

**MITTEILUNGEN
DER
ÖSTERREICHISCHEN
BODENKUNDLICHEN
GESELLSCHAFT**

Heft 33

Wien 1986

**MITTEILUNGEN
DER
ÖSTERREICHISCHEN
BODENKUNDLICHEN
GESELLSCHAFT**

Heft 33

Wien 1986

**Eigentümer, Herausgeber und Verleger:
Österreichische Bodenkundliche Gesellschaft
Gregor-Mendel-Straße 33, A-1180 Wien**

**Schriftleitung und für den Inhalt verantwortlich:
Hofrat Dipl.-Ing. Heinrich Hacker,
tit. Ao. Univ.-Prof. Dr. Othmar Nestroy**

Druck: Wirtschaftsbetriebsgesellschaft m. b. H., Berggasse 5, A-1090 Wien

ISSN 0029-893 X

Im Rahmen
der Veranstaltungsreihe

"AKTUELLE PROBLEME
DER LANDWIRTSCHAFTLICHEN
FORSCHUNG"

der
Landwirtschaftlich-chemischen Bundesanstalt Linz

fand am
5. und 6. Juni 1986 in Linz

in Zusammenarbeit mit der
Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft

ein Seminar zum Thema:

"DIE ANWENDUNG ENZYMATISCHER UND
MIKROBIOLOGISCHER METHODEN
IN DER BODENANALYSE

statt.

Vorwort

Mit diesem Heft präsentiert die Schriftleitung der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft ihren Mitgliedern den ungekürzten Abdruck der anlässlich eines Symposiums, das Fragen bodenenzymatischer und -mikrobiologischer Untersuchungen zum Inhalt hatte, gehaltenen Vorträge.

Dieses Symposium fand in der Zeit vom 5. bis 6. Juni 1986 in der Landwirtschaftskammer für Oberösterreich in Linz statt.

Durch die freundliche Überlassung des reproduktionsreifen Manuskripts seitens der Landwirtschaftlich-chemischen Bundesanstalt in Linz war es möglich, so kurze Zeit nach diesem Symposium die Vorträge zu publizieren.

Die Schriftleiter wollen auf diesem Wege Herrn Hofrat Direktor Professor Dipl.-Ing. Dr. W. Beck den verbindlichsten Dank aussprechen und hoffen, durch dieses Heft den Mitgliedern der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft eine umfassende und aktuelle Information über den Stand der Anwendung enzymatischer und mikrobiologischer Methoden in der Bodenanalyse zu vermitteln.

O. Nestroy

H. Hacker

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>Einleitung und Eröffnung durch</u>	
W. Beck, Landw.-chem.Bundesanstalt	9
O. Nestroy, Öster. Bodenkundliche Gesellschaft ...	13
 <u>Referate</u>	
Schinner, F.: Die Bedeutung der Mikroorganismen und Enzyme im Boden	15
Hoffmann, G.: Bodenenzyme als Charakteristika der biologischen Aktivität und von Stoff- umsätzen in Böden	41
Beck, Th.: Aussagekraft und Bedeutung enzymatischer und mikrobiologischer Methoden bei der Charakterisierung des Bodenlebens von landwirtschaftlichen Böden	75
Holz, F.: Automatisierte photometrische Durchfluß- methoden zur Bestimmung der Aktivität von Bodenenzymen - ihre Anwendung und einige Ergebnisse	101
Kandeler, E.: Der Einsatz enzymatischer Methoden am Beispiel eines Stroh- und Klär- schlammdüngungsversuches	117
Öhlinger, R.: Der Einsatz enzymatischer Methoden am Beispiel eines Grünlanddüngungs- versuches	135
 <u>Postervorträge</u>	
Alef, K. und Kleiner, D.: Arginine Ammonification in soil samples	163
Bachmann, G., Baumgarten, A. und Kinzel, H.: Eine ver- besserte Methode zur Bestimmung der Bo- denatmung und mikrobiellen Biomasse ..	169
Baumgarten, A., Mülleberner, M. und Kinzel, H.: Ansätze einer vergleichenden Darstellung boden- biologischer Parameter	175

Boltenstern, S. und Kinzel, H.: Acetylenreduktion (Stickstoffixierung) und Stickstoff- mineralisation in verschiedenen Bö- den Ostösterreichs	183
Finkernagel, R. und Schinner, F.: Einfluß von Kalkung und schwefelsaurer Beregnung auf bo- denbiologische Aktivitäten eines be- lasteten Waldstandortes	193
Gehlen, P. und Schröder, D.: Untersuchungen mikrobio- logischer Parameter auf "konventionell" und "biologisch" bewirtschafteten Flächen unterschiedlicher Nutzung.....	209
Margesin, R. und Schinner, F.: Adenosintriphosphat (ATP) - ein Maß für den Belebtheitsgrad von Böden	223
Müllebner, M. und Kinzel, H.: Enzymaktivitäten in landwirtschaftlich genutzten und na- turnahen Böden im Marchfeld und im südlichen Weinviertel	237
Öhlinger, R., Eibelhuber, A. und Fischerlehner, J.: Bodenprobenahme für Enzymaktivitäts- bestimmungen	255
Schifferegger, R. und Schinner, F.: Die Wirkung von Düngekalk, Dolomit und Gesteinsmehl auf biologische Aktivitäten eines Waldbodens	285
Schuster, E. und Schröder, D.: Die Auswirkungen eines Pflanzenschutzsystems auf bodenmikrobiologische Parameter im Getreidebau	293
Siegenthaler, C.: Bodenmikrobiologische Aktivitäts- untersuchungen in unterschiedlich bewirtschafteten Böden um Salzburg ..	305
Vlassak, K. und Verstraeten, L.M.J.: Use of Nitrate Reductase as a Simple and Sensitive Nitrate Determination Assay	313

Von der Emde, K.: Termophile Actinomyceten bei der Kompostierung von Hausmüll	323
Von Mersi, W. und Schinner, F.: Cellulase-Xylanase- und Saccharaseaktivitäten einiger agrarischer Böden.....	331
Xander, A. und Schinner, F.: Die Wirkung von Dünge- kalk, Dolomit und Gesteinsmehl auf biologische Aktivitäten eines Acker- bodens	347
Diskussion	355
Teilnehmerverzeichnis	377

EINLEITUNG UND ERÖFFNUNG

Hofrat Prof.Dipl.Ing.Dr.Walther Beck

Direktor

der Landw.-chem. Bundesanstalt Wien und Linz

Seit 20 Jahren lädt die Landwirtschaftlich-chemische Bundesanstalt immer wieder zu Seminaren ein, um aktuelle, streng abgegrenzte Themenbereiche zu behandeln. Während die ersten Seminare in den Sechzigerjahren aktuelle Probleme des landwirtschaftlichen Versuchswesens und der landwirtschaftlichen Forschung einschließlich der Probenahme und der Stichprobenahme behandelt hatten, wurden im 7. Jahrzehnt Mykotoxine in der landwirtschaftlichen Produktion, die Rückstandsproblematik in Futtermitteln, Salmonellen in Futtermitteln und die Futtermittelbewertung sowie die Erfahrungen mit der N-min Methode abgehandelt. In den Achtzigerjahren schließlich hatten wir ein Seminar über die Abstammung der Naturpflanzen und die Erhaltung des natürlichen Formenreichtums, sowie zwei bodenkundliche Themen, nämlich den Stoffumsatz am Standort und die Verwertung von Siedlungsabfällen aus der Sicht der Landwirtschaft unter besonderer Berücksichtigung der Eignung landwirtschaftlicher Böden behandelt.

Schon in den Jahren 1981 und 1984 hatten wir die Österreichische Bodenkundliche Gesellschaft gebeten, das Seminar gemeinsam mit uns zu veranstalten. Auch heuer hat sich die Bodenkundliche Gesellschaft über unseren Antrag dazu bereit erklärt, dies zu tun. Wir sind froh darüber, denn die Annahme unserer Einladung zeigt, daß die von uns gewählten bodenkundlichen Themen aktuell und einer Behandlung im größeren Rahmen wert sind. Dies zeigt ja auch das große Interesse an unseren Veranstaltungen.

Ich möchte die Thematik der heutigen Vorträge nicht vorwegnehmen, sondern nur einige Worte über die Entwicklung der Bodenenzymatik und Bodenmikrobiologie sagen. In Österreich hat sich besonders der erste Vortragende, Herr Dr. Schinner von der Universität Innsbruck seit den Siebzigerjahren mit Bodenenzymatik befaßt. Die Landwirtschaftlich-chemische Bundesanstalt ist verstärkt erst seit 1981 durch die Gründung eines eigenen Referates in diese Thematik eingestiegen. Seit 1982 gibt es regelmäßige Arbeitstreffen des auf unsere Initiative neu geschaffenen Arbeitskreises. Dieser Arbeitskreis hat sich auch innerhalb der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft etabliert. Das im Jahre 1985 beim Bundesministerium eingereichte Projekt über die Standardisierung von bodenbiochemischen und bodenmikrobiologischen Methoden für landwirtschaftlich genutzte Böden wird von diesem Arbeitskreis bearbeitet. Daß hier auch schon Beziehungen zum Ausland bestehen, zeigt die Teilnahme an der Enquete 1985 der LUFA.

Einer der großen Wegbereiter der Bodenenzymatik nach

dem 2. Weltkrieg war Prof. Hoffmann. Wichtige, noch heute verwendete Methoden tragen seine Handschrift, wie z.B. die Methode zur Bestimmung der Phosphatase, von β -Glukosidase oder von Saccharase. Wir freuen uns, Herrn Prof. Hoffmann unter uns zu haben. Er wird über Bodenenzyme als Charakteristika der biologischen Aktivität und über Stoffumsätze im Boden aus seinen Arbeiten berichten.

Wir freuen uns ebenso, daß Herr Reg. Dir. Dr. Th. Beck heute zu uns gekommen ist, um uns über Aussagekraft und Bedeutung enzymatischer und mikrobiologischer Methoden bei der Charakterisierung des Bodenlebens von landwirtschaftlichen Böden zu berichten. Ist Dr. Beck doch seit über 20 Jahren auf dem Gebiet der Bodenmikrobiologie und der Bodenenzymatik tätig. Sein Buch "Die Mikrobiologie des Bodens" (1968 erschienen) ist eine weit verbreitete Grundlage für unsere Arbeiten auf diesem Gebiete. Auf ihn gehen wichtige Ideen und Neuerungen zurück, ich möchte hier nur den Sapromateisatz zur Biomassebestimmung als Beispiel nennen.

Ein zweites Beispiel finden sie im Vortrag von Herrn Dr. Holz, der über automatisierte photometrische Durchflußmethoden zur Bestimmung der Aktivität von Bodenenzymen sprechen wird. Dort wird von einer bodenmikrobiologischen Kennzahl die Rede sein, die Beck 1984 in die wissenschaftliche Literatur eingeführt hat und die als ein Index für die Intensität der mikrobiellen Umsetzungen im Boden angesehen werden muß.

Wir freuen uns auch, daß wir zwei Vortragende aus den landwirtschaftlichen Bundesanstalten Österreichs für die heutige Tagung gewinnen konnten: Frau Dr. Ellen Kandeler, die über den Einsatz enzymatischer Methoden am Beispiel eines Stroh- und KS-Düngungsversuches sprechen wird und Herr Dipl. Ing. Öhlinger, der über den Einsatz enzymatischer Methoden am Beispiel eines Grünlanddüngungsversuches referieren wird. Ich möchte an dieser Stelle vor allem Herrn Kollegen Öhlinger für die sehr gute Vorbereitung des heutigen Seminars danken, ebenso wie ich den 18 Damen und Herren danken möchte, die sich an der Posterveranstaltung beteiligen.

Wir werden die Vorträge des Seminars im Rahmen der Schriftenreihe "Veröffentlichungen der Landwirtschaftlich-chemischen Bundesanstalt Linz/Donau" als Band 18 veröffentlichen. Daß Bodenuntersuchung und Düngerberatung eine alte Tradition unseres Hauses sind ist Ihnen vielleicht noch aus meinen Ausführungen zum 8. Seminar über Stoffumsatz am Standort in Erinnerung. Seit Beginn der systematischen Bodenuntersuchung im Jahre 1940 hat unser Linzer Haus vor allem für Oberösterreich eine sehr große Zahl an Bodenuntersuchungen durchgeführt und ausgewertet. Allein bis Mitte der Sechzigerjahre waren es 400.000 Proben. Durch die Einführung neuer Analysemethoden in den Sechziger- und Siebzigerjahren wurde hier neben der üblichen Nährstoffbestimmung auch die Bestimmung der Kationenaustauschkapazität, des N, P und K-Fixierungsvermögens, der Spurenelemente und andere Untersuchungen, wie z.B. möglicher Schadstoffe auch für wissenschaftliche Zwecke durchgeführt. Erst ab Mitte der Siebzigerjahre wurde die systematische Bodenuntersuchung von der Linzer Anstalt an die Bundesanstalt für Bodenkultur verlegt. Die Untersuchungsrichtung in unserem Hause änderte sich daher auf Sonderkulturen, sowie Problembetriebe in Oberösterreich und wir

haben uns auf wissenschaftlicher Seite auf besondere Arbeiten wie die Bestimmung des pflanzenverfügbaren N oder auf Bodenuntersuchung für Feld- und Gefäßversuche, aber auch für Bodenbelastung konzentriert. Daß wir Bodenzymatik betreiben, brauche ich hier nicht eigens zu betonen. Im Rahmen dieser Arbeiten pflegen wir intensive Kontakte im nationalen und internationalen Bereich. Vor allem pflegen wir enge Kontakte mit der hier als Mitveranstalter fungierenden Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft.

