

Zellulaseaktivität im Darm detritivorer Regenwürmer: Exogene oder endogene Herkunft?

Daniel Skambracks und Werner Topp

Synopsis

Cellulase activity in the gut of detritivorous earthworms: Exogenous or endogenous origin?

Consumption rates shown by *Lumbricus rubellus* increased with increasing activity of microorganisms colonizing the leaf litter. In respect to consumption rate leaf litter quality but also microbial activity accounted for 25% of the variance each. These findings are compatible with the hypothesis of the »external rumen«.

In order to test this hypothesis we concentrated on cellulase measurements. We measured cellulase activity characteristics for different leaf litter offered the earthworms, determined concentrations of cellulase within four different gut sections and on freshly deposited feces as well. The following results provide evidence for the production of cellulase activity by the earthworms themselves and falsify the hypothesis of »external rumen«.

1. The pH-optima of the cellulase activity measured on the leaf litter (pH 5.2) and within the gut of the lumbricids (pH 6.2) differed significantly.
2. The cellulase activity measured within the gut of earthworms was many fold higher than cellulase activity measured either on the leaf or on the feces.
3. Cellulase activity as measured within the anterior part of intestine was highest whereas it was lowest within the posterior part of intestine.
4. Cellulase activity within the intestine did not differ between individuals ($p > 0.05$) although when leaf litter, which was significantly different in the concentration of cellulase activity ($p < 0.01$), was offered.

Regenwürmer, Streuabbau, Zellulase, Interaktionen, detritivore Ernährungsstrategie

Earthworms, Lumbricus, Interactions, Detritus feeders, Decomposition

1 Einleitung

Detritivore Regenwürmer stellen in zahlreichen Ökosystemen der gemäßigten Breiten den größten Biomasseanteil der Bodenfauna (SATCHELL 1983, DAVID & al. 1993). Daher dürfte ihnen eine bedeutende Rolle bei der Zersetzung des Bestandesabfalls zukommen. Die Funktion der detritivoren Regenwürmer liegt nicht nur in der Zerkleinerung von Detritus, sondern auch in der Bioturbation, d.h. der Vermischung des organischen Materials mit dem mineralischen Ausgangsmaterial, in der Bildung von Aggregaten und Ton-Humus-Komplexen, in der Schaffung von Gangsystemen und Hohlräumen, die zu einer verbesserten Durchlüftung und Wasserführung im Boden beitragen, und schließlich in der Stabilisierung von Bodenumusprofilen (LEE 1985, SCHAEFER & SCHAUERMANN 1990).

Bei ihrer Nahrungsaufnahme können die detritivoren Regenwürmer als Allesfresser gelten, die mit dem pflanzlichen und tierischen Detritus auch mineralische Bodenpartikel aufnehmen und zusätzlich die Mikroflora fressen, die sich auf den organischen und mineralischen Bodenpartikeln befindet.

Hauptbestandteil der abgestorbenen Blätter, die von den detritivoren Regenwürmern aufgenommen werden, ist die Zellulose. Der Abbau der Zellulose erfordert Zellulase-Enzyme. Zellulaseaktivitäten wurden bisher nur selten bei Wirbellosen gefunden (NIELSEN 1962, MARSHALL & GRAND 1976, MARCUZZI & TURCHETTO LAFISCA 1978). Konnten Zellulaseaktivitäten im Darm von Regenwürmern nachgewiesen werden, wie bei *Lumbricus terrestris* (LAVERACK 1963), so schien es denkbar, daß diese Enzyme mikrobiellen Ursprungs sind und mit der Nahrung aufgenommen werden. Sind die Enzyme mikrobiellen Ursprungs und stammen sie von der Streu, so könnte dies für die detritivoren Regenwürmer bedeuten, daß sie obligatorisch auf Mikroorganismen angewiesen sind. Regenwürmer könnten die von den Mikroorganismen freigesetzten Zellulasen nutzen, weil sie überwiegend die Verdauungsprodukte der Zellulase produzierenden Mikroflora assimilieren. SWIFT & al. (1979) prägen für diesen Mutualismus zwischen Bodenorganismen und der Mikroflora den Begriff »externer Pansen«.

Für die nachfolgenden Untersuchungen stellten sich uns folgende Fragen: (1) Fördern Mikroorganismen die Fraßleistung detritivorer Regenwürmer? (2) Sind Zellulasen im Verdauungstrakt aktiv? (3) Werden Zellulaseaktivitäten nachgewiesen, handelt es sich dann um (a) Enzyme von frei auf der Streu lebenden Mikroorganismen (externer Pansen) oder um (b) Enzyme, die im Regenwurmdarm gebildet werden?

