

ANWENDUNG ÖKOPHYSIOLOGISCHER PARAMETER ZUR CHARAKTERISIERUNG MIKROBIELLER BIOMASSEN IM BODEN

Traute-Heidi Anderson und Klaus Heinz Domsch

ABSTRACT

The study of ecological parameters and their influence on microbial physiology have been conducted, traditionally, under in vitro conditions. Studies of physiological changes considering the total microbial biomass are rare but essential for ecosystem analysis. The following physiological parameters such as the metabolic quotient for CO₂ (q_{CO_2}), the maintenance coefficient (m) and the maximal carbon uptake rate (V_{max}) are used for demonstrating quantitative as well as qualitative differences between microbial biomasses from different soil systems.

keywords: *soil microbial biomass, eco-physiology, maintenance coefficient (m), metabolic quotient (q), maximal carbon uptake rate (V_{max})*

EINLEITUNG

Die enge Beziehung zwischen Ökologie und mikrobieller Physiologie veranschaulicht der Begriff Ökophysiologie, wie er vor allem in den Artikeln von TEMPEST und NEIJSEL (1978) und TEMPEST et al. (1983) überzeugend beschrieben wurde. Kenntnisse über Reaktionen von Mikroorganismen auf Milieuveränderungen sind in der Vergangenheit ausschließlich über Batch- oder Chemostatkulturen gewonnen worden. Untersuchungen über physiologische Veränderungen unter Bodenbedingungen, wobei die mikrobielle Biomasse als ein Kollektiv betrachtet wird, sind rar. Dagegen spielte in der Vergangenheit die aquatische Mikrobiologie auf diesem Gebiet eine Vorreiterrolle.

Bei der Analyse terrestrischer Ökosysteme hingegen ist es erforderlich, die Gesamtheit von Mikroorganismen-Gesellschaften zu betrachten, wobei stets spezifische Aktivitäten von Einzelorganismen in die Summe der spezifischen Gesamtaktivität einfließen (ANDERSON und DOMSCH 1986 a).

Im folgenden werden an Beispielen aus eigenen Arbeiten der Erhaltungsbedarf (m), der metabolische Quotient für CO₂ (q_{CO_2}) und die maximale Aufnahme einer Kohlenstoffquelle (V_{max}) vorgestellt. Die drei ökophysiologischen Parameter sind dadurch gekennzeichnet, daß die jeweilige Aktivität auf Biomasseeinheit anstelle der sonst üblichen Bodenheit bezogen wird (ANDERSON und DOMSCH 1986a). Dieses Vorgehen ist eine Voraussetzung für Leistungsvergleiche zwischen mikrobiellen Biomassen aus unterschiedlichen Bodensystemen.

MATERIAL UND METHODEN

Bodenproben: Bodenproben werden im zeitigen Frühjahr genommen (ANDERSON und DOMSCH 1986b) und bei 4 °C gelagert. Vor Gebrauch werden die Proben gesiebt und auf ein einheitliches Wasserpotential von ca. -350 kPa eingestellt.

Bestimmung der mikrobiellen Biomasse und der CO₂ Raten: Die Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse erfolgte nach der Substrat-induzierten Respirationsmethode (SIR) nach ANDERSON und DOMSCH (1978). Für die CO₂-Analytik wurde ein Ultragas-3-CO₂ Analysergerät (Wösthoff, Bochum, FRG) benutzt. Für die Bestimmung des qCO₂ (mg CO₂-C mg⁻¹ C_{mic} h⁻¹) wurde die Basalatmung der Proben für 10 Stunden bei 22 °C verfolgt, nachdem die CO₂-Raten in einer 20-stündigen Vorbebrütung annähernd konstante Werte erreicht hatten (ANDERSON und DOMSCH 1986a).

Bestimmung des Erhaltungskoeffizienten (m): Der Erhaltungsbedarf ergibt sich nach PIRT (1975) aus dem Gesamtverbrauch einer Kohlenstoffquelle abzüglich des Verbrauchs für Wachstum. Wird die Wachstumsrate $\mu = 0$ und eine C-Quelle völlig zugunsten der Erhaltung dissimiliert, gilt die Gleichung:

$$- \frac{ds}{dt} = mx \quad (\text{PIRT 1975})$$

wobei ds = C-Verbrauch im Energiestoffwechsel, x = mikrobielle Biomasse-C, dt = Zeit und m = der Erhaltungskoeffizient (mg Glucose-C mg⁻¹ C_{mic} h⁻¹) ist. Die Bestimmung des Erhaltungsbedarfs sowohl aktiver, optimal C-versorgter als auch ruhender, C-limitierter Mikroorganismen-Gesellschaften wurde von uns bereits früher beschrieben (ANDERSON und DOMSCH 1985a, b).