Meine Damen und Herren, wir freuen uns sehr, daß Sie so zahlreich auch aus weiter Ferne zu uns gekommen sind, um hier Vorträge zu hören und das Fachgespräch zu pflegen. Danken möchte ich von dieser Stelle aus der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft die gemeinsam mit uns versucht, drängende wissenschaftliche Fragen der Bodenkunde zu besprechen und Lösungen näher zu führen.

Danken möchte ich auch der Landwirtschaftskammer für Oberösterreich, deren Präsident ÖKR Gurtner freundlicherweise die Räume für dieses Seminar zur Verfügung gestellt hat und der auch preiswerte Übernachtungsmöglichkeiten für viele Seminarteilnehmer freihalten ließ.

So darf ich diesem Seminar einen guten Verlauf und Ihnen zwei schöne Tage in Linz wünschen.

Ao. Univ.-Prof.Dr. Othmar Nestroy
Präsident
der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft

Zum zweiten Mal in diesem Jahr tritt die Österreichische Bodenkundliche Gesellschaft in Form eines Symposiums in eine breitere Öffentlichkeit und zwar mit einem Thema, das, wie der Besuch zeigt, nicht nur aktuell ist, sondern auch großes Interesse findet.

So darf ich Sie auch namens der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft herzlich begrüßen und in Linz willkommen heißen.

Diesmal wird das Symposium gemeinsam mit der Landwirtschaftlich-chemischen Bundesanstalt in Linz und der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft veranstaltet, deshalb darf ich an dieser Stelle dem Direktor der Bundesanstalt in Linz, Herrn Hofrat Professor Dr. Beck, für die fachliche wie organisatorische Betreuung dieser Veranstaltung meinen besten Dank ausdrücken.

Das Gemeinsame und damit auch Verknüpfende der beiden Veranstalter dieses Symposiums ist gleichermaßen durch die Vortragenden wie auch durch die Titel der Vorträge gegeben. So darf ich in diesem Zusammenhang erinnern, daß nach einer Idee und Initiative meines Amtsvorgängers, Herrn O.Univ.-Prof.Dr. Blum, ein Forschungsprojekt unter dem Titel: "Standardisierung von bodenbiochemischen und bodenmikrobiologischen Methoden für landwirtschaftlich genutzte Böden" seitens der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft beim Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft eingebracht und auch von diesem finanziell ermöglicht wurde. Ich möchte deshalb meiner Freude Ausdruck geben, daß nicht nur eine personell wie thematisch enge Verflechtung der in der Folge angesprochenen Problemkreise und der Veranstalter auf dieser Weise zustande gekommen ist, sondern daß wir auch unmittelbar in die Werkstätten der betreffenden Wissenschaftler Einblick nehmen können.

Für mich von speziellem Interesse ist die Tatsache, daß Aktivitätsbestimmungen von Bodenenzymen ausgezeichnete Indikatoren für Stärke und Geschwindigkeit der im Boden ablaufenden Stoffumsätze darstellen, wobei ich mit erwartungsvoller Spannung den Ausführungen über die Abhängigkeit dieser Aktivitätsbestimmungen von den mineralischen wie wirtschaftseigenen Düngern sowie vom klimatischen Jahresablauf entgegen sehe.

In diesem Sinne darf ich Sie alle nochmals bei diesem Symposium begrüßen, dieser Veranstaltung einen guten Verlauf wünschen und die Hoffnung aussprechen, daß wir alle mit einem fachlichem Gewinn diese Tage in guter Erinnerung behalten werden.

Die Bedeutung der Mikroorganismen und Enzyme im Boden

von F. S c h i n n e r

1. Einleitung

Die Erfahrungen der vergangenen Jahre zeigten, daß es unzureichend ist, die Qualität eines Bodens nach seinem Nährstoff-, Humus-, Tongehalt und seinen Struktureigenschaften zu beurteilen. Längerfristig werden neben empirischen Erkenntnissen kausalanalytische Untersuchungen unter möglichst gleichzeitiger Berücksichtigung aller erfaßbaren Daten der Bodenphysik, Bodenchemie, Bodenbiochemie, Bodenmikrobiologie, Bodenzologie und Pflanzenphysiologie zielführend sein.

Die Bodenmikrobiologie nimmt dabei keinen unwesentlichen Stellenwert ein, wenn man bedenkt, daß ohne die Stoffwechselaktivität der Bodenmikroorganismen das für die pflanzliche Assimilation nötige CO_2 in ca. 40 Jahren erschöpft wäre, die natürliche Stickstoffbindung und Mobilisierung fast zur Gänze erliegen würde oder pflanzliche Erträge bei Fehlen mikrobieller Symbiose- und Rhizosphärenpartner geringer wären.

Die Ursprünge der Bodenmikrobiologie reichen in das auslaufende 19. Jahrhundert zurück. WINOGRADSKY, OMELIANSKY und BEIJERINCK erarbeiteten mit aus Böden isolierten Bakterien erste und fundamentale Erkenntnisse der mikrobiellen Physiologie und Ökologie.

Die Bodenmikrobiologie befaßt sich heute vorwiegend mit 5 Themenbereichen: den

Bodenorganismen (Bakterien, Pilzen, Algen, Protozoen)

Bodenzymen (Metabolismen)

Symbiosen zwischen Mikroorganismen und Pflanzen oder Bodentieren

bodenbürtigen Krankheitserregern an Pflanzen oder Bodentieren

biotechnischen Methoden (N-Fixierung, Symbiosen, Kompostierung).

In allen Teilbereichen werden meist Fragen der Nährstoffmobilisierung und Immobilisierung, der Mineralisation, der Boden- und Pflanzengesundheit und Förderung der pflanzlichen Produktion bearbeitet.

2. Die Bodenmikroorganismen

Mineralische und organische Substanz, Luft und Wasser nehmen nahezu 100 % des Bodenvolumens ein. Die lebendige Komponente des Bodens, die Bodenmikroorganismen besetzen meist weniger als 1 % des Bodenvolumens. Dennoch ist deren Zahl und deren Leistungsvermögen sehr groß. In den Mikroarealen des Bodens besiedeln sie vorwiegend das organische Material. Tonminerale dienen hauptsächlich als Träger für die Organismen, deren Enzyme, für Eiweiße, Stoffwechselprodukte, Wuchs- und Hemmstoffe. Die Luft- und Wasserräume in den Mikrostandorten des Bodenkomplexes sind eine unbedingte Voraussetzung für das Leben der meisten Organismen. Die Keimzahlen der Mikroorganismen nehmen mit der Bodentiefe rasch ab. Im naturbelassenen Boden konzentrieren sich die Mikroorganismen auf die obersten 5-10 cm und in landwirtschaftlichen Böden auf die obersten 10-30 cm.

Die Menge und Aktivität der Bodenmikroorganismen ist abhängig von der Bodenart, sämtlichen physikalischen und chemischen Parametern, dem Pflanzenbewuchs (Artenspektrum, Bodenbedeckung, Bewurzelung, Streu, Erntemaßnahmen), der Bodenbearbeitung und Bodenbehandlung und nicht zuletzt dem Makro- und Mikroklima des jeweiligen Standortes.

Von besonderem Interesse ist der nahe Wurzelbereich, die Rhizosphäre. Die ökologischen Bedingungen werden dort durch die Ausscheidungen der Pflanze mitbestimmt. Die Keimzahlen in der Rhizosphäre sind höher und die Stoffwechselaktivitäten intensiver als in entfernteren Bereichen. Die Gesamtheit der mikrobiellen Besonderheiten im Wurzelbereich wird als Rhizosphären-effekt bezeichnet.

Die Bodenmikroflora setzt sich aus einer Reihe verschiedener Organismengruppen zusammen: Bakterien, Pilze, Algen, Protozoen, Acrasiomyceten und Myxomyceten.

Bakterien

Unter den Bodenbakterien finden sich Stäbchen, Kokken, Spirochaeten, coryneforme Bakterien, Actinomyceten, gleitende Bakterien, Cyanobakterien, phototrophe Bakterien, Myxobakterien,

Mycoplasmen, Rickettsien und Archaeobakterien. Besonders häufig findet man in Böden Arten der Gattungen *Arthrobacter* (5-60 %), *Bacillus* (7-67 %), *Pseudomonas* (3-15 %), *Agrobacterium* (bis 20 %), *Alcaligenes* (2-12 %), *Flavobacterium* (2-10 %), *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Xanthomonas*, *Mycobacterium* und *Sarcina* jeweils weniger als 5 % (ALEXANDER 1977). Hohe Bakterienkeimzahlen in Oberböden werden mit $5 \cdot 10^{10}$ und durchschnittliche Keimzahlen mit $5 \cdot 10^9$ angegeben. Bei Stau-nässe oder zu hoher Bodenverdichtung geht die Keimzahl der aeroben Bakterien zugunsten der mikroaerophilen und schließlich anaeroben Bakterien zurück. In diesem Zusammenhang sei auch darauf hingewiesen, daß Bodenbakterien heute häufig nach deren Stoffwechsellleistungen in physiologische Gruppen unterteilt werden (z.B. Stickstofffixierer, Nitrifizierer, Denitrifizierer, cellulolytische Bakterien etc.).

Im Gegensatz zu anderen Bodenmikroorganismen bevorzugen die meisten Bakterien eher nährstoffreiche Böden mit neutraler bis schwach saurer Bodenreaktion und engem C/N Verhältnis.

Pilze

Unter den Bodenpilzen finden sich Vertreter der Oomyceten, Hyphochytriomyceten, Trichomyceten, Chytridiomyceten, Zygomyceten, Ascomyceten, Basidiomyceten und imperfecte Pilze. Bei Isolierungen auf Agar-Nährboden sind häufig die Gattungen: *Phytium*, *Phoma*, *Absidia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygorhynchus*, *Chaetomium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Helminthosporium*, *Metarrhizium*, *Monilia*, *Myrothecium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Trichothecium* und *Verticillium* anzutreffen. Bei den Hefen werden häufig die Gattungen *Candida*, *Cryptococcus*, *Hansenula*, *Pichia*, *Pullularia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Sporobolomyces*, *Torula*, *Torulopsis* und *Zygosaccharomyces* isoliert.

Algen

Bodenalgen sind im Gegensatz zu den meisten Bakterien und Pilzen C-autotroph, sie assimilieren das CO_2 der Luft und bauen es mit Sonnenlicht als Energiequelle photosynthetisch

in ihren Körper ein. Wegen dieser Abhängigkeit von Licht konzentriert sich das Vorkommen der Algen auf die Bodenoberfläche. Nur einige Vertreter der Grünalgen und Kieselalgen vermögen auch unterhalb der Bodenoberfläche unter Lichtabschluß heterotroph zu leben (ALEXANDER 1977). Die am häufigsten isolierten Grünalgen sind : Ankistrodesmus, Characium, Chlamydomonas, Chlorella, Chlorococcum, Dactylococcus, Hormidium, Protococcus, Scenedesmus, Spongiochloris und Ulothrix. Die in Böden verbreitetsten Kieselalgen sind: Achnanthes, Cymbella, Fragilaria, Hantzschia, Navicula, Nitzschia, Pinnularia, Surirella und Synedra (ALEXANDER 1977). Die Blaualgen werden wegen ihrer Zuordnung zu den Bakterien hier nicht berücksichtigt. Algen sind an der Oberfläche verschiedenster Böden verbreitet, sie gedeihen von schwach saurem bis schwach alkalischen Boden-pH und bevorzugen hohe Feuchtegehalte. Die Biomasse von Boden - algen beträgt je nach Standort zwischen 5 und 500 kg/ha.

