

**Aus dem Institut für Agrarökologie**

**Christoph Tebbe**

**Bodenmikroorganismen : die verborgene Vielfalt**

Manuskript, zu finden in [www.fal.de](http://www.fal.de)

Published in: Forschungsreport Verbraucherschutz, Ernährung,  
Landwirtschaft (2002)2, pp. 22-25

**Braunschweig**  
**Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL)**  
**2002**

**D**ie Vielfalt von Bodenmikroorganismen und ihre Bedeutung für den Bodenschutz lassen sich mit herkömmlichen Methoden kaum ermitteln. Die moderne Molekularbiologie eröffnet hier neue Möglichkeiten – die Konturen einer geheimnisvollen Welt werden deutlicher erkennbar.

## Was Mikroorganismen für den Boden tun

Bodenmikroorganismen, insbesondere Bakterien, leisten einen wesentlichen Beitrag zur Funktion und nachhaltigen Nutzbarkeit von Böden. Pflanzenreste, Dünger und Pflanzenschutzmittel werden mikrobiologisch abgebaut, so dass Anbauflächen sich im Laufe einer Vegetationsperiode regenerieren und das Grundwasser sauber bleibt. Bodenbakterien und Pilze sind am Aufbau der organischen Substanz in Böden beteiligt und erhöhen wesentlich die Bodenfruchtbarkeit.

Im Wurzelraum von Pflanzen, in den so genannten Rhizosphären, leben Bakterien und Pilze, die vom Kohlenstoffangebot der Pflanzen profitieren und den Pflanzen im Gegenzug wachstumsfördernde Faktoren liefern. Einzellige Bodentiere (Protozoen) ernähren sich von Bodenbakterien und haben damit vermutlich eine wichtige Kontrollfunktion zur Ausbildung einer stabilen, natürlichen Mikroflora. Und auch mit höheren Tieren treten Bodenmikroorganismen in eine ökologisch wichti-

ge Wechselwirkung: Sie helfen kleinen Bodeninsekten und Würmern dabei, organische Substanz zu verdauen und zu mineralisieren.

Die Wechselwirkungen von Bodenmikroorganismen mit Pflanzen können positiv sein, wie beispielsweise bei Leguminosen, die von Bakterien aus der *Rhizobium*-Gruppe mit Stickstoff versorgt werden, oder aber negativ, wie bei pathogenen Mikroorganismen, die ihre Wirtspflanzen schädigen oder gar abtöten.

Pflanzenschädigende, phytopathogene Bakterien vermehren sich besonders gut, wenn sie immer wieder das gleiche Opfer, also die gleiche Kulturpflanze, „vor Augen“ haben. Fruchtfolgen und integrierter Pflanzenbau zeigen, wie es richtig geht: Werden die Kulturpflanzen nicht in monotoner Reihenfolge nacheinander angebaut sondern in einer Fruchtfolge, haben die phytopathogenen Bodenbakterien schlechtere Chancen. Offensichtlich entwickelt sich im Zuge von Fruchtfolgen eine größere natürliche Mikroorganismen-Vielfalt, in der die pathogenen Spezialisten ihre Vorteile verlieren.

*Bakterien im Darm von Collembolen. Äußerlich sehen alle Bakterien ähnlich aus (stäbchenförmig), aber molekulare Analysen zeigen, dass es sich um viele unterschiedliche „Arten“ handelt.*



# Bodenmikro – die verborgen

Christoph Tebbe (Braunschweig)

