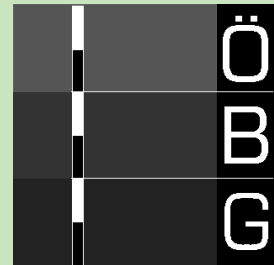


**Mitteilungen  
der  
Österreichischen  
Bodenkundlichen Gesellschaft**



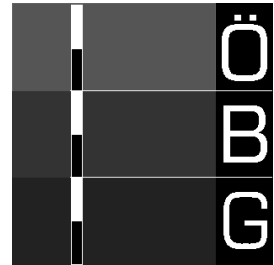
**Heft 82**

**Wien**

**2015**



**Mitteilungen  
der  
Österreichischen  
Bodenkundlichen Gesellschaft**



**Heft 82  
Wien  
2015**

### **Impressum**

Alle Rechte vorbehalten. © 2015

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks, der Herstellung von Mikrofilmen und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten.

Eigentümer; Herausgeber und Verleger:

Österreichische Bodenkundliche Gesellschaft

Peter-Jordanstr. 82b, 1190 Wien

Redakteur: Michael Englisch

ISSN 0029-893-X

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Nachruf auf DI Wilhelm Schneider</b> von Peter Nelhiebel.....	5
<b>Christoph REITSCHULER &amp; Paul ILLMER:</b> MOONMILK – Leben im Berg.....	7
<b>Katrin M. HOFMANN &amp; Paul ILLMER:</b> Saisonale Unterschiede von mikrobiellen Aktivitäten und Nährstoffkonzentrationen in Böden entlang einer Chronosequenz in den Zentralalpen.....	13
<b>Evi DELTEDESCO, Lisa-Maria BAUER, Hans UNTERFRAUNER, Robert PETICZKA, Franz ZEHETNER &amp; Katharina M. KEIBLINGER:</b> Effekt von Kalkungsmaßnahmen auf die Strukturstabilisierung und Mikrobiologie von landwirtschaftlichen Böden.....	19
<b>Julia MOLNAR, Rainer WEISSHAIDINGER &amp; Robert PETICZKA:</b> Bodenerosion durch Wasser auf Teneriffa und im Wienviertel – Wahrnehmung von Abtrag und Handlungsmöglichkeiten durch biologisch und konventionell wirtschaftende Kartoffelbaubetriebe.....	27
<b>Erich INSELBACHER, Olusegun Ayodeji OYEWOLE, Richard BRACKIN, Susanne SCHMIDT &amp; Torgny NÄSHOLM:</b> Soil organic supply from the perspective of a root – a microdialysis approach.....	33
<b>Marie-Luise WOHLMUTH:</b> The Humus-Trend-Scale: A method to get a feeling for humus dynamics in soil.....	41



## **Nachruf auf DI Wilhelm Schneider**

von Peter Nelhiebel

Willi Schneider hat uns überraschend viel zu früh verlassen. Obwohl ich genau weiß, dass es Willi nicht gewollt hätte, möchte ich ihn doch mit dem vollen verdienten Titel nennen. Hofrat Dipl. Ing. Willi Schneider ist von uns gegangen.

Als langjähriger Freund -50 Jahre - und Kollege - 40 Jahre - möchte ich aus meiner persönlichen Sicht ein Bild dieses Menschen entwerfen.

Willi war ein stiller, bescheidener, oft humorvoller seelensguter Familienmensch.

Er war auch ein richtiger Sportler. In der Jugend aktiver Fußballspieler und was besonders bemerkenswert für einen Flachländer ist, ein ausgezeichneter Schifahrer, der zudem auf diesem Gebiet außerordentlich pädagogisch begabt war: seine Familie und Freunde haben davon profitiert. Schischule Schneider Sierndorf/March haben wir, seine Freunde, oft gesagt.

In seinem Beruf war dieser sensible, zurückhaltende Kollege ein Vorbild an Gewissenhaftigkeit, Einsatzfreude und Hilfsbereitschaft. Als Feldebodenkundler war er ein genauer nachdenklicher Naturbeobachter, der auf diese Weise oft zu neuen Erkenntnissen in Fragen der Entstehung der Böden und ihrer Beschaffenheit gelangte. Er war ein hervorragender Kenner der österr. Bodenlandschaft, vor allem jener Niederösterreichs. Wobei ihm das Weinviertel besonders ans Herz gewachsen war.

Meist aus dem Hintergrund, er drängte sich ja nie vor, gab er seine profunden Kenntnisse preis. Sei als einschulender Bodenkartierer, oder später als Abteilungsleiter oder noch später als Mitglied der Arbeitsgruppe „Bodensystematik“ bei der ÖBG. Es ging ihm immer um die Sache, nie um seine Person.

Zu betonen ist sein immerwährender Einsatz für die Interessen seiner Dienststelle. Dies selbst noch im Ruhestand als Leiter internationaler bodenkundlicher Fachexkursionen. Willi, der so still und zurückhaltend wirkte, setzte sich leidenschaftlich für die Belange des Bodens ein, auch in der Zusammenarbeit mit anderen Staaten. Ich erwähne nur die österreichisch ukrainische Zusammenarbeit Ende der 90er Jahre.

Leider erlosch dieser engagierte Wissensaustausch bald, was Willi sehr bedauerte. Nun fehlt uns dieser leidenschaftliche Kämpfer für die Belange des Bodens.

Im Namen aller Bodenkundler, insbesondere aller Kollegen der ehemaligen Bundesanstalt für Bodenkultur, die deine berufliche Heimat war, sage ich dir, lieber Willi, Adieu.





# MOONMILK – Leben im Berg

Christoph REITSCHULER und Paul ILLMER

Institut für Mikrobiologie, Leopold-Franzens Universität Innsbruck,  
Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck  
Christoph.Reitschuler@uibk.ac.at, Paul.Illmer@uibk.ac.at

## Zusammenfassung

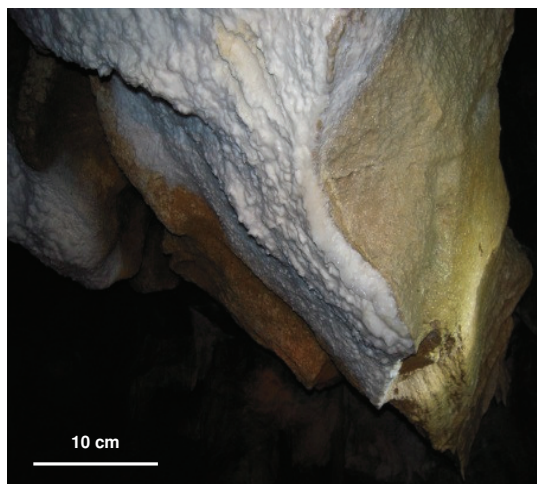
Moonmilk oder Bergmilch bezeichnet plastische sekundäre Mineralablagerungen innerhalb von Höhlen. In den Fokus mikrobiologischen Interesses gelangten diese weltweit anzutreffenden Calcit-Präzipitate nachdem man erkannte, dass eine erstaunlich komplexe mikrobielle Gemeinschaft in diesem extremen, oligotrophen Habitat anzutreffen und wahrscheinlich an deren Bildung beteiligt ist. Die bis dato durchgeführten Studien sind jedoch lückenhaft (geographisch, als auch inhaltlich) und zahlreiche Fragen bleiben unbeantwortet. In der vorliegenden Studie wurden Moonmilk-Ablagerungen einer inmitten der Alpen (Tirol, Österreich) gelegenen Höhle, mittels einer Kombination aus Kulturtechnik und Molekularbiologie untersucht.

## Summary

The term moonmilk describes plastic secondary mineral deposits within caves all around the world. These calcite precipitates were put into focus of microbiological interest when it was recognized, that an astonishing complex microbial community is associated with this extreme and oligotrophic habitat. It's also likely, that these organisms are involved in the formation of moonmilk. However, studies carried out up to now are fragmentary (geographically as well as with regards to content) and various questions remain unanswered. In the present study moonmilk deposits of an Alpine cave (Tyrol, Austria) were investigated with a combination of culturing technique and molecular biological approach.

## 1. Moonmilk?!

Der Begriff Moonmilk (im Deutschen: Bergmilch) stammt aus der Geologie, genauer gesagt der Speleologie (Höhlenkunde), und bezeichnet weiche sekundäre Mineralablagerungen (Speleotheme) innerhalb von Höhlen (Abb.1). Moonmilk ist zumeist weiß, kann jedoch auch in gelblich bis rötlich-braunen Varianten auftreten. Die makroskopischen Ausprägungen reichen von plastisch-homogenen bis knollig-/„Popcorn“-artigen Erscheinungsformen (CAÑAVARAS et al. 2006).



Moonmilk tritt zumeist subaerial (luftexponiert) auf, kann jedoch auch subaquatisch in Form sogenannter „Cottonballs“, in „Pools“ (kleinen Höhlenseen), vorkommen (Curry et al. 2009). Der überwiegende Teil von Moonmilk besteht aus Calcit-Kristallen ( $\text{Ca}[\text{CO}_3]$ ). Daneben können auch andere Minerale, wie Aragonit, Hydromagnesit und Gips, enthalten sein (PORTILLO & GONZALEZ 2011). Der Wassergehalt variiert in etwa zwischen 40 und 96 %, was die hohe Plastizität erklärt (CURRY et al. 2009).

Abb.1: Moonmilk innerhalb der Hundalm Höhle (Tirol, Österreich).

Mikroskopisch betrachtet, setzt sich Moonmilk aus einem Netzwerk feinsten Calcit-Fasern, extrazellulärer organischer Polymere (EPS) sowie solitärer und filamentöser Mikroorganismen zusammen (BARTON & JURADO 2007). Die Beteiligung von Mikroorganismen an der Entstehung von Moonmilk wird zwar seit Längerem vermutet, umfassendere Untersuchungen diesbezüglich wurden jedoch erst in den vergangenen zehn Jahren unternommen. Studien fanden u. a. in Irland (ROONEY et al. 2010), Italien (PAOLETTI et al. 2011), Mexiko (NORTHUP et al. 2000), Slowenien (MULEC 2008), Spanien (CUEZVA et al. 2009) und den USA (CURRY et al. 2009) statt, bis dato jedoch noch nicht in Österreich.

## **2. Mikrobielle Gesteinsbildung – Moonmilk: ein Organomineral**

Das Besondere und Herausragende an weltweit anzutreffenden Moonmilk-Vorkommen (ROONEY et al. 2010), ist die enge Vergesellschaftung von Mikroorganismen mit diesen Calcit-Ablagerungen. Nach aktuellsten Forschungen wird davon ausgegangen, dass mikrobielle Organismen eine entscheidende Rolle im Zuge der Moonmilk-Bildung einnehmen. Die genaue Funktion die den Organismen dabei zukommt, ist Gegenstand derzeitiger Forschung. Die plausibelsten Erklärungen sind jedoch, dass Mikroorganismen entweder direkt eine Präzipitation von Calcit, infolge metabolischer Aktivität bewirken, oder, dass es zur indirekten Kristallisation an mikrobiellen Oberflächen kommt (CAÑAVARAS et al. 2006).

Ein mögliches Szenario das die Bildung von Moonmilk beschreibt, sieht vor, dass eine mikrobielle Kolonisation von außerhalb der Höhle, über Sickerwasser, ihren Ursprung nimmt. Auf gleiche Weise erfolgt der Eintrag organischer Nährstoffe in die üblicherweise oligotrophen Höhlensysteme und gewährleistet so die Energieversorgung heterotropher Lebensformen (CUEZVA et al. 2009). Oligotrophie ist definiert als das Vorkommen von weniger als 2 mg an TOC (Total Organic Carbonate) pro Liter. In Höhlen liegen durchschnittliche Werte im Bereich von 0,02 – 0,5 mg/L (BARTON & JURADO 2007). Im Zuge mikrobieller Aktivität, die eine pH-Wert Erhöhung auf über 8 zur Folge hat, kann es in  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{CO}_3^{2-}$ -gesättigten Lösungen, unter erhöhtem  $\text{CO}_2$ -Partialdruck, zu einer Übersättigung und in weiterer Folge zur Calcit-Kristallisation kommen (CAÑAVARAS et al. 2006). Die im Laufe der Kristallisation zunehmenden mechanisch-biologischen Kräfte führen zum Zusammenbruch der Calcit-Fibrillen. Mit zunehmender Verdichtung und Bildung sekundärer Kristallstrukturen entsteht im Inneren der Moonmilk ein eigenes Mikrohabitat, welches durch ein hohes Wasserrückhaltepotehtial und eine deutliche Aktivitätsabnahme gekennzeichnet ist (PORTILLO & GONZALEZ 2011). Grund hierfür sind der Abschluss der Mikroorganismen von der Außenwelt und somit das Abschneiden dieser von  $\text{O}_2$ - und Nährstoffzufuhr (CAÑAVARAS et al. 2006).

## **3. Mikrobielle Höhlenbewohner**

Es ist anzunehmen, dass indigene mikrobielle Gesellschaften und gänzlich neuartige Mikroorganismen in Höhlensystemen anzutreffen sind (NORTHUP & BOSTON 2005). Auch wenn man davon ausgeht, dass derartige mikrobielle Biozönosen von heterotrophen Organismen dominiert sein dürften (CUEZVA et al. 2009), sind auto- und oligotrophe Mikroorganismen von besonderem Interesse, da diese Organismen zumeist über raffinierte und hoch-spezialisierte Fähigkeiten zur Energiegewinnung und -konservierung verfügen (BARTON 2006). Grundsätzlich ist zu sagen, dass die mikrobielle Diversität und Abundanzen je nach Höhle und Standort erheblich variieren können (BARTON & JURADO 2007). Abundanzen von  $10^2$  bis  $10^6$  Zellen pro g Moonmilk wurden bestimmt (BARTON & JURADO 2007, CURRY et al. 2009, MULEC 2008). Solche hohe Zellzahlen sind

üblicherweise in Böden anzutreffen und überraschen in einem derart nährstoffarmen Habitat (CURRY et al. 2009)!

Bis dato konnten in Moonmilk-Proben bakterielle Vertreter der Gruppen (Gattungen) Actinobacteria (*Pseudonocardia*, *Propionibacterium*), Alphaproteobacteria (*Sphingomonas*, *Methylobacterium*), Betaproteobacteria (*Aquabacterium*), Gammaproteobacteria (*Pseudomonas*), Epsilonproteobacteria und Chloroflexi (CURRY et al. 2009, PORTILLO & GONZALEZ 2011), sowie mesophile Archaea (CAÑAVARAS et al. 2006, NORTHUP & BOSTON 2005) als auch psychrophile Crenarchaeota nachgewiesen werden (GONZALEZ et al. 2006). Das Auftreten von Pilzen ist ebenfalls dokumentiert (ROONEY et al. 2010), jedoch nicht in dem Umfang wie für Prokaryoten (BARTON & NORTHUP 2007).

Sickerwasser gilt als die wahrscheinlichste bzw. relevanteste Form wie Mikroorganismen in Höhlensysteme eindringen können (ROONEY et al. 2010). Es ist belegt, dass einige bodenbewohnende Bakterien zur  $\text{CaCO}_3$ -Präzipitation in der Lage sind (CURRY et al. 2009) - ein Indiz für die Herkunft gewisser Moonmilk-Bewohner. Daneben ist ein mikrobieller Input auch über Luftzirkulationen, in Verbindung mit Hydroaerosolen und Adhäsions-Partikeln (CUEZVA et al. 2009), und tierische Vektoren vorstellbar (MULEC 2008). Auch ein anthropogener Eintrag ist nicht außer Acht zulassen (BARTON 2006).