Bestimmung der maximalen Glucoseaufnahme: Die Beziehung zwischen der Glucosekonzentration und der maximalen Glucoseaufnahme (V_{max}) kann über die Michaelis-Menten Gleichung beschrieben werden:

$$V = V_{\max} \frac{S}{(K_m + S)} \quad (\text{KARLSON 1988})$$

wobei S = Substratkonzentration, V = spezifische Glucoseaufnahme und V_{max} = maximale Glucoseaufnahme ist. Die Affinitätskonstante K_m ergibt sich aus der Berechnung von 1/2 V_{max}. Zur Findung von V_{max} werden die Bodenproben mit ansteigenden Mengen an Glucose versetzt und nach 2 h Inkubationszeit (22 °C) die Restglucose bestimmt (ANDERSON und DOMSCH 1986a).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Erhaltungsbedarf (m) mikrobieller Biomassen unter Bodenbedingungen

Der Erhaltungsbedarf ist die Menge an Kohlenstoff, die von einer Zelle für den Energiestoffwechsel genutzt wird, also nicht an Zellvermehrung beteiligt ist. Unter gleichen Bedingungen ist m eine Konstante. Aus Reinkulturversuchen sind Zahlen zum Erhaltungsbedarf von Mikroorganismen bekannt. Die in vitro-Werte liegen im Mittel bei 0,04 g Glucose pro g Biomasse-trockengewicht und Stunde (ANDERSON und DOMSCH 1985 a). Wird dieser Wert auf mikrobielle Biomassen unter Bodenbedingungen extrapoliert, würde der Kohlenstoffeintrag über die Primärproduzenten den Erhaltungsbedarf nicht decken (GRAY und WILLIAMS 1971a, JENKINSON und LADD 1981). Daraus leitete sich zwingend ab, daß wegen der Kohlenstofflimitierung unter Bodenbedingungen nur ein kleiner Teil der Gesamtbiomasse metabolisch aktiv sein kann, während der größte Teil der Organismen in vegetativer Form "ruht" (GRAY und WILLIAMS 1971b). Der Erhaltungsbedarf der Gesamtmikroflora im Boden müßte also im Vergleich zu den optimal kohlenstoffversorgten Mikroorganismen aus in vitro Untersuchungen wesentlich niedriger sein. Unsere Ergebnisse decken sich mit dieser Annahme. Wird eine Mikroorganismen-Gesellschaft optimal mit Kohlenstoff versorgt, liegt der Erhaltungsbedarf bei 0,01 g Glucose-C pro g Biomasse-C und Stunde, ein Wert, der mit den Ergebnissen aus in vitro Untersuchungen vergleichbar ist. Dagegen vermindert sich der Erhaltungsbedarf m unter den vorherrschenden Bedingungen einer Kohlenstofflimitierung je nach Temperatur um 2 bis 3 Größenordnungen. Die Ergebnisse für mikrobielle Biomassen aus drei unterschiedlichen Böden sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tab. 1: Vergleich von Erhaltungskoeffizient (m) aktiv metabolisierender bzw. ruhender mikrobieller Biomassen aus drei Böden.

Bodentyp	Mikrobielle Biomasse		
	aktiv (22 °C)	(15 °C	ruhend 28 °C)
Parabraunerde	0,0124*	0,34 x 10 ⁻⁴	3,25 x 10 ⁻⁴
Tschernosem	0,0127	0,33 x 10 ⁻⁴	1,66 x 10 ⁻⁴
Rendzina	0,0130	0,16 x 10 ⁻⁴	1,68 x 10 ⁻⁴

* Zahlen in $\mu\text{g C/glc } \mu\text{g C/mic h}^{-1}$ (aus ANDERSON und DOMSCH 1985 a,b).

Würde m auf den Jahresbedarf hochgerechnet, ergäbe sich, daß einer Gesamtzufuhr von 1.000 kg C/ha ein mikrobieller Bedarf von 41.472 kg C gegenüberstünde, wenn die mikrobielle Biomasse kontinuierlich metabolisch aktiv wäre (Abb. 1). Wird dagegen der Erhaltungsbedarf von ruhenden Organismen als Rechengrundlage genommen, würden nur 116 kg C zur Erhaltung pro Jahr benötigt, d.h. eine mikrobielle Biomasse von 400 kg C könnte sich unter Inanspruchnahme der verbleibenden 884 kg C im Jahr ca. 2,2 x erneuern (Umsatzrate). Die Erneuerungs- oder Umsatzrate könnte als Aktivitätsparameter zur Differenzierung zwischen unterschiedlichen Bodensystemen ebenso genutzt werden wie der Erhaltungsbedarf selbst.