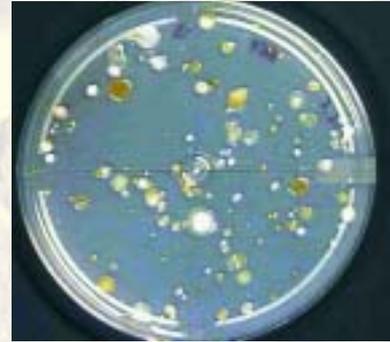
# organismen gene Vielfalt

## Vielfalt von Mikroorganismen ist etwas besonderes

Höhere Organismen, wie Pflanzen und Tiere, sind in Arten eingeteilt. Dabei bezeichnet der Begriff „Art“ eine Fortpflanzungsgemeinschaft, in der alle Weibchen und Männchen miteinander fruchtbar kreuzbar sind. Bei Bodenbakterien ist das nicht so eindeutig: Eine Art, wie sie für höhere Organismen definiert ist, gibt es dort nicht. Sexuelle Prozesse sind äußerst seltene Ereignisse und – wenn sie denn stattfinden – nicht unbedingt auf eng verwandte Organismen beschränkt. Zwar definiert die Mikrobiologie auch bei Bakterien „Arten“ – Organismen mit einem bestimmten, hohen Verwandtschaftsgrad – jedoch sind diese Definitionen relativ willkürlich. Dazu kommt, dass verschiedene, nicht miteinander verwandte Arten genau das gleiche tun können (z.B. Zellulose abbauen oder Wachstumshormone für Pflanzen bilden) und umgekehrt einige Vertreter einer „Art“ etwas besonderes können (z.B. ein Pflanzenschutzmittel abbauen) und andere nicht.

Die äußerliche Gestalt der Bakterien ist nicht sehr vielfältig, sie reicht nicht als Kriterium zur Unterscheidung und schon gar nicht, um etwas über ihre physiologischen Fähigkeiten oder ihre ökologische Funktion auszusagen. Physiologische Leistungen, etwa die Fähigkeit Luftstickstoff zu binden oder ein bestimmtes Pflanzenschutzmittel abzubauen, lassen sich im Labor an Mikroorganismen untersuchen. Dazu ist es notwendig, den Organismus zunächst auf Nährböden anzureichern und zu vermehren. Bei solchen Untersuchungsmethoden bleibt jedoch häufig unklar, welche Bedeutung der gerade untersuchte Organismus tatsächlich im Boden hat, ob er nicht vielmehr aus einem Ruhestadium „erweckt“ wurde und wie häufig er überhaupt vorkommt.

Über Kultivierungstechniken lassen sich aus einem Gramm fruchtbaren Ackerbodens 10 Millionen Bakterienzellen isolieren. Das Mikroskop zeigt jedoch, dass es in einem Gramm 10 bis 100 mal mehr intakte, lebensfähige Bakterienzellen gibt. Das heißt: Die tatsächliche Vielfalt der Bodenbakterien lässt sich auf dem Wege der Kultivierung nicht darstellen,



*Nährboden (Agar), beimpft mit einer Bodensuspension. Die verschiedenen Koloniausprägungen deuten auf unterschiedliche Bodenmikroorganismen hin – aber nur rund 1 % der Bodenbakterien sind unter solchen Bedingungen überhaupt in der Lage, Kolonien zu bilden.*

