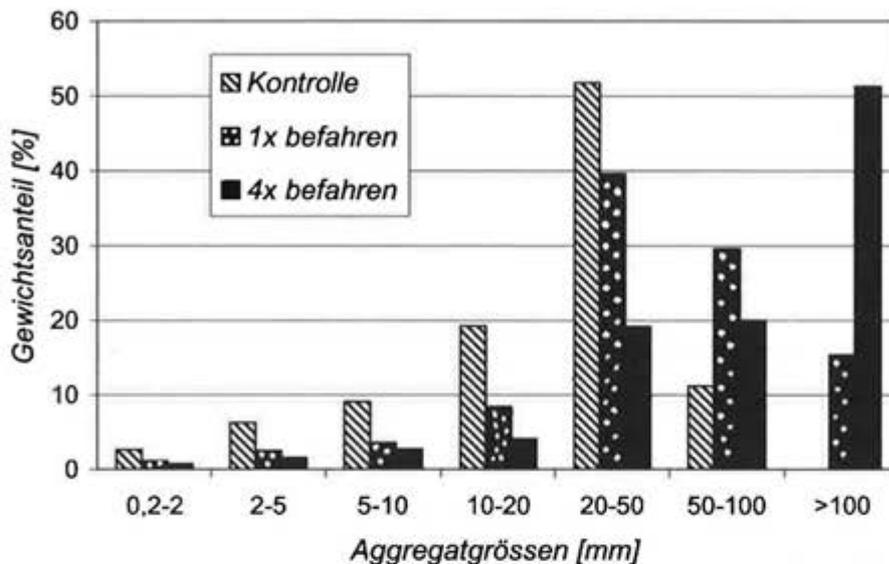
**4. Beispiele zur Anwendung der visuellen Gefügeansprache**

Die folgenden Beispiele von Anwendungen der visuellen Gefügeansprache an Versuchstandorten der FAL zeigen einige Einsatzmöglichkeiten auf. So lassen sich etwa Veränderungen der Grössenverteilung von Aggregaten durch die Einwirkung von Bodenbearbeitungsgeräten, aber auch als Folge der Gefügeregeneration in der Zeit zwischen zwei Bodenbearbeitungen (,zunehmende Aggregierung') dokumentieren (Abb. 4).



**Abbildung 4. Zeitliche Veränderung der Aggregatverteilung nach Typ und Grösse:** Gefügeentwicklung durch Umformung, Zersetzung und Neubildung von Aggregaten in der Ackerkrume Ahp einer typischen Braunerde; Rümlang ZH.

Ein zweites Anwendungsgebiet sind Belastungsvergleiche. So nahm etwa in einem Befahrungsversuch mit einem sechsreihigen Zuckerrübenvollernter die mittlere Grösse der Aggregate mit der Anzahl Überfahrten stark zu (Abb. 5).



**Abbildung 5. Zunahme der grossen Aggregate in der Ackerkrume durch das Befahren des Bodens.** Alluviale Kalkbraunerde; Frauenfeld, November 1999. 2 Wiederholungen jeweils ‚blind‘ beprobt, d.h. visuelle Gefügeansprache ohne Kenntnis des Verfahrens.

**Résumé.** Les auteurs présentent un concept de classification visuelle de la structure. Les types d'agrégats sont définis par les processus contribuant à la formation, la modification ou la destruction de la structure. Ces types correspondent aux classes traditionnelles, définies par leurs formes géométriques et leurs propriétés visuelles de surface. Une action mécanique de fractionnement des agrégats à la main ou par tamisage permet d'apprécier l'état de la structure. Elle peut être utilement validée par des répétitions dans le temps et l'espace. L'appréciation de la cohésion de l'agrégat et de la cohésion inter-agrégats se fait sur la base d'une notation de 1 à 5. Il est ainsi possible d'apprécier la structure du sol *in-situ* sur la base de la taille, du type et de la masse des fractions d'agrégats, ainsi que de leurs propriétés mécaniques.