#### **4. Mikrobiologen in fremdem Habitat**

Die Geomikrobiologie, in die auch die Disziplin der mikrobiologischen Höhlenkunde („Speleomikrobiologie“) fällt, ist eine junge Wissenschaft, die sich in den 1990er Jahren zu formieren begann (BARTON & NORTHUP 2007). Die steigende Zahl an Publikationen bestätigt, dass in diesem Bereich ein verstärktes Interesse wahrzunehmen ist. Nicht zuletzt deswegen, weil ein unmittelbarer Nutzen für den Menschen, durch Entdeckung neuer Arten bzw. neuer biochemischer Prozesse, in Bereichen wie Bergbau, Recycling, Biotechnologie oder in bisweilen nicht angedachten Sparten daraus resultieren könnte.

##### **4.1. Dem Leben im Gestein auf die Spur kommen...**

Um Leben in Moonmilk auf die Spur zu kommen und herauszufinden um welche Organismen es sich im Genauen handelt, wurde in früheren Untersuchungen vorwiegend versucht, diese auf entsprechenden Nährmedien anzuzüchten. Die besten Ausbeuten lieferten dabei definierte Minimalmedien unter Verwendung von Wasser und mineralischen Partikeln vom entsprechenden Fundort (NORTHUP & BOSTON 2005). Der große Vorteil der Kultivierung besteht darin, dass theoretisch bereits eine einzelne lebende Zelle zur Detektion ausreicht, während für die meisten molekularbiologischen Analysen DNA in höheren Quantitäten, als sie eine einzelne Zelle liefern könnte, erforderlich ist. Desweiteren besteht bei positiver Anzucht die Möglichkeit Organismen, sofern sie nicht auf syntrophe Interaktionen mit anderen Lebensformen angewiesen sind, in Reinkultur zu halten und diese besser untersuchen zu können. Da im durchaus extremen und oligotrophen Habitat Moonmilk jedoch von einer komplexen, mutualistischen Biozönose ausgegangen werden kann, ist eine ausschließliche Reinkultivierung nicht unbedingt zweckmäßig (BARTON & JURADO 2007). Es wird angenommen, dass weniger als 1 % aller auf der Erde vorkommenden Mikroorganismen zurzeit kultivierbar sind (NORTHUP & BOSTON 2005). Eine Unterschätzung der Artenvielfalt, mittels ausschließlicher Kultivierung, ist somit gegeben (ROONEY et al. 2010). Bei Analysen von Umweltproben hinsichtlich mikrobieller Zusammensetzung haben sich in den letzten Jahrzehnten immer mehr molekularbiologische Methoden etabliert. Diese vorwiegend auf DNA-basierter Detektion und Analyse ausgerichteten Untersuchungsansätze erlauben es nicht-kultivierbare und bereits abgestorbene Organismen nachzuweisen (NORTHUP & BOSTON 2005).

In der vorliegenden Studie wurde versucht, mittels einer Kombination von Kulturtechnik und DNA-Analyse den mikrobiellen Vorgängen rund um das Gebilde Moonmilk auf die Spur zu kommen.

## 4.2. Tiroler Höhlenbewohner

Im Zuge einer Kooperation der Arbeitsgruppen um Dr. Paul Illmer, vom Institut für Mikrobiologie (LFU Ibk), und Dr. Christoph Spötl, vom Institut für Geologie (LFU Ibk), sollte erstmals das Vorkommen von Mikroorganismen in Moonmilk-Ablagerungen in Tirol (Österreich) in einer inmitten der Alpen gelegenen Höhle genauer untersucht werden. Proben von insgesamt zehn verschiedenen Standorten und variierenden Tiefen wurden hierzu im Oktober 2010 aus dem eisfreien Bereich der Hundalm Eis- und Tropfsteinhöhle, im Tiroler Unterland (bei Wörgl), entnommen.

Die Anzucht von Mikroorganismen gelang lediglich auf einem Komplexmedium das Hefeextrakt enthält bei einer Bebrütungstemperatur von 10 °C über mehrere Wochen hinweg, wohingegen auf sechs alternativen, zum Teil speziell für oligotrophe Mikroorganismen entwickelten, Medien kein mikrobielles Wachstum feststellbar war.

14 Moonmilk-Proben sowie acht isolierte Reinkulturen wurden molekularbiologisch untersucht. Nach erfolgter DNA-Extraktion wurde die gereinigte Nukleinsäure mittels Gelelektrophorese, spektrophotometrischer (NanoDrop®) und fluorospektrometrischer (PicoGreen®) Analytik hinsichtlich Qualität und Quantität untersucht. In den nachfolgenden Schritten sollte in einer PCR nachgewiesen werden, ob generell Vertreter der mikrobiellen Domänen Archaea, Bacteria und Fungi in den Moonmilk-Proben vorhanden sind bzw. waren. Während in keinen der Proben Pilze nachgewiesen werden konnten, wurde für insgesamt sechs Moonmilk-Proben das Vorkommen von Bacteria als auch Archaea bestätigt. Bei sämtlichen Reinkulturen handelte es sich um Bacteria. Weiters sollte in unserer Studie ein Überblick über die ungefähre Artenvielfalt und –zusammensetzung mittels DGGE (Denaturing Gradient Gele Electrophoresis) – einer Methodik bei der DNA-Amplifikate gleicher Größe, aber unterschiedlicher Basenzusammensetzung und –kombination getrennt werden können – geschaffen werden. Was sich aus den DGGE Ergebnissen ableiten lässt ist, dass eine erstaunlich komplexe und diverse, mit Moonmilk assoziierte, mikrobielle Gemeinschaft innerhalb der Hundalm Höhle

anzutreffen ist (Abb.2). Diese Annahme deckt sich mit ähnlichen Studien (BARTON & JURADO 2007, NORTHUP et al. 2000). Es ist anzunehmen, dass die Artendiversität innerhalb der Bacteria höher ist als jene von Archaea. Es ist belegt, dass sich unter extremen Ressourcenmangel erstaunlich komplexe mikrobielle Biozöosen mit mehreren hundert verschiedenen Arten ausbilden können. Eine Erklärung hierfür ist, dass in derartigen Gesellschaften ein mutualistischer Energiekreislauf, anstelle einer

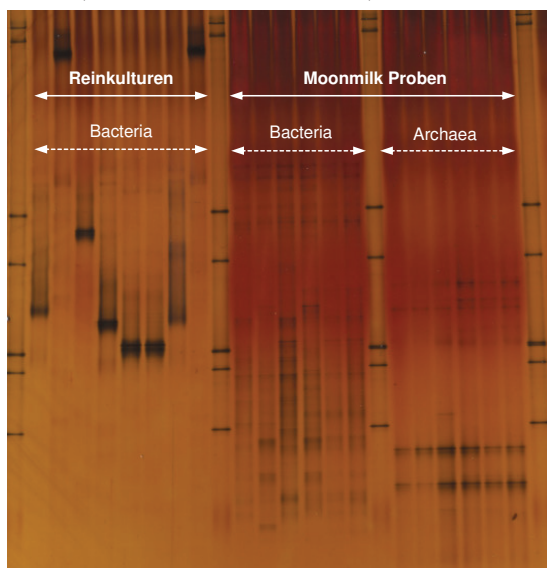


Abb.2: Mikrobielle Diversitätsanalyse mittels PCR/DGGE. Eine hohe Bandenzahl pro Laufspur weist auf eine hohe organismische Diversität hin.

kompetitiven Nahrungspyramide, wie es in eutrophen mikrobiellen Systemen häufig der Fall ist, tritt (BARTON & JURADO 2007). Viele hoch-spezialisierte Organismen kooperieren in gegenseitigem Nutzen unter allein nicht-bewältigbaren Umweltbedingungen, während im Überfluss wenige konkurrenzstarke Vertreter dominieren.

Abschließend wurde DNA der Reinkulturen sequenziert, um einzelne Arten identifizieren zu können. Bis dato konnten folgende Organismen (Bacteria) in Moonmilk der Hundalm Höhle nachgewiesen werden: *Brevundimonas subvibrioides*, *Flavobacterium omnivorum* und (*Paeni*-)*Sporosarcina macmurdoensis*. Desweiteren konnten Arten detektiert werden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit den Gattungen *Arthrobacter* und *Paenibacillus* zuzuordnen sind.

Anhand dessen, dass in jener Moonmilk-Probe die im Zuge der kulturtechnischen Ansätze zur Anzucht von einigen Reinkulturen führte, zwar DNA, jedoch kein mikrobieller Ursprung dieser, nachgewiesen werden konnte, gleichzeitig aber wesentlich mehr unterschiedliche Spezies mittels molekularbiologischer Analytik detektiert wurden als es über den Kultivierungsansatz, zeigt sich, dass bei Untersuchungen mikrobieller Habitate stets verschiedene, komplementäre Untersuchungsansätze Anwendung finden sollten. Nur so ergibt sich ein umfangreicheres und vollständigeres Bild mikrobieller Gesellschaften (ROONEY et al. 2010).

## 5. Moonmilk – Forschungsobjekt mit Zukunft?

Höhlen bieten aufgrund der zumeist stabilen Umweltbedingungen innerhalb dieser, insbesondere durch die niedrige thermale Oszillation und die konstant hohe Luftfeuchtigkeit, eine ideale Umgebung um biotischen Prozesse die zur Biomineralisation und Gesteinsumwandlung führen, studieren und besser verstehen zu können (CAÑAVARAS et al. 2006). Ebenso können die Anpassungen an Hunger (Oligotrophie) anhand dieses Ökosystems erforscht werden (BARTON & JURADO 2007).

Das Phänomen der Biomineralisation und die Beteiligung diverser Mikroorganismen daran sind bekannt, wie jedoch das Ökosystem Moonmilk letztendlich funktioniert ist vorläufig unklar (CUEZVA et al. 2009). Eine wesentliche Fragestellung betrifft die Energieversorgung, den Input an Nährstoffen und natürlich die Mikroorganismen selbst, was in Summe mikrobielles Leben assoziiert mit Moonmilk-Ablagerungen möglich werden lässt (CURRY et al. 2009). Auch wenn man als primäres Trophieniveau und Pionierorganismen autotrophe und chemolithotrophe Organismen annimmt (CAÑAVARAS et al. 2006, CURRY et al. 2009), sind laut Literatur (CUEZVA et al. 2009, CURRY et al. 2009, PORTILLO & GONZALEZ 2011) und der vorliegenden Untersuchung in der Hundalm Höhle heterotrophe Organismen in Moonmilk vorhanden bzw. damit assoziiert. Ob sich deren ernährungsphysiologisches Dasein allein über das Vorhandensein von Primärproduzenten erklären lässt oder, ob externe Quellen organische Verbindungen in dieses System einbringen, ist Gegenstand derzeitiger Untersuchungen.

## 6. Literatur

BARTON H. A. and JURADO V. (2007): What's up down there? Microbial diversity in caves. *Microbe* 2, 132 – 138.

BARTON H. A. and NORTHUP D. A. (2007): Geomicrobiology in cave environments: Past, current and future perspectives. *Journal of Cave and Karst Studies* 69, 163 – 178.

BARTON H. A. (2006): Introduction to cave microbiology: A review for the non-specialist. *Journal of Cave and Karst Studies* 68, 43 – 54.



CAÑAVARAS J. C., CUEZVA S., SANCHEZ-MORAL S., LARIO J., LAIZ L., GONZALEZ J. M., SAIZ-JIMENEZ C. (2006): On the origin of fiber calcite crystals in moonmilk deposits. *Naturwissenschaften* 93, 27 – 32.

CUEZVA S., SANCHEZ-MORAL S., SAIZ-JIMENEZ C., CAÑAVARAS J. C. (2009): Microbial communities and associated mineral fabrics in Altamira Cave, Spain. *International Journal of Speleology* 38, 83 – 92.

CURRY M. D., BOSTON P. J., SPILDE M. N., BAICHTAL J. F., CAMPELL A. R. (2009): Cottonballs, a unique subaqueous moonmilk, and abundant subaerial moonmilk in Cataract Cave, Tongass National Forest, Alaska. *International Journal of Speleology* 38, 111 – 128.

GONZALEZ J. M., PORTILLO M. C., SAIZ-JIMENEZ C. (2006): Metabolically active Crenarchaeota in Altamira Cave. *Naturwissenschaften* 93, 42 – 45.

MULEC J. (2008): Microorganisms in hypogean: Examples from Slovenian Karst caves. *Acta Carsologica* 37, 153 – 160.

NORTHUP D. E. and BOSTON P. J. (2005): Microbial speleology: Opportunities and challenges. *National Cave and Kart Management Symposium*. 27 – 34.

NORTHUP D. E., DAHM C. N., MELIM L. A., SPILDE M. N., CROSSEY L. J., LAVOIE K. H., MALLORY L. M., BOSTON P. J., CUNNINGHAM K. I., BARNS S. M. (2000): Evidence for geomicrobiological interactions in Guadalupe Caves. *Journal of Cave and Karst Studies* 62, 80 – 90.

PAOLETTI M. G., BEGGIO M., DREON A. L., PAMIO A., GOMIERO T., BRILLI M., DORIGO L., CONCHERI G., SQUARTINI A., SUMMERS ENGEL A. (2011): A new foodweb based on microbes in calcitic caves: The *Cansiliella* (beetles) case in Northern Italy. *International Journal of Speleology* 40, 45 – 52.

PORTILLO M. C. and GONZALEZ J. M. (2011): Moonmilk deposits originate from specific bacterial communities in Altamira Cave (Spain). *Environmental Microbiology* 61, 182 – 189.

PORTILLO M. C. and GONZALEZ J. M. (2010): Differential effects of distinct bacterial biofilms in a cave environment. *Current Microbiology* 60, 435 – 438.

RONNEY D. C., HUTCHENS E., CLIPSON N., BALDINI J., MCDERMOTT F. (2010): Microbial community diversity of moonmilk deposits at Ballynamintra Cave, Co. Waterford, Ireland. *Environmental Microbiology* 60, 753 – 761.

# SAISONALE UNTERSCHIEDE VON MIKROBIELLEN AKTIVITÄTEN UND NÄHRSTOFFKONZENTRATIONEN IN BÖDEN ENTLANG EINER CHRONOSEQUENZ IN DEN ZENTRALALPEN

Katrin M. HOFMANN<sup>a</sup> und Paul ILLMER<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Leopold-Franzens Universität Innsbruck, Institut für Mikrobiologie, 6020 Innsbruck

## Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden im Gletschervorfeld des Rotmoosferners entlang einer Chronosequenz sowohl am Beginn als auch am Ende der Vegetationsperiode Bodenproben unterschiedlichen Alters entnommen (Probe S1, 6 y; Probe S2, 140 y; Probe S3, einige tausend Jahre). Die mikrobielle Biomasse dieser Standorte wurde mittels substratinduzierter Respiration ermittelt. Daneben wurden einige Parameter erhoben, welche Rückschlüsse auf die potentielle Aktivität der Bodenmikroflora im Bezug auf Stoffumsatzleistungen erlauben. Sowohl die mikrobielle Biomasse als auch die gemessenen metabolischen Aktivitäten (Dehydrogenaseaktivität, Dimethylsulfoxidreduktion, Ammonifikation) zeigten einen deutlichen Anstieg vom jüngsten hin zum ältesten Boden, sehr wahrscheinlich aufgrund der zunehmenden Verfügbarkeit von Nährstoffen. Abgesehen vom Einfluss des Bodenalters konnten hochsignifikante Effekte der Probenahmezeitpunkte festgestellt werden. Diese Effekte überstiegen zum Teil sogar erheblich den Einfluss des Bodenalters.

## Abstract

The foreland soils of the receding Rotmoosferner were investigated for microbial biomass and activities both at the beginning as well as at the end of the plant growing season. Along the chronosequence three soils of different ages (S1, 6 y; S2, 140 y; S3, several thousand years) were sampled. Estimation of microbial biomass via substrate induced respiration as well as dehydrogenase activity, dimethylsulfoxide reduction and ammonification assays were performed to describe soil microflora and its metabolic capacities. Both, microbial biomass as well as activities distinctly increased along with soil age, a trend which is likely due to the increasing availability of nutrients. Aside from the significant influence of soil age, these properties showed remarkably higher values in the soils collected at the end of the plant growing season.