2 Material und Methoden

2.1 Fraßversuche mit *Lumbricus rubellus*

Als Versuchsgefäße dienten 15 cm lange PVC-Röhren mit 8 cm Durchmesser, deren Boden mit einer Gaze (0,1 mm Maschenweite) beklebt war. In diese Röhren wurde ein Ah-Horizont-Boden gefüllt und unverdichtet auf einen Wassergehalt von ca. 90% der maximalen Wasserhaltekapazität eingestellt (ca. 60 ml/100 g trockenen Boden). Dieses Substrat hatte einen pH-Wert von $7,5 \pm 0,1$ und einen organischen Gehalt von $11,0\% \pm 0,9\%$. Als Auflagegeschicht erhielten die Versuchsansätze jeweils ca. 1 g (TG) Pappel- oder Buchenstreu pro g Wurm FG. Von jeder Streuart wurde frischgefallene Streu (im folgenden: frische Streu) und zersetzte Streu verwendet. Die Zersetzung der Pappelstreu erfolgte durch 2-monatige Inkubation in einem Streuvorrat im Labor. Zersetzte Buchenstreu wurde nach 12-monatiger Inkubation verwendet.

Von jeder Streu wurde vor Versuchsbeginn ein sterilisierter Teil mit geringer mikrobieller Aktivität und ein beimpfter Teil mit hoher mikrobieller Aktivität hergestellt. Hierzu wurde die Streu zunächst gewässert, um einen Wassergehalt einzustellen, der eine Besiedlung mit Mikroorganismen erlaubt. Etwa 0,5 g Streu (TG) wurden dann locker in Gazebeutel (Maschenweite: 0,1 mm) verpackt und drei Wochen in einem Streupool im Labor inkubiert. Dieser bestand aus frisch eingesammeltem Mischlaub (hauptsächlich: Erle, Buche, Hainbuche), das in einer zugedeckten Kunststoffkiste im Labor bei ca. 18 °C aufbewahrt wurde. Fünf Tage vor Ablauf der Beimpfungsdauer wurde der zu sterilisierende Teil der Streu entnommen. Die Sterilisierung begann mit einer Trocknung der Streu bei 60 °C. Nach 24 h wurde die Temperatur langsam auf 150 °C erhöht und 24 h gehalten. In den folgenden drei Tagen bis zum Versuchsbeginn wurde die sterilisierte Streu auf einen Wassergehalt von etwa 80% gebracht. Dabei wurde eine Auswaschung der Streu weitgehend vermieden.

Die mikrobielle Aktivität auf der Streu wurde vor dem Versuch in Extrakten aus 5 Aliquots der jeweiligen Streu bestimmt. Als allgemeines Maß für die mikrobielle Aktivität diente die Dehydrogenaseakti-

vität (SKAMBRACKS 1996). Darüber hinaus wurde die Zellulaseaktivität bestimmt (s.u.). Die Veränderung der mikrobiellen Aktivität im Versuchsverlauf wurde in je 5 zusätzlichen Ansätzen mit Regenwurmbesatz erfaßt, die nicht in die Auswertung der Konsumptionsversuche mit eingingen. Der Streuabbau ohne Einwirkung von Regenwürmern wurde in 10 Kontrollen je Variante erfaßt.

Bei den Konsumptionsversuchen wurden von Regenwürmern- und Streu zu Versuchsbeginn und -ende das aschefreie Trockengewicht erfaßt und die Konsumptionsindizes nach WALDBAUER (1968) berechnet.

2.2 Bestimmung der Zellulaseaktivität

Als Zellulaseaktivität wird im folgenden der Abbau von unlöslicher, α -Zellulose zu Glukose bezeichnet. Zellulolytische Organismen synthetisieren Zellulasen in unterschiedlicher Zusammensetzung und Menge (LJUNGDAHL & ERIKSSON 1985). Nur bestimmte Komponenten entwickeln Aktivität gegenüber α -Zellulose (vgl. WOOD & GARCIA-CAMPAYO 1990).

Zur Bestimmung der Zellulaseaktivität wurde Streu oder der Darm von Regenwürmern in 0.2 M Natriumacetat-Puffer (pH 5.0) homogenisiert. Im Überstand sind die extrazellulären Enzyme der Mikroorganismen gelöst. Bei Aktivitätsbestimmungen im Darm von Regenwürmern wurde 0.2 M $\text{Na}_2\text{HPO}_3 / \text{KH}_2\text{PO}_3$ (pH 6.0) verwendet. Die Reaktionspuffer enthielten 0.05% NaN_3 (Natriumazid), um mikrobielles Wachstum zu verhindern. Zu 50 μg Zellulose wurden 500 μl Reaktionspuffer gegeben. Die Inkubationsdauer betrug 18 h bei 20 °C. Als Kontrolle dienten Ansätze ohne Zellulose.

Die Bestimmung der freigesetzten Glukose erfolgte nach einem Verfahren (UV-Test, Boehringer), das sich die spezifische Reaktivität eines Enzyms gegenüber Glukose zunutze macht. Die Methode beruht auf der enzymatischen Umwandlung von Glukose zu Glukonat-6-Phosphat und der damit einhergehenden Reduktion von NADP zu NADPH. Die Konzentrationszunahme des NADPH kann im UV-Bereich bei 340 nm photometrisch bestimmt werden. Sie entspricht der Konzentration der umgesetzten Glukose. Zum Vergleich wurde die Methode von NELSON (1944) und SOMOGYI (1952) berücksichtigt, da diese als Standardverfahren beschrieben wird (ALEF 1991). Der entscheidende Vorteil der UV-Methode gegenüber der Nelson-Somogyi Methode besteht in der Messung einer Extinktionsdifferenz. Dadurch wird die Eigenabsorption des Extrakts ausgeglichen. Der UV-Test erwies sich im Vergleich zu der herkömmlichen Methode als genauer und empfindlicher (SKAMBRACKS 1996).