**Summary.** A concept of visual classification of soil structure is presented. The types of aggregates are defined by the processes which form, change and destroy the soil structure. These types of aggregates correspond relatively well to the traditional classes characterized by geometrical form and visible surface qualities. Fractioning the soil sample by the size of the aggregates allows to quantitatively describe the actual status of soil structure. More reliable comparisons in time and space are possible. We judge the aggregate-strength and interaggregate-strength (scores 1 to 5). The soil structure can be evaluated *in-situ* based on mechanical properties, size and types of aggregates and on the weight of aggregate fractions.

## MULTIVARIATE ANALYSE BODENKUNDLICHER FELDDATEN

R. Budaváry<sup>1</sup>, P. Lüscher<sup>1</sup>, M. Schütz<sup>1</sup>, H. Flühler<sup>2</sup> und A. Papritz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>WSL Eidg. Forschungsanstalt, CH-8903 Birmensdorf

<sup>2</sup>Institut für terrestrische Ökologie, ETH Zürich, CH-8952 Schlieren

### Zusammenfassung

Multivariate statistische Analysen mit MULVA-5 zeigen, dass sich umfangreiche pedologische Felddatensätze mit Hilfe der Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) äusserst gut und in vielfältiger Art und Weise untersuchen lassen. Die Profile ordnen sich anhand ihrer Merkmale entlang eines Substrat- und Bodentypengradienten an. Korrelationen geben Aufschluss über zahlreiche Zusammenhänge zwischen Bodenmerkmalen untereinander sowie zwischen Bodenmerkmalen und den Standort beschreibenden Faktoren. Die Unterschiede zwischen der bisherigen Klassifikation der Böden der Schweiz und der rein mathematisch-statistischen Klassierung sind klein. Lediglich fünf von 46 Profilen unterscheiden sich. Die Unterschiede lassen sich plausibel erklären.

### Résumé

Il ressort d'analyses statistiques multivariées réalisées avec MULVA-5 que l'analyse en coordonnées principales (PCoA) est très appropriée à une étude multivariée de nombreux articles de données pédologiques recueillies sur le terrain. Les profils s'ordonnent, en fonction de leurs caractéristiques, le long d'un gradient de types de substrats et de sol. Les mises en corrélation fournissent des renseignements sur de multiples liens entre les caractéristiques du sol et entre ces caractéristiques et la station d'où les profils sont extraits. Les différences entre la classification existante des sols de la Suisse et la classification statistique-mathématique sont minimales. Seulement cinq des 46 profils ont été classés différemment. Ces différences peuvent s'expliquer facilement.

### Abstract

The principle coordinate analysis (PCoA) is very appropriate to analyse extensive pedological field records. The soil profiles are arranged by their characteristics along a gradient of soil type and of substrate. Interrelationships become visible by correlations. The differences between the Swiss soil classification and the statistical results are small. Only five of 46 profiles were classified different. The differences can be explained easily.

### 1. Einleitung

In den Jahren 1998 und 1999 wurden im Unterengadin und Münstertal 46 Referenzprofile von typisch ausgeprägten Vegetationseinheiten angesprochen. Die Auswahl der Profilstandorte erfolgte nach Kriterien der Vegetationskunde. In einer ersten Untersuchung konnte lediglich ein Zusammenhang zwischen Substrat- und Bodentyp hergeleitet werden (Budaváry, 1999). Zusammenhänge zwischen den übrigen bodenbildenden Faktoren und den Bodentypen, zwischen verschiedenen Bodenmerkmalen und Bodentypen sowie zwischen Bodenmerkmalen untereinander konnten mit Hilfe univariater Analysen nicht sichtbar gemacht werden.