## 1. Einleitung

Die Böden von Gletschervorfeldern stellen ideale Modellsysteme dar, um die durch den Klimawandel verursachten Auswirkungen des Gletscherrückzuges mit den damit verbundenen Sukzessionsvorgängen eingehend untersuchen zu können. Zahlreiche Studien haben sich sowohl mit der Sukzession von Pflanzen als auch Tieren in diesen Ökosystemen beschäftigt (HODKINSON et al., 2003; KAUFMANN, 2001; NAGL & ERSCHBAMER, 2010). Ebenso stieg in den letzten Jahren die Anzahl der Studien, die sich mit der Sukzession mikrobieller Gemeinschaften sowie deren Aktivität beschäftigen (SIGLER & ZEYER, 2002; BARCENA et al., 2010; LAZZARO et al., 2012). Entlang des Gletschervorfeldes des Rotmoosferners konnte gezeigt werden, dass mikrobielle Umsatzprozesse wie die Stickstoffmineralisierung und die Oxidation von Ammonium mit der zunehmenden Entfernung zum Gletscher anstiegen (TSCHERKO et al., 2003). Ähnlich der mikrobiellen Aktivität kommt es entlang von Chronosequenzen auch zum Anstieg der Bakterienanzahl mit zunehmendem Bodenalter. Im Gegensatz dazu scheint die Diversität der Bodenbakterien abzunehmen (SIGLER & ZEYER, 2002). Im Allgemeinen sind alpine Standorte durch sich sowohl über den Tagesverlauf als auch über den jahreszeitlichen Verlauf stark verändernden Temperaturen und extreme

Fluktuation der Bodenfeuchte charakterisiert. Aus diesem Grund sind auch starke saisonale Veränderungen bezüglich der Aktivität der Bodenmikroflora denkbar. LIPSON & SCHMIDT (2004) stellten fest, dass sich auch die Zusammensetzung der *Bacteria* in alpinen Böden in Abhängigkeit der Jahreszeit ändert. Während in den Wintermonaten *Bacteroidetes* dominieren, wird deren Position im Frühjahr von den *Acidobacteria* eingenommen. Dieses Phylum wird in den Sommermonaten wiederum von den  $\beta$ -*Proteobacteria* sowie den *Verrucomicrobia* abgelöst (LIPSON & SCHMIDT, 2004). Untersuchungen zur Zusammensetzung von Bodenpilzen wiesen auf das vermehrte Auftreten von saprobiotischen *Ascomycota* während des Winters hin (PEINTNER & KUHNERT, 2010). Zudem konnten in den Böden eines Gletschervorfeldes während der Wintermonate die höchsten Konzentrationen an Pilzbiomasse ermittelt werden (KUHNERT et al. 2012).

Innerhalb dieser Untersuchung wurden die Böden eines Gletschervorfeldes jeweils am Anfang und Ende der kurzen Vegetationsperiode auf Aktivitätsparameter getestet, und die mikrobielle Biomasse sowie einige Nährstoffpools bestimmt, um mögliche saisonale Unterschiede feststellen zu können.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Untersuchungsgebiet und Probenahme

Das Untersuchungsgebiet befindet sich im Gletschervorfeld des Rotmoosferners (46°50'N, 11°03'E) im Ötztal (Tirol, Österreich) auf einer Höhe von 2280 bis 2450 m ü.d.M. Die Jahresmitteltemperatur liegt bei 2,8°C und die jährliche Niederschlagsmenge bei nur 851 mm (FISCHER, 2010). Das kontinuierliche Abschmelzen des Rotmoosferners in den letzten 150 Jahren führte zur Freilegung von Flächen, deren Entwicklungsgrad naturgemäß davon abhängt wie lange diese Areale schon eisfrei sind. Die im Rotmoostal vorliegende Chronosequenz erstreckt sich von den unmittelbar vor dem Gletscher liegenden, jüngsten Standorten bis zu den älteren Böden an der Endmoräne von 1858. Das Ausgangsgestein der Böden des Rotmoostales bilden Glimmerschiefer und Paragneise, die aus dem Ötztal-Stubai Komplex stammen (KRAINER, 2010). Rezent eisfreie Böden werden vor allem von Pionierpflanzen wie *Saxifraga aizoides*, *Saxifraga oppositifolia* (NAGL & ERSCHBAMER, 2010), *Linaria alpina* und *Artemisia genipii* besiedelt (RAFFL et al., 2006). Letztendlich führen die weitere Sukzession der Pflanzengemeinschaft sowie die fortschreitende Bodenbildung zur Ausbildung einer typischen alpinen Graslandschaft (NAGL & ERSCHBAMER, 2010). Für die vorliegende Untersuchung wurden Bodenproben von drei unterschiedlich alten Flächen entnommen. S1 befindet sich in der Nähe des Gletscherrandes und ist mit circa 6 Jahren der jüngste der Böden. S2 liegt nahe der Endmoräne von 1872 und hat ein geschätztes Alter von 140 Jahren. Die älteste Entnahmestelle (S3) ist seit einigen tausend Jahr frei von Eis und enthält damit die ältesten Böden. Die Entnahme der Proben an den entsprechenden Flächen wurde sowohl im Juli 2010 (PN1) als auch im Oktober 2010 (PN2) durchgeführt. Diese Zeitpunkte entsprechen dem Anfang und dem Ende der Vegetationsperiode. Das frische Bodenmaterial wurde gesiebt (<2 mm) und bis zur Verwendung bei 4°C gelagert.

### 2.2. Physikalisch-chemische Bodenanalysen

Die Bestimmung des pH-Wertes wurde für jeden Boden in jeweils drei Parallelen durchgeführt. Die Proben wurden in 10 mM CaCl<sub>2</sub> Lösung suspendiert und nach 2-stündiger Inkubation bei Raumtemperatur gemessen. Die Trockenmasse wurde aus 10 g der homogenisierten Proben ermittelt. Zur Bestimmung des Gehaltes an organischer Substanz (OS) wurden getrocknete Böden eingewogen und für 4 h bei 550°C verascht. Der Masseverlust nach dem Veraschen gilt als Maß für den Gehalt organischer Substanz in den Böden. Ammonium Stickstoff (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) wurde, wie in SCHINNER et al. (1996) angegeben, mit Hilfe von KCl (2M) extrahiert und photometrisch bestimmt.



### 2.3. Bestimmung der mikrobiellen Biomasse und Aktivitäten

Die Biomasse der Bodenmikroorganismen wurde mittels substratinduzierter Respiration ermittelt. Nach der Zugabe von Glukose zum Boden entsteht  $\text{CO}_2$  das mit Hilfe eines Infrarot Gasanalysators (IRGA) detektiert wird. Die Berechnung der mikrobiellen Biomasse  $C_{\text{mic}}$  erfolgt nach der Formel von ANDERSON & DOMSCH (1978). Für die aktuelle Untersuchung wurden 70 bis 90 g frische Bodenprobe eingewogen und mit 10 mg Glukose  $\text{g}^{-1}$  TG gemischt. Die Böden wurden in jeweils drei Parallelen in Plastikgefäße transferiert und für 2 bis 3 h an die IRGA angeschlossen. Die Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität (DHA), der Dimethylsufoxidreduktion (DR) und der Ammonifikation (AM) wurde basierend auf den in SCHINNER et al. (1996) beschriebenen Methoden durchgeführt.

*Tabelle 1: pH-Wert, organische Substanz (OS) und Ammoniumgehalt ( $\text{NH}_4^+$ ) in den Böden S1 (6 y), S2 (140 y) und S3 am Anfang (PN1, Juli 2010) und Ende (PN2, Oktober 2010) der Vegetationsperiode.*

Boden	Sampling	pH	OS%	$\text{NH}_4^+$
S1	PN1	6,99 (0,03)	0,77 (0,06)	2,82 (0,03)
S2	PN1	6,64 (0,03)	2,16 (0,02)	6,75 (1,14)
S3	PN1	4,25 (0,01)	14,70 (0,12)	8,85 (0,22)
S1	PN2	7,31 (0,01)	0,70 (0,06)	2,40 (0,08)
S2	PN2	6,71 (0,10)	4,96 (0,15)	5,63 (0,43)
S3	PN2	4,67 (0,10)	16,05 (0,43)	4,85 (0,05)

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Die in Tabelle 1 dargestellten Messungen einiger physikalisch-chemischer Bodenparameter, zeigen unter anderem die typische Ansäuerung der Böden mit zunehmendem Alter und Entwicklungsstadium. Am Beginn der Vegetationsperiode (PN1, Juli 2010) lag der pH-Wert im jüngsten Boden S1 bei 6,99, im ältesten Boden hingegen schon bei 4,25. Diese Abnahme des pH ist charakteristisch für das Fortschreiten der Pedogenese (SCHWIENBACHER & KOCH, 2010). Derselbe Trend, nur mit etwas höheren pH-Werten, konnte auch für die im Herbst beprobten Böden verzeichnet werden. Mit zunehmendem Bodenalter wurde entlang der Chronosequenz organisches Material angereichert. Im Detail reichte der Gehalt an organischem Material von etwa 0,8% in S1 nahe der Gletscherzunge bis 14,7% im ältesten Boden S3. Von der anfänglichen Limitierung kommt es also mit zunehmendem Alter der Böden zur Anreicherung. SCHMIDT et al. (2008) konnten mit ihrer Untersuchung zeigen, dass sich die organische Substanz von Rohböden an alpinen Standorten primär aus der vorhandenen Bodenfauna sowie der Mikroflora zusammensetzt. Hingegen ist der Pool an organischem Material in besser entwickelten Böden von eingetragenen abgestorbenen Pflanzenteilen abhängig (SCHWIENBACHER & KOCH, 2010). In den, im Rahmen dieser Studie, untersuchten beiden älteren Böden (S2, S3) konnte ein signifikanter Anstieg (\* $P < 0,05$ ) des Gehaltes an OS über den Sommer verzeichnet werden. In S2 kam es hierbei nahezu zu einer Verdoppelung im Vergleich zum erhobenen Wert der ersten Probenahme (siehe Tabelle 1). Der Gehalt an  $\text{NH}_4^+$  stieg ebenfalls entlang der Chronosequenz an. Vorangegangene Studien bestätigen zwar diesen Trend, lassen aber Fluktuationen dieses Nährstoffes außer Acht (DEIGLMAYR et al., 2006; TSCHERKO et al., 2003). In dieser Studie konnten wir zeigen, dass verglichen mit den am Beginn der Vegetationsperiode analysierten Bodenproben, S2 und S3 am Ende der Vegetationsperiode signifikant niedrigere  $\text{NH}_4^+$ -Konzentrationen aufwiesen.

Der Verlauf der mikrobiellen Biomasse ( $C_{\text{mic}}$ ) ließ auf sehr niedrige Konzentrationen im 6 Jahre alten Boden S1 schließen (Abbildung 1A). Im Allgemeinen konnte auch hier eine starke Abhängigkeit vom Standort, d.h. vom Alter der Böden, festgestellt werden, eine Tatsache, die die Resultate anderer Studien in solchen Lebensräumen bestätigt (SIGLER & ZEYER,

2002; TSCHERKO et al., 2003). Zudem korrelierte  $C_{mic}$  signifikant positiv mit DHA und DR. Neben dem Anstieg der Biomasse entlang der Chronosequenz, wurde dieser Parameter auch erheblich vom Probenahmezeitpunkt beeinflusst. Im Vergleich zum Beginn der Vegetationsperiode erhöhte sich der Gehalt an Biomasse in den älteren Böden (S2, S3) signifikant, wogegen es im jüngsten Boden S1 zu keiner Erhöhung kam. Dieser Boden wies eine konstante  $C_{mic}$  von etwa  $21 \mu\text{g g}^{-1} \text{TG}$  sowohl im Sommer als auch im Herbst auf (Abbildung 1A). Aufgrund einer positiven Korrelation der mikrobiellen Biomasse mit der organischen Bodensubstanz ist davon auszugehen, dass die Biomassezunahme durch die Seneszenz der Pflanzen zum Ende der Vegetationsperiode und die damit einhergehende Bereitstellung von Nährstoffen für die Bodenmikroflora ausgelöst wurde. Durch das Fehlen der Pflanzendecke am Standort S1 nahe dem Gletscherrand, bleibt  $C_{mic}$  hier konstant und primär vom Eintrag von außen abhängig.

Parameter, die Rückschlüsse auf die Entwicklung der metabolischen Aktivitäten der Bodenmikroorganismen dieses Gletschervorfeldes erlauben, sind in Abbildung 1B-D dargestellt. Alle erhobenen Aktivitätsparameter nahmen entlang der Chronosequenz mit dem Bodenalter zu, von sehr niedrigen Werten in den Primärstandorten bis hin zu höheren Werten in den besser entwickelten Böden.

Im Detail, reichten die Werte der DHA von  $0,09$  bis  $4,97 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{TG h}^{-1}$  im Juli 2010 und stiegen über den Sommer zum Teil sehr stark an. Es wird angenommen, dass alle *Bacteria* und *Archaea*, das für die Messung der DHA verwendete Substrat als alternativen intrazellulären Elektronenakzeptor ihrer Dehydrogenasen benutzen können (OTTOW, 2011).

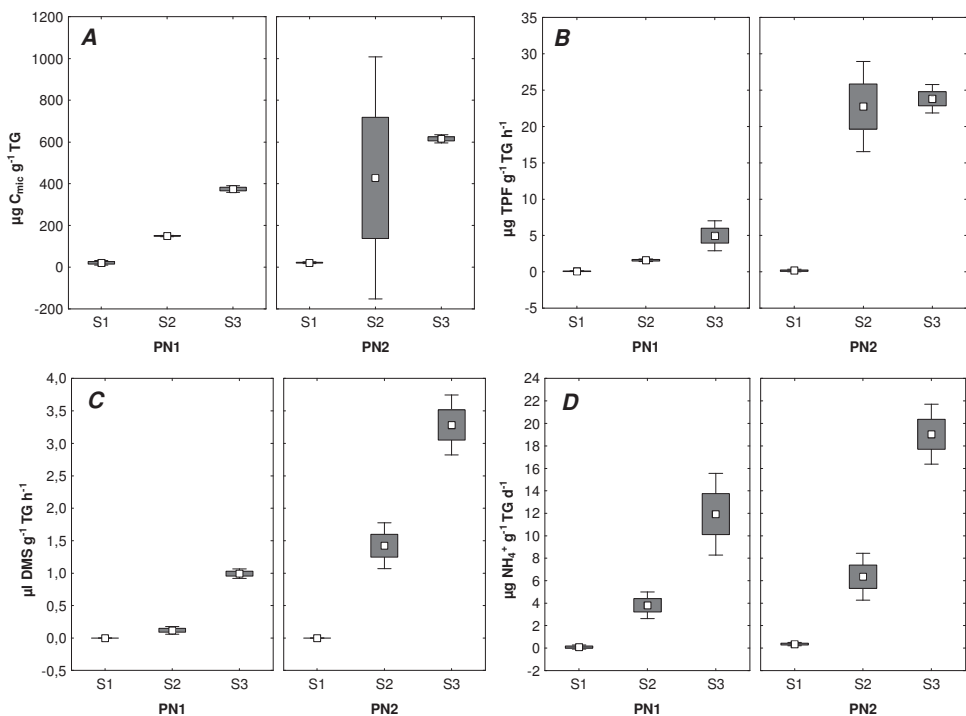


Abbildung 1: Beeinflussung der mikrobiellen Biomasse und der Enzymaktivitäten durch das Bodenalter (S1, 6 y; S2, 140 y; S3, mehrere tausend y) und die Entnahmezeitpunkte (PN1, Juli 2010; PN2, Oktober 2010). A, mikrobielle Biomasse; B, Dehydrogenaseaktivität; C, Dimethylsulfoxidreduktion; D, Ammonifikation.