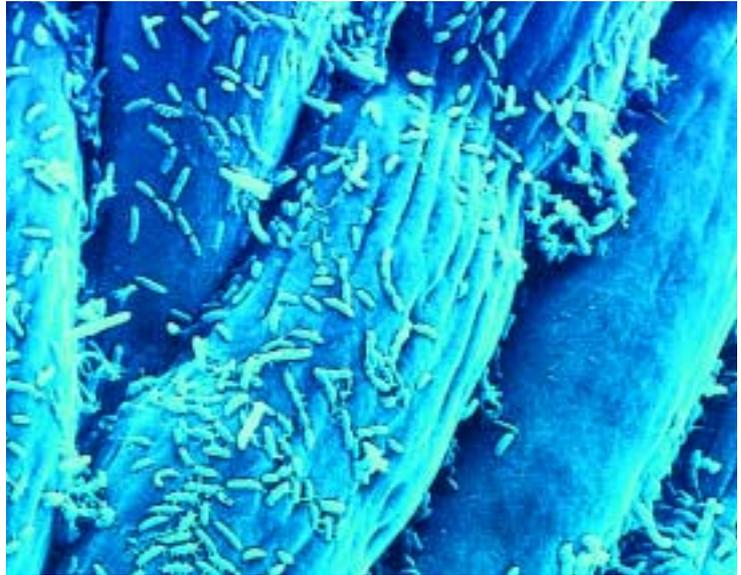
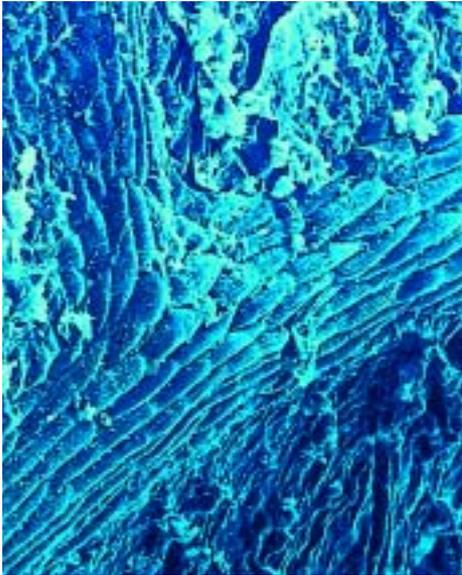
da nur ca. 1 % der Organismen überhaupt auf den üblichen Nährböden wächst. Trotz dieser Limitierungen werden die so genannten „Kolonie-bildenden Einheiten“ (also Bakterien, die auf Nährböden wachsen) häufig als Indikator für die Bodenqualität aufgeführt. Der Wert lässt sich einfach ermitteln, für viele ökologische Untersuchungen ist er jedoch zu grob und daher nicht sehr aussagekräftig.

Durch kultivierungsunabhängige Techniken ist heute bekannt, dass in einem Gramm Boden mehr als 1.000, wahrscheinlich oft mehr als 10.000 verschiedene Bakterien-„Arten“ vorkommen.

## Von Markergenen zur Vielfalt

Dank der Entwicklungen in der molekularen Biologie ist es heute möglich, die Bakterienvielfalt auch ohne Kultivierung zu untersuchen: DNA, die gemeinsame Erbsubstanz (fast) aller Organismen, wird aus Umweltproben, zum Beispiel aus Boden, direkt extrahiert. Mit Hilfe der Polymeraseketten-Reaktion (PCR) lassen sich dann aus dieser DNA bestimmte Gene isolieren, die Auskunft über die Vielfalt der Mikroflora geben.

Anfang der 90er Jahre hat unsere Arbeitsgruppe im Institut für Agrarökologie der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), ebenso wie auch die Gruppe um Kornelia Smalla in der Biologi-



*Aufnahmen mit dem Rasterelektronenmikroskop zeigen bei zunehmend starker Vergrößerung zahlreiche Bakterien.*

schen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA), Methoden zur direkten Extraktion von DNA entwickelt. Dabei galt es das Problem zu lösen, Huminsäuren, die aus dem Boden mit extrahiert werden und die PCR hemmen, zu entfernen beziehungsweise in ihrer hemmenden Wirkung abzuschwächen. Zunächst wurden die PCR-Verfahren vor allem für den Nachweis von gentechnisch veränderten Mikroorganismen im Zusammenhang mit der biologischen Sicherheitsforschung entwickelt und genutzt. Heute stehen die Methoden auch für Biodiver-

sitätsuntersuchungen zur Verfügung.

Das entscheidende Gen für derartige Untersuchungen ist ein bestimmtes rRNA-Gen. Dieses Gen kommt in jedem Organismus vor, und die Ähnlichkeit dieses Gens bei zwei Organismen steht in direktem Zusammenhang mit ihrer stammesgeschichtlichen (phylogenetischen) Verwandtschaft. Diese phylogenetischen Beziehungen bilden heute das Fundament der modernen Klassifizierung von Mikroorganismen. Die PCR ermöglicht es, rRNA-Gene anzureichern, ohne die dazugehörigen Bakterien kultivieren zu müs-

sen. Dabei erhält man auch rRNA-Gene von unbekanntem Organismen, denn es kann vorausgesagt werden, wie diese Gene in bestimmten Bereichen aufgebaut sind. PCR-Primer binden an diese Bereiche und umschließen dabei variable Genabschnitte. Diese variablen Abschnitte wiederum können genutzt werden, um auch unbekanntem Organismen in das phylogenetische System einzuordnen.