Es stellt sich nun die Frage, ob wirklich keine signifikanten Zusammenhänge vorhanden sind oder ob sie mit der verwendeten Methode nicht sichtbar gemacht werden konnten. Multivariate statistische Methoden sollen eine Antwort auf diese Frage liefern. Die Arbeitsschritte bei der Beantwortung dieser Frage lassen sich wie folgt umschreiben:

- Eignungstest bodenkundlicher Felddaten für die Analyse mit multivariaten statistischen Methoden

- Darstellung von Zusammenhängen zwischen Bodenmerkmalen untereinander und zwischen Bodenmerkmalen und Standortfaktoren mit Hilfe multivariater Statistik
- Eruierung der für die Bodenbildung insbesondere Verlagerungsprozesse entscheidenden Faktoren
- Überprüfung der Klassifikationen der Böden der Schweiz mit multivariater Statistik ausgehend von den Felddaten.

## **2. Untersuchungsgebiet**

Das Untersuchungsgebiet umfasst das gesamte Unterengadin sowie das Münstertal und gehört zur Region 3 der Alpen, den sogenannten kontinentalen Hochalpen (Ott et al., 1997). Die angesprochenen Profile liegen in einer Höhe von 1070 m.ü.M. bis 1950 m.ü.M. und sind über alle Expositionen verteilt. Relief und Hangneigung variieren stark. Die Untersuchungsobjekte befinden sich sowohl in Mulden bzw. Runsen, als auch auf Kuppen und in Hanglagen, wobei Hanglagen dominieren. Die Hangneigung variiert zwischen 0% und 100%.

## **3. Methoden und Datensatz**

Die Datenerhebung im Feld wurde nach der Standardmethode der Abteilung Bodenökologie der WSL durchgeführt. Als Erhebungsgrundlage diente das Aufnahmeprotokoll Version 1 (Budaváry, 1999). Zusätzlich wurden Bodenproben im Labor bezüglich pH und z.T. Körnung analysiert. Der Datensatz umfasst 46 Profile mit jeweils 32 Merkmalsattributen pro Mineralerdehorizont (z.B. pH, Körnung, Skelettanteil etc.) und 14 Merkmalsattributen pro Auflagehorizont. Hinzu kommen 75 den Standort beschreibende Faktoren (z.B. Exposition, Klima, Hangneigung, Vegetation etc.).

Die multivariaten statistischen Auswertungen des Datensatzes werden mit dem Statistikprogramm MULVA-5 durchgeführt (Wildi, 1996), das aus der Vegetationskunde bekannt ist. Hierfür muss der Datensatz in eine für MULVA-5 taugliche Form transformiert. Im ersten Schritt wird dann mit dem Datensatz eine Ähnlichkeitsmatrix erstellt, welche unterschiedlich weiterverarbeitet werden kann. Das Ähnlichkeitsmass wird mit dem Van der Maarel's Koeffizienten berechnet (Van der Maarel, 1982). Im Falle des bodenkundlichen Felddatensatzes haben sich die Hauptkoordinatenanalyse (PCoA), die Cluster- und die Diskriminanzanalyse als geeignetste Methoden erwiesen (F-Werte nach Jancey, 1979).

## **4. Ergebnisse und Folgerungen**

### **4.1. Eignung bodenkundlicher Felddaten für die Analyse mit multivariater Statistik und Darstellung von Zusammenhängen**

Abbildung 1 zeigt, dass MULVA-5 geeignet ist, Daten aus bodenkundlichen Felderhebungen zu analysieren. Verdeutlicht wird dies durch die Anordnung der Profile entlang eines ausgeprägten Gradienten. Erst eine gerichtete Anordnung ermöglicht die Interpretation der Daten. In diesem Fall ordnen sich sogar Substrat- und Bodentypen nach einem logischen Muster an. Ausschlaggebend für Lage und Form des Gradienten sind v.a. Durchlässigkeit, Lagerungsdichte, pH, Skelettanteil und Skelettgrösse der Mineralerdeverwitterungshorizonte und des Ausgangsmaterials.