Aus diesem Grund ist es möglich, mittels DHA die physiologische Aktivität der Bodenmikroflora abzuschätzen. In einer Studie von SIGLER & ZEYER (2002) wurden in den ältesten Böden einer Chronosequenz in den Schweizer Alpen Aktivitäten von bis zu  $36 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ TG h}^{-1}$  gemessen.

Im Vergleich dazu sind die im Rahmen dieser Studie erhobenen Werte im ältesten Boden S3 mit  $4,97$  im Juli und  $23,82 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ TG h}^{-1}$  im Oktober deutlich niedriger. Der Verlauf der DHA entlang des Sukzessionsgradienten, aber auch die saisonale Entwicklung dieses Parameters, wird durch die DMSO Reduktionsrate zusätzlich bestätigt (Abbildung 2C). Allerdings waren die erhobenen Raten sehr niedrig mit nur  $0,12$  und  $0,99 \mu\text{l DMS g}^{-1} \text{ TG h}^{-1}$  in den Böden S2 und S3 im Juli 2010 und  $1,42$  bis  $3,28 \mu\text{l DMS g}^{-1} \text{ TG h}^{-1}$  für dieselben Böden der Probenahme im Oktober 2010. Die mittels Ammonifikation untersuchte Stickstoffmineralisierung in diesen alpinen Böden steht ebenso im Zusammenhang mit dem Bodenalter sowie der Saisonalität, da ein signifikanter Effekt ( $***P < 0,001$ ) des Standortes nachgewiesen werden konnte. Dieser unspezifische Stoffwechselprozess wird von den Bodenmikroorganismen (*Fungi*, *Bacteria*) durch die Ausscheidung von Proteinasen bewerkstelligt und dient in erster Linie der N-Versorgung (OTTOW, 2011). Die Resultate der vorliegenden Untersuchung stimmen nur teilweise mit den von TSCHERKO et al. (2003) ermittelten Ammonifikationsraten überein. Zwar befinden sich unsere Werte im selben

Größenbereich, jedoch fanden TSCHERKO et al. (2003) einen Anstieg der Ammonifikation bis zu einem Bodenalter von 50 Jahren und eine gleichbleibende Rate in älteren Böden vor. Des Weiteren konnten wir in unserer Untersuchung einen deutlichen und starken Effekt des Zeitpunktes (Anfang und Ende der Vegetationsperiode) auf die Ammonifikationsrate feststellen, wobei es mit Ausnahme des jüngsten Bodens S1 zu einer signifikanten Erhöhung der Ammonifikation kam.

## Literaturverzeichnis

- ANDERSON, J. P. E. & DOMSCH, K. H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils, *Soil Biology and Biochemistry* 10, pp. 215-221.
- BARCENA, T. G.; YDE, J. C. & FINSTER, K. W. (2010): Methane flux and high-affinity methanotrophic diversity along the chronosequence of a receding glacier in greenland, *Annals of Glaciology* 51, pp. 23-31.
- DEIGLMAYR, K.; PHILIPPOT, L.; TSCHERKO, D. & KANDELER, E. (2006): Microbial succession of nitrate-reducing bacteria in the rhizosphere of *Poa alpina* across a glacier foreland in the Central Alps, *Environmental Microbiology* 8, pp. 1600-1612.
- FISCHER, A. (2010): Klima und Gletscher in Obergurgl. In: E. M. KOCH & B. ERSCHBAMER (Hrsg.): Glaziale und Periglaziale Lebensräume im Raum Obergurgl. Innsbruck University Press, Innsbruck, pp. 53-72.
- HODKINSON, I. D.; COULSON, S. J. & WEBB, N. R. (2003): Community assembly along proglacial chronosequences in the High Arctic: vegetation and soil development in North-West Svalbard, *Journal of Ecology* 91, pp. 651-663.
- KAUFMANN, R. (2001): Invertebrate succession on an alpine glacier foreland, *Ecology* 82, pp. 2261-2278.

- KRAINER, K. (2010): Geologie und Geomorphologie im Raum Obergurgl und Umgebung. In: E. M. KOCH & B. ERSCHBAMER (Hrsg.): Glaziale und Periglaziale Lebensräume im Raum Obergurgl. Innsbruck University Press, Innsbruck, pp. 31-52.
- KUHNERT, R.; OBERKOFER, I. & PEINTNER, U. (2012): Fungal growth and biomass development is boosted by plants in snow-covered soils, *Microbial Ecology* 64, pp. 79-90.
- LAZZARO, A.; BRANKATSCHK, R. & ZEYER, J. (2012): Seasonal dynamics of nutrients and bacterial communities in unvegetated alpine glacier forefields, *Applied Soil Ecology* 52, pp. 10-22.
- LIPSON, D. A. & SCHMIDT, S. K. (2004): Seasonal changes in an alpine soil bacterial community in the Colorado Rocky Mountains, *Applied and Environmental Microbiology* 70, 2867-2879.
- NAGL, F. & ERSCHBAMER, B. (2010): Pflanzliche Sukzession im Gletschervorfeld. In: E. M. KOCH & B. ERSCHBAMER (Hrsg.): Glaziale und Periglaziale Lebensräume im Raum Obergurgl. Innsbruck University Press, Innsbruck, pp. 121-143.
- OTTOW, J. C. G. (2011): Mikrobiologie von Böden. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- PEINTNER, U. & KUHNERT, R. (2010): Pilze und mikrobielle Gemeinschaften im Gletschervorfeld. In: E. M. KOCH & B. ERSCHBAMER (Hrsg.): Glaziale und Periglaziale Lebensräume im Raum Obergurgl. Innsbruck University Press, Innsbruck, pp 213-228.
- RAFFL, C.; MALLAUN, M.; MAYER, R. & ERSCHBAMER, B. (2006): Vegetation succession pattern and diversity changes in a glacier valley, Central Alps, Austria, Arctic, Antarctic and Alpine Research 38, pp. 421-428.
- SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E. & MARGESIN, R. (1996): *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag, Heidelberg.
- SCHMIDT, S. K.; REED, S. K.; NEMERGUT, D. R.; GRANDY, A. S.; CLEVELAND, C. C.; WEINTRAUB, M. N.; HILL, A. W.; COSTELLO, E. K.; MEYER, A. F.; NEFF, J. C. & MARTIN, A. M. (2008): The earliest stages of ecosystem succession in high-elevation (5000 metres above sea level), recently deglaciated soils, *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 275, pp. 2793-2802.
- SCHWIENBACHER, E. & KOCH, E. M. (2010): Die Böden eines alpinen Gletschertales. In: E. M. KOCH & B. ERSCHBAMER (Hrsg.): Glaziale und Periglaziale Lebensräume im Raum Obergurgl. Innsbruck University Press, Innsbruck, pp. 93-119.
- SIGLER, W. V. & ZEYER, J. (2002): Microbial diversity and activity along the forefields of two receding glaciers, *Microbial Ecology* 43, pp. 397-407.
- TSCHERKO, D.; RUSTEMEIER, J.; RICHTER, A.; WANEK, W. & KANDELER, E. (2003): Functional diversity of the soil microflora in primary succession across two glacier forelands in the central alps, *European Journal of Soil Science* 54, pp. 685-696.

# EFFEKT VON KALKUNGSMAßNAHMEN AUF DIE STRUKTURSTABILISIERUNG UND MIKROBIOLOGIE VON LANDWIRTSCHAFTLICHEN BÖDEN

Evi Deltedesco<sup>1</sup>, Lisa-Maria Bauer<sup>2</sup>, Hans Unterfrauner<sup>3</sup>, Robert Peticzka<sup>2</sup>, Franz Zehetner<sup>1</sup>, Katharina M. Keiblinger<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universität für Bodenkultur Wien, Department für Wald und Bodenwissenschaften, Institut für Bodenforschung

<sup>2</sup> Universität Wien, Department für Geographie und Regionalforschung

<sup>3</sup> Technisches Büro für Landschaftsökologie, Landschaftsplanung und Landschaftspflege, Wien

## Zusammenfassung

Hohe mechanische Belastung auf landwirtschaftlich genutzten Flächen kann sich negativ auf die Bodenstruktur auswirken. Ein vielversprechender Ansatz zur Stabilisierung der Struktur und zur Verbesserung der Wasser- und Luftdurchlässigkeit ist der Zusatz von mehrwertigen Ionen wie  $\text{Ca}^{2+}$ , die beispielsweise in Form von Branntkalk ( $\text{CaO}$ ) und fein vermahlenem Kalksteinmehl ( $\text{CaCO}_3$ ) zugesetzt werden können. Allerdings kann die Branntkalk-Zugabe zu einem stark alkalischen pH-Wert im Boden führen, was die Bodenmikrobiologie beeinträchtigen könnte.

In dieser Studie wurde ein Glashausversuch angesetzt, um die Auswirkung der beiden oben genannten Kalkarten auf die Aggregatstabilität, sowie bodenchemische und mikrobielle Parameter im Zeitverlauf zu testen. Es wurden schluffig-tonige Böden aus drei verschiedenen Standorten Österreichs mit und ohne Kalk für 3 Monate inkubiert (Applikationsrate von 2000  $\text{kg ha}^{-1}$ ). Die Bodenproben im Glashaus wurden 2, 30 und 86 Tage nach der Aufbringung genommen, um kurzfristige und mittelfristige Auswirkungen von Branntkalk und Kalkstein zu ermitteln.

Die Aufbringung von Branntkalk bewirkte einen sofortigen starken Anstieg der Aggregatstabilität, welcher über den Versuchszeitraum von drei Monaten bestehen blieb. Im Gegensatz dazu führte die Kalkstein-Applikation zu keinen signifikanten Veränderungen der Aggregatstabilität. Die Aufbringung von Branntkalk bewirkte einen unmittelbaren starken Anstieg des pH-Werts (um etwa 3 Einheiten) sowie des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC). Bereits nach der zweiten Probenahme (1 Monat) zeigten die Böden mit Branntkalk-Applikation ähnliche pH-Werte wie die Böden die mit Kalksteinmehl versetzt wurden. Die DOC-Werte reduzierten sich kontinuierlich während der Inkubationszeit. Die mikrobielle Biomasse nahm unmittelbar nach der Branntkalk-Aufbringung ab, stieg jedoch im Laufe des Versuches wieder auf das Niveau der Referenzprobe an. Kalksteinmehl hatte kaum Auswirkungen auf die mikrobielle Biomasse. Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass die Anwendung von Branntkalk eine effektive Maßnahme für die sofortige Strukturstabilisierung ist, und nur kurzfristige Auswirkungen auf bodenchemische und mikrobielle Parameter hat.

## Abstract

The high input of mechanical energy in common agricultural practice can negatively affect soil structure. A promising approach to stabilize the structure and improve the water- and air permeability, is the addition of polyvalent ions like  $\text{Ca}^{2+}$  which can be added for example in the form of quicklime ( $\text{CaO}$ ) and limestone ( $\text{CaCO}_3$ ). However, the application of quicklime may raise soil pH into the strongly alkaline range, which may, in turn, affect soil microbiology.

In this study, we conducted a greenhouse pot experiment using the two above-mentioned sources of calcium ions in order to examine the effects of these amendments on soil aggregate stability as well as soil chemical and microbial parameters over time. Silty and clayey soils from three different locations in Austria were sampled and incubated with and without the liming materials (application rate 2000 kg ha<sup>-1</sup>) for 3 months. Soil samples were taken 2, 30 and 86 days after the application of quicklime and limestone to assess short-term and medium-term effects.

Quicklime strongly increased aggregate stability already 2 days after application with effects persisting over the entire 3-months study period. Conversely, limestone did not cause any significant changes in aggregate stability. Initially, soil pH and DOC were strongly increased by quicklime; however, after the second sampling (30 days), the pH values of the soils amended with quicklime returned to levels comparable to the soils treated with limestone; the DOC values decreased continuously during incubation time. Microbial biomass showed an initial decrease after quicklime application, but returned to control values after 1 to 3 months. Limestone hardly affected microbial biomass. In summary, our results indicate that the application of quicklime is an effective measure for immediate stabilization of soil structure, showing only short-term impact on soil chemical and microbial parameters.

## Einleitung

Böden werden durch gesteigerte Mechanisierung in der Land- und Forstwirtschaft zunehmend verdichtet. Dies wirkt sich negativ auf das Pflanzenwachstum aus und bewirkt eine Reduktion der Aggregatstabilität und der Grobporen. In der Folge kommt es zu einer Verringerung der Wasser- und Luftdurchlässigkeit, verringertem Wurzelraum für Pflanzen, reduziertem Nährstofftransport und zu einer drastischen Einschränkung des Lebensraums von Bodenorganismen (Frey et al., 2009). Die verringerte Wasserdurchlässigkeit des Oberbodens führt zu erhöhtem Oberflächenabfluss, Bodenerosion, Nährstoffauswaschung und kann damit zu langfristigen und anhaltenden Schäden führen, die Ertragseinbußen und reduzierte Ökosystemleistungen zur Folge haben.

Bodenmikroorganismen sind maßgeblich an Umsetzungsprozessen (z.B. Mineralisation, Nitrifikation, Nährstoffkreisläufe) beteiligt. Die Nährstoffverfügbarkeit und Produktivität hängt stark von der mikrobiellen Biomasse und deren Aktivität ab, da der mikrobielle Kohlenstoff etwa 10-mal so schnell umgesetzt wird als jener von Pflanzen. Deshalb dient der mikrobielle Kohlenstoff oft als Indikator für chemische und physikalische Änderungen im Boden (Ekenler and Tabatabai 2003).

Ein Ansatz, um die Struktur des Bodens zu stabilisieren und die Durchlässigkeit der Böden zu verbessern ist die Zugabe von mehrwertigen Ionen wie z.B. Ca<sup>2+</sup> in Form von Bodenadditiven, wie Branntkalk (CaO) und fein vermahlenem Kalksteinmehl (CaCO<sub>3</sub>) (Becher, 2001). Allerdings könnten starke pH-Änderungen durch die CaO Zugabe negative Effekte auf die Bodenmikrobiologie haben.

Um die kurz- und mittelfristigen Auswirkungen dieser Bodenadditive zu untersuchen wurde ein Glashausversuch angesetzt. Der gewählte Glashausansatz im Miniaturmaßstab gewährleistet konstante Bedingungen und ermöglicht die gleichzeitige Erforschung verschiedener Einflussfaktoren (3 Behandlungsvarianten an 3 versch. Böden).

Die Wirksamkeit von CaO und CaCO<sub>3</sub> als Stabilisierungsmaßnahme wurde anhand der Aggregatstabilität überprüft. Des Weiteren wurde in der hier beschriebenen Studie der Effekt auf den mikrobiellen Kohlenstoff untersucht. Üblicherweise reagieren Bodenmikroorganismen unmittelbar auf Veränderungen in ihrem Habitat und dienen daher oft als Qualitätsindex.

## Material und Methoden

### Böden und Probenahme

Die Bodenproben für den Topfversuch wurden von Ackerflächen in Strengberg (Niederösterreich), Pollham (Oberösterreich) und Kemeten (Burgenland) genommen. Die vor Ort stark verdichteten Böden wurden mit einer Bodenhacke gelockert und noch direkt am Feld durch ein Wurfgitter mit einer Maschenweite von ca. 15 mm gesiebt.

Der Boden von Strengberg ist ein Pseudogley mit schluffig-lehmiger Textur und einem organischen Kohlenstoffgehalt von 1,77 %. Auch der Boden von Pollham ist ein Pseudogley mit ebenfalls schluffig-lehmiger Textur und einem organischen Kohlenstoffgehalt von 1,69 %. Im Gegensatz dazu hat der Boden von Kemeten (ebenfalls ein Pseudogley) lehmige Textur und einen geringeren organischen Kohlenstoffgehalt von 1,31 %.