Protozoen

Die einfachsten Formen tierischen Lebens, die Protozoen sind in den meisten Böden zahlreich vorhanden. Drei Gruppen, Flagellaten, Amöben und Ciliaten werden unterschieden. Im Boden dominieren Flagellaten wie Allantion, Bodo, Cercobodo, Cercomonas, Heteromita, Monas, Spiromonas und Tetramitus. Die überwiegende Mehrheit der Protozoen ernährt sich von totem oder lebendem organischem Material, ein kleiner Teil hat jedoch die Fähigkeit, mit Hilfe photosynthetischer Pigmente CO_2 zu assimilieren. Protozoenerreichen je nach Boden Zellzahlen zwischen $1 \cdot 10^4$ bis $3 \cdot 10^5$ pro Gramm.

Acrasiomyceten

Diese Organismengruppe ist den Protozoen ähnlich und wird deshalb und wegen der besonderen Sorocarpbildung auch als "soziale Amöben" bezeichnet. Diese Organismen ernähren sich von gelösten oder partikulären organischen Substanzen und Bakterien. Sie scheiden β -Glucosidasen, Proteasen und Hemmstoffe aus. Über deren weitere ökologische Bedeutung ist wenig bekannt. Acrasiomyceten sind weit verbreitet und kommen in nahezu allen Böden vor. Deren Vielfalt ist mit ca. 20 Arten jedoch sehr gering.

Myxomyceten

Myxomyceten oder Schleimpilze sind eine Gruppe von Organismen, die wegen ihres besonderen Entwicklungszyklus weder dem Tier- noch Pflanzenreich zuzuordnen sind. Sie sind weit verbreitet, sind an wenig zersetzter Streu, besonders in Wäldern häufig. Sie beteiligen sich mit verschiedenen Exoenzymen am Abbau der Streu.

Viren

Viren sind im Boden wegen ihrer besonderen Entwicklungsbedingungen an lebende Organismen gebunden, RNA- und DNA-Viren latent oder als Krankheitserreger in Bodentieren, RNA-Viren in Pflanzen und Phagen in Bakterien. Nicht selten kommt den Viren in zu dichten Populationen eine regulierende Funktion zu, da lytische Virionen zur Auflösung der Zellen und damit deren Tod führen. Bakteriophagen und Pilzviren konnten bisher bei einer sehr großen Zahl von Bodenbakterien und Bodenpilzen nachgewiesen werden.

3. Die Bodenenzyme

Die Geschichte der Bodenenzymatik beginnt um die Jahrhundertwende. Die Publikation von A.I. WOODS im Jahre 1899 gilt als erste bodenenzymatische Arbeit. Die Zahl der Veröffentlichungen bis zum Jahre 1950 war jedoch noch äußerst spärlich. Erst ab dieser Zeit, mit dem Aufschwung der biochemischen Forschung erlebte auch die Bodenenzymatik eine sprunghafte Entwicklung. Die darauf folgenden Jahre wurden vor allem durch die Namen der Wissenschaftler E. HOFMANN, G. HOFFMANN, V. F. KUPREVICH, A.S. GALSTYAN, I. S. KISS und Mitarbeiter geprägt. Während der vergangenen 20 Jahre erreichte die Bodenenzymatik durch die Leistungen zahlreicher Wissenschaftler zunehmend breite Anerkennung.

Die Bedeutung der Bodenmikroorganismen liegt in deren Stoffwechselaktivitäten. Die Stoffumsetzungen werden durch spezielle Enzyme katalysiert, die von den Organismen produziert in der Zelle oder ausgeschieden außerhalb der Zelle zur Wirkung gelangen. Enzyme sind Proteine, die als Biokatalysatoren die Aktivierungsenergie erniedrigen. Die Geschwindigkeit einer durch Enzyme gesteuerten Reaktion ist etwa um 10 Größenordnungen höher als die einer nicht enzymatischen Reaktion; die Steigerung der Geschwindigkeit um den Faktor 10^{10} verkürzt die Halbwertszeit einer Reaktion von 300 Jahren auf eine Sekunde (SCHLEGEL 1981).

Die Bodenenzyme umfassen ein sehr breites Spektrum von Oxidoreduktasen, Transferasen, Hydrolasen und Lyasen. Die am häufigsten in Böden bestimmten Enzymaktivitäten sind die der Dehydrogenasen, der Katalase, der Phosphatasen, der Amylase, Cellulase, Xylanase, Pectinase, Saccharase, Protease und Urease.

Bodenenzyme sind großteils bakteriellen und pilzlichen Ursprungs. Nur ein geringer Teil ist auf Ausscheidungen von Pflanzen und Tieren zurückzuführen. Außerhalb der Produzentenzelle wirken die Enzyme gelöst in der Bodenlösung oder immobilisiert an Humus- und Tonkolloiden. Bodenenzyme sind am Abbau der Streu, dem Um-, Auf- und Abbau natürlicher oder artifizieller Substanzen beteiligt. Nach Immobilisierung an Bodenkolloide sind die Enzyme gegenüber biotischer und abiotischer Destruktion

relativ beständig und deshalb lange aktiv. Ihre Wirkung ist dann unabhängig vom produzierenden Organismus.

Die Immobilisierung der Enzyme erfolgt interlammellar oder an der Oberfläche von Tonmineralen, in kolloidalem Humus beziehungsweise im Organomineralkomplex oder an dessen Oberfläche. Verschiedene Bindungsformen wie die Adsorption durch van der Waals-Kräfte, Ionenbindung, kovalente Bindung und die Festlegung durch Copolymerisation, Quervernetzung und Mikroinkapselung sind möglich. Die großen "inneren" Oberflächen des organischen Materials und der Tonminerale (bis 800 m² pro Gramm) und die hohe Ionenaustauschkapazität sind für das Ausmaß der Immobilisierung bestimmend.

Die abiotischen Enzyme im Boden existieren in einem sehr heterogenen System, in welchem die Enzymreaktionen zwischen Fest/Flüssig-Übergängen stattfinden. Zahlreiche Autoren versuchten eine Kinetik basierend auf der Michaelis-Menten-Gleichung aufzubauen, ähnlich wie in homogenen experimentellen Systemen. Mit Bodenmaterial werden kinetische Messungen durch nicht erfassbare Wechselwirkungen mit den Kolloiden beeinflusst, welche die Maximum-Geschwindigkeiten stark reduzieren. Für die Interpretation von K_m -Werten müssen noch weitere theoretische Überlegungen, methodische Unsicherheiten, sowie die qualitative und quantitative Erfassung der Kolloidwechselwirkungen geklärt werden. Bisherige Enzymkinetiken sind stets nur auf einen bestimmten Boden anwendbar und dafür reproduzierbar.

Der Einsatz bodenenzymatischer Untersuchungsmethoden konzentriert sich derzeit auf zwei Anwendungsgebiete; die Charakterisierung von Böden und die Beurteilung des Einflusses von Wirkstoffen auf den Boden. Für die Charakterisierung oder Qualitätsbeurteilung von Böden spielen Enzymaktivitätsbestimmungen derzeit eine untergeordnete Rolle. Nährstoffgehalte, Bodenstruktur und Bodentyp korrelieren nur selten mit diesen. Enge Wechselwirkungen wurden jedoch mit dem Humusgehalt des Bodens nachgewiesen (HOFMANN und PFITSCHER 1981, BECK 1984). Untersuchungen von PUCHNER (1984) zeigen, daß bodenbiologische Methoden bei Böden unterschiedlichen Typs durchaus charakteristische Verteilungsmuster erkennen lassen (Abb. 1). Die Ursache

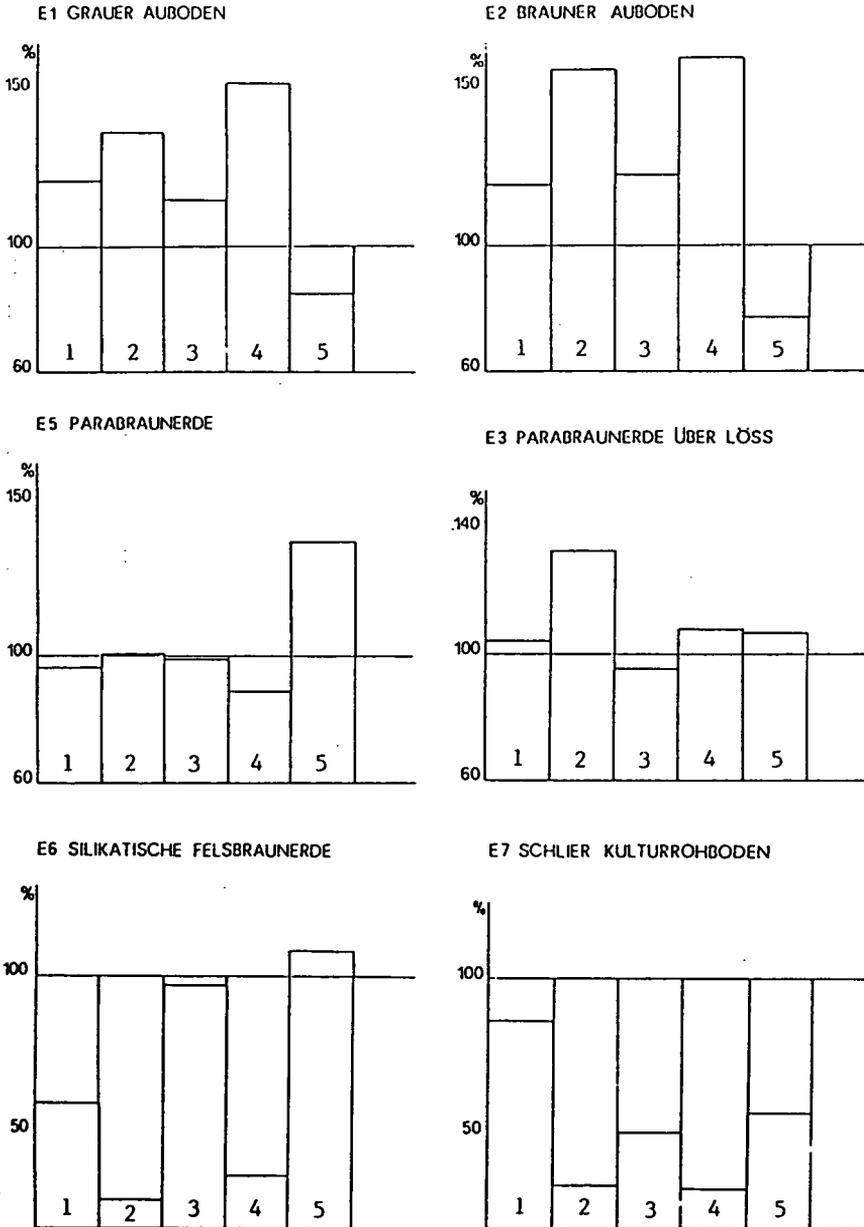


Abb. 1: Äquivalanzprofile verschiedener Kulturböden.
Z-Abweichungen von einem theoretisch ermittelten Mittelwert. 1 - CO₂-Freisetzung, 2 - Dehydrogenase, 3 - Protease, 4 - alkalische Phosphatase, 5 - Xylanase (Puchner 1984).

für die bedingte Brauchbarkeit dieser Methoden ist in den sehr komplexen Bildungs- und Regelmechanismen der Bodenenzyme, den kaum bekannten Wechselwirkungen mit den Bodenkolloiden und dem für den mikrobiellen Metabolismus bedeutenden Rhizosphären-effekt zu sehen.