Um die Bedeutung der Diagrammachsen zu erkennen, müssen Korrelationen errechnet werden. Dabei wird für jedes einzelne Attribut die Korrelation ( $r^2$ ) zu einer der Diagrammachsen berechnet. Ob die Korrelation signifikant ist oder nicht, zeigt das 99.5%-Quantil der Student-Verteilung, welche von der Anzahl an Freiheitsgraden abhängig ist. Der Vergleich von signifikanten Korrelationen untereinander gibt über verschiedenste Zusammenhänge Aufschluss. Als Beispiel sei hier der Zusammenhang zwischen pH-Wert, Wurmtätigkeit und Humusgehalt erwähnt. Je tiefer der pH-Wert, desto geringer die Wurmtätigkeit und desto geringer der Humusgehalt (siehe Tabelle 1).

Ausgewählte Korrelationen zur x-Achse	
Merkmalsattribut	Signifikanz
Ah-Horizont - pH	-4.51
Ah-Horizont - Wurmgänge	-4.15
Ah-Horizont - Humusgehalt	-3.24

Tabelle 1: Ausgewählte Korrelationen (Signifikanzschränke: 2.68)

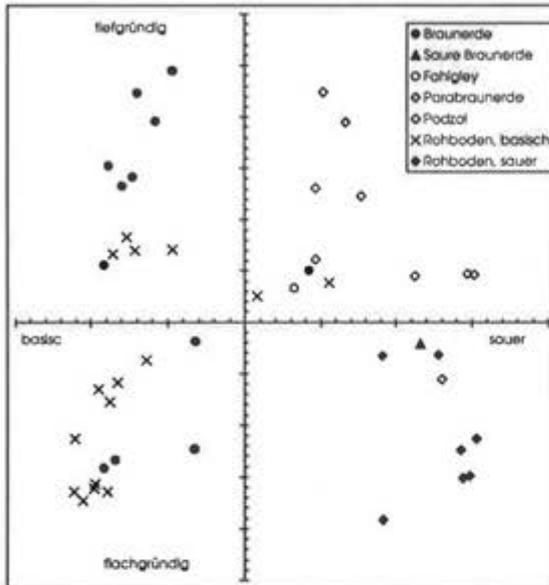


Diagramm 1: Ordination mit dem Gesamtdatensatz

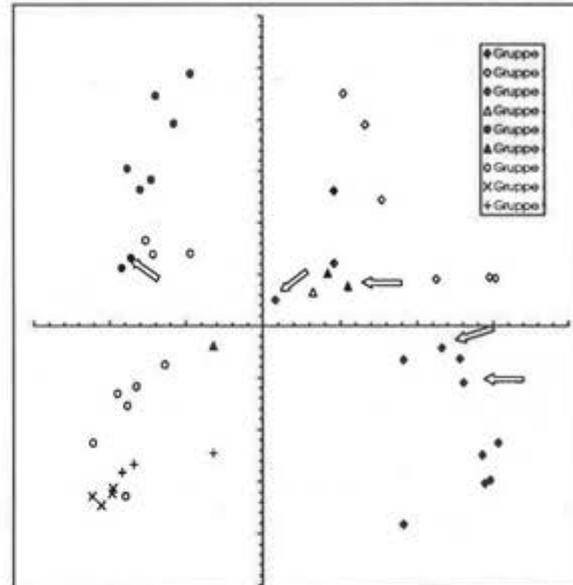


Diagramm 2: Nichthierarchische Klassierung mit Cluster- und Hauptkoordinatenanalyse

#### 4.2. Überprüfung gängiger Klassifikationssysteme mit multivariater Statistik ausgehend von den Felddaten

Die Klassierung in Diagramm 2 wurde mit Hilfe der Clusteranalyse in Kombination mit der Hauptkoordinatenanalyse erstellt. Vergleicht man die rein statistisch-mathematische Klassierung mit jener der Klassifikation der Böden der Schweiz (Arbeitsgruppe Klassifikation, 1992) in Diagramm 1 fällt eine recht hohe Übereinstimmung auf. Werden neun Gruppen gebildet (Gruppenbildung mit Hilfe einer hierarchischen Klassierung), unterscheiden sich insgesamt fünf von 46 Profilen bezüglich der Klassierung (Markierung mit Pfeil).