### Glashausversuch

Die Töpfe für den Versuch (Durchmesser: 27,5 cm, Höhe: 21,5 cm) wurden zuerst mit gewaschenem Kies bis zu einer Höhe von ca. 2 cm befüllt und mit einem Filterflies bedeckt, danach mit ca. 11-12 kg Boden befüllt und von unten durchfeuchtet. Der Wassergehalt wurde während des gesamten Versuchs auf ca. 50 % der Wasserhaltekapazität durch bewässern von oben eingestellt / gehalten. Die Töpfe wurden für einen Monat vorinkubiert bzw. äquilibriert. Die obere Bodenschicht aller Varianten wurde mechanisch aufgelockert bevor die Applikation mit Hilfe einer Gartenkralle erfolgte; auch die Kontrollen wurden in der gleichen Weise mechanisch bearbeitet. Die Einarbeitung von Branntkalk bzw. fein vermahlenem Kalksteinmehl erfolgte in den oberen 0-7 cm (Applikationsrate: 2000 kg ha<sup>-1</sup>). Für den gesamten Versuch waren jeweils 3 Böden mit 3 Varianten vorgesehen; sowohl für die bodenphysikalischen als auch für die mikrobiologischen Analysen wurden jeweils insgesamt 36 Töpfe angelegt. Während für die bodenmikrobiologischen Analysen zu allen Beprobungszeitpunkten jeweils 4 Töpfe pro Variante beprobt wurden (4-fache Wiederholung), erfolgte die Probenahme für die bodenphysikalischen Analysen aufgrund der großen Probenmenge jeweils nur aus einem Topf pro Variante (destruktive Probennahme mit 3 Replikaten pro Topf).

Die Töpfe wurden im Glashaus in einem randomisierten Block-Design aufgestellt, um beeinflussende Faktoren, wie inhomogene Beschattung und in weiterer Folge unterschiedliche Temperaturverläufe als auch Unterschiede in der Luftzufuhr, möglichst homogen auf alle Varianten zu verteilen.

Um kurz- und mittelfristige Auswirkungen zu untersuchen erfolgten drei Probenahmen: 2 Tage (19.09.2013), 30 Tage (17.10.2013) und 86 Tage (12.12.2013) nach der Applikation.

Für die bodenphysikalischen Analysen mit dreimaliger Beprobung ergab sich für die Bestimmung der Aggregatstabilität nur die Möglichkeit einer Mischprobe über die gesamte applizierte Tiefe von 7 cm. Durch das gewählte Testdesign (Topfdurchmesser 27,5 cm) konnte die Beprobung nicht wie in der bodenphysikalischen Analytik üblich und gefordert als Parallelbeprobung durchgeführt werden.

Die Probenahmen für die Bodenmikrobiologie erfolgten mit einem Kunststoffbohrer. An jedem der 3 Beprobungszeitpunkte wurden aus jedem Topf an 4 Stellen Minibohrkerne gezogen. Die entnommenen Minibohrkerne wurden mit einem Stempel herausgedrückt und in obere behandelte Schicht (0-7 cm) sowie unbehandelte Schicht (7-14 cm) unterteilt, wobei der



Übergangsbereich (ca. 20% der Länge des gesamten Bohrkerns) verworfen wurde, um die Schichten klar zu trennen. Die Proben der 4 Einstiche wurden für die weiteren Analysen vereint und auf < 2 mm gesiebt. In dieser Veröffentlichung wird nur auf die Ergebnisse für die obere Bodenschicht (0-7 cm) eingegangen, in welcher die Effekte am deutlichsten ausgeprägt waren.

## Bodenanalysen

### *Aggregatstabilität*

Die Bestimmung der Aggregatstabilität wurde weitestgehend nach ÖNORM L 1072 und Murer et al. (1993) durchgeführt. Abweichend von diesen wurden jedoch 10 g lufttrockener Boden (1-2 mm) eingewogen, und der ebenfalls abweichende Siebdurchmesser betrug 10 cm, wodurch eine größere Grundgesamtheit in der Analyse erreicht werden konnte.

### *pH-Wert, mikrobieller Kohlenstoff ( $C_{mic}$ ), gelöster organischer Kohlenstoff (DOC)*

Der pH-Wert wurde in einer Suspension von 2 g Boden in 25 ml 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  Lösung gemessen (Schinner et al., 1996). Der mikrobielle Kohlenstoff wurde mittels Chloroform Fumigations-Extraktionsmethode (Schinner et al., 1996) ermittelt. Sowohl für mikrobiellen C als auch DOC wurden 1 M KCl Extrakte im Verhältnis 1:10 w/v hergestellt.

## Statistische Auswertung

Für die ermittelten Analysewerte wurde jeweils eine 2-faktorielle ANOVA (Konfidenzintervall: 95 %) durchgeführt, um den Einfluss der Faktoren „Kalk“ (Art der Kalk-Applikation: Kontrolle,  $\text{CaCO}_3$ , CaO), „Zeit“ (Zeit nach der Ausbringung: 2, 30, 86 Tage) und deren Interaktion „Kalk x Zeit“ zu ermitteln. Die Mittelwerte wurden mittels Tukey HSD-Test über alle Varianten und Zeiten hinweg verglichen, wobei signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet wurden.

## **Ergebnisse und Diskussion**

Die Ergebnisse der Aggregatstabilitätsanalyse (Abbildung 1) zeigen, dass die Applikation von CaO zur Bildung von stabilen Aggregaten beitrug. Verglichen mit der Referenzprobe war bereits innerhalb von zwei Tagen eine signifikante Erhöhung der Aggregatstabilität erkennbar. Dieser Effekt hielt auch nach drei Monaten noch an. Im Gegensatz dazu führte die Applikation von  $\text{CaCO}_3$  zu keinem signifikanten Anstieg der Aggregatstabilität. Mittels zweifaktorieller ANOVA wurde belegt, dass sowohl der Faktor „Kalk“ (Kontrolle,  $\text{CaCO}_3$ , CaO) als auch der Faktor „Zeit“ signifikanten Einfluss ( $p < 0,05$ ) auf das Ergebnis der Aggregatstabilitätsanalyse hatten. Vergleichbare Aussagen zur Erhöhung der Aggregatstabilität durch Kalkgaben finden sich auch in den Mitteilungen der VDLUFA (2000:3).

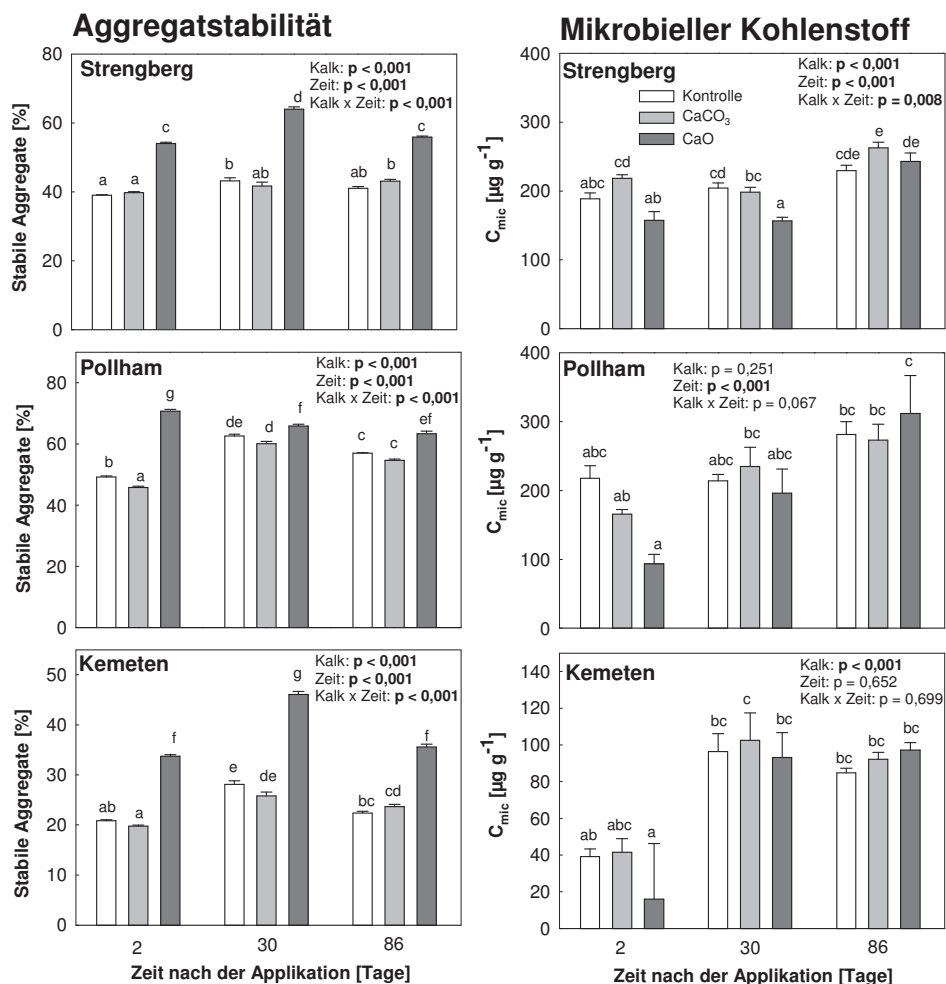
Die Applikation von CaO bewirkte unmittelbar nach der Aufbringung (2 Tage) einen signifikanten Anstieg des pH-Wertes (Tabelle 1). Mit fortschreitender Inkubationsdauer nahm der pH-Wert wieder ab und erreicht ähnliche Niveaus wie bei der Aufbringung von  $\text{CaCO}_3$ , wo von Anfang an geringere Effekte festzustellen waren. Die einzelnen Faktoren „Kalk“ und „Zeit“ sowie auch die Interaktion „Kalk x Zeit“ waren bei allen drei Standorten hoch signifikant.



Auch bei der DOC-Konzentration war ein sofortiger signifikanter Anstieg durch die CaO-Applikation zu beobachten (Tabelle 1), welcher durch den starken pH-Anstieg bedingt sein dürfte. Dieser Effekt reduzierte sich während der Inkubationsdauer: nach 30 Tagen waren noch signifikante Unterschiede zu erkennen, während die DOC-Konzentrationen der CaO-Varianten nach 86 Tagen keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollvarianten mehr aufwiesen. Die einzelnen Faktoren „Kalk“ und „Zeit“ sowie auch die Interaktion „Kalk x Zeit“ waren bei allen drei Standorten hoch signifikant.

Kalkung und ein daraus resultierender pH-Anstieg in die Nähe des Neutralbereichs waren in anderen Studien positiv mit dem mikrobiellen Kohlenstoff ( $C_{mic}$ ) korreliert (Ekenler and Tabatabai, 2003). In unserer Studie zeigte der  $C_{mic}$  (Abbildung 1) bei allen Standorten 2 Tage nach der CaO-Applikation eine Reduktion gegenüber der Kontrolle, die jedoch nicht signifikant war. Dies kann durch den starken pH-Anstieg in Bereiche jenseits des pH-Optimums von Bodenmikroorganismen erklärt werden (Blume et al., 2010). Die beobachtete Reduktion des  $C_{mic}$  verschwand jedoch mit Fortdauer des Versuchs wieder, und nach 3 Monaten fanden sich in den CaO-Varianten tendenziell sogar höhere  $C_{mic}$ -Gehalte verglichen mit den Kontrollen. Dies könnte in Zusammenhang mit der verbesserten Bodenstruktur stehen (vgl. An et al., 2009).

Beim Standort Strengberg waren bei beiden Faktoren „Kalk“ und „Zeit“ sowie deren Interaktion hoch signifikante Effekte festzustellen, während beim Standort Pollham nur der Faktor „Zeit“ und beim Standort Kemetten nur der Faktor „Kalk“ signifikant war. Diese Resultate zeigen, dass die Effekte der Kalkungsmaßnahmen bodenabhängig sind.



**Abbildung 1. Aggregatstabilität ( $n=3$ ) und mikrobieller Kohlenstoff ( $n=4$ ) für die Standorte Strengberg, Pollham und Kemeten. Die Fehlerbalken zeigen  $\pm$  einen Standardfehler. Unterschiedliche Buchstaben in den Graphiken zeigen signifikante Unterschiede im mehrfachen Mittelwertvergleich nach Tukey HSD ( $p < 0,05$ ). Die  $p$ -Werte für „Kalk“ (Form der Kalk-Applikation), „Zeit“ (Zeit nach Ausbringung) und „Kalk x Zeit“ stammen aus einer 2-faktoriellen ANOVA (Konfidenzintervall: 95 %) und zeigen, ob die einzelnen Faktoren oder deren Interaktion signifikant waren.**

**Tabelle 1. pH und gelöster organischer Kohlenstoff (DOC) für die Standorte Strengberg, Pollham und Kemeten (n=4).** Unterschiedliche Buchstaben in den Tabellen zeigen signifikante Unterschiede im mehrfachen Mittelwertvergleich nach Tukey HSD ( $p < 0,05$ ). Die  $p$ -Werte für „Kalk“ (Form der Kalk-Applikation), „Zeit“ (Zeit nach Ausbringung) und „Kalk x Zeit“ stammen aus einer 2-faktoriellen ANOVA (Konfidenzintervall: 95 %) und zeigen, ob die einzelnen Faktoren oder deren Interaktion signifikant waren.

pH					DOC [ $\mu\text{g g}^{-1}$ ]		
		Kontrolle	CaCO <sub>3</sub>	CaO	Kontrolle	CaCO <sub>3</sub>	CaO
Strengberg	2 Tage	6,8 <sup>abc</sup>	7,4 <sup>c</sup>	9,6 <sup>d</sup>	77 <sup>a</sup>	110 <sup>a</sup>	321 <sup>c</sup>
	30 Tage	6,5 <sup>a</sup>	6,8 <sup>abc</sup>	7,2 <sup>bc</sup>	74 <sup>a</sup>	102 <sup>a</sup>	158 <sup>b</sup>
	86 Tage	6,6 <sup>ab</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,8 <sup>ab</sup>	92 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>	106 <sup>a</sup>
	p-Wert	Kalk: Zeit: Kalk x Zeit:	p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001		p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001		
Pollham	2 Tage	7,3 <sup>ab</sup>	7,4 <sup>ab</sup>	10,5 <sup>c</sup>	81 <sup>a</sup>	97 <sup>ab</sup>	391 <sup>c</sup>
	30 Tage	7,2 <sup>ab</sup>	7,2 <sup>ab</sup>	7,7 <sup>b</sup>	81 <sup>a</sup>	77 <sup>a</sup>	132 <sup>b</sup>
	86 Tage	7,0 <sup>ab</sup>	7,0 <sup>a</sup>	7,0 <sup>ab</sup>	89 <sup>ab</sup>	99 <sup>ab</sup>	93 <sup>ab</sup>
	p-Wert	Kalk: Zeit: Kalk x Zeit:	p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001		p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001		
Kemeten	2 Tage	5,4 <sup>a</sup>	7,0 <sup>d</sup>	8,3 <sup>e</sup>	84 <sup>ab</sup>	116 <sup>b</sup>	266 <sup>c</sup>
	30 Tage	5,4 <sup>a</sup>	6,5 <sup>cd</sup>	6,9 <sup>d</sup>	73 <sup>a</sup>	95 <sup>ab</sup>	117 <sup>b</sup>
	86 Tage	5,6 <sup>ab</sup>	6,1 <sup>bc</sup>	6,3 <sup>bcd</sup>	73 <sup>a</sup>	71 <sup>a</sup>	82 <sup>ab</sup>
	p-Wert	Kalk: Zeit: Kalk x Zeit:	p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001		p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001		

## Literatur

- AN, S.-S., A. MENTLER, ET AL. (2009). Soil microbial parameters and stability of soil aggregate fractions under different grassland communities on the Loess Plateau, China. *Biologia* 64: 424-427.
- BECHER, H. H. (2001). Influence of long-term liming on aggregate stability of a loess-derived soil. *International Agrophysics* 15: 67-72.
- BLUME, H.-P., BRÜMMER, G.W., HORN, R., KANDELER, E., KÖGEL-KNABNER, I., KRETSCHMAR, R., STAHR, K., und WILKE, B.-M. (2010). Scheffer/Schachtschabel Lehrbuch der Bodenkunde. 16. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- EKENLER, M. AND TABATABAI, M. A. (2003). Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. *Biology and Fertility of Soils* 39: 51-61.
- FREY, B., J. KREMER, ET AL. (2009). Compaction of forest soils with heavy logging machinery affects soil bacterial community structure. *European Journal of Soil Biology* 45: 312-320.
- MURER, E.J., BAUMGARTEN, A., EDER, G., GERZABEK, M.H., KANDELER, E. und RAMPAZZO, N. (1993). An improved sieving machine for estimation of soil aggregate stability (SAS). *Geoderma* 56: 539-547.
- ÖNORM L 1072 (2004). Physikalische Bodenuntersuchungen – Bestimmung der Aggregatstabilität nach dem Siebtauchverfahren. Österreichisches Normungsinstitut, Wien.
- SCHINNER et al. (Hrsg.) (1996). *Methods in Soil Biology*. Springer Verlag, Berlin.
- Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) (Hrsg.) (2000). *Bestimmung des Kalkbedarfs von Acker- und Grünlandböden*. Standpunkt, Darmstadt.