2.3 Zellulaseaktivität im Regenwurmdarm

Regenwürmer, bei denen Zellulaseaktivitäten gemessen werden sollten, wurden zur »Darmreinigung« 5 Tage auf sterilem Schluff gehalten. Das Substrat wurde täglich gewechselt. Ein farblicher Vergleich der Fäzes mit dem Substrat zeigte an, daß nach 3 Tagen kein ursprüngliches »Hälterungs-Substrat« mehr im Darm vorhanden war. Der einen Variante wurde ausschließlich sterilisierte Pappelstreu als Nahrung angeboten, der anderen Variante beimpfte Pappelstreu (vgl. 2.1). Alle 3 Tage wurden Nahrung und Substrat gewechselt. Nach 21 Tagen wurde der Versuch beendet und die Regenwürmer bis zur Präparation eingefroren.

Zur Präparation wurden eingefrorene Regenwürmer verwendet. Um die Zellulaseaktivität genauer lokalisieren zu können, wurden die Verdauungstrakte in vier Abschnitte untergliedert. Dies waren: 1. Pharynx, Oesophagus, Kropf und Muskelmagen (im folgenden: Vorderdarm), 2. Mitteldarm, 3. Hinterdarm, 4. Enddarm.

2.4 Statistische Auswertung

Der Test auf Normalverteilung wurde mit dem KS-Test, modifiziert nach LILLIEFORS (1967 zitiert in SACHS 1992) durchgeführt. Wenn der Datensatz nicht signifikant von einer Normalverteilung abwich ($p > 0,2$) diente als Lokalisationsmaß das arithmetische Mittel (Mittelwert, MW) und als Dispersionsmaß der Standardfehler (SE). Mehrfachvergleiche wurden bei Vor-

liegen einer Normalverteilung mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse und anschließendem Scheffé-Test berechnet (cf. BORTZ 1989). Im Falle signifikanter Abweichungen von der Normalverteilung wurde die Lage der Unterschiede mit dem U-Test verglichen und es wurden der Median (Med) und die Medianabweichung (D) angegeben. Analog dazu wurde im Falle mehrerer abhängiger Daten, wie z.B. der Zellulaseaktivität in mehreren Darmabschnitten desselben Wurmes der Friedman-Test herangezogen (SACHS 1992).

3 Ergebnisse

3.1 Konsumption

Regenwürmer (*Lumbricus rubellus*) zeigten höchste Konsumptionsraten, wenn ihnen vorzersetzte Laubstreu mit hoher mikrobieller Aktivität angeboten wurde (Abb. 1). Die niedrigsten Konsumptionsraten lagen vor, wenn Regenwürmer von frischer Laubstreu mit geringem mikrobiellen Besatz fraßen. Wurde frische Streu experimentell mit Mikroorganismen beimpft, so trat eine marginale Steigerung in der Konsumptionsrate auf ($p > 0.01$). Eine Beimpfung der vorzersetzten Streu führte zu einer deutlicheren Steigerung in der Konsumptionsrate. Berücksichtigte man Nahrung mit hoher mikrobieller Aktivität, so war die Fraßleistung an Pappelstreu, die einer 2-monatigen Vorzersetzung durch Mikroorganismen ausgesetzt war, im Vergleich zur Pappelstreu ohne Vorzersetzung um das 2.5-fache angestiegen. Buchenstreu mit einer 12-monatigen Vorzersetzung wurde pro

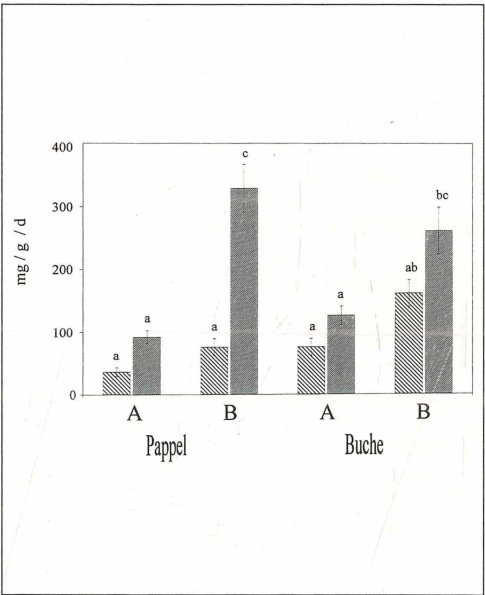


Abb. 1
Konsumptionsraten von *L. rubellus* in Abhängigkeit von der Streuqualität im Modellversuch
Mittelwerte $\pm$ Standardfehler. A= frische Streu; B=Streu nach 2-monatiger (=Pappel), bzw. 12-monatiger (= Buche) Zersetzung. Helle Säulen=Streu mit geringer mikrobieller Aktivität; dunkle Säulen=Streu mit hoher mikrobieller Aktivität. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (ANOVA, Scheffé-Test: $p \leq 0,01$), jeweilige Erfassung bei Pappel: $n=10, 15, 9, 12$ bei Buche: $n=13, 13, 12, 13$ (v.l.n.r.).