Die neun Gruppen entsprechen in etwa folgenden Bodentypen:

Gruppe	Bodentyp	Anzahl Profile
1	Saure Rohböden	9
2	Podsole	6
3	Podsole	3
4	Gley	1
5	Braunerden	8
6	Braunerden	3
7	Basische Rohböden	9
8	Basische Rohböden	4
9	Braunerden	3

Tabelle 2: Gruppen der Clusteranalyse

Bei den Abweichungen handelt es sich um Problemprofile:

- Profil 9185 (Gruppe 1): 38 cm mächtiger Bfe-Horizont, aber kein Auswaschungshorizont
- Profil 9142 (Gruppe 1): gestörter Oberboden, da Fremdmaterial eingetragen wurde. Begrabener B-Horizont
- Profil 9133 (Gruppe 3): Materialeintrag von oben (Strasse), Bodenprofil gestört

- Profil 9108 (Gruppe 5): bis 35 cm verbraunt→nahe bei 40 cm Grenzkriterium für Klassierung in Rohboden oder Braunerde
- Profil 9541 (Gruppe 6): bis 32 cm verbraunt→nahe bei 40 cm Grenzkriterium für Klassierung in Rohboden oder Braunerde

#### 4.3. Eruierung der für die Verlagerungsprozesse entscheidenden Faktoren

Die Reduktion des Datensatzes auf jene Faktoren, welche für allfällige Verlagerungsprozesse respektive für die Bodenbildung hauptsächlich verantwortlich sind, erfolgt mit Hilfe der Rangierung nach F-Werten. Der Datensatz lässt sich so bis auf die pH-Werte des Ausgangsmaterials (Horizonte C, Cv) und der Mineralerdeverwitterungshorizonte (Horizonte B, Bv, Bfe, Bh, Bt, Bb) reduzieren, ohne dass das Aussehen der Ordination wesentlich verändert wird (siehe Diagramme 1 und 2). Eine weitere Kürzung im Bereich der Horizonte ist nicht mehr möglich, da sich in diesem Fall Lage und Form des Gradienten so stark verändern, dass kein Zusammenhang mehr zur ursprünglichen Ordination besteht.

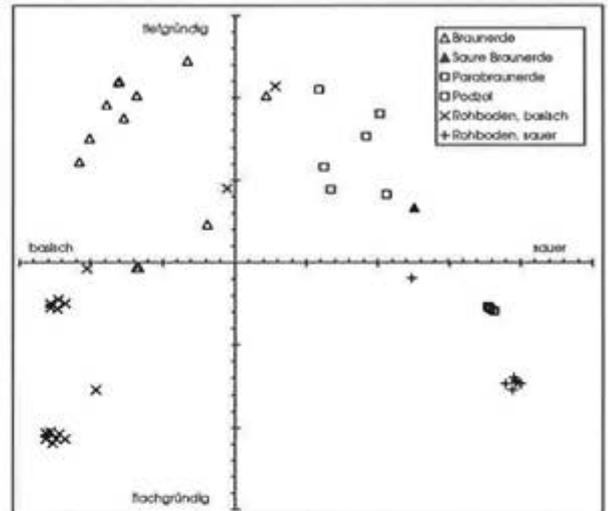


Diagramm 3: Ordination mit dem reduzierten Datensatz

#### 5. Ausblick

MULVA-5 stellt in der Analyse bodenkundlicher Datensätze eine neue Methode mit äusserst vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten dar. Die Haupteinsatzgebiete von MULVA-5 im Zusammenhang mit Bodendaten sehen wie folgt aus:

- Analyse von Feld- und Labordatensätzen verschiedener Regionen
- Analyse kombinierter Datensätze (Boden- und Vegetationsdaten), um detaillierte Erkenntnisse über Zusammenhänge zwischen Vegetation und Bodenmerkmalen zu gewinnen
- Beantwortung unterschiedlichster Hypothesen und spezifischer Fragestellungen rund um den Boden

#### 6. Literatur

- Budaváry R., 1999. Böden im Unterengadin und Münstertal – Beschreibung und Charakterisierung von 46 Bodenprofilen. Untersuchung an der Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft, Abteilung Bodenökologie, unveröffentlicht.
- Ott E., Frehner M., Frey H.-U., Lüscher P., 1997. Gebirgsnadelwälder. Haupt, Bern-Stuttgart-Wien.
- Jancey R.C., 1979. Species ordering on a variance criterion. *Vegetatio* 39, 59-63.
- Van der Maarel E., 1982. On the Manipulation and Editing of Phytosociological and Ecological Data. *Vegetatio* 50: 71-76.
- Wildi O., Orlóci L., 1996. Numerical exploration of community patterns. A guide to use MULVA-5. SPB Acad. Publ., The Hague.
- Arbeitsgruppe Klassifikation und Nomenklatur der bodenkundlichen Gesellschaft der Schweiz, 1992. Klassifikation der Böden der Schweiz. FAL, Zürich.





## Publikationen der Bodenkundlichen Gesellschaft der Schweiz

**Bestellungen, Versand:** Landw. Lehrmittelzentrale LMZ  
Länggasse 79  
3052 Zollikofen  
Tel. 031 911 06 68  
Fax 031 911 49 25  
E-Mail [lmz@pop.agri.ch](mailto:lmz@pop.agri.ch)  
Internet <http://surf.agri.ch/lmz>

**BGS-Bulletins** Preis: Fr. 15.- (ab No. 24 Fr. 25.-) pro Stück **ohne** Porto und Verpackung

Nummer	Jahr	Bestellnummer	Nummer	Jahr	Bestellnummer
3	1979	970 801	17	1993	970 814
5	1981	970 802	18	1994	970 815
6	1982	970 803	19	1995	970 816
8	1984	970 805	20	1996	970 817
11	1987	970 808	21	1997	970 818
12	1988	970 809	22	1998	970 819
14	1990	970 811	23	1999	970 870
15	1991	970 812	24	2000	970 871
16	1992	970 813	25	2001	970 872

No. 1, 2, 4, 7, 9, 10 und 13 vergriffen

**BGS-Dokumente** Preis: Fr. 15.- (ab No. 9 Fr. 25.-) pro Stück **ohne** Porto und Verpackung

Nummer	Jahr	Thema	Bestellnummer
1 f	1984	Exploitation du gravier et agriculture	970 840
2 f	1985	Estimation et protection des sols	970 841
3 d	1986	Bodenschädigung durch den Menschen	970 822
4 d	1989	Lysimeterdaten von schweizerischen Messstationen	970 823
5 d	1994	Aktuelle Bodenforschung in der Schweiz	970 824
6 d	1995	Aktuelle Bodenforschung in der Schweiz II	970 825
7 d	1995	Aktuelle Bodenforschung in der Schweiz III	970 826
8 d	1996	Aktuelle Bodenforschung in der Schweiz IV	970 827
9 d	1999	Physikalischer Bodenschutz	970 828
9 f	1999	Protection des sols contre les atteintes physiques	970 842
10 d	2000	Umfrage Bodenkartierung	970 829
11 d	2001	Bodenkunde und Bodenkundler in der Schweiz 1855 – 1962	970 830

No. 1 und 2 deutsch vergriffen

**Weitere Publikationen** Preis: Fr. 15.- pro Stück **ohne** Porto und Verpackung

Exkursionsführer ISSS 1986 (Alpentransversale)	Bestellnummer	970 860
Gefährdete organische Böden der Schweiz (1982)		970 861