Von besonders guter Eignung sind bodenenzymatische und bodenmikrobiologische Untersuchungen für die Beurteilung des Einflusses von Wirkstoffen auf den Boden. Da in behandelten und nicht behandelten Vergleichsböden die Kolloidwechselwirkung annähernd gleich bleibt, können Reaktionen der Bodenmikroflora und einzelner Bodenenzyme sehr genau nachgewiesen und über einen beliebig langen Zeitraum verfolgt werden. Hervorzuheben ist, daß derartige Untersuchungen in einem relativ kurzen Zeitraum von einer Woche bis mehrere Monate Aussagen über die Intensität und Art des Stoffeinfusses auf die Stoffwechselaktivitäten eines Bodens, aber auch über die Wirkungsdauer geben. Für das Erkennen des Stoffeinfusses ist allerdings der Einsatz eines umfassenden Methodenspektrums empfehlenswert, da meist nur ein Teil der unterschiedlichen Stoffwechselwege durch einen Wirkstoff getroffen wird. In den vergangenen Jahren befaßte sich eine Vielzahl von Autoren mit den Auswirkungen von Pestiziden auf die Biologie des Bodens; ein Beispiel über den Einfluß von Fungiziden aus der Arbeit von MITTERER et al. (1981) soll an dieser Stelle wiedergegeben werden (Abb. 2). Die Untersuchung zeigte, daß es selbst bei empfohlener Aufwandmenge der Fungizide bei der Xylanaseaktivität und Bodenatmung meist zu einem streßbedingten Anstieg der Aktivitäten kommt. Dieser Reaktion folgt eine deutliche Abnahme der Werte, möglicherweise durch Schädigung des Metabolismus einiger Arten. Wahrscheinlich infolge resistenterer und adaptierter Mikroorganismen, aber auch durch die verbesserten Ernährungsbedingungen aus abgestorbenen Organismen kommt es erneut zu einem Aktivitätsanstieg. Schließlich pendeln sich die Aktivitäten infolge von fortschreitendem Abbau der Wirkstoffe, Regenerierung der geschädigten Mikroflora nach ca. 16 Wochen auf Werte des nicht behandelten Vergleichsbodens ein. Weiterführende Untersuchungen zeigten, daß humusreiche und artenreiche Böden auf den Einfluß in geringerem Maße reagieren als humusarme Böden. Weiters kann

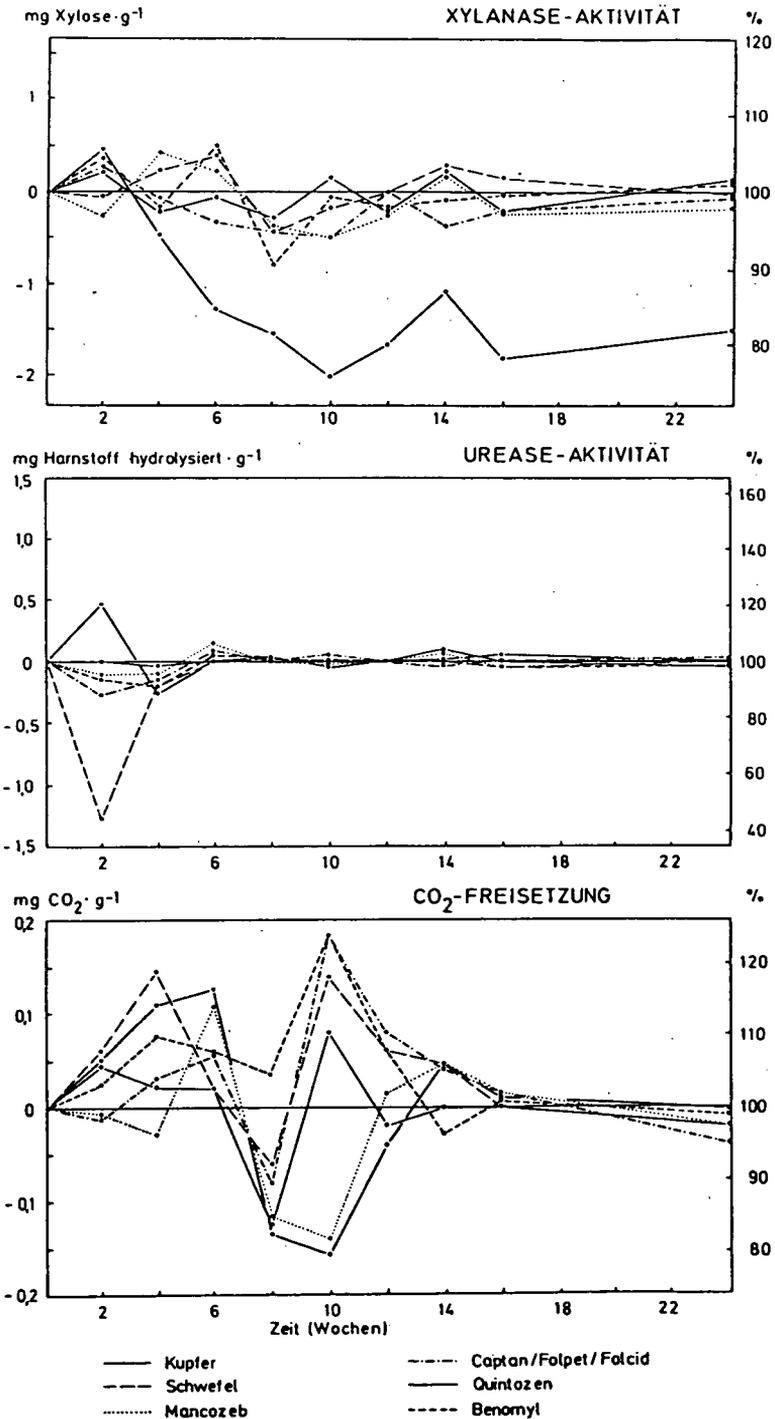


Abb. 2 Die Xylanase-, Ureaseaktivität und CO₂-Freisetzung eines Bodens nach Fungizidapplikation. Die Grundlinie (=100%) stellt den Wert des unbehandelten Bodens dar. Mitterer et al. 1982

festgestellt werden, daß bei häufiger Pestizidanwendung sich eine artenärmere, jedoch angepaßte und resistente Mikroflora einstellt.

4. Die Bedeutung der Bodenmikroorganismen und Bodenenzyme

Abbau von Naturstoffen

Der Abbau von pflanzlicher und tierischer organischer Substanz ist eine der wichtigsten Aufgaben der Bodenmikroorganismen. Ohne dieses Recycling der pflanzlichen Nähr- und Spurenelemente würde das Leben auf unserer Erde innerhalb weniger Jahrzehnte absterben. Der Abbau von Naturstoffen durch Organismen wird fast ausschließlich durch Enzyme katalysiert.

Cellulose, ein Grundbestandteil der Pflanzen, ist der mengenmäßig wichtigste organische Naturstoff. Pflanzen bestehen zu 40 - 70 % aus Cellulose. Der mikrobielle Abbau dieser Verbindung erfolgt durch wenigstens drei Enzyme, Endo- β -1,4-glucanasen, Exo- β -1,4-glucanasen und β -Glucosidasen. Die wichtigsten aeroben Cellulosezerersetzer sind Pilze (bes. Chaetomium, Fusarium), Myxobakterien und einige Eubakterien (Pseudomonas, Actinomyceten). Unter anaeroben Bedingungen zersetzen Bakterien der Gattung Clostridium die Cellulose. Die extrazellulär zu Glucose abgebaute Cellulose wird in den Zellen zu CO_2 und Wasser mineralisiert.

Einen ähnlichen Abbauweg beschreitet Xylan, das mengenmäßig zweitwichtigste Kohlenstoffpolymer der Natur. 20 - 25 % von Laubholz, 7-12 % von Koniferenholz und bis zu 30 % von Stroh bestehen aus Xylanen. Diese Substanzen sind weder bausteinmäßig noch strukturmäßig mit Cellulose verwandt, sie bauen sich aus verschiedenen Pentosen oder Hexosen auf. Xylane werden leichter als Cellulose und durch eine größere Zahl von Pilzen und Bakterien extrazellulär enzymatisch zu reduzierenden Zuckern abgebaut.

Stärke ist die häufigste Speichersubstanz der Pflanzen, sie ist aus den beiden Glucanen Amylose und Amylopectin aufgebaut. Die Pflanzen nützen diese Reservestoffe durch Phosphorylasen. Zahlreiche Mikroorganismen zersetzen Stärke hydrolytisch durch α -Amylasen an den 1,4-Bindungen des Makromoleküls.

Pectin ist ein Kohlenstoffpolymer der Mittellamellen zwi-

schen den Zellwänden benachbarter Pflanzenzellen. Die Zahl der pectinolytischen Bakterien und Pilze im Boden ist groß. Mittels Protopectinase werden Pektine in die wasserlösliche Form transformiert und schließlich durch Pectinmethylesterasen und Polygalacturonasen zu Pektinsäure, Methanol und D-Galacturonsäure abgebaut.

Lignin ist neben Cellulose und Xylan der mengenmäßig bedeutendste Bestandteil der Pflanzen (18 - 30 %). Lignin liegt in den Sekundärlamellen der Zellwände vor; es ist eine sehr komplexe Verbindung, die vorwiegend aus Phenylpropan-Abkömmlingen, vor allem Coniferylalkohol besteht. Lignin wird biologisch sehr langsam abgebaut und damit Hauptquelle schwer abbaubarer organischer Substanz (Humus). Einige Pilze wie "Weißfäuleerreger" der Gattungen Armillariella, Pleurotus, Polyporus und Stereum bauen Lignin möglicherweise mit Hilfe von Phenoloxidasen ab. Auch bei einigen imperfekten Pilzen und Bakterien der Gattungen Flavobacterium, Pseudomonas, Agrobacterium und Actinomyces wurden entsprechende Aktivitäten nachgewiesen.

Proteine sind stickstoffhaltige Makromoleküle, die als Strukturbausteine von Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen fungieren, aber auch als Enzyme die Stoffwechsellleistungen aller Lebewesen steuern. Der mikrobielle Abbau der Eiweiße wird als Ammonifikation bezeichnet, wird durch Proteasen katalysiert und erfolgt über Polypeptide, Oligopeptide zu Aminosäuren. Ein großer Prozentsatz der Bodenmikroorganismen weist Proteaseaktivitäten auf. Der weitere Abbau von Aminosäuren erfolgt in den Zellen durch Decarboxylierung oder Desaminierung.

Nucleinsäuren (DNA + RNA) sind bei sämtlichen Lebewesen aus Purin- und Pyrimidinnucleotiden, einer Pentose und Phosphat aufgebaut. Auf die Rolle der Nucleinsäuren im genetischen Material und bei der Eiweißsynthese soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Sie stellen im Boden etwa 80 % des Phosphat-Gehaltes in organischer Bindung dar. Der mikrobielle Abbau erfolgt durch Phosphatasen zu o-Phosphorsäure, die, sofern sie nicht durch Organismen unmittelbar aufgenommen wird, durch Kationen der Bodenlösung in schwer lösliche Phosphate überführt wird.

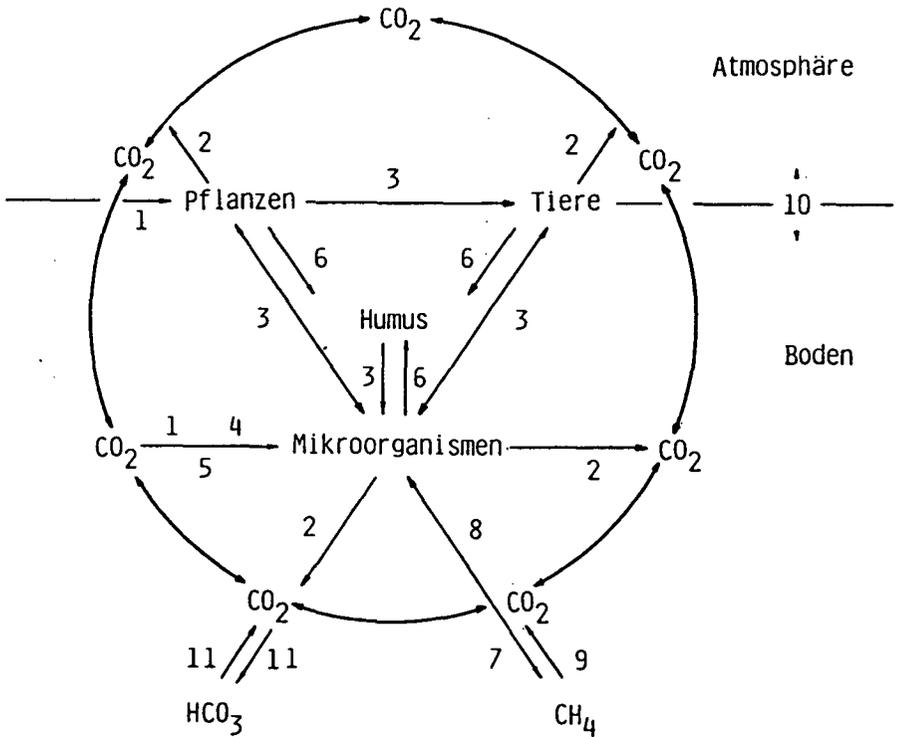
Der Abbau einer Vielzahl natürlicher und synthetischer aromatischer Kohlenwasserstoffe erfolgt im Boden enzymatisch durch

zahlreiche Bakterien und Pilze in einem meist aeroben Prozeß. Tryptophan, Phenylalanin, Mandelat, Benzoat, Salicylat, Anthracen, Alkylbenzoat, Naphtalin, Phenanthren, Benzol, Phenol und Biphenyl werden zu Brenzcatechin abgebaut. Die in 1,3- und 1,4-Stellung doppelt und die mehrfach substituierten Ringe wie Lignin, Vanillat, Shikimat, Alkylphenol, Toluat, 4-Hydroxybenzoat und Benzoat werden zu Protocatechuat abgebaut. Brenzcatechin wird schließlich durch ortho-Pyrocatechase und Protocatechuat durch Protocatechuat-3,4-Dioxygenase zu cis,cis-Muconat bzw. zu 3-Carboxy cis,cis-muconat abgebaut und schließlich über 3-Oxoadipat nach Aktivierung durch eine CoA-Transferase in Succinyl-CoA und Acetyl-CoA gespalten und im Intermediärstoffwechsel umgesetzt. Die Kontamination des Bodens mit Erdöl stellt keine besondere Gefahr dar, da in gut durchlüfteten Böden ein rascher und vollständiger Abbau erfolgt. Die Gefahr des Erdöls liegt in der Verunreinigung des Trinkwassers, da unter Luftabschluß oder in nicht belebten Böden bzw. Gesteinshorizonten kein Abbau erfolgt. Pflanzenschutzmittel und Agrarhilfsstoffe werden im Boden je nach Wirkstoff und Boden relativ rasch abgebaut. Lediglich mit Halogenen, Nitro- und Sulfonatgruppen substituierte Verbindungen persistieren unter Umständen mehrere Jahre.