Fig. 1
Consumption by *L. rubellus* with varying leaf litter quality in model experiment
Mean $\pm$ standarderror. A= fresh litter; B= litter after 2 months (= Poplar), resp. 12 months (= Beech) weathering. Light columns= Litter with low microbial activity; dark columns = Litter with high microbial activity. Different letters mark significant differences at $p < 0,01$ ANOVA, Scheffé-Test, number of parallels for Poplar: $n=10, 15, 9, 12$; for Beech: $n=13, 13, 12, 13$ (v.l.n.r.).

Tag etwa doppelt so viel gefressen wie frische Buchenstein. Diese Unterschiede waren signifikant ($p < 0.01$). Entsprechende Ergebnisse wurden auch mit *Lumbricus terrestris* erzielt. Bei diesem Regenwurm stiegen die Konsumptionsrate aber auch der Assimilationsquotient und schließlich die Wachstumsrate mit der mikrobiellen Aktivität auf der Nahrung (SKAMBRACKS 1996).

Um die Bedeutung der Einflußgrößen (Streu, Zersetzung, mikrobielle Aktivität) für die Konsumptionsraten zu erfassen, wurde eine dreifaktorielle Varianzanalysen durchgeführt. Die Varianzanalyse wurde mit transformierten Daten berechnet ($x' = (RCR + 5)^{0.3}$). Das Modell erklärt 59% der bei der Konsumption von *L. rubellus* aufgetretenen Varianz. Dabei hatten sowohl der Zersetzungsgrad der Streu als auch die mikrobielle Aktivität auf der Streu den größten Einfluß auf die Konsumption. Dies drückt sich in den hochsignifikanten ($p < 0.001$) Anteilen von 26 bzw. 24% der Varianzaufklärung des Modells aus. Die Streu und die Wechselwirkungen, die zwischen den Einflußgrößen auftraten, waren für die Konsumption von untergeordneter Bedeutung. Diese Ergebnissen machen plausibel, daß extrazellulär gebildete mikrobielle Zellulasen auf der Streu für die Nahrungsaufnahme und Assimilation von Bedeutung sein könnten.

3.2 pH-Optimum der Zellulaseaktivität

Das pH-Optimum der Zellulaseaktivität wurde zunächst auf der Nahrung bestimmt. Im Pappelstreu-Extrakt wies die Zellulaseaktivität ein pH-Optimum von 5.2 auf (Abb. 2). Im Bereich von 5.0 bis 5.5 erreichte die Zellulaseaktivität mindestens 90% der Maximalaktivität. Unterhalb von pH 4.5 und oberhalb von pH 6.5 fiel die Zellulaseaktivität auf unter 50% der Maximalaktivität.

Die Extraktion der zellulolytischen Enzyme im Regenwurmdarm beschränkte sich auf den leicht löslichen Anteil im Verdauungstrakt. Dieser Anteil führte zu repräsentativen Ergebnissen, da die Aktivität, die durch hydrophile Wechselwirkungen mit der Darmwand oder mit den Partikeln des Darminhaltes hervorgerufen wird (= schwer löslicher Anteil, SINSABAUGH & al. 1985) und der nicht lösliche Anteil der Aktivität (cf. MCCLAUGHERTY & LINKINS 1988), der in den Pellets erfaßt wurde, relativ gering waren und nur selten über 20% anstiegen.

Bei den Regenwürmern waren die pH-Optima beider Arten ähnlich. Im vorderen Darmabschnitt wurden bei beiden Arten jeweils ein pH-Optimum gemessen. Die Optima lagen etwa bei pH 5.2 (*L. rubellus*) bzw. bei pH 6.0 (*L. terrestris*) (ein Puffereffekt