# **BODENEROSION DURCH WASSER AUF TENERIFFA UND IM WEINVIERTEL – WAHRNEHMUNG VON ABTRAG UND HANDLUNGSMÖGLICHKEITEN DURCH BIOLOGISCH UND KONVENTIONELL WIRTSCHAFTENDE KARTOFFELBAUBETRIEBE**

**Julia MOLNAR<sup>a</sup>, Rainer WEISSHAIDINGER<sup>b</sup> und Robert PETICZKA<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Institut für Geographie und Regionalforschung, Universität Wien, Althanstraße 14, 1090 Wien

<sup>b</sup> Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL Österreich), Doblhoffgasse 7/10, 1010 Wien

## **Zusammenfassung**

Bodenerosion durch Wasser ist eine der gravierendsten Formen von Bodendegradation weltweit und tritt vor allem auf landwirtschaftlich genutzten Flächen auf. Die Wahrnehmung von Bodenerosion durch Landwirte ist Voraussetzung für das Durchführen von Gegenmaßnahmen. In den zwölf untersuchten Fällen in Teneriffa (Spanien) und dem Weinviertel (Österreich) - differenziert nach Regionalität (Weinviertel, Teneriffa) und Bewirtschaftungsweise (konventionell, biologisch) - stellte sich heraus, dass Wissen über und Bewusstsein gegenüber Bodenerosion und Erosionsschutzmaßnahmen nicht generell von der Bewirtschaftungsweise abhängig ist, sondern vorrangig von den im jeweiligen Untersuchungsgebiet angewendeten Anbaumethoden. Erst innerhalb eines Untersuchungsgebietes sind tendenziell Unterschiede in der Wahrnehmung von Betrieben der beiden unterschiedlichen Bewirtschaftungsweisen zu erkennen.

## **Abstract**

Water induced soil erosion one of the severest types of soil degradation worldwide and especially occurs on agricultural surfaces. The perception of farmers concerning soil erosion is important for counteraction. In the twelve studied cases in Tenerife (Spain) and the Weinviertel (Austria) – differentiated by regions (Weinviertel, Tenerife) and farming system (organic, conventional) - it turned out that knowledge and consciousness about soil erosion and erosion protection measures do not differ so much depending on the implementation of conventional or organic farming but more depending on the cultivation methods used in the particular research area and subsequently on the farming system.

## **1. Einleitung**

Bodenerosion durch Wasser ist nicht nur ein global maßgeblicher Faktor der Bodendegradation (PIMENTEL 1995), sondern auch in Österreich bzw. Europa eine große Herausforderung für Landwirtschaft und Agrarpolitik (BOARDMAN und POESEN 2006, STRAUSS und KLAGHOFER 2006). Nicht nur das Agroökosystem ist durch *on-site*-Effekte, wie beispielsweise Nährstoff- und Humusverlust, betroffen, sondern transportierte Bodenteile und Nährstoffe verursachen potenziell *off-site*-Schäden, wie etwa die Eutrophierung von Gewässern, in benachbarten und auch weiter entfernten Ökosystemen..

Kartoffeln sind aufgrund der geringen Bodenbedeckung überdurchschnittlich von Bodenerosion durch Wasser betroffen. Die Dammformung und intensive Bodenbearbeitung

verursacht ein hohes Erosionsrisiko, v.a. wenn die Dämme in Falllinie angelegt werden. Außerdem schließt der Pflanzenbestand bei Kartoffeln aufgrund der langsamen Jugendentwicklung relativ spät (NITSCH 2013). Nur durch pflanzenbauliche und technische Maßnahmen kann Bodenerosion auf landwirtschaftlichen Flächen reduziert werden – vorausgesetzt der Landwirt nimmt Bodenerosion als Problem wahr. Dieser Artikel behandelt die Wahrnehmung von Landwirten bezüglich Bodenerosion durch Wasser und Erosionsschutzmaßnahmen im Kartoffelbau auf Teneriffa (Spanien) und im Weinviertel (Österreich). EVANS (2010) unterstreicht die Wichtigkeit des Verhaltens der Landwirte gegenüber und deren Wahrnehmung von Bodenerosion sowie deren Wissen von Bodenkonservierungsmaßnahmen. Diese Aspekte finden nach wie vor zu wenig Beachtung in der internationalen Bodenerosionsdebatte. Der Autor betont, dass es schließlich die Landwirte sind, die über die Implementierung von Erosionsschutzmaßnahmen entscheiden. Die hier vorgestellten Ergebnisse basieren auf der Diplomarbeit von Molnar (2014).

## **2. Aktueller Forschungsstand**

Forschung zum Thema Bodenerosion (BE) durch Wasser wird in vielen Ländern betrieben. Mehrere Arbeiten existieren zur Wahrnehmung von Bodenerosion durch Wasser und die Anwendung von Erosionsschutzmaßnahmen bei Landwirten vor allem in Südländern, z.B. AMSALU und DE GRAAF (2006). Nach AMSALU und DE GRAAF (2006) wird von den Landwirten als (schwere) Bodenerosion durch Wasser empfunden, wenn sichtbare Spuren in Form von linearen Abtragungsformen wie Rillen, Rinnen und Gullies auftreten. Ob Landwirte Erosionsschutzmaßnahmen anwenden hängt stark von ihrer Kenntnis von Risiken der Bodenerosion und wahrgenommenen positiven Effekten der Gegenmaßnahmen ab.

Die verstärkte Forschung bezüglich Wahrnehmung der Bodenerosion in weniger entwickelten Ländern im Vergleich zu anderen Gebieten, begründet sich in einer Entwicklungszusammenarbeit, in der verstärkt sozialwissenschaftliche Methoden angewendet werden. In Mittel- und Westeuropa liegen dagegen kaum Untersuchungen zu dem Thema vor.

Die Arbeiten von SCHNEIDER (2008) SCHNEIDER et al. (2010) und CURRLE (1995) behandeln die Wahrnehmung von Bodenerosion durch Wasser in der Schweiz und in Deutschland. Beide gehen in der theoretischen Basis von dem Modell der „Lebenswelten“ der Landwirte aus. Beide berücksichtigen bei ihren Untersuchungen bezüglich Wahrnehmung von Bodenerosion und Implementierung von Erosionsschutzmaßnahmen besonders reduzierte bzw. pfluglose Bodenbearbeitung bzw. Mulchsaatverfahren.

SCHNEIDER et al. (2010) betonen, dass Erosionsschutzmaßnahmen durchführbar und praktisch und somit leicht in den landwirtschaftlichen Alltag einzubauen sein müssen, um angewendet zu werden. Außerdem müssen sie ästhetischen Ansprüchen und dem Wertesystem der Landwirte sowie deren persönlichen und professionellen Identitäten entsprechen. Bodenschutz hat keine Priorität im Alltagsleben der Landwirte, sondern ist nur eine von vielen Herausforderungen. Gegen die Implementierung von Erosionsschutzmaßnahmen geben Landwirte ökonomische, ökologische, agronomische und soziale Argumente an (SCHNEIDER et al. 2010). MÜLLER et al. (2009) beschäftigten sich mit Erosionsschutzmaßnahmen im konventionellen und biologischen Landbau in Deutschland.

## **3. Methodik**

Um zu ermitteln, ob und inwiefern in den beiden Untersuchungsgebieten Weinviertel und Teneriffa kartoffelbauende Betriebe Wassererosion wahrnehmen und dieser entgegenwirken, wurden zwölf Landwirte befragt (jeweils drei konventionell und drei biologisch

wirtschaftende Betriebe aus Teneriffa und aus dem Weinviertel). Die qualitative Methode des semistrukturierten Leitfadenterviews wurde gewählt, um die Landwirte mit ihren eigenen Vorstellungen von Bodenerosion und Erosionsschutzmaßnahmen zu Wort kommen zu lassen. Diese Methode stellt keinen Anspruch auf die Repräsentativität in einer Grundgesamtheit, liefert aber detaillierte Eindrücke über ein wenig behandeltes Thema, indem sie die Befragten ihre Wahrnehmung zum Gegenstand darlegen lässt. Wichtig dabei ist nicht die Reproduzierbarkeit der Daten, sondern ihre Nachvollziehbarkeit und Nachverfolgbarkeit.

Alle Interviews wurden zur Gänze transkribiert und mithilfe der Induktiven Kategorienbildung (Mayring 2010) ausgewertet. Die vier Gruppen wurden in den Kategoriensystemen gegenübergestellt und die Häufigkeiten der Antworten wurde analysiert.

#### **4. Ergebnisse**

Bei der Wahrnehmung der Bodenerosion und den durchgeführten und wahrgenommenen Handlungsmöglichkeiten in Bezug auf Bodenkonservierung unterscheiden sich die vier untersuchten Gruppen nur bedingt. Alle Gruppen haben ein ganzheitliches Bild von Bodenerosion durch Wasser, was sich darin zeigt, dass die Nennung von Einflussgrößen wie Niederschlag, unbedeckter Boden und abfälliges Gelände gruppenübergreifend erfolgt. Der Ackerbau als grundlegende Ursache für Bodenerosion ist bekannt. Bei Auswirkungen der Bodenerosion tendieren alle Gruppen dazu, zuerst deutlich sichtbare oder störende Auswirkungen zu nennen. Ein Landwirt meint, Bodenerosion durch Wasser gäbe es auf seinen Feldern nur alle paar Jahre. Diese Aussagen lassen vermuten, dass Bodenerosion im Sprachgebrauch der befragten Landwirte nur als solche definiert wird, wenn sie ein gewisses Ausmaß erreicht und / oder Probleme verursacht. Die meist nicht deutlich sichtbare Flächenerosion wird nicht erwähnt. Unregelmäßigeres Wetter in den vergangenen Jahren wird beklagt, nämlich längere Trockenperioden und stärkere Niederschläge, jedoch erwähnt kein Betrieb eine veränderte Erosionsproblematik. Biologisch wirtschaftende Betriebe meinen, Bodenerosion durch Wasser werde möglicherweise verkannt. Darüber hinaus haben sie die Ansicht, sich mehr mit dem Thema zu beschäftigen als konventionell wirtschaftende Kollegen. Außer diesen beiden Punkten konnte unabhängig vom Untersuchungsgebiet kein eindeutiger Unterschied in der Wahrnehmung der Bodenerosion durch Wasser und in der Implementierung von Erosionsschutzmaßnahmen durch die sechs biologisch und sechs konventionell wirtschaftenden Betriebe festgestellt werden.

Vergleicht man die Antworten der biologisch und konventionell wirtschaftenden Betriebe jedoch im selben Untersuchungsgebiet, sind Unterschiede auszumachen. Im Weinviertel geben die Bio-Landwirte an, sie sähen aufgrund der hohen Bearbeitungshäufigkeit und des Verzichtes auf chemisch-synthetische Pestizide im Biolandbau keine oder kaum Möglichkeiten Erosionsschutzmaßnahmen zu implementieren. Ihre Maßnahmen beschränken sich auf Begrünung konservierende Bodenbearbeitung und Kompostausbringung. Daher legen sie besonderen Wert auf den Bodenzustand und geben als einzige Gruppe die Bodenbeschaffenheit als Einflussfaktor für die Bodenerosion an. Bei Problemen greifen sie vorrangig auf eigenes Wissen zurück. Die konventionell wirtschaftenden Betriebe dagegen besprechen Schwierigkeiten primär mit Kollegen. Sie wenden vielfältige, vor allem technische Erosionsschutzmaßnahmen an, wie beispielsweise Dyker, Dammsohlenbegrünung, Querfurche (hangparalleles Pflügen), Querdämme und konservierende Bodenbearbeitungsverfahren.

Auf Teneriffa sind biologisch wirtschaftende Betriebe stärker auf Bodenerosion sensibilisiert als konventionelle Vergleichsbetriebe. Dies zeigt sich in ihrem vielfältigeren Bild von Bodenerosion und Schutzmaßnahmen sowie den häufigeren Antworten in den meisten Aspekten (siehe Tab.1). Sie wenden eher Erosionsschutzmaßnahmen an als ihre

konventionellen Kollegen. Zusätzlich zu bewährten Maßnahmen, werden neue ausprobiert, wie etwa Mulchen, Hinaufwerfen von Erde mit der Pflugschar bei hangparalleler Bearbeitung und Grünstreifen im Feld.

Tab.1: Häufigkeit der Nennungen der vier Gruppen zu ausgewählten Aspekten der

	Schweregrad / Wichtigkeit	Ursachen	Auswirkungen	zeitliche Dimension	Anwendung von Schutzmaßnahmen	Kenntnis von Schutzmaßnahmen	Auswirkung von Schutzmaßnahmen	Kommunikation	Hürden und Anreize für Schutzmaßnahmen	Winderosion
Teneriffa konventionell	9	18	15	9	11	7	4	10	17	2
Teneriffa biologisch	14	21	18	14	21	4	6	13	25	1
Weinviertel konventionell	11	22	21	15	16	13	15	18	35	1
Weinviertel biologisch	21	23	22	8	7	10	9	16	25	1
Gesamt	55	84	76	46	55	34	34	57	102	5

Am meisten differiert das Bild aber zwischen Betrieben der beiden Untersuchungsgebiete, aufgrund der unterschiedlichen Bearbeitungstechnik, die aus spezifischem Relief, Parzellengröße und sozio-kulturellem Hintergrund der Betriebsleiter resultiert. Auf Teneriffa werden die Dämme quer zum Hang gezogen. Als Erosionsschäden werden primär die Verlagerung von Erde, Infrastruktur- und Sachschäden sowie lineare Abtragungsformen großen Maßstabs (mindestens Rinnenerosion) beschrieben. Das kommt vermutlich daher, dass sich Erosionsschäden, die lange durch die quer gezogenen Dämme verhindert wurden, schließlich verheerend auswirken. Die Weinviertler Betriebe geben dagegen mehr und differenziertere Antworten zu den Auswirkungen der Bodenerosion durch Wasser. Es sind in diesem Untersuchungsgebiet alle mit dem Thema vertraut und kennen die möglichen Erosionsschutzmaßnahmen. Auf Teneriffa wenden biologisch wirtschaftende Betriebe mehr Erosionsschutzmaßnahmen an als konventionell wirtschaftende. Im Weinviertel ist dies umgekehrt (siehe Tab.1).