Stoffkreisläufe

Pflanzen sind die wichtigsten Primärproduzenten auf unserer Erde. Mit Hilfe der Sonnenenergie bauen sie aus dem Kohlendioxid der Luft ihre organische Biomasse auf. Während ihrer Entwicklung entziehen sie dem Boden fortlaufend Nährstoffe und Spurenelemente. Mit dem Absterben, aber in geringem Umfang schon zu Lebzeiten, setzt der Abbau der organischen Substanz ein. Im Zuge der biologischen Auf-, Um- und Abbauprozesse durchlaufen die Elemente verschiedene Oxidations- und Reduktionsstufen, die jeweils durch Enzyme katalysiert werden. Jeder Nährstoff, aber auch jedes Spurenelement unterliegt in Ökosystemen einem Kreislauf. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß diese Kreisläufe einzelner Elemente untereinander sehr eng in Wechselbeziehung stehen. Die einseitige Förderung oder Hemmung einzelner Stoffwechselforgänge durch Wirkstoffe führt zu einer Störung des Gleichgewichtes im System und damit zu einer Schwächung. Im folgenden werden zum besseren Verständnis der Kohlen-

Kohlenstoffkreislauf



- 1 Photosynthese - Pflanzen, Cyanobakterien
- 2 Atmung - Pflanzen, Tiere, Mikroorganismen
- 3 heterotrophe C-Assimilation - Tiere, Mikroorganismen, Pflanzen
- 4 autotrophe C-Assimilation - nitrifizierende Bakterien
- 5 anaplerotische Reaktionen - heterotrophe Organismen
- 6 Humifizierung - Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere
- 7 Methanogenese - Methanbakterien (anaerob)
- 8 mikrobielle Oxidation - methanverwertende Bakterien
- 9 Oxidation durch Hydroxyl-Radikale - chemische Reaktion
- 10 Gasaustausch zw. Boden u. Atmosphäre - Diffusion, Luftströmungen
- 11 Lösung in Wasser als Kohlensäure - Diffusion

Abb. 3 Kohlenstoffkreislauf im Boden

stoff- und Stickstoffkreislauf als Teilkreisläufe dargestellt.
Der Kohlenstoffkreislauf (Abb. 3)

Der CO_2 -Gehalt der Luft beträgt 0,03 %, in der Bodenlösung werden Werte von 0,6 % erreicht. Die Trockensubstanz der meisten Lebewesen besteht zu 40 - 50 % aus Kohlenstoff. Während der Aufbau komplexer Kohlenstoffpolymere wie Cellulose und Xylan primär durch autotrophe Organismen wie Pflanzen erfolgt, sind heterotrophe Organismen wie Tiere und die meisten Mikroorganismen meist Konsumenten von Primär- oder Sekundärproduzenten. Der Abbau und die Mineralisation erfolgen vorwiegend durch heterotrophe Bakterien und Pilze, die ihre Energie aus der organischen Substanz gewinnen. Die Mineralisation erfolgt unter aeroben und anaeroben Bedingungen, wobei erstere effektiver sind. Die Verweilzeit des Kohlenstoffs in lebender Biomasse ist meist kurz, sie beträgt je nach Organismus wenige Minuten bis mehrere Jahrhunderte. In Form von atmosphärischem CO_2 , gelöst in Meerwasser, oder immobilisiert in Humus kann diese Zeit sehr viel länger dauern. Das Radiocarbonalter von Huminstoffen wird beispielsweise für Podsole mit 400-1000 Jahren, für Chernozeme mit 1000-7000 Jahren und für Torfmoorböden bis zu 50000 Jahren angegeben (SCHLESINGER 1977):

Der Stickstoffkreislauf (Abb. 4)

Stickstoff ist in terrestrischen Systemen häufig limitierender Faktor, so daß der Verfügbarkeit dieses Bioelementes eine besondere Bedeutung zukommt. Das wichtigste Stickstoffreservoir ist die Atmosphäre, in der er als molekularer Stickstoff (N_2) vorliegt. Organisch gebunden findet sich Stickstoff in der Biomasse, an Bodenkolloiden und teilweise schwer verfügbar im Humus. Anorganisch wird Stickstoff meist als Ammoniumstickstoff an Ton und Humuskolloide gebunden oder findet sich als Nitrat in der Bodenlösung. Das günstigste C:N für den Abbau organischer Substanz liegt bei 35:1. Im Mittelpunkt des Stickstoffkreislaufes steht das Ammonium, welches im Zuge der Mineralisation abgestorbener Lebewesen in den Boden gelangt. Organismen synthetisieren im Zuge der Biomasseentwicklung durch primäre Aminierung Alanin, Glutaminsäure, Glutamin, Asparaginsäure und Asparagin. Durch Transaminierung und Transamidierung entstehen weitere Aminosäuren und

N - K r e i s l a u f

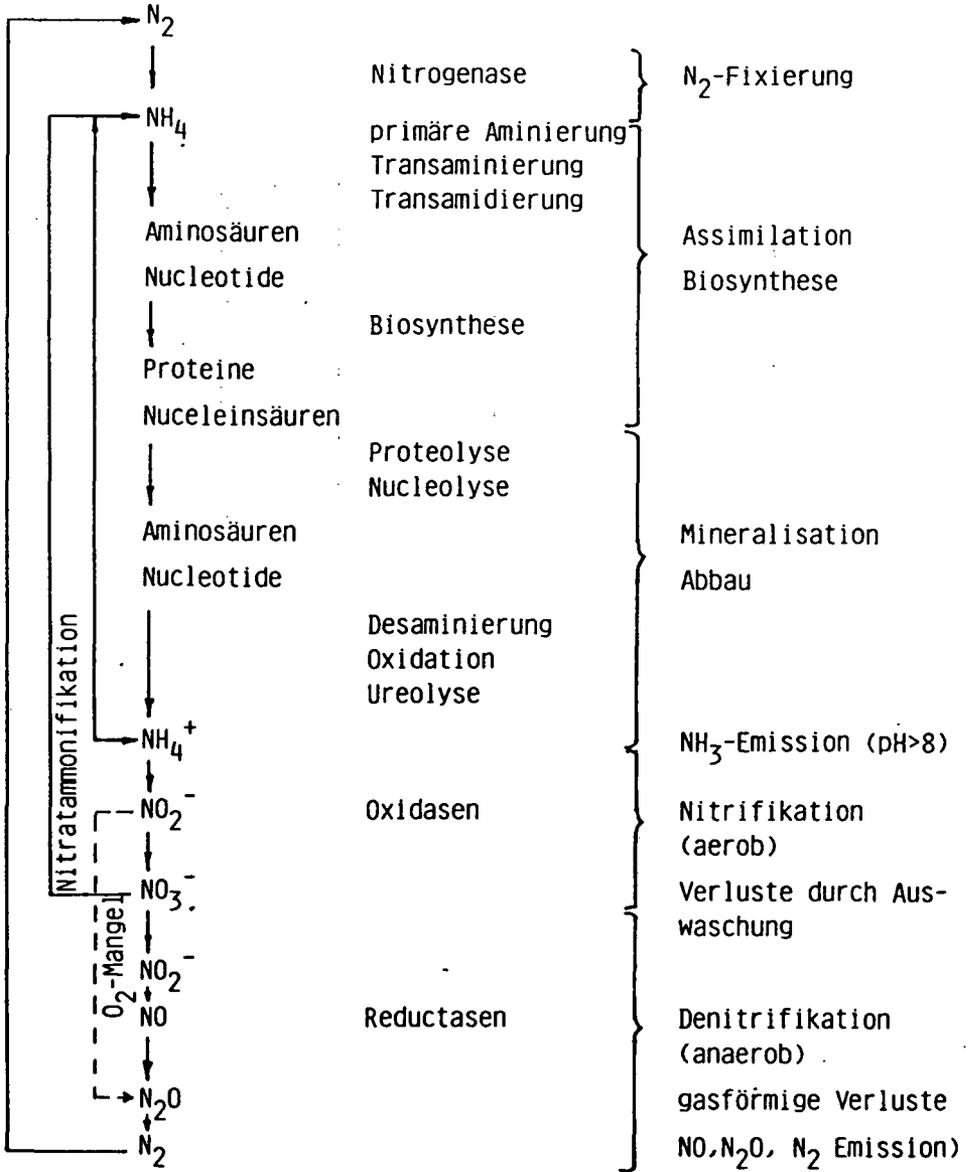


Abb. 4 Stickstoffkreislauf im Boden

Nukleotide, die schließlich zu Proteinen und Nukleinsäuren synthetisiert werden. Die Destruktion von Stickstoffpolymeren in der Biomasse wird durch die Proteolyse und Nukleolyse induziert. Es entstehen wiederum Aminosäuren und Nukleotide, die durch Desaminierung und Oxidation zu Ammonium und Harnstoff abgebaut werden. Bei ausreichender Bodenbelüftung kann Ammonium durch nitrifizierende Mikroorganismen im Boden über Nitrit zu Nitrat oxidiert werden, welches durch assimilatorische Nitratreduktion wieder in Ammonium transformiert wird. Bei Sauerstoffmangel wird bereits während der Nitrifikation statt Nitrat das flüchtige Distickoxid gebildet. Unter anaeroben Bedingungen (z.B. Staunässe) denitrifizieren Mikroorganismen Nitrat in mehreren Schritten zu molekularem Stickstoff. Die wichtigsten Metabolismen, die zu Stickstoffverlusten führen, sind die Nitrifikation, die bei Sauerstoffmangel zum Entweichen von N_2O oder bei Niederschlägen zur Nitrat Auswaschung führt und die Denitrifikation, die bei Sauerstoffausschluß zum gasförmigen Verlust von Distickoxid und molekularem Stickstoff beiträgt.

Symbiosen

Bodenmikroorganismen gehen mit einer Reihe niederer und höherer Lebensformen eine Symbiose ein. Das nutzbringende Zusammenleben unterschiedlicher Organismen wird auch als mutualistische Symbiose, Mutualismus oder Eusymbiose bezeichnet. Ist der Nutzen nur auf Seite eines Partners, spricht man von Parasitismus.

Für die wechselseitige Ernährung (Syntrophie) zwischen Bakterien und Bakterien, Bakterien und Pilzen, Bakterien und Tieren (Protozoen, Insekten, Säugetieren), Pilzen und Algen und Pilzen mit Tieren gibt es zahlreiche Beispiele. Im folgenden soll jedoch nur die Symbiose zwischen Stickstoff fixierenden Bakterien und Pflanzen sowie die Symbiose zwischen Pilzen und Pflanzen kurz dargestellt werden.

Die Assimilation von molekularem Stickstoff kann durch freilebende Bakterien vorwiegend Azotobacter und Clostridium-Arten oder symbiontische Systeme aus Bakterien und Pflanzen erfolgen. Beispiele dafür sind die Rhizobien-Leguminosen- und Frankia-Erlen-Symbiosen. Die Effizienz der Stickstofffixierung ist bei den einzelnen Systemen unterschiedlich. In Luzernenbeständen

beträgt die Menge des gebundenen Stickstoffs 120-130 kg/ha/Jahr, bei Klee 100-220 kg, Lupinen 150-170 kg, Bohnen 70-150 kg, Soja 50-110 kg, Erlen 20-190 kg und Sanddorn 20-180 kg. Die Fixierungsleistung freilebender, nicht symbiontischer Stickstofffixierer ist hingegen geringer. In landwirtschaftlichen Böden werden deren Leistungen mit 1-10 kg/ha/Jahr und in forstlichen Böden mit 1-5 kg/ha/Jahr angegeben. Die Symbiose zwischen Rhizobien und Leguminosen entsteht durch eine Infektion an den Wurzelhaaren, in die die Bakterien einwachsen und bis zu deren Basis vordringen. Mit Infektionsschläuchen dringen sie in die Epidermis bzw. Wurzelrinde ein und induzieren beim Zusammentreffen mit tetraploiden Zellen eine verstärkte Zellteilung. In diesen so gebildeten Knöllchen vermehren sich die Bakterien und nehmen dabei eine veränderte Gestalt an (Bakteroide). Diese pleomorphen Bakterioide sind auf wenige 1000 Wirtszellen lokalisiert. Jede Pflanzenzelle enthält etwa 10 000 Fixierungseinheiten zu je 4-6 Bakteroiden. Nach dem Abschluß des Differenzierungsprozesses ist diese Symbiose mit Hilfe des Enzyms Nitrogenase zur Stickstofffixierung befähigt. Der Sauerstofftransport in diesem System ist an einen roten Farbstoff, ein Porphyrin-Proteid, das Legoglobulin (Leghämoglobin) gebunden.