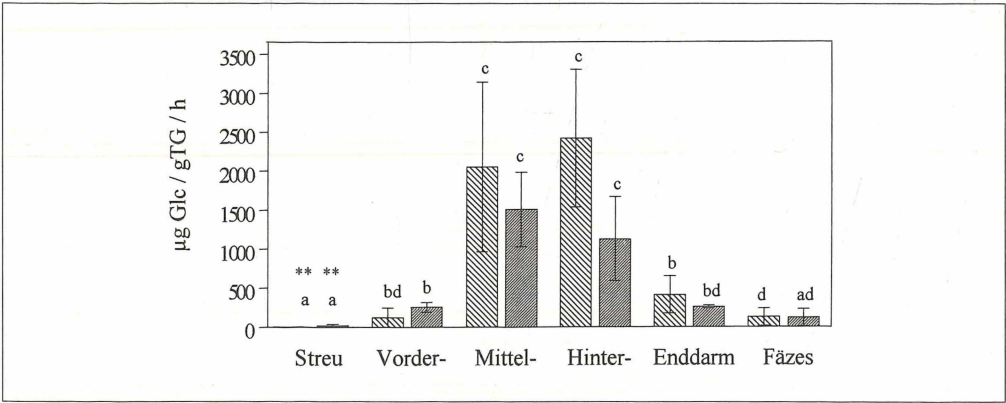


Abb. 2
Zellulase-Aktivität in Darmbereichen von *L. rubellus* bei unterschiedlicher Zellulaseaktivität auf der Nahrung
Median ± Medianabweichung für die Nahrung, für vier aufeinanderfolgende Darmabschnitte sowie für die Fäzes. Helle Säulen: geringe Zellulaseaktivität auf der Nahrung, dunkle Säulen: hohe Zellulaseaktivität auf der Nahrung.
**= signifikante Unterschiede zwischen den Ansätzen (U-Test: $p \leq 0.01$). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen Streu, Fäzes und den verschiedenen Darmabschnitten (Friedman, Wilcoxon-Test: $p \leq 0.05$), jeweilige Erfassung: $n = 22$ bzw. 23 für Streu und 12 bzw. 11 für jeden Darmabschnitt in Ansätzen mit sterilisierter resp. beimpfter Streu.

Fig. 2
Cellulase activity in the gut of *L. rubellus* in respect to varying cellulase activity on the food
Median ± median deviation for the food (leaf litter), the four gut segments and the feces. Light columns = low microbial activity of the food; dark columns = high microbial activity of the food.
**= significant differences between marked series, U-test: $p < 0.01$; different letters mark significant differences between the litter, the feces and the gut segments (Friedman, Wilcoxon -test: $p < 0.05$), $n = 22$ resp. 23 for the litter and 12 resp. 11 for the gut segments and feces.

konnte ausgeschlossen werden). Im hinteren Darmabschnitt lag das pH-Optimum etwa bei pH 5.8 (*L. rubellus*) und bei pH 6.1 (*L. terrestris*). Die weiterführenden Zellulase-Messungen wurden in Streuextrakten bei pH 5.0 und in Darmextrakten bei pH 6.0 durchgeführt (vgl. Material und Methoden).

3.3 Mikrobielle Aktivität auf der Nahrung, Zellulaseaktivität im Darm

Die Pappelstreu, die den Regenwürmern als Nahrung diente, war – wie in den Konsumptionsversuchen – entweder an Mikroorganismen verarmt oder zusätzlich mit Mikroorganismen beimpft worden. Beimpfte Streu erreichte signifikant höhere ($p < 0.01$) Zellulaseaktivitäten als die mikrobiell verarmte Streu (Abb. 2). Auf der beimpften Streu war die Zellulaseaktivität 7-mal höher als auf der mikrobiell verarmten Streu. Innerhalb identischer Darmabschnitte traten allerdings keine Unterschiede auf. Ob die Regenwürmer zuvor an mikrobiell verarmter Streu gefressen hatten oder ob sie mikrobiell angereicherte Streu aufnahmen, die Zellulaseaktivitäten in den jeweiligen Darmabschnitten unterschieden sich nicht voneinander ($p > 0.05$). Die maximale Zellulaseaktivität war im Mittel- und Hinterdarm festzustellen (Abb. 2). Im Vorder- und Enddarm waren die Aktivitäten vergleichsweise gering und unterschieden sich in diesen Abschnitten nicht voneinander. Auf den Fäzes nahm die Zellulaseaktivität weiterhin ab, auch wenn die Verringerung der zellulolytischen

Aktivität nicht immer signifikant erkennbar war. Die Zellulaseaktivitäten im Darm von *Lumbricus terrestris* waren denen von *Lumbricus rubellus* vergleichbar.

In 3.1 wurde gezeigt, daß *L. rubellus* mit erhöhter mikrobieller Aktivität auf der Nahrung seine Konsumptionsrate erhöhte. Daher stellte sich die Frage, ob mit der Konsumption der unterschiedlichen Nahrungsqualität eine Veränderung im Darmgewicht einhergeht und ob dadurch möglicherweise die Zellulaseaktivitäten, die auf das Trockengewicht (Darm + Darminhalt) bezogen wurden, bei den Individuen mit der an Mikroorganismen angereicherten Nahrung unterrepräsentiert sind. Es zeigte sich, daß die Vorderdarmabschnitte bei den Individuen der beiden Versuchsgruppen in ihrem Gewicht geringfügig aber doch signifikant ($p < 0.01$) voneinander verschieden waren; die dahinter liegenden Darmabschnitte waren in ihrem Gewicht nicht voneinander verschieden ($p > 0.05$).

Als alternatives Bezugssystem für die Zellulaseaktivität wurde daher der Proteingehalt der Extrakte gewählt. Dieser Bezug bot sich an, weil hinsichtlich des Proteingehaltes für alle Darmabschnitte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ernährungsgruppen auftraten. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 dargestellt. Im Unterschied zu den Befunden in Abb. 2 weisen diese Ergebnisse auf einen deutlichen Einfluß der Nahrungsqualität auf die Zellulaseaktivitäten im Vorderdarm hin. Auf die Zellulaseaktivitäten in den dahinter liegenden Darmabschnitten hatte die zellulolytische Aktivität auf der Streu keinen Einfluß.