Tatsächlich bringen Untersuchungen an herkömmlichen Agrarböden Erstaunliches zu Tage: Die meisten rRNA-Gene gehören zu Bakterien, die noch nicht genau bekannt sind. Mehr noch: Viele Bakterien scheinen zu eigenständigen phylogenetischen Gruppen zu gehören, die uns bisher fast vollkommen verborgen waren. Selbst Archaea – Mikroorganismen, die lange irrtümlicherweise zu den Bakterien gerechnet wurden und die für ihre Fähigkeit bekannt sind, unter sehr extremen Bedingungen (Hitze, Salzgehalt, Druck) leben zu können – trifft man in unseren Böden an. Ihre genaue Aktivität und ökologische Funktion ist noch nicht bekannt.

*Proben mit ungereinigter DNA aus verschiedenen Böden.*



## Zuviel Vielfalt?

Aufgrund der hohen natürlichen Vielfalt der Bodenmikroorganismen wäre es ein aussichtsloses Unterfangen, alle Bodenbakterien im Zuge einer angewandten ökologischen Fragestellung zu charakterisieren. Will man zum Beispiel die Auswirkung einer Bodenbelastung unter-

suchen, ist es günstiger sich darauf zu beschränken, die Veränderungen der Vielfalt zu messen. Hierzu wurden genetische Fingerprinting-Verfahren entwickelt: Die Bakterienvielfalt wird wie in einem Fingerabdruck dargestellt, die Fingerabdrücke von verschiedenen Proben werden miteinander verglichen und die Unterschiede analysiert. Durch Arbeiten von Frank Schwieger, Achim Schmalenberger und Anja Dohrmann als Doktoranden in unserer Arbeitgruppe wurde die PCR-SSCP-Technik, ursprünglich für Mutationsnachweise in der Genetik entwickelt, für diese Zwecke verändert. PCR-SSCP steht heute für Vielfaltsuntersuchungen zur Verfügung und wird inzwischen weltweit eingesetzt.

Genetische Fingerabdrücke mit der PCR-SSCP-Technik können in ihrer Empfindlichkeit unterschiedlich eingestellt werden. Möchte man alle Bakterien einer Umweltprobe nachweisen, setzt man Primer-Systeme ein, die an hoch konservierte Regionen der rRNA-Gene binden – möchte man nur einen Zweig des phylogenetischen Baums, also eine Verwandtschaftsgruppe nachweisen, so wählt man spezifischere Primer. Gerade bei Böden ist die Auswahl von spezifischeren Systemen wichtig, da die natürliche Bakterienvielfalt zu groß ist, um sie in einem einzelnen Fingerabdruck darzustellen.

Ist erst einmal eine Methode zur Praxisreife entwickelt, ergeben sich vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. So unter-

suchten wir zum Beispiel im Rahmen eines EU-Projekts, ob Ozon-geschädigte Pflanzen andere Bakteriengemeinschaften in ihrer Rhizosphäre haben als nicht geschädigte. Andere Projekte vergleichen mit Hilfe der PCR-SSCP die Rhizosphäre-Gemeinschaften gentechnisch veränderter und nicht veränderter Pflanzen.