Das für die bakterielle Stickstoffbindung verantwortliche Enzym Nitrogenase besteht aus einem Ferroprotein und einem Molybdoferroprotein. Die eigentliche N_2 -Reduktion erfolgt durch das Mo-Fe-Protein über die möglichen Zwischenprodukte Diimin und Hydrazin zu Ammoniak. Das nach dieser Reaktion halbreduzierte Mo-Fe-Protein muß vor der nächsten Übertragung von Reduktionsäquivalenten durch das Fe-Protein erneut "aufgeladen" werden. Das Fe-Protein, welches bei diesem Prozeß reduziert wird, regeneriert seine Reduktionskraft mit Hilfe der Oxidation von Pyruvat zu Acetyl-CoA und CO_2 . Die Elektronen werden dabei vom Ferredoxin übernommen. Die bei der Reduktion des N_2 durch das Mo-Fe-Protein verbrauchte Energie von 4 ATP pro Elektronenpaar wird ebenfalls vom Fe-Protein im Austausch gegen ADP über die Acetatkinase schließlich dem Mo-Fe-Protein übertragen.

Als Mycorrhiza wird die Symbiose zwischen Pilzen und Pflanzen bezeichnet. Am unterscheidet verschiedene Formen der Mycorrhiza, die im wesentlichen auf morphologischen Aspekten des Pilz-

Pflanzenkontaktes beruhen. Übergangsformen verunsichern die Abgrenzungen.

Die Orchideen Mycorrhiza ist dadurch charakterisiert, daß die Pilzhyphe nur die Cortex-Zellen der Wurzel durchdringen. Unter der Wurzelcortex schwellen die Hyphen an und verklumpen. Die Pilze werden schließlich von den Pflanzenzellen verdaut. Pilzpartner der Orchideen sind häufig Basidiomyceten wie *Fomes*, *Marasmius*, *Gymnopilus* und *Armillariella*.

Die Vesikulär-Arbuskuläre Mycorrhiza (VA) beschränkt sich auf die Wurzelcortex, in deren Zellen sie charakteristische Vesikel und Arbuskel bildet. Reife Vesikel füllen sich mit Lipidtropfen und die Hyphen reichern Glycogen und Lipide als Reservestoff an. Die Hyphen, Vesikel und Arbuskel degenerieren und werden von der Pflanze verdaut. Pilzpartner sind meist Arten der Endogonaceae (Mucorales). Der Typus der VA-Mycorrhiza ist an zahlreichen Pflanzenarten und in allen Klimazonen verbreitet.

Die Ericaceen-Mycorrhiza durchdringt die Wurzelcortex und bildet intercelluläre Hyphenkomplexe, die nach einer bestimmten Entwicklungszeit von der Pflanze verdaut werden können. Das Vorkommen dieses Mycorrhizatyps deckt sich mit dem Verbreitungstyp von *Erica*, *Calluna*, *Vaccinium*, *Rhododendron*, *Loiseleuria*, *Arbutus* und *Arctostaphylos*.

Die Ectomycorrhiza unterscheidet sich von vorigen Arten dadurch, daß der Pilzpartner intercellulär in den Wurzelcortex eindringt und unter dieser ein Pilzgeflecht, das sogenannte Hartig'sche Netz ausbildet. Die Endodermis wird vom Pilz nicht durchdrungen. Der Pilzmantel an der Wurzelaußenseite nimmt manchmal charakteristische Formen, wie die Gestalt von Knöllchen, Gabeln, Bäumchen oder Korallen an. Die Pilzpartner bei diesem Mycorrhizatyp gehören meist den Basidiomyceten an, die Partner sind meist Nadel- oder Laubbäume und Sträucher. Die Verbreitung konzentriert sich auf gemäßigte Klimabereiche.

Allen Mycorrhizatypen ist gemeinsam, daß die in die Wurzelrinde eingedrungenen Pilzhypen mit dem Mycel im Boden verbunden bleiben. Auf diesem Wege werden den Pflanzen vermehrt Phosphor, Stickstoff, andere Nähr- und Spurenelemente, aber auch zusätzlich Wasser zur Verfügung gestellt. Das Mycel des Mycorrhizapilzes stellt eine wesentliche "Vergrößerung der Wurzel-

oberfläche", aber auch eine physiologische Erweiterung dar. Letztere ist auf das Stoffwechsellpotential beim Aufschluß von Nähr- und Spurenstoffen aus organischer und mineralischer Substanz, aber auch auf den erweiterten Kontakt mit der von der Pflanze entfernteren bakteriellen Bodenflora zurückzuführen. Dieser Vorteil kommt den Pflanzen vor allem auf Böden mit ungünstigem Klima, mit Nährstoffmangel und bei zu geringer Bodenfeuchte zugute. Dies ermöglicht den Pflanzen die Besiedelung von Extremstandorten in arktischen, alpinen und durch Trockenheit gekennzeichneten Gebieten. Auf minderen Böden gelangen mycorrhizainfizierte Pflanzen durch ausgeglichene Ernährung zu einem besseren Wachstum und höheren Erträgen. Mit dem Mycorrhizabesatz ist weiters eine bessere Klimaresistenz und Wiederstandsfähigkeit gegen Krankheitserreger verbunden.

Der Nutzen des Pilzpartners in dieser Symbiose liegt in der Verwertung pflanzlicher Produkte, vor allem leicht verfügbarer Kohlenhydratausscheidungen durch die Pflanzenwurzel.

Krankheitserreger

Bodenbürtige phytopathogene Mikroorganismen sind in jedem Boden in einer Vielzahl vorhanden. Mehrere Faktoren sind für das Zustandekommen einer Infektion verantwortlich. Die Disposition und Prädisposition der Pflanze, eine ausreichende Dichte und Aggressivität des Pathogens, geeignete Klimabedingungen und das zeitliche Zusammentreffen der die Infektion begünstigenden Faktoren. Der Vorteil muß stets auf der Seite des Pathogens liegen.

Als bodenbürtige Krankheitserreger im weitesten Sinne werden hier Mikroorganismen verstanden, bei denen zumindest ein Abschnitt der Entwicklung im oder am Boden erfolgt.

Die Übervermehrung von potentiellen Pathogenen wird im oder am Boden durch eine Vielzahl von Mechanismen verhindert. Die Qualität und Quantität der Bodenmikroflora ist entscheidend. Störeinflüsse durch Wirkstoffe (Pestizide, Dünger), Bodenbehandlung aber auch Klimaeinflüsse können das Gleichgewicht stören und zu einer Übervermehrung von Pathogenen führen. Die natürliche Regulation der Mikroflora im Boden erfolgt durch drei Faktorengruppen: den Einfluß auf den Primärstoff-

stoffwechsel, durch Ausscheidungen der Mikroorganismen und Krankheiten bzw. Prädatoren. Zur ersten Gruppe sind chemische und physikalische Voraussetzungen des Substrates, die Nährstoffzusammensetzung und von organismischer Seite die Nährstoffkonkurrenz zu zählen. Die zweite Gruppe umfaßt Stoffwechselprodukte wie Antibiotika, Toxine, Vitamine, Wuchsstoffe, Aminosäuren, organische Säuren etc., die auf die Organismen einen regulierenden Einfluß ausüben. In der dritten Gruppe werden Pathogene und Prädatoren wie Bacteriophagen, Pilzviren, das für Bakterien parasitische Bakterium *Bdellovibrio bacteriovorus* und tierische Prädatoren wie Protozoen, Colembolen und Milben zusammengefaßt.

Die phytopathogenen Mikroorganismen und ihre Wechselwirkung zu deren Wirten werden an dieser Stelle nicht berücksichtigt.

5. Biotechnologie mit Bodenmikroorganismen

Nahezu alle Mikroorganismen, die heute in biotechnischen Verfahren genutzt werden, stammen ursprünglich aus dem Boden. Mikroorganismen finden in klassischen Verfahren der Lebensmittel- und Genußmittelindustrie zur Herstellung von Gärungsprodukten Verwendung. Bodenmikroorganismen werden zur Produktion hochwertiger Proteinfuttermittel und zur Gewinnung von Fetten eingesetzt. Mikrobielle Stoffwechselprodukte werden für chemische Synthesen und als Energieträger eingesetzt. Beispiele sind die Produkte Äthanol, Butanol, Isopropanol, Aceton, 2,3-Butandiol, organische Säuren wie Citronensäure, Itaconsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Oxalsäure, Gluconsäure und Kojisäure. Auch Enzyme werden in biotechnischen Verfahren gezielt produziert. Eine wirtschaftlich und medizinisch große Bedeutung erlangten pharmazeutische Produkte, die aus Bodenorganismen gewonnen werden. Beispiele sind die Antibiotika, die aus Bakterien, Actinomyceten und Pilzen gewonnen werden, Vitamine, Steroide, Wuchsstoffe, Aminosäuren und Dextrane als Blutplasmaersatz. Biotechnische Verfahren werden heute zur Reinhaltung des Wassers und der Luft eingesetzt.

Verfahren mit besonderem Bezug zum Boden oder zur Landwirtschaft sind die Anwendung insektenpathogener Mikroorganismen oder mikrobieller Hemmstoffe zur Schädlingsbekämpfung und die Kompostierung kommunaler und landwirtschaftlicher fester Abfallstoffe.

Boden- und Samenimpfung mit Mikroorganismen

Die Symbiose Pilz-Pflanze (Mycorrhiza) führt zu einer besseren Nährstoffversorgung, Klima- und Krankheitsresistenz. Seit fast drei Jahrzehnten bestehen Verfahren zur Mycorrhiza-impfung von Forstpflanzen (MOSEER 1958 a,b, 1959). Die Jungpflanzen werden bereits im Forstgarten mit Kulturen von geeigneten Symbiosepartnern (Basidiomyceten) beimpft. Die so vorbereiteten Pflanzen eignen sich zur Aufforstung von extremen Standorten an der alpinen Waldgrenze und zur Wiederaufforstung von aufgelassenen Almflächen. Auch in ariden Gebieten trägt die Mycorrhizaimpfung zu einer Verbesserung der Aufforstungserfolge bei.

Der Impfung von landwirtschaftlichen Kulturpflanzen mit Mycorrhizapilzen (Zygomyceten) wird gegenwärtig zunehmendes Interesse geschenkt. Ertragssteigerungen und eine höhere Resistenz gegen Krankheitserreger und Klimaeinflüsse sind zu erwarten.

Impfpräparate mit symbiontischen Bakterien zur Stickstofffixierung werden derzeit in größerem Umfang hergestellt. Mit leistungsfähigen Rhizobien-Stämmen werden Samen von Luzerne, Klee, Erbsen, Bohnen und Soja beimpft. Die Bakterien werden in Fermentern in Nährlösung vermehrt und nach Erreichen der gewünschten Zelldichte mit Torf vermischt und nachinkubiert. Das Impfpräparat ist bei kühler Lagerung etwa zwei Jahre aktiv.

Für eine Steigerung der Stickstofffixierungsleistung unter verschiedenen Boden- und Klimabedingungen werden fortlaufend durch Mutation und Auslese leistungsfähigere oder angepaßtere Stämme isoliert.

In der Natur ist die Fähigkeit zur Stickstofffixierung nur auf relativ wenige symbiontische Systeme und mehrere jedoch relativ ineffiziente freilebende Mikroorganismen beschränkt. Da die Stickstoffdüngung kostenaufwendig ist, ist man derzeit bemüht, mit Hilfe der Gentechnologie das für die biologische Stickstofffixierung verantwortliche nif-Gen auf andere leicht kultivierbare, schnellwüchsige Mikroorganismen oder gar auf die Pflanze zu übertragen. Die Schwierigkeit dieses Verhaltens liegt weniger in der Übertragung des nif-Gens auf den ge-

gewünschten Partner, als vielmehr darin, die erforderlichen Begleitbedingungen wie den Schutz der Nitrogenase vor Sauerstoff und die Gegenwart spezifischer Eisen-Schwefel-Proteine zu gewährleisten.