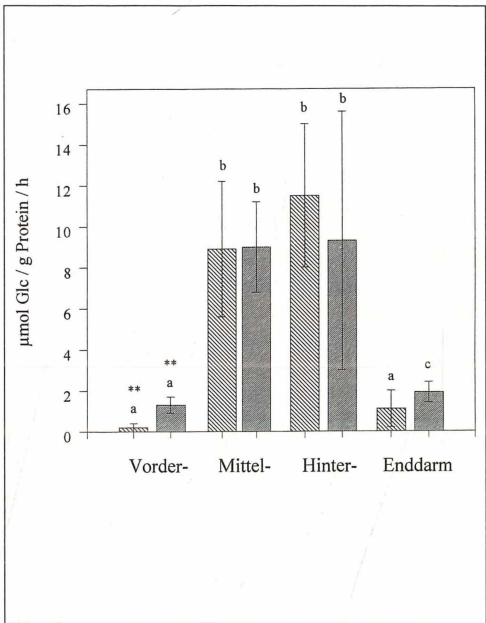


Abb. 3 Spezifische Zellulaseaktivität in Darmbereichen von *L. rubellus* bei unterschiedlicher Zellulaseaktivität auf der Nahrung Median $\pm$ Medianabweichung für vier aufeinanderfolgende Darmabschnitte. Helle Säulen: sterilisierte Nahrung, dunkle Säulen: beimpfte Nahrung. ** = signifikante Unterschiede zwischen den gekennzeichneten Ansätzen innerhalb eines Darmabschnittes, U-Test = $p \leq 0,01$. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Darmabschnitten (Friedman-, Wilcoxon-Test: $p \leq 0,05$), $n = 12$ bzw. 11 für jeden Darmabschnitt in Ansätzen mit sterilisierter resp. beimpfter Streu.

Fig. 3 Specific cellulase activity in the gut of *L. rubellus* in respect to varying cellulase activity on the food Median $\pm$ mediadeviation for 4 gut segments. Light columns = low microbial activity on the food; dark columns = high microbial activity on the food. ** = significant differences between marked series, U-test: $p < 0,01$; different letters mark significant differences between the gut segments (Friedman, Wilcoxon -test: $p < 0,05$), $n = 12$ resp. 11 for the gut segments.

4 Diskussion

Untersuchungen zur Zellulaseaktivität in Verdauungstrakten von Regenwürmern führten PARLE (1963) mit *L. terrestris*, LOQUET & VINCESLAS (1987) mit *Eisenia fetida* und URBASEK & PIZL (1991) mit fünf verschiedenen Lumbricidae (darunter *L. rubellus*) durch. Die Vergleichbarkeit der Daten wird durch die Verwendung unterschiedlicher Substrate und Meßmethoden erschwert. So arbeitete PARLE (1963) mit amorpher Zellulose. Sowohl Zellobiohydrolasen als auch Endoglukanasen sind sehr aktiv gegenüber dieser Form der Zellulose (WOOD & GARCIA-CAMPAYO 1990), so daß PARLE (1963) keine vollständige Zellulase nachweisen konnte. URBASEK & PIZL (1991) benutzten spezielle chromolytische Substrate. Daher können diese Enzymaktivitäten nicht direkt mit der hydrolytischen Aktivität gegenüber reiner α -Zellulose verglichen werden. LOQUET & VINCESLAS (1987) fanden Zellulaseaktivitäten im Darm von *Eisenia fetida* mit einer Methodik, die mit der in dieser Arbeit vorgestellten Methode vergleichbar ist. Als Substrat verwendeten sie Filterpapier. Die Angaben zur Menge der freigesetzten reduzierenden Zucker sind aber aufgrund fehlender Angaben der Inkubationszeit und -temperatur nicht vergleichbar.

Die hier gemessenen unterschiedlichen pH-Optima auf der Streu und in den Verdauungstrakten der Regenwürmer sind ein Indiz dafür, daß die Mikroflora, die ihre Zellulaseaktivität auf der Streu produziert, nicht für die Zellulaseaktivität im Darm von *L. rubellus* verantwortlich ist. Zusätzlich spricht für diese Annahme, die Aufrechterhaltung der Zellulaseaktivität im Darm der Regenwürmer selbst bei mikrobiell verarmter Nahrung mit einer sehr niedrigen Zellulaseaktivität.

Durch die Erhöhung des Nährstoffangebots, insbesondere durch den N-Gehalt im Mucus, kann die Vermehrungsrate von Mikroorganismen gesteigert werden (SWIFT & al. 1979). So wurden bei Regenwürmern höchste mikrobielle Besiedlungsdichten im hintersten Darmabschnitt nachgewiesen (PARLE 1963, KRISTUFEK & al. 1992). Diese Ergebnisse bestätigten KRISTUFEK & al. (1995) durch epifluoreszenzmikroskopische Untersuchungen bei *L. rubellus*. Die Vermehrung zu hohen Dichten gelang aber nur wenigen, zymogenen Arten (DANIEL & ANDERSON 1992, KRISTUFEK & al. 1993).