Sehr häufig sind die Kosten und der Arbeitsaufwand von Erosionsschutzmaßnahmen für die Betriebe zu hoch, um diese umzusetzen. Für die breitere Implementierung von Gegenmaßnahmen sind billigere, arbeitssparende Techniken notwendig, so der Grundtenor der befragten Landwirte aus dem Weinviertel. Vor der Anwendung von Erosionsschutzmaßnahmen wollen sich die Betriebe von deren positiven Resultaten überzeugen können. Pilotprojekte, praktische Bildung, Information und Förderung der Kommunikation zwischen den Betrieben ermöglichen dies und werden von den befragten Betrieben gewünscht.

### 5. Diskussion

Im Rahmen der bisherigen angestellten Forschungen bezüglich der Wahrnehmung von Bodenerosion durch Wasser ergänzt die vorliegende Arbeit diese insofern, dass sie das Thema erstmals explizit auf den Kartoffelbau fokussiert. Zusätzlich stellt sie einen Vergleich zwischen Regionen mit ihren spezifischen Anbaumethoden und den Bewirtschaftungsweisen biologisch und konventionell an.

Wie bereits AMSALU und DE GRAAF (2006: 99) betonen, wird auch bei den in der vorliegenden Arbeit befragten Landwirten Wassererosion anhand von linearen



Abtragungsformen wahrgenommen, Flächenerosion dagegen nicht. Die Schwelle, ab der Bodenerosion durch Wasser wahrgenommen wird, ist bei den befragten Landwirten sehr hoch. Landwirte verbinden offensichtliche, außergewöhnliche oder sogar katastrophale Ereignisse mit dem Begriff (vgl. CURRLE 1995). Ebenfalls bestätigte sich in beiden Regionen Weinviertel und Teneriffa das Ergebnis von CURRLE (1995) und SCHNEIDER et al. (2010), wonach Bodenerosion durch Wasser für Landwirte nur eine von vielen Herausforderungen ist und nicht höchste Priorität besitzt. CURRLE (1995) gibt als häufigste genannte Ursache für Bodenerosion Starkregen, Hackfruchtanbau und die Vergrößerung der Schläge an. Niederschlag bzw. starker Niederschlag wurde auch von allen Gruppen der in der vorliegenden Arbeit befragten Landwirte als Erosionsursache angegeben, während der Hackfruchtanbau als Ursache im Weinviertel von allen und auf Teneriffa von keinem Betrieb als Ursache angegeben wurde. Die Vergrößerung der Schläge wurde von keinem Landwirt genannt. Die von CURRLE (1995) und SCHNEIDER et al. (2010) betonte Wichtigkeit der Ästhetik für die Betriebe bei der Implementierung von Erosionsschutzmaßnahmen kam im Zuge dieser Arbeit durch die Interviewpartner in den beiden Untersuchungsgebieten nicht auf, jedoch durchaus die Bedeutsamkeit von der leicht in den Alltag integrierbaren Handhabung von Maßnahmen. Bei SCHNEIDER et al. (2010) werden als Gründe für und auch gegen den Einsatz von der konkreten Erosionsschutzmaßnahme der pfluglosen Bodenbearbeitung ökonomische Faktoren genannt. Dafür spricht etwa die Reduktion von Kraftstoff und Arbeitszeit, dagegen der dadurch nötige Zukauf von Herbiziden, zusätzliche Investitionen und mögliche Ernteverluste. Die befragten Landwirte nannten eben diese schwierige monetäre Kalkulierbarkeit der Erosionsschutzmaßnahmen als Problem. Dies und auch die Tatsache, dass sich die Landwirte Projekte mit Ergebnissen über die Erfolge von Erosionsschutzmaßnahmen wünschen, um nicht durch Experimentierfreudigkeit privatwirtschaftliche Verluste zu erleiden, weist darauf hin, dass sie sich von Forschung und Politik Unterstützung und etablierte Lösungen erhoffen würden.

An dieser Stelle danken wir allen Landwirten und landwirtschaftlichen Beratern für ihre Unterstützung.

## 6. Literatur

- AMSALU A. und DE GRAAFF J. (2006): Farmers' views of soil erosion problems and their conservation knowledge at Beressa watershed, central highlands of Ethiopia. – In: Agriculture and Human Values 23. 99-108
- BOARDMAN J. und J. POESEN (Hrsg.) (2006): Soil Erosion in Europe. John Wiley & Sons. ISBN 0-470-85910-5.
- CURRLE J. (1994): Landwirte und Bodenabtrag. Empirische Analyse der bäuerlichen Wahrnehmung von Bodenerosion und Erosionsschutzverfahren in drei Gemeinden des Kraichgaus. – Weikersheim. (= Kommunikation und Beratung. Sozialwissenschaftliche Schriften zur Landnutzung und ländlichen Entwicklung 1)
- EVANS R. (2010). Runoff and soil erosion in arable Britain: changes in perception and policy since 1945. – In: Environmental Science and Policy 13. 141-149
- MOLNAR J., (2014): Bodenerosion durch Wasser in Teneriffa und im Weinviertel – Wahrnehmung von Abtrag und Handlungsmöglichkeiten durch biologisch und konventionell wirtschaftende Kartoffelbaubetriebe. - Wien. (unveröffentlicht)
- MÜLLER E., BECHERER U. und HÄNSEL M. (2009): Maßnahmen zur Erosionsminderung im konventionellen und ökologischen Landbau unter Einbeziehung der teilschlagspezifischen Bodenbearbeitung. – o.O. (= Erosionsminderung in der Landwirtschaft. Schriftenreihe des Sächsischen Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie. Heft 2/2009)

- NITSCH A. (2013): Praxishandbuch Kartoffelbau. 2. Aufl. - Clenze.
- SCHNEIDER F. (2008): The quest for sustainable soil cultivation in Swiss Agriculture – Co-creation of knowledge through network building and social learning. Dissertation an der Univ. Bern.
- SCHNEIDER F., LEDERMANN T., FRY P. und RIST T. (2010): Soil conservation in Swiss agriculture - Approaching abstract and symbolic meanings in farmers' life-worlds. – In: Land Use Policy 27. 332-339
- STRAUSS P. UND KLAGHOFER E. (2006): Austria. In Boardman J. und J. Poesen (Hrsg.): Soil Erosion in Europe. John Wiley & Sons. 204-212.
- PIMENTEL, D., C. HARVEY, P. RESOSUDARMO, K. SINCLAIR, D. KURZ, M. MCNAIR, S. CRIST, L. SHPRITZ, L. FITTON, R. SAFFOURI und R. BLAIR, 1995: Environmental and Economic Costs of Soil Erosion and Conservation Benefits. Science 267, 1117-1123.

# SOIL ORGANIC N SUPPLY FROM THE PERSPECTIVE OF A ROOT – A MICRODIALYSIS APPROACH

Erich INSELSBACHER<sup>a</sup>, Olusegun Ayodeji OYEWOLE<sup>b</sup>, Richard BRACKIN<sup>c</sup>,  
Susanne SCHMIDT<sup>c</sup> und Torgny NÄSHOLM<sup>b</sup>

<sup>a</sup>University of Vienna, Department of Geography and Regional Research, Vienna, AT-1090, Austria

<sup>b</sup>Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Ecology and Management, Umeå, SE-901 83, Sweden

<sup>c</sup>The University of Queensland, School of Agriculture and Food Sciences, Brisbane, QLD-4072, Australia

## Abstract

The availability of nitrogen (N) for root uptake largely regulates plant biomass production in terrestrial ecosystems and directly influences plant-soil interactions. Detailed knowledge about the concentration and composition of soil N pools are therefore crucial for studying plant N nutrition. Until now this remained a challenging task, as results from destructive soil sampling are only poor indicators for in situ soil N concentrations. Further, plant N acquisition is determined by the flux of N from the surrounding soil to root surfaces rather than by soil N concentrations. Recently, a non-invasive sampling technique based on passive microdialysis was presented as a possible tool to estimate concentrations and diffusive fluxes of N in soils *in-situ*. Unlike other sampling methods the miniaturized design and the passive sampling approach allow for continuous monitoring of soil N fluxes at an unrivalled spatial and temporal resolution. Further, soil N fluxes estimated by microdialysis can be directly related to root uptake capacities. Besides diffusion, mass flow is a major pathway for plant N acquisition and, for the first time, we have managed to directly estimate diffusion and mass flow using microdialysis. We found that mass flow significantly increased soil N supply by directly providing an additional source of N dissolved in soil water, and indirectly by causing a steeper concentration gradient around the microdialysis membranes. In conclusion, microdialysis proved to be superior over other sampling techniques regarding in-situ estimation of plant-available soil N and has the potential to give new insights into plant-soil N dynamics.

## Zusammenfassung

Die Verfügbarkeit von Stickstoff (N) für die Wurzelaufnahme reguliert in großem Maße Pflanzenwachstum in terrestrischen Ökosystemen und beeinflusst die Interaktionen zwischen Pflanzen und Böden. Es ist daher unerlässlich genaue Angaben über Konzentrationen und Zusammensetzung von N in Böden zu bestimmen. Diese Aufgabe ist allerdings eine Herausforderung, da die Ergebnisse von destruktiven Beprobungen nur bedingt verfügbaren N in ungestörten Böden widerspiegeln. Zudem ist die Nachlieferung von N vom Boden zur Wurzeloberfläche wichtiger für die Pflanzenernährung als absoluten N-Konzentrationen im Boden. Vor kurzem wurde eine neue Mikrodialyse-Methode vorgestellt, die es ermöglicht störungsfrei Konzentrationen und Diffusionsraten von N in Böden *in-situ* zu bestimmen. Im

Gegensatz zu anderen Methoden erlaubt das kleinformatige Design und die passive Art der Probenahme längerfristiges Monitoring von N-Flüssen in Böden in unerreichter räumlicher und zeitlicher Auflösung. Die so gemessenen N-Flüsse in Böden können in der Folge direkt mit potentiellen Wurzelauftakelraten von N verglichen werden. Neben Diffusion leistet Massenfluss einen erheblichen Beitrag für die Pflanzenernährung. Zum ersten Mal ist es gelungen mit Hilfe von Mikrodialyse Diffusions- und Massenflussraten direkt zu messen. Die N-Verfügbarkeit wurde signifikant durch Massenfluss erhöht, einerseits durch die direkte Zufuhr von gelöstem N im Bodenwasser und andererseits indirekt, durch die Vergrößerung des Diffusionsgradienten zwischen Boden und der Oberfläche der Membranen (bzw. Wurzeln). Mikrodialyse hat sich bezüglich *in-situ* Bestimmungen von pflanzenverfügbarem Boden-N als besser geeignete Methode gegenüber anderen Methoden erwiesen.

## 1. Introduction

The availability of soil nitrogen (N) is one of the most important factors determining soil fertility, plant biomass production and species composition. Generally more than 80% of soil N is present in organic form (SCHULTEN & SCHNITZER 1997) which is thus a key player in the terrestrial N cycle. During the last decade the role of organic N for plant nutrition has received increasing attention (CHEN & XU 2008, GÄRDENÄS et al. 2010, JONES et al. 2005, NÄSHOLM et al. 2009, ROTHSTEIN 2009), since plants from a wide range of ecosystems have been shown to bypass the bottleneck of N mineralization by taking up and utilizing organic N, such as amino acids, peptides and proteins (JÄMTGÅRD et al. 2008, KIELLAND 1994, LIPSON & NÄSHOLM 2001, NÄSHOLM et al. 1998, PAUNGFOO-LONHIENNE et al. 2008, PAUNGFOO-LONHIENNE et al. 2012, PERSSON & NÄSHOLM 2001). Therefore the accurate assessment of concentrations and composition of soil N pools provides the fundamental basis for understanding plant N nutrition. Most soil sampling techniques, however, are of a destructive or at least invasive nature and do not allow such measurements. One apparent problem with such techniques is the disruption of the natural equilibrium during sampling and sample treatments (e.g. sieving and homogenizing, extraction, filtration, pH buffering, freezing and thawing, derivatization, drying, grinding) before chemical analyses. These handling procedures increase the risk of introducing accidental errors resulting in reduced reliability of the analytical results (CARRILLO-GONZALES et al. 2013, JONES & WILLET 2006, MAKAROV et al. 2013, ROUSK & JONES 2010, WARREN & TARANTO, 2010, MIRO & HANSEN 2006). Extraction of soil with water or salt solutions, one of the most commonly used methods for estimating soil N pools, has been shown to significantly alter N pools and concentrations during sieving and extraction as a consequence of microbially mediated transformations and losses to the atmosphere (INSELSBACHER 2014) and it is increasingly recognized that results from such soil extractions are only poor indicators of *in-situ* soil N concentrations (INSELSBACHER & NÄSHOLM 2012a, MIRO & FRENZEL 2011).

From a plant-perspective even more important than N concentrations per weight-unit soil is how much and in which form N is in direct contact with the root surface (NYE & MARRIOTT 1969, CLARKSON & HANSON 1980, LEADLEY et al. 1997, TINKER & NYE 2000). This N is usually rapidly depleted during root uptake, especially in N-limited ecosystems, and N has to be replenished continuously to maintain plant growth. Plants can access immobile or bound N by root proliferation, thereby growing into new areas of soil, and by exudation of exchange-ions. However, the main drivers for continuous N supply for plant uptake are diffusion and mass-flow (TINKER & NYE 2000). Diffusion of N occurs along the concentration gradient from the surrounding soil to the root surface evolving during root uptake while mass-flow is driven by plant transpiration which creates a flow of soil water (and dissolved N) towards the root surface (*cf.* OYEWOLE et al. 2014). Therefore, a direct

and robust method for estimating diffusion and mass flow of N in soil is needed in order to study the potential of soil for supplying N for plant nutrition.

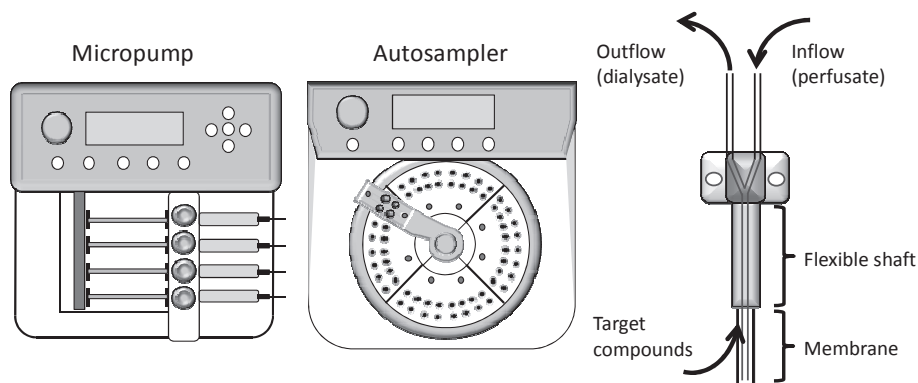
## 2. The microdialysis technique

Recently, one such technique based on passive microdialysis was introduced for environmental research (*cf.* INSELSBACHER et al. 2011). This virtually non-invasive technique induces a diffusive flux over a semi-permeable membrane driven by the concentration gradient between the perfusate solution on the inside of the membrane and the soil solution on the outside (KEHR 1993, TORTO et al. 2001). When using distilled water as perfusate, all free compounds with a molecular size smaller than the molecular cut-off of the membrane will diffuse across the membrane into the constant stream of water pumped through the system (for details see Fig. 1; see also INSELSBACHER et al. 2011). This diffusive flux is calculated as follows according to INSELSBACHER & NÄSHOLM (2012a):

$$F_{MD} \text{ (nmol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}) = C_{dial}/A_{MD} \cdot t$$

where  $F_{MD}$  is the diffusive flux across the microdialysis probe membrane,  $C_{dial}$  is the concentration of the measured compound in the dialysate,  $A_{MD}$  is the membrane surface, and  $t$  is sampling time.