6. Zusammenfassung - Summary

Die Bodenmikroorganismen besitzen eine Schlüsselfunktion in den Stoffkreisläufen des Kohlenstoffs, Stickstoffs, Phosphors, Schwefels, anderer Nährstoffe und Spurenelemente. Als Beispiele seien genannt: der Abbau der Streu, die Mobilisierung und Immobilisierung von Nähr- und Spurenelementen aus der organischen und anorganischen Substanz des Bodens, die Metabolisierung natürlicher und artifizieller Substanzen, die Stickstofffixierung und die Nitrifikation.

Eine weitere Bedeutung besitzen die Mikroorganismen als Symbiosepartner von Pflanzen und Tieren. Hervorgehoben seien die Bakteriensymbiosen bei Pflanzen, die zur Fixierung des molekularen Stickstoffs beitragen oder die Mycorrhiza, welche Pflanzen vermehrt mit Phosphor, Stickstoff und anderen Nähr- und Spurenelementen sowie Wasser versorgt.

Meist unterschätzt wird die Rolle der Bodenmikroflora als stabilisierender Faktor für die Boden- und Pflanzengesundheit. Eine artenreiche ausgeglichene, dem Standort angepasste Mikroflora hemmt durch Antagonismen die Übervermehrung von Krankheitserregern, die ihrerseits häufig der Bodenmikroflora entstammen.

Die Bedeutung der Bodenmikroflora beruht fast ausschließlich auf deren Stoffwechsellleistungen. Diese Stoffwechsellleistungen werden durch Enzyme katalysiert. Werden sie von den Bodenorganismen ausgeschieden, oder gelangen nach deren Auflösung in den Boden, liegen sie frei in der Bodenlösung, jedoch meist immobilisiert an Ton- und Humuskolloiden als Bodenenzyme vor. In dieser Form sind sie an den Stoffumsetzungen unabhängig von den produzierenden Organismen im Boden beteiligt. Die qualitative und quantitative Erfassung von Bodenenzymen erlaubt Rückschlüsse über den physiologischen Zustand, die "biologische Aktivität" eines Bodens.

The importance of microorganisms and enzymes in soil

Soil mikroorganisms hold a key function with the circulation of carbon, nitrogen, phosphor, sulphure, other nutrient substances and trace elements. Examples are: litter-decomposition, mobilisation and immobilisation of nutrient and trace ions from organic and anorganic matter of the soil, metabolism of natural and artificial matters, nitrogen fixation and nitrification;

Further importance mikroorganisms hold are symbiose partners of plants and animals. Special attention may be drawn to the bacterial symbiosis of with plants, that contribute to the fixation of molecular nitrogen, or the mycorrhiza, which supplies plants with increased amounts of phosphor, nitrogen and other micronutrients, as well as water.

Usually the role of the soil microflora as a stabilizing factor for the health of the soil and plants is underrated. A microflora that has a great variety of species and is well adapted to their location, inhibits through antagonisms the overproduction of pathogenic agents. The importance of the soil microflora depends almost exclusively on its metabolism performance. These are catalyzed with enzymes when they are relased from soil organisms or penetrate the soil after the decomposition of these organisms, they rest freely in the soil solution, but are usually immobilized on clay and humus colloid as soil enzymes. In this form they participate in metabolisms independent of producing organisms in the soil. The qualitative and quantitative determination of soil enzymes allows to draw conclusions about the physiological state, the "biological activity" of a soil.

- ALEXANDER, M. (1977): Introduction to soil microbiology.
John Wiley & sons pp. 467
- BECK, Th. (1984): Mikrobiologische und biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden. II. Mitteilung. Beziehung zum Humusgehalt. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 147, 467-475
- HOFMANN, J. und PFITSCHER, A. (1982): Korrelationen von Enzymaktivitäten im Boden. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 145, 36-41
- MITTERER, M., BAYER, H. und SCHINNER, F. (1981): Der Einfluß von Fungiziden auf die mikrobielle Aktivität eines Bodens. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 144, 463-471
- MOSER, M. (1958 a): Die künstliche Mycorrhizaimpfung an Forstpflanzen I. Forstw. Cbl. 77, 32-40
- MOSER, M. (1958 b): Die künstliche Mycorrhizaimpfung an Forstpflanzen II. Forstw. Cbl. 77, 273-278
- MOSER, M. (1959): Die künstliche Mycorrhizaimpfung an Forstpflanzen III. Forstw. Cbl. 78, 193-202
- PUCHNER, D. (1984): Zusammenhang zwischen bodenbiologischen und bodenchemischen Parametern in Bodenmaterialien verschiedener Bodentypen. Diplomarbeit Innsbruck. pp.62
- SCHLEGEL, H. G. (1981): Allgemeine Mikrobiologie. 5. Auflage Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York pp. 559
- SCHLESINGER, W. H. (1977): Carbon balance in terrestrial detritus. An. Rev. Ecol. Syst. 8, 51-81
- WOODS, A. F. (1899): The destruction of chlorophyll by oxidizing enzymes. Zentralbl. Bakteriöl. Parasitenkd. 5, 745-754

Anschrift: Univ. Doz. Dr. Franz Schinner

Institut für Mikrobiologie
Universität Innsbruck
Technikerstr. 25
6020 Innsbruck/Österreich

Bodenenzyme als Charakteristika der biologischen Aktivität
und von Stoffumsätzen in Böden

von G. H o f f m a n n

1. Die Anfänge der Bodenenzymologie

Die Bodenenzymologie in ihrer heutigen Form als eigenständige im Grenzbereich zwischen Bodenkunde, Mikrobiologie und Biochemie angesiedelte Wissenschaft geht zumindest im Mitteleuropäischen Raum auf die Arbeiten von Ed. HOFMANN und seiner Schule, beginnend mit einer ersten, sehr kurzen Publikation von nur 31 Zeilen Länge in der Biochemischen Zeitschrift des Jahres 1950 (2), zurück. Ihr Titel verdeutlicht aber bereits die grundlegende Absicht, mit der die Forschungen aufgenommen wurden. Er lautet: "Der Fermentgehalt des Bodens als Maßstab seiner biologischen Aktivität".

Die Idee, die Böden auf die Anwesenheit von Enzymen zu untersuchen, hat HOFMANN von seinen früheren Wirkungsstätten, den damaligen Kaiser-Wilhelm-Instituten für Kohleforschung in Mühlheim/ Ruhr (Arbeiten über die Mikrobiologie von Steinkohlenflözen), besonders aber für Biochemie in Berlin/Dahlem mitgebracht. Dort stand er als Mitarbeiter von C. NEUBERG Anfang der 30er Jahre an der Wiege der modernen Biochemie und arbeitet an der Aufklärung von Struktur und Bindungsformen kompliziert gebauter organischer Naturstoffe (Chondroitinsulfat u.ä.) mit Hilfe enzymatischer Abbauvorgänge mit.

Viele dieser Substanzen widerstanden dem Angriff der damals in biochemischen Laboratorien allgemein benützten Enzympräparationen aus Hefen, in Reinkultur gezüchteten Bakterien und höheren Pflanzen (Bittermandeln, Papaya usw.). Eine Zufallsbeobachtung über die sehr schnelle Zerstörung von Knorpelsubstanz im Komposthaufen des Institutsgartens veranlaßte HOFMANN zur Isolierung der dazu befähigten Mikroorganismen, mit denen hierauf gezielte Untersuchungen an sehr resistenten Körperklassen im Laboratorium fortgesetzt werden konnten.

Als er nach dem Kriege auf den Lehrstuhl für Agrikulturchemie in Weihenstephan berufen wurde, baute er auf der Überlegung, daß die Enzyme der zu so mannigfachen biochemischen

Leistungen fähigen bodenbewohnenden Mikroorganismen nicht allein in Reinkultur sondern auch im Boden selbst nachweisbar sein müßten, mit einer Reihe von Mitarbeitern sein System zur enzymatischen Untersuchung von Böden aus.

Er ging dabei von dem in der Biochemie anerkannten Prinzip aus, den Ausgangszustand durch Zugabe eines Antiseptikums, das die Zell- und auch Enzymvermehrungen unterbindet, zu fixieren, und die Umsetzungen des zu prüfenden Substrats nach Einstellen optimaler Bedingungen im Ansatz (nach Substratkonzentration, Reaktion, Temperatur und Inkubationszeit) zu verfolgen. Damit sollte es nicht nur möglich sein, die Anwesenheit von Enzymen nachzuweisen, sondern sie auch unter derart standardisierten Bedingungen vergleichend zu messen. Die Mengen an freigesetzten Spaltprodukten (oder an ungespaltenen Substraten, (falls diese leichter bestimmbar sein sollten), sind unter diesen Umständen nämlich auch ein Maß für die vorhandene wirksame Enzymmenge.

Geht man ferner von der Annahme aus, daß nur Mikroorganismen die Produzenten der im Boden gemessenen Enzyme sind, dann ist aus der über Aktivitätsmessungen ermittelten Enzymmenge auch ein quantitativer Rückschluß auf die zur Umsetzung der jeweils geprüften Bindungsart befähigte Mikroflora des Bodens zulässig. Da Enzymbestimmungen im Vergleich zu Keimzählungen oder Messungen mikrobieller Umsatzleistungen (z.B. CO₂-Produktion, Zellulose- oder Eiweißzersetzung usw.) einfach und schnell sind und steriles Arbeiten im streng mikrobiologischen Sinn nicht nötig ist, boten sie sich, ähnlich der Bodenuntersuchung auf Nährstoffe, für die serienmäßige Untersuchung von Böden auf ihre biologischen Verhältnisse an, gewissermaßen als eichbare Meßplatte für seine Lebenstätigkeit. Daß sich die Umsetzungen zahlreicher Substrate ohne nennenswerten Mehraufwand nebeneinander bestimmen lassen, ist ein weiterer Vorteil für die Beurteilung der Gesamt-Biologie eines Standorts.

Da von Bestimmungen der Keimzahl und der Artenvielfalt der Kleinlebewesen im Boden seit altersher enge Zusammenhänge zwischen der Intensität des Bodenlebens und der allgemeinen Bodengüte bekannt sind, bestand gleichzeitig die Hoffnung,

über Enzymmethoden auch zu einer Charakterisierung des Fruchtbarkeitszustandes der Böden zu gelangen; denn je besser ein Standort für Mikroorganismen ist, die sich ähnlich den höheren Pflanzen umso günstiger entwickeln, je besser sein Nährstoffzustand und seine übrigen chemischen und besonders physikalischen Verhältnisse sind, desto ertragsfähiger wird er auch für die Kulturpflanzen sein .

Diesen Gedankengang hat HOFMANN schon frühzeitig in verschiedenen Arbeiten, teils allein (HOFMANN, 1952,1955), teils mit dem Autor dieser Übersicht (HOFMANN und HOFFMANN, 1955) dargestellt. Sicher war in die damaligen Vorstellungen etwas von der verständlichen Euphorie des Urhebers einer zukunfts-trächtigen Arbeitsweise eingeflossen, die manche Möglichkeiten, wie sich später herausstellte, überschätzte, aber andere nicht erkannte, die später von anderen aufgegriffen wurden.

2. Die Vorgeschichte der Bodenzymologie

Wenn soeben die Bezeichnung "Urheber" gebraucht wurde, ist es recht und billig, die Vorgeschichte an dieser Stelle kurz zu streifen; denn an sich waren enzymatische Arbeiten über Böden nicht neu. Schon LIEBIG kannte die katalytische Kraft der Böden, d.h. ihrer Fähigkeit zur Spaltung von Wasserstoff-Peroxid, die aber erst 1907 durch intensivere Studien (KÖNIG; KAPPEN) und 1912 in einer Dissertation (WACHTEL) umfassender bearbeitet wurde. 1927 konnte SCHARRER nachweisen, daß der größere Teil der katalytischen Kraft der Böden abiotischer Natur und damit der Gesamtumsatz von Perhydrol nur bedingt zur Kennzeichnung der Bodenbiologie geeignet ist. Erst in neuerer Zeit ist es BECK (1971) gelungen, das Problem der Unterscheidung zwischen biotischem und abiotischem Anteil der Katalase-Wirkung analytisch elegant zu lösen.

Möglicherweise verzögerten ähnliche Gründe eine weitere Bearbeitung der Oxido-Reduktasen im Boden für längere Zeit, denn erst 1956 erschien eine Arbeit von LENHARD über Dehydrogenase, der bis 1968 (THALMANN) weitere methodische Fortführungen folgten. Doch hat auch die Dehydrogenase in subhydri-schen Böden eine abiotische Komponente (FISCHER und Mitarb., 1979), die in solchen Fällen berücksichtigt werden muß.

Die ersten Versuche zur Bestimmung der später von HOFMANN so erfolgreich bearbeiteten hydrolytischen Enzyme gehen auf FERMI (1910) zurück. Er ging von der gleichen Überlegung wie später auch HOFMANN aus, daß nämlich von Böden, Wasser und Staub besiedelnden Mikroorganismen produzierte Enzyme in diesen Substanzen auch bestimmbar sein müßten. Sein Versuch, mit den damals üblichen Methoden, einen Enzymextrakt aus Böden zu gewinnen, schlug im wesentlichen fehl. Ihm glückte nur der Nachweis einer Protease, alle übrigen Hydrolasen, auf die er prüfte, konnte er auch nicht in Spuren auffinden.