In dieser Arbeit wurde im Darmabschnitt mit der höchsten Mikroorganismendichte (=Enddarm), abgesehen vom Vorderdarm, die niedrigste Zellulaseaktivität festgestellt. In den Abschnitten mit der höchsten Zellulaseaktivität (Mittel- und Hinterdarm) tritt keine Steigerung in der Mikroorganismendichte auf. Außerdem erscheint es unwahrscheinlich zu sein, daß die zymogenen Arten Zellulasen produzieren sollten, wenn ihnen ein günstiges Nährstoffangebot

mit dem Mucus der Regenwürmer zur Verfügung steht.

Die aeroben Zersetzungsprozesse der Streu erfolgen überwiegend durch Pilze (SWIFT & al. 1979), freilebende zellulolytisch aktive Pilze entfalten ihre maximale Aktivität bei pH 5–6 (SZEGI 1988). Daher könnte die Aktivität von Pilzen für die Zellulaseaktivität im Darm von Regenwürmern verantwortlich sein. Jedoch werden die Hyphen der Pilze während der Konsumption zerstört (VISSER 1985); ihre Abundanz verändert sich im Verlauf der Darmpassage bei *L. terrestris* nur geringfügig (PARLE 1963, TIWARI & MISHRA 1993).

Aufgrund der oben genannten Gründe erscheint es unwahrscheinlich zu sein, daß exogene Mikroorganismen für die hohe Zellulaseaktivität im Darm der saprophagen Regenwürmer *L. terrestris* und *L. rubellus* verantwortlich sind.

An der Streuzersetzung sind nicht nur Regenwürmer, sondern auch Asseln beteiligt. Wie Regenwürmer gelten auch Asseln als detritivore Bodentiere, die keine endogenen Zellulasen besitzen und daher auf mikrobielle Enzyme angewiesen sind, die sie mit der Nahrung aufnehmen (HASSAL & JENNINGS 1975, KOZLOVSKAJA & STRIGANOVA 1977, KUKOR & MARTIN 1986). So traten bei *Oniscus asellus* verringerte Konsumptionsraten und Verdaulichkeitswerte auf, sobald diese Asseln an mikrobiell verarmter Streu fraßen (UESBECK & TOPP 1995). Bei *Porcellio scaber* führten entsprechende Ernährungsbedingungen mit mikrobiell verarmter Streu zu einer verringerten Reproduktion (ZIMMER & TOPP 1997). Weiterführende Untersuchungen lassen es allerdings als wahrscheinlich erscheinen, daß Asseln in ihren Mitteldarmanhängen zellulolytisch aktive Symbionten beherbergen oder sogar eigene Zellulasen produzieren (ZIMMER & TOPP, 1998). Somit wären Asseln nicht auf extrazelluläre Zellulasen mikrobiellen Ursprungs angewiesen. Dasselbe dürfte für die Regenwürmer gelten. Da der Darm der Regenwürmer im Gegensatz zu dem der Asseln keine Anhänge oder Aussackungen aufweist, ist es sogar wahrscheinlich, daß die Zellulasen der Regenwürmer nicht von Symbionten gebildet werden, sondern auf eine endogene, tierische Produktion zurückgehen.