However, it is crucial to correctly interpret the results gained by this technique. The performance of microdialysis is dependent on several factors such as perfusion flow rate, membrane properties and the resistance of analyte transport across the membrane, through the perfusate and through the soil (STENKEN et al. 2001, PLOCK & KLOFT 2005, INSELSBACHER et al. 2014). Fortunately, microdialysis has been extensively studied and applied in the field of neuroscience and pharmacokinetic studies (*cf.* DAVIES 1999) and environmental scientists are able to access know-how gained through several decades of microdialysis research.



**Figure 1** Schematic experimental setup of the microdialysis system consisting of a high-precision infusion pump (CMA 400), a microfraction collector (CMA 470) and microdialysis probes (CMA 20) with a polyarylethersulphone membrane (10 mm long, 500  $\mu\text{m}$  outer and 400  $\mu\text{m}$  inner diameter) with a 20 kDa molecular weight cut-off. (Taken from INSELSBACHER et al. 2011).

### 3. Results gained by microdialysis

We have evaluated the microdialysis technique in a series of studies and concluded that this method allows monitoring of soil N fluxes *in-situ* with minimal invasiveness (INSELBACHER et al. 2011, INSELBACHER & NÄSHOLM 2012a, b, OYEWOLE et al. 2013, INSELBACHER et al. 2014). The miniaturized design of the microdialysis membranes (10 mm length and 0.5 mm outer diameter for the CMA20 membranes) allows for virtually non-invasive instalment in soils and for subsequent monitoring of the dynamics of induced  $F_{MD}$  of soil N at an unrivalled spatial ( $< 1$  cm) and temporal ( $< 30$  min) resolution (INSELBACHER et al. 2011, INSELBACHER et al. 2014). We found that individual N compounds, especially amino acids, were distributed highly heterogeneously in soil, highlighting the suitability of microdialysis for studying N dynamics in soil microsites. We also monitored the formation of a depletion zone around the membrane surface after application of standard N similar to those obtained in the rhizosphere of active roots (INSELBACHER et al. 2011, TINKER & NYE 2000).

One of the most significant advantages of the microdialysis technique over many other sampling techniques is the possibility to monitor soil N fluxes directly in the field. In a comparative *in-situ* study, we have found that amino acids dominated the induced  $F_{MD}$  of 15 boreal forest soils while inorganic N accounted for less than 20% of total  $F_{MD}$  (INSELBACHER & NÄSHOLM 2012a). This was in clear opposition to the results gained by soil extraction in which ammonium was the major N compound ( $\sim 80$  % of total N analysed), a common finding in soil extracts (e.g. KRONZUCKER et al. 1997, ROTHSTEIN 2009). This difference in results between *in-situ* monitoring of N fluxes and *ex-situ* soil extraction was striking and led to a number of subsequent studies. As boreal forest soils are known to contain a high proportion of organic N we decided to perform another study in a highly contrasting ecosystem, namely a high-productive subtropical sugarcane field in Queensland, Australia. Surprisingly, we found a similar pattern with amino acids contributing a major part to total  $F_{MD}$ , except directly after fertilization where ammonium dominated soil N fluxes (unpublished data). To take this story a step further we compared soil N supply rates (estimated by microdialysis) with potential sugar cane root uptake rates (estimated during a  $^{15}N$  uptake study) and found that soil supply rates of amino acids, but not of inorganic N, closely matched root uptake capacities. These results provided evidence that organic N may have a much greater contribution to N nutrition of agricultural crops than has previously been assumed and that fertilization with mineral N might often be mismatched with plant N demands.

### 4. Diffusion and mass flow

As has been mentioned above, another major pathway of soil N supply for plant uptake is mass flow. We have extended and evaluated the microdialysis technique to allow inducing mass flow of water and N dissolved therein by using a solution of macromolecules larger than the molecular-weight cut-off of the probe membrane with low osmotic potential (Dextran 20) instead of distilled water as perfusate (OYEWOLE et al. 2014). This presented a major step forward in the research area of soil nutrient fluxes, as the classical method for estimating the relative contribution of diffusion and mass flow to plant N acquisition is an indirect calculation. Briefly, total N uptake by a plant over a period of time was assumed to be the sum of diffusion and mass flow. Nitrogen provided through mass flow was calculated as transpiration multiplied by the concentration of N in the soil solution and N provided by diffusion was then calculated as the difference of total N uptake and N provided by mass flow (for details and further references see OYEWOLE et al. 2014). By applying the microdialysis technique we managed for the first time to directly estimate the relative contribution of diffusion and mass flow in soils. We found that mass flow significantly increased the soil supply of N for plant uptake in two ways: Mass flow directly provides additional N dissolved

in the soil water, but even more important through indirectly increasing diffusion of N by causing a steeper N concentration gradient around the microdialysis membrane (or root) surface.

## 5. Conclusion

In conclusion, *in-situ* monitoring of soil N fluxes applying the microdialysis technique reveals a significant role of amino acids for plant N supply. This contrasts sharply to the results of earlier studies extracting soils, which most likely can be ascribed to the low invasiveness of the microdialysis methodology in our studies. Further development of this technique now allows studying the roles of diffusion and mass flow for plant N supply in a wide range of ecosystems. Our studies show that mass flow has a major effect on root N acquisition both by direct and indirect effects. Combining microdialysis flux measurements with root uptake studies (using stable isotope tracers) has the potential to give novel insights into synchronized or mismatched soil N supply and plant N uptake.

## References

- CARRILLO-GONZALEZ, R., GONZALEZ-CHAVEZ, M.C.A., AITKENHEAD-PETERSON, J.A., HONS, F.M. & LOEPPERT, R.H. (2013): Extractable DOC and DON from a dry-land long-term rotation and cropping system in Texas, USA. *Geoderma* 197-198, 79-86.
- CHEN, C.R.R. & XU, Z.H.H. (2008): Analysis and behavior of soluble organic nitrogen in forest soils. *Journal of Soils and Sediments* 8, 363-378
- CLARKSON, D.T. & HANSON, J.B. (1980): The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 31, 239-298.
- DAVIES, M.I. (1999): A review of microdialysis sampling for pharmacokinetic applications. *Anal. Chim. Acta* 379, 227-249.
- GÄRDENÄS, A.I., ÅGREN, G.I., BIRD, J.A., CLARHOLM, M., HALLIN, S., INESON, P., KÄTTERER, T., KNICKER, H., NILSSON, S.I., NÄSHOLM, T., OGLE, S., PAUSTIAN, K., PERSSON, T. & STEHNDAHL, J. (2010): Knowledge gaps in soil carbon and nitrogen interactions – from molecular to global scale. *Soil Biology & Biochemistry* 43, 702-717
- INSELSBACHER, E. (2014): Recovery of individual soil nitrogen forms after sieving and extraction. *Soil Biology & Biochemistry* 71, 76-86
- INSELSBACHER, E. & NÄSHOLM, T. (2012a): The below-ground perspective of forest plants: soil provides mainly organic nitrogen for plants and mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 195, 329-334.
- INSELSBACHER, E. & NÄSHOLM, T. (2012b): A novel method to measure the effect of temperature on diffusion of plant-available nitrogen in soil. *Plant and Soil* 354, 251-257.
- INSELSBACHER, E., ÖHLUND, J., JÄMTGÅRD, S., HUSS-DANEL, K. & NÄSHOLM, T. (2011): The potential of microdialysis to monitor organic and inorganic nitrogen compounds in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 43, 1321-1332.
- INSELSBACHER, E., OYEWOLE, O.A., NÄSHOLM, T. (2014) Early season dynamics of soil nitrogen fluxes in fertilized and unfertilized boreal forests. *Soil Biology & Biochemistry* 74:167-176.



- JÄMTGÅRD, S., NÄSHOLM, T. & HUSS-DANEL, K. (2008): Characteristics of amino acid uptake in barley. *Plant and Soil* 302, 221-231.
- JONES, D.L., HEALEY, J.R., WILLETT, V.B., FARRAR, J.F. & HODGE, A. (2005): Dissolved organic nitrogen uptake by plants – an important N uptake pathway? *Soil Biology & Biochemistry* 37, 413-423
- JONES, D.L. & WILLETT, V.B. (2006): Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 991-999.
- KEHR, J. (1993): A survey on quantitative microdialysis – theoretical models and practical implications. *Journal of Neuroscience Methods* 48, 251-261.
- KIELLAND, K. (1994): Amino acid absorption by arctic plants: implications for plant nutrition and nitrogen cycling. *Ecology* 75, 2373-2383.
- KRONZUCKER, H.J., SIDDIQI, M.Y. & GLASS, A.D.M. (1997): Conifer root discrimination against soil nitrate and the ecology of forest succession. *Nature* 385, 59-61.
- LEADLEY, P.W., REYNOLDS, J.F. & CHAPIN, F.S.A. (1997) A model of nitrogen uptake by *Eriophorum vaginatum* roots in the field: ecological implications. *Ecological Monographs* 67, 1-22.
- LIPSON, D. & NÄSHOLM, T. (2001): The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems. *Oecologia* 128, 305-316.
- MAKAROV, M.I., SHULEVA, M.S., MALYSHEVA, T.I. & MANYAILO, O.V. (2013): Solubility of the labile forms of soil carbon and nitrogen in K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> of different concentrations. *Eurasian Soil Science* 46, 369-374.
- MIRO, M. & FRENZEL, W. (2011): Microdialysis in environmental monitoring. In: TSAI, T.H. (ed): *Applications of Microdialysis in Pharmaceutical Science*. Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA. S. 509-530.
- MIRO, M. & HANSEN, E.H. (2006): Recent advances and perspectives in analytical methodologies for monitoring the bioavailability of trace metals in environmental solid substrates. *Microchimica Acta* 154, 3-13.
- NÄSHOLM, T., EKBLAD, A., NORDIN, A., GIESLER, R., HÖGBERG, M. & HÖGBERG, P. (1998): Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature* 392, 1155-1161.
- NÄSHOLM, T., KIELLAND, K. & GANETEG, U. (2009): Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* 182, 31-48.
- NYE, P.H. & MARRIOTT, F.H. (1969): A theoretical study of distribution of substances around roots resulting from simultaneous diffusion and mass flow. *Plant and Soil* 30, 459-472.
- OYEWOLE, A.O., INSELSBACHER, E. & NÄSHOLM, T. (2014): Direct estimation of mass flow and diffusion of nitrogen compounds in solution and soil. *New Phytologist* 201, 1056-1064
- PAUNGFOO-LONHIENNE, C., LONHIENNE, T.G.A., RENTSCH, D., ROBINSON, N., CHRISTIE, M., WEBB, R.I., GAMAGE, H.K., CARROLL, B.J., SCHENK, P.M. & SCHMIDT, S. (2008): Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 4524-4529.



- PAUNGFOO-LONHIENNE, C., VISSER, J., LONHIENNE, T.G.A. & SCHMIDT, S. (2012): Past, present and future of organic nutrients. *Plant and Soil* 359, 1-18.
- PERSSON, J. & NÄSHOLM, T. (2001): Amino acid uptake: a widespread ability among boreal forest plants. *Ecology Letters* 4, 434-438.
- PLOCK, N. & KLOFT C. (2005): Microdialysis – theoretical background and recent implementation in applied life-sciences. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25, 1-24
- ROTHSTEIN, D.E. (2009): Soil amino-acid availability across a temperate forest fertility gradient. *Biogeochemistry* 92, 201-215.
- ROUSK, J. & JONES, D.L. (2010): Loss of low molecular weight dissolved organic carbon (DOC) and nitrogen (DON) in H<sub>2</sub>O and 0.5 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soil extracts. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 2331-2335.
- SCHULTEN, H.R. & SCHNITZER, M. (1997): The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biology and Fertility of Soils* 26, 1-15
- STENKEN, J.A., CHEN, R. & YUAN, X.N. (2001): Influence of geometry and equilibrium chemistry on relative recovery during enhanced microdialysis. *Analytica Chimica Acta* 436, 21-29.
- TINKER, P.B. & NYE, P.H. (2000): Solute movement in the rhizosphere. Oxford University Press, Inc., New York, USA.
- TORTO, N., MAJORS, R.E. & LAURELL, T. (2001): Microdialysis sampling – challenges and new frontiers. *LC GC North America* 19, 462-475.
- WARREN, C.R. & TARANTO, M.T. (2010): Temporal variation in pools of amino acids, inorganic and microbial N in a temperate grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 353-359.



# **THE HUMUS-TREND-SCALE**

## **A method to get a feeling for humus dynamics in soil.**

**Marie-Luise WOHLMUTH**

Wien  
0676 67 98 168  
marie-luise.wohlmuth@gmx.net

### **Introduction**

The assessment of humus dynamics of agricultural soils is of high interest from an agronomical and an ecological point of view. The content of humus in soils is linked to many important parameters like e.g. water holding capacity, stability of aggregates and storage capacity of nutrients, and is influenced by land management. Humus balance methods intend to support farmers in maintaining soil fertility of their land. Interestingly, in parts of Germany financial transfers for farmers are linked to the application of humus balance spreadsheet programs.

### **Aim**

My aim was to broaden this important topic for a wider range of people e.g. pupils, students, people interested in ecology, farmers and teachers. This had to be done by finding a didactically adjusted concept.

### **Method**

The Humus-Trend-Scale is based on the humus balance methods according to Leithold et al. (1997) and the standards of humus balancing according to Ebertseder et al. (2014). From the point of didactics it is based on the method of Maria Montessori (Ludwig et al. 1997) and Sensory Integration (Jane Ayres, Ulla Kiesling) where material, which addresses several senses, is used. The method is didactically prepared in a way that visual (colours, size) and tactile (weight) stimuli help the user to work with the effect of cultures and organic fertilization on arable farmland.

The users can easily discover if a crop rotation shows a positive or negative trend on the content of humus within the soil. People with no or little knowledge of farming get a basic understanding what farming means to soil fertility. Especially farmers get a better feeling about the humus dynamics in relations of cash crops to one another and between cash crops and organic fertilization like green manure, cover crops, compost, legumes, straw etc.

### **Resume**

First applications of the Humus-Trend-Scale on field days and as part of the “BOKU-Mobil” program brought very positive response from farmers as well as from pupils and teachers.

### **Literature**

Ebertseder, T.; Engels, C.; Heyn, J.; Reinhold, J.; Brock, C.; Fürstenfeld, F.; Hülsbergen, K.-J.; Isermann, K.; Kolbe, H.; Leithold, G.; Schmid, H.; Schweitzer, K.; Willms, M. & Zimmer, J. (2014): Humusbilanzierung - Eine Methode zur Analyse und Bewertung der Humusversorgung von Ackerland. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) (Editor), Self-Publishing, Speyer.

Leithold, G.; Hülsbergen, K.-J.; Michel, D. & Schönmeier, H. (1997): Humusbilanzierung – Methoden und Anwendung als Agrar-Umweltindikator. In: Initiativen zum Umweltschutz, Vol. 5, p 43-54

Ludwig, H. (1997): Maria Montessori - Leben, Werk, Grundgedanken. In: Ludwig H. (Editor): Erziehen mit Maria Montessori – Ein reformpädagogisches Konzept in der Praxis. Herder, Freiburg, Basel, Wien.

## Inhalt sämtlicher Mitteilungen der ÖBG

Die Inhaltsverzeichnisse sämtlicher Mitteilungen der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft finden Sie im Internet unter der Adresse

<http://www.boku.ac.at/oebg> unter **Publikationen**.

Die Hefte können über die Österreichische Bodenkundliche Gesellschaft, Gregor Mendelstraße 82b, A-1180 Wien, oder direkt via Internet bestellt werden.

## Hinweis zur Einreichung für den Kubienapreis

Bis 31. August können Arbeiten für den Kubienapreis eingereicht werden.

Weitere Informationen unter <http://www.boku.ac.at/oebg> unter Kubienapreis.