Nicht nur im Boden selbst, auch in Bodentieren finden Mikroorganismen besondere ökologische Nischen: Im Darm von Regenwürmern oder Springschwänzen (Collembolen) fanden wir bisher kaum beachtete Mikroorganismen, die vermutlich beim Nahrungsabbau helfen. Mit Hilfe von Gensonden und der Fluoreszenz-in situ Hybridisierungstechnik (FISH) gelang es unserer Arbeitsgruppe, Bakteriengemeinschaften in ihrer Vielfalt direkt im Darm von Collembolen sichtbar zu machen. Verschwinden die Tiere infolge von Bodenschädigungen aus den Ökosystemen, so gehen auch diese wichtigen Aktivitäten der Bakterien verloren – eine Potenzierung der Artenverarmung!

## Die Zukunft hat begonnen

Noch sind die molekularen Methoden relativ neu und ihr Potenzial ist bei weitem nicht ausgeschöpft. Die Vielfaltsanalysen basieren häufig nur auf der Ansammlung von neu sequenzierten Genen,

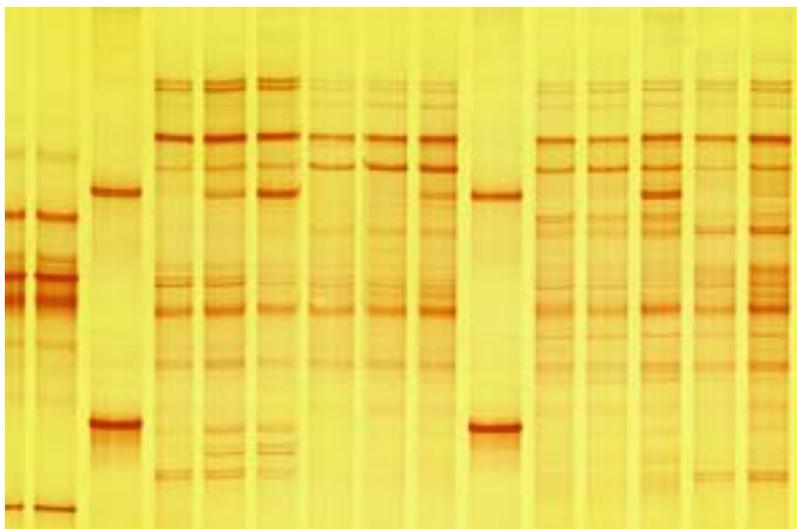


aber geben keine Information darüber, wie eine Mikroorganismengemeinschaft in ihrer Raumstruktur organisiert ist. Mit Hilfe der konfokalen Scanning-Lasermikroskopie lassen sich Gensonden-Techniken wie FISH und hochempfindliche Bildanalysen kombinieren. Hier liegt eine große Chance, die Struktur und Funktion von Gemeinschaften in ökologischen Nischen aufzuklären.

Vielfalt von Bodenmikroorganismen kann nicht nur beschrieben werden, sie lässt sich auch nutzen. Mit Hilfe von Klonierungsverfahren gelingt es inzwischen, intakte Gene aus nicht kultivierten Bodenbakterien auf das Labor-„Arbeitsstier“ der Genetiker, *Escherichia coli*, zu übertragen. Der Boden ist das größte Reservoir für biologische Vielfalt auf unserer Erde. Das haben auch Biotechnologie-Firmen erkannt, die damit begonnen haben, neue biotechnologische Produkte von nicht kultivierten Bodenmikroorganismen zu suchen und zu nutzen. Am Ende könnten neue, umweltfreundliche Produkte stehen – und die Erkenntnis, wie wertvoll die verborgene Vielfalt unserer Bodenmikroorganismen wirklich ist. ■

**Bodenbakterien der Rhizobium-Gruppe versorgen Leguminosen mit Stickstoff**

**Genetische Fingerabdrücke mit der SSCP-Technik; hier von Bakteriengemeinschaften auf Steinen.**



Priv.-Doz. Dr.  
Christoph Tebbe,  
Bundesforschungs-  
anstalt für Landwirt-  
schaft (FAL), Institut für Agrarökologie,  
Bundesallee 50, 38116 Braunschweig.  
E-mail: [christoph.tebbe@fal.de](mailto:christoph.tebbe@fal.de)