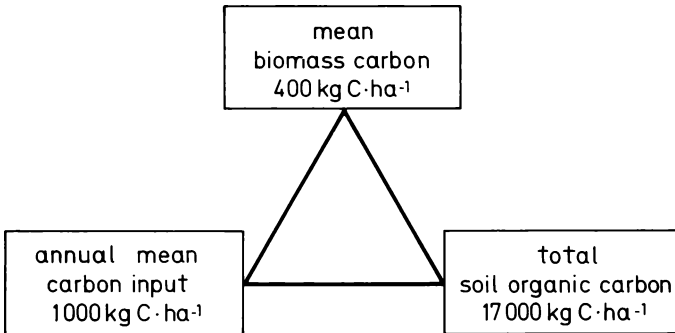


Abb. 1: Kohlenstoffdreieck. Zugrundegelegt wird ein einfaches Bodensystem (z.B. Monokultur ohne organischen Zusatz außer den Wurzel- oder Ernterückständen) mit einem Corg. Gehalt von 1,13 % und einer mikrobiellen Biomasse von 270 $\mu\text{g/g}$ Boden, unter der Annahme, daß ein ha das Gewicht von $1,5 \times 10^6$ kg hat (12 cm Tiefe).

Der metabolische Quotient für CO₂ (qCO₂)

Die Basalatmung reflektiert den Energiebedarf der im Boden vorliegenden mikrobiellen Biomasse. Der CO₂-Wert allein sagt nichts über Veränderungen innerhalb der Mikroorganismengesellschaft aus, außer der möglichen Beobachtung, daß die CO₂-Abgabe während eines Jahres steigen oder sinken kann. Wird der CO₂-Wert aber auf die vorliegende Biomasse bezogen, entsteht eine spezifische Maßeinheit (unter gegebenen Milieubedingungen). Der sogenannte metabolische Quotient für CO₂ (qCO₂) beschreibt die Leistungseinheit pro Zellmasse und Zeit (PIRT 1975, SLATER 1979) und ist somit als physiologische Konstante zu betrach-

ten. Die Übertragung dieser Maßeinheit auf Bodenbedingungen hat sich als sehr nützlich erwiesen. Der qCO_2 wurde von uns als Vergleichsgröße gegenüber dem Erhaltungsbedarf (ANDERSON und DOMSCH 1985 a) und bei Untersuchungen zum Einfluß von Temperaturgradienten genutzt (ANDERSON und DOMSCH 1986a). Auch Einflüsse durch bestimmte Milieüänderungen und dadurch entstehende Änderungen im Energiebedarf der Mikroorganismen können sich in qCO_2 Werten niederschlagen (INSAM 1990). Bei Messungen der mikrobiellen Biomasse im Jahresgang wurde von uns festgestellt, daß sie von einem Mittelwert oszilliert (Tabelle 2). Wäre die Leistung pro Zelleinheit immer gleichbleibend, müßte der qCO_2 ebenso konstant bleiben. Der qCO_2 erreicht jedoch bei hohen Biomassewerten hohe und bei den niedrigen Biomassewerten niedrige Werte, d.h. die Mikroorganismen-Gesellschaften durchlaufen im Jahresgang unterschiedliche physiologische Stadien.

Tab. 2: Vergleich der metabolischen Quotienten qCO_2 bei unterschiedlicher Biomasseshöhe einer Parabraunerde.

Mikrobielle Biomasse			qCO_2		
(mg C _{mic} 100 g ⁻¹ Boden)			(mg CO ₂ -C mg ⁻¹ C _{mic} h ⁻¹) x 10 ⁻⁴		
	12,4			10,0	
SD	0,93	(n = 4)	SD	5,6	(n = 60)
	25,5			17,8	
SD	1,0	(n = 4)	SD	1,3	(n = 40)
	27,3			20,7	
SD	0,94	(n = 2)	SD	1,3	(n = 30)