ROTINI gelang 1935 der Nachweis von Urease im Boden, jedoch befaßte sich erst CONRAD ab 1940 intensiver mit der von ihm zufällig in Böden aus Düngungsversuchen entdeckten Ureolyse, deren enzymatische Natur er sogar zunächst bezweifelte.

Von den Enzymen des Phosphatumsatzes wiesen ROTINI 1932 erst eine Pyro- und 1953 eine Metaphosphatase, ROGERS im Jahr 1940 je eine Phospho-Monoesterase und eine Nuclease und JACKMAN und BLACK (1952) Phytase im Boden nach.

Als HOFMANN um 1950 mit seinen Arbeiten begann, waren ihm die jüngeren, meist in Amerika erschienen Publikationen aus kriegsbedingten Gründen, die den internationalen Literatur-austausch für lange unterbrochen hatten, nicht bekannt. Er betrat somit nahezu Neuland. Wie es aber häufig in der Wissenschaft vorkommt, werden gleiche Ideen an weit entfernten Orten unabhängig voneinander entwickelt, wenn die Zeit für ein bestimmtes Problem reif ist. So haben kurz nach HOFMANN und SEEGERER russische Forscher (KUPREWITSCH, 1951) ebenfalls das Vorhandensein von Sacharase im Boden beschrieben.

3. Die Arbeitsrichtung nach Ed. HOFMANN in der Bodenenzymatik

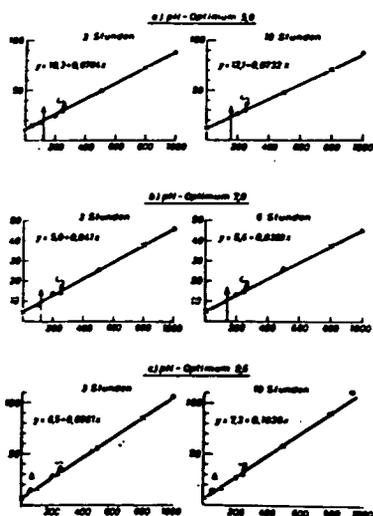
Wenn die Anwesenheit von als zellfrei zu denkenden Enzymen im Boden eine bekannte Tatsache war, was war dann das Neue an der Arbeitsrichtung von Ed. HOFMANN? Hervorzuheben ist:

3.1 Das Prinzip der Methodik

Die Methoden mußten an der Kinetik des jeweils zu untersuchenden Enzyms orientiert sein, damit die Hydrolysen weitestgehend unter optimalen Bedingungen ablaufen, d.h.

- o die Substratkonzentration mußte deutlich oberhalb des Wertes der Michaelis-Konstanten liegen, um mindestens Halbsättigung zu gewährleisten und Hemmungen durch eine zu hohe Anhäufung von Spaltprodukten während der gewählten Bebrütungsdauer zu verhindern. Abbildung 1 ist ein Beispiel für die Festlegung der Konzentration des Substrats zur Bestimmung verschiedener Typen der Phospho-Monoesterasen anhand von Untersuchungen zur Kinetik.

Abbildung 1: Wahl der Substratkonzentration für Phosphatasen aus Ansätzen zur Bestimmung von K_M



↑ Lage von K_M
↓ Konz. der Methode

Abzissen: Substr. Konz. S

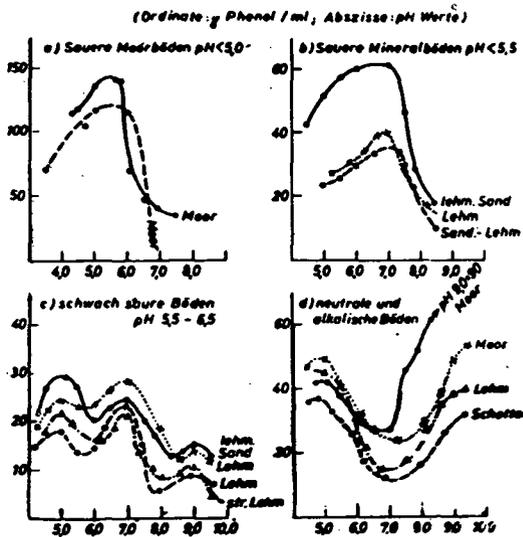
Ordinaten: S/v

Die Substratkonzentration in den Ansätzen beträgt ca. das Doppelte bis Vierfache der Konzentration der Michaeliskonstanten.

- o die Bebrütung hatte am pH-Optimum des Enzyms bei einer so hohen Temperatur zu erfolgen, daß innerhalb der gewählten Bebrütungszeit auch in enzymarmen Böden meßbare Mengen an Spaltprodukten gebildet werden. Beispiele der Ermittlung von pH-Optima zeigt Abbildung 2, wiederum für Phosphatasen.
- o die Bebrütungstemperatur durfte aber nicht so hoch sein, daß eine Serienerbeit erschwert wurde, was am jeweiligen Temperaturoptimum (z.B. 55-60 °C bei Phosphatasen) eingetreten wäre. Die Wahl fiel auf die in der Humanphysiologie gebräuchliche Temperatur von 37 °C.

- o ein Verbrauch an Substrat und Spaltprodukten während der Bebrütungszeit durch sich in den Ansätzen entwickelnde Le-

Abbildung 2: pH-Aktivitätsoptima von Phospho-Monoesterasen



bensformen mußte unterbunden werden. Nach eigenen (Tab. 1) und mehreren fremden Befunden (u.a. DROBNIK, 1961) bewirkt es ein Zusatz von Toluol zu den lufttrockenen Proben. Zusätzlichen Schutz bietet eine Verkürzung der Inkubationsdauer, die durch den Übergang von den anfangs zur Endbestimmung benutzten maßanalytischen zu den empfindlicheren spektralfotometrischen Methoden ermöglicht wurde. Allein dadurch konnte die Standzeit der Ansätze im Brutschrank unter die Anlaufzeit einer mit Substratverbrauch verbundenen Keimvermehrung gesenkt werden.

Die Zahlen der Tabelle 1 zeigen, daß bei Zusatz von Toluol innerhalb der Fehlergrenzen keine Verluste an Substrat und Hydrolyseprodukten eintreten. Ohne Toluol sind sie bei Stärke und besonders bei Harnstoff merklich, dagegen bei Saccharose unbedeutend, von der bekannt ist, daß sie oberhalb bestimmter Konzentrationen die Tätigkeit von Mikroor-

ganismen hemmen kann. Auch die zur Einstellung des pH-Optimums nötigen Pufferlösungen verhindern bzw. hemmen die Tätigkeit vieler Mikroorganismen in einem gewissen Ausmaß.

Tabelle 1: Nachweis der Hemmwirkung von Toluol auf den Umsatz verschiedener Substrate durch Böden (HOFMANN und HOFFMANN, 1961)

Versuche mit Saccharase. Substrat Saccharose. Hydrolyseprodukte = Glukose + Fruktose			
Toluol	Puffer	Zucker als Saccharose berechnet. Pro 20 ml Ansatz	
		Bei Versuchsbeginn = \approx 404.5 mg nach 24 Stunden bei 37° C	
		mg	%
+	+	405.7	100.3
+	-	402.8	99.6
-	+	402.8	99.6
-	-	393.2	97.2

Versuche mit Amylase. Substrat Stärke. Hydrolyseprodukt = Glukose			
Toluol	Puffer	Stärke als Glukose berechnet. Pro 20 ml Ansatz	
		Bei Versuchsbeginn = \approx 65.4 μ g nach 96 Stunden bei 37° C	
		mg	%
+	+	64.6	98.8
+	-	65.5	100.2
-	+	64.7	98.9
-	-	50.2	76.8

Versuche mit Urease. Substrat Harnstoff. Hydrolyseprodukt = Ammoniak			
Toluol	Puffer	N in Gesamtvolumen *	
		Bei Versuchsbeginn = \approx 478.6 mg nach 48 Stunden bei 37° C	
		mg	%
+	+	478.5	100.0
+	-	476.8	99.6
-	+	294.2	61.5
-	-	163.0	34.1

* Harnstoff + NH₃ als N berechnet.

3.2 Die Anwendung der Bodenprobe selbst als Enzympräparat

Die Methodik ist besonders stark durch den Wechsel von der in der reinen Enzymchemie gebräuchlichen Verwendung von hochgereinigten, möglichst kristallin gewonnen Präparaten zum Boden selbst als Enzymträger gekennzeichnet. Schon seine ersten Versuche führte HOFMANN mit den Bodenproben selbst aus. Er setzte ihnen jedoch noch die zur Extraktion von Enzymen aus Zellen üblichen Plasmolytika (Essigester, Aceton u.ä) zu, in der Annahme, man müsse die in der lebenden Mikroflora des Bodens vorhandenen Enzyme freisetzen.

Diese Zusätze unterblieben bald, als sich herausstellte, daß sich sowohl die ursprünglich benützten feldfrischen als auch lufttrockene Bodenproben mit und ohne Plasmolytikum in der Enzymaktivität nicht signifikant unterschieden. Damit ge-

wann die Biologie des Bodens eine neue Dimension, denn man konnte ihr den Anteil an wirksam gebliebenen und daher mitbestimmbaren Enzymen zuschlagen, die frühere Generationen von Bodenbewohnern entweder zu Lebzeiten als Exoenzyme oder nach ihrem Absterben durch Autolyse in den Boden entlassen haben und die sich dort in dauerhaft wirksamer Form durch Adsorption an Bodenkolloide akkumuliert haben.

Da Enzyme nicht nur Produkte sondern auch Substrate des Stoffwechsels sind, mußte es infolge des Wechselspiels zwischen Zu- und Abfluß zur Ausbildung von von Enzym Spiegelwerten kommen (HOFMANN, 1956), die zum mittleren Belebtheitsgrad eines Bodens in enger Beziehung stehen. Dabei spielt es letzten Endes keine Rolle ob, sie nur aus mikrobiellen Herkünften resultieren, was anfangs ein Postulat war, da sorbierte Enzyme auch wirksam bleiben, wenn die Lebensbedingungen für die Mikroflora am Standort vorübergehend eingeschränkt sind.

3.3 Das Ziel der Untersuchungen

Hatten die Vorläufer vornehmlich das Phänomen des Vorhandenseins organischer Katalysatoren im überwiegend mineralischen Milieu des Bodens selbst und gelegentlich noch ihren Einfluß auf die Versorgung der höheren Pflanzen mit Nährstoffen (vornehmlich Phosphor) studiert, so war es von vornherein das erklärte Ziel der Arbeitsgruppe von HOFMANN, Enzymaktivitäten als Meßgrößen für mikrobielle bzw. allgemein biologische Leistungen des Bodens heranzuziehen. Nach Ansammeln eines genügend großen Erfahrungsschatzes sollte ein Klassifikationsschema für die biologische "Güte" der Böden erstellt werden, das geeignet sein könnte, das Bodenleben eines Standortes und die in ihm möglichen Umsetzungen an bestimmten organischen Bindungsformen zu charakterisieren. Ein Versuch dazu wurde von HOFMANN und HOFFMANN (1966) unternommen (Tab.2).

4. Wirkungsweise und Herkunft der Bodenenzyme

Da man bei der Bestimmung der Enzymaktivität von Böden wie geschildert nicht mit den Enzymen selbst als wohldefinierten Individuen arbeitet und man damit rechnen muß, daß ein gewisser, mutmaßlich kleiner Anteil der im Boden wirksamen Enzyme aus höheren Pflanzen und ein noch geringerer aus bodenbewoh-

Tabelle 2: Vorläufige Grenzwerte für die Enzymaktivität von Böden (nach HOFMANN und HOFFMAN, 1966)

Enzym	Ausführung der Bestimmung					
	maßanalytisch (in ml Reagenslösung)			photometrisch (in g Spaltprod./100g)		
	niedrig	normal	hoch	niedrig	normal	hoch
Amylase	3	3 - 6	6			
Sacharase						
Acker	7	7 - 15	15	15	15 - 30	30
Wiese	10	10 - 20	20	20	20 - 40	40
β-Glucosidase	4	4 - 8	8	8	8 - 16	16
Urease	4	4 - 8	8	12	12 - 25	25
Protease				12	12 - 25	25

nenden mehrzelligen Tieren stammt, mußten 2 Beweisketten geschlossen werden, um die

- o Enzymnatur der Umsetzungen und
- o Mikroorganismen als dominante Quelle der Enzyme

als gerechtfertigt annehmen zu dürfen.

4.1 Nachweis der