Literatur

- ALEF, K., 1991: Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie. – ecomed, Landsberg/Lech: 284 S.
- BORTZ, J. 1989: Statistik für Sozialwissenschaftler. 3. Aufl. – Springer, Berlin: 753 S.
- DANIEL, O. & J. M. ANDERSON, 1992: Microbial biomass and activity in contrasting soil materials after passage through the gut of the earthworm *L. rubellus* Hoffmeister. – Soil. Biol. Biochem. 24: 465–470.
- DAVID, J.-F., J.-F. PONGE & F. DELECOUR, 1993: The saprophagous macrofauna of different types of humus in beech forests of the Ardenne (Belgium). – Pedobiologia 37: 49–56.
- HASSALL, M. & JENNINGS, J.B., 1975: Adaptive features of the gut structure and digestive physiology in the terrestrial isopod *Philoscia muscorum* (Scopoli 1963). – Biol. Bull. 149: 348–364.
- KOZLOVSKAJA, L.S. & STRIGANOVA, B.R., 1977: Food, digestion and assimilation in desert woodlice and their relations to the soil microflora. Ecol. Bull. (Stockholm) 25: 240–245.
- KRISTUFEK, V., K. RAVASZ & V. PIZL, 1992: Changes of bacteria and microfungi during gut transit in *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta: Lumbricidae). – Soil Biol. Biochem. 24: 1499–1500.
- KRISTUFEK, V., K. RAVASZ & V. PIZL, 1993: Actinomycete communities in earthworm guts and surrounding soil. – Pedobiologia 37: 379–384.
- KRISTUFEK, V., V. PIZL & K. RAVASZ, 1995: Epifluorescent microscopy of earthworms' intestinal bacteria. – Acta microbiol. et immunol. Hungarica 42: 39–44.
- KUKOR, J. J. & M. M. MARTIN, 1986: The effect of acquired microbial enzymes on assimilation efficiency in the common woodlouse, *Tracheoniscus rathkei*. – Oecologia 69: 360–364.
- LAVERACK, M., 1963: The physiology of earthworms. – International Ser. Monographs on pure and appl. Biol., Zool. 15. – Pergamon, Oxford: 206 S.
- LEE, K. E., 1985: Earthworms: Their ecology and relationships with soils and land use. – Academic Press, Sidney: 411 S.
- LJUNGDAHL, L. G. & K.-E. ERIKSSON, 1985: Ecology of microbial cellulose degradation. – Advanced Microbial Ecology 8: 237–299.
- LOQUET, M. & M. VINCESLAS, 1987: Cellulolyse et ligninolyse liées au tube digestif d'*Eisenia fetida andrei* Bouché. – Rev. Écol. Biol. Sol. 24: 559–571.
- MARCUZZI, G. & TURCHETTO LAFISCA, M., 1978: Contribute to the knowledge of polysaccharases in soil animals. Rev. Écol. Biol. Sol. 15: 135–145.
- MARSHALL, J. J. & J. A. GRAND, 1976: Characterization of β -1,4-glucan hydrolase from the snail, *Helix pomatia*. – Comp. Biochem. Physiol. 53B: 231–237.
- MCCLAUGHERTY, C. A. & A. E. LINKINS, 1988: Extractability of cellulases in forest litter and soil. – Biol. Fertil. Soils 6: 322–327.
- NELSON, N., 1944: A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. – J. Biol. Chem. 153: 375–380.
- NIELSEN, C. O., 1962: Carbohydrases in soil and litter invertebrates. – Oikos 13: 200–215.
- PARLE, J. N., 1963: Micro-organisms in the intestines of earthworms. – J. Gen. Microbiol. 30: 1–11.
- SACHS, L., 1992: Angewandte Statistik. 7. Aufl. – Springer, Berlin: 846 S.
- SATCHELL, J. E., 1983: Earthworm microbiology. – In: SATCHELL, J. E. (ed), Earthworm ecology: From Darwin to vermiculture. – Chapman and Hall, New York, 67–83.
- SCHAEFER, M. & J. SCHAUERMANN, 1990: The soil fauna of beech forests: comparison between a mull and a moder soil. – Pedobiologia 34: 299–314.
- SKAMBRACKS, D. 1996: Die Bedeutung saprophager Regenwürmer im Nährstoffkreislauf von Waldböden. – Dissertation Universität Köln: 174 S.
- SOMOGYI, M., 1952: Notes on sugar determination. – J. Biol. Chem. 195: 19–23.
- SWIFT, M. J., O. W. HEAL & J.M. ANDERSON 1979: Decomposition in terrestrial ecosystems, – Blackwell, Oxford: 372 S.
- SZEGI, J., 1988: Cellulose decomposition and soil fertility. Akademiai Kiado, Budapest: 186 S.
- TIWARI, S. C. & R. R. MISHRA, 1993: Fungal abundance and diversity in earthworm casts and in uningested soil. – Biol. Fertil. Soils 16: 131–134.
- UESBECK, M. & W. TOPP, 1995): The effect of leaf litter, microorganisms and Collembola on the food allocation of *Oniscus asellus* (Isopoda). – In: ALIKHAN, M.A. (ed), Crustacean Issues: Terrestrial isopod biology. – A.A. Balkema, Rotterdam, 121–132.
- URBÁSEK, F. & V. PIZL, 1991: Activity of digestive enzymes in the gut of five earthworm species (Oligochaeta: Lumbricidae). – Rev. Écol. Biol. Sol. 28: 461–468.
- VISSER, S., 1985: Role of the soil invertebrates in determining the composition of soil microbial communities. – In: A. H. FITTER, D. ATKINSON, D. J. READ & M. B. USHER (eds), Ecological interactions in soil. – Blackwell, Oxford, 297–317.
- WALDBAUER, G. P., 1968: The consumption and utilisation of food by insects. – Adv. Insect Physiol. 5: 229–282.
- WOOD, T. M. & V. GARCIA-CAMPAYO, 1990: Enzymology of cellulose degradation. – Biodegradation 1: 147–161.

- ZIMMER, M. & TOPP, W., 1997: Does leaf litter quality influence population parameters of the common woodlouse, *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)? Biol Fertil Soils 24: 435–441.
- ZIMMER, M. & TOPP, W., 1998: Do woodlice (Isopoda: Oniscoidea) produce endogenous cellulases? Biol Fertil Soils 26: 155–156.

Adresse

Dr. Daniel Skambracks
Prof. Dr. Werner Topp
Zoologisches Institut der Universität
Physiologische Ökologie
Weyertal 119
D-50923 Köln

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1997

Band/Volume: [28_1997](#)

Autor(en)/Author(s): Topp Werner, Skambracks Daniel

Artikel/Article: [Zellulaseaktivität im Darm detritivorer Regenwürmer: Exogene oder endogene Herkunft? 457-464](#)