SD = Standardabweichung

Als naheliegende Erklärung kommt in Betracht, daß die mikrobielle Biomasse unter Kohlenstofflimitierung lebt, d.h. innerhalb der Gesamtflora ist (zu jedem Zeitpunkt) der größte Teil der Zellen "ruhend" und nur ein kleiner Teil metabolisch aktiv. Metabolisch aktive Zellen haben einen höheren Erhaltungsbedarf (ANDERSON und DOMSCH 1985), aber auch einen höheren qCO_2 (ANDERSON und DOMSCH 1978). Da der errechnete qCO_2 -Wert der Gesamtflora sich immer aus der CO_2 -Abgabe ruhender und aktiver Zellen zusammensetzt, und da die Stoffwechselaktivität sich mit der Kohlenstoffverfügbarkeit verändert, wird auch die Gesamt- CO_2 -Abgabe pro Biomasseeinheit und Zeit (qCO_2) davon betroffen. Dieser Vorgang ist in Abbildung 2 verdeutlicht.

Die Möglichkeit der Änderung des qCO_2 innerhalb einer Bodenflora muß bei vergleichenden Untersuchungen zwischen unterschiedlichen Bodensystemen berücksichtigt werden. Um sinnvolle Meßergebnisse zu erhalten, ist zumindest ein gleicher Probenahmeterrin einzuhalten, sind ökologisch analoge Entnahmestellen auszuwählen und ist die Vorgeschichte der Untersuchungsflächen zu berücksichtigen.

Die maximale Kohlenstoffaufnahme (V_{max})

Es ist davon auszugehen, daß auch unter Bodenbedingungen die Kohlenstoffaufnahme von einer spezifischen Affinität zwischen der C-Quelle und den Enzymsystemen abhängt. Abweichungen von dieser Affinitätskonstanten würde qualitative Veränderungen in der Mikroflora anzeigen. In unserem Beispiel wurde die Kohlenstoffaufnahme an Mikroorganismen-Gesellschaften in Böden unter Monokulturen und Fruchtfolgen von Dauerversuchsflächen untersucht. Es hatte sich bei diesen Flächen gezeigt, daß mehr mikrobielle Biomasse pro Bodenkohlenstoffeinheit in Böden unter Fruchtfolge als unter Monokulturen gefunden wurde (ANDERSON und DOMSCH 1989).

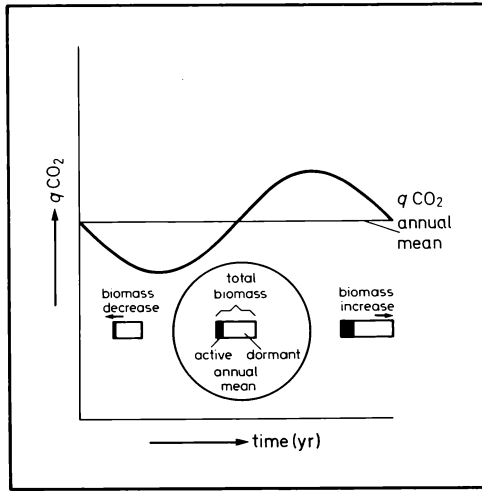


Abb. 2: Zusammenhang zwischen dem metabolischen Quotienten für CO_2 ($q\text{CO}_2$) und dem Anteil aktiver und ruhender Zellen innerhalb der Gesamtflorea (weitere Erläuterungen siehe Text).

Ebenso lag der metabolische Quotient für CO_2 von Mikroorganismen-Gesellschaften unter Monokulturbedingungen doppelt so hoch. Man kann vorläufig annehmen, daß der Eintrag wechselnden organischen Materials im Verlauf der Fruchtfolgewirtschaft im Laufe der Zeit "effizientere" Organismen hinsichtlich der C-Verwertung fördert. Bei effizienterer Nutzung könnte sich dadurch mehr Zellmasse pro Bodenkohlenstoffeinheit bilden und erhalten. Die Tabelle 3 zeigt, daß die mikrobielle Biomasse aus Monokulturböden doppelt soviel Glucose-C pro Zeiteinheit aufnimmt. Die Affinität (K_m) zur Kohlenstoffquelle ist erwartungsgemäß niedriger (hoher K_m -Wert), d.h. Monokulturflora reagieren auf eine C-Quelle bei hoher Verfügbarkeit, während die mikrobielle Biomasse aus Fruchtfolgeböden bei niedrigem Kohlenstoffpegel auf die C-Quelle reagiert. Ökologisch betrachtet, würden Organismen aus Monokulturen somit zu den r-Strategen gehören, die der Fruchtfolgeböden dagegen zu den K-Strategen (ODUM 1969).

Tab. 3: Maximale Aufnahmerate von Glucose und die Affinitätskonstante von mikrobiellen Biomassen für Glucose aus Flächen unterschiedlicher Feldbewirtschaftung.

Art der Bewirtschaftung	V_{\max} ($\mu\text{g C gluc } \mu\text{g}^{-1} \text{ Cmic h}^{-1}$)	K_m ($\mu\text{g C gluc g}^{-1}$)
Monokulturen (n = 7)	0,270 SE 0,030	714 SE 181
Fruchtfolgen (n = 9)	0,130 SE 0,010	290 SE 57

SE = Standardfehler

SCHLUßFOLGERUNGEN

Die mikrobielle Biomasse kann als Gesamtheit nur durch ihre "natürliche" spezifische Leistung im ökologischen Sinne charakterisiert werden, denn diese Leistung wird durch die Milieubedingungen innerhalb eines terrestrischen Ökosystems bestimmt. Für vergleichende Untersuchungen ist es nur sinnvoll, die maximale Leistung (wie μ_{\max} , V_{\max}) als biokinetischen Parameter unter kontrollierten Bedingungen heranzuziehen. Nur so ist es möglich, qualitative Unterschiede mikrobieller Biomassen oder Veränderungen innerhalb eines Biomassepools festzustellen. Dieser Ansatz wäre besonders geeignet zur Beurteilung von Strebeffekten.

LITERATUR

- ANDERSON J.P.E., DOMSCH K.H., 1978: A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. - *Soil Biology and Biochemistry* 10: 215-221.
- ANDERSON T.-H., DOMSCH K.H., 1985a: Maintenance carbon requirements of actively-metabolizing microbial population under in situ conditions. - *Soil Biology and Biochemistry* 17: 197-203.
- ANDERSON T.-H., DOMSCH K.H., 1985b: Determination of eco-physiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. - *Biology and Fertility of Soils* 1: 81-89.
- ANDERSON T.-H., DOMSCH K.H., 1986a: Carbon assimilation and microbial activity in soil. - *Zeitschrift Pflanzenernährung und Bodenkunde* 149: 457-468.
- ANDERSON T.-H., DOMSCH K.H., 1986b: Carbon link between microbial biomass and soil organic matter. - *Proceedings of the Fourth International Symposium on Microbial Ecology, Lubjana 1986*: 467-471.
- ANDERSON T.-H., DOMSCH K.H., 1989: Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. - *Soil Biology and Biochemistry* 21: 471-479.
- GRAY T.R.G., WILLIAMS S.T., 1971a: Microbial productivity in soil. - *Symposia of the Society for General Microbiology* 21: 255-286.
- GRAY T.R.G., WILLIAMS S.T., 1971b: *Soil Microorganisms*. - Oliver and Boyd, Edinburgh.
- INSAM H., 1990: Anwendung des mikrobiellen Respirations-/Biomasseverhältnisses für bodenökologische Studien. - *Verh. Ges. f. Ökol. (Osnabrück 1989)* Bd. XIX/II: 330-335.
- JENKINSON D.S., LADD J.N., 1981: Microbial biomass in soil: measurement and turnover. - *Soil Biochemistry* 5: 415-471.
- KARLSON P., 1988: *Biochemie*. - Thieme Verlag Stuttgart.
- ODUM E.P., 1969: The strategy of ecosystem development. - *Science* 164: 262-270.
- PIRT S.J., 1975: *Principles of microbial and cell cultivation*. - Blackwell, Oxford.
- SLATER J.H., 1979: Microbial population and community dynamics. - In: LYNCH, J.M., POOLE, N.J., *Microbial Ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 45-63.
- TEMPEST D.W., NEIJSSSEL O.M., 1978: Eco-physiological aspects of microbial growth in aerobic nutrient-limited environments. - *Advances in Microbial Ecology* 2: 105-153.
- TEMPEST D.W., NEIJSSSEL O.M., ZEVENBOOM W., 1983: Properties and performances of microorganisms in laboratory culture; their relevance to growth in natural ecosystems. - *Symposia of the Society for General Microbiology* 3: 119-152.

ADRESSE

Dr. Traute-Heidi Anderson
Prof. Dr. K. H. Domsch
Institut für Bodenbiologie
Bundesallee 50
D-W-3300 Braunschweig

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1990

Band/Volume: [19 2 1990](#)

Autor(en)/Author(s): Anderson Traute-Heidi, Domsch Klaus Heinz

Artikel/Article: [Anwendung ökophysiologischer Parameter zur Charakterisierung mikrobieller Biomassen im Boden 324-329](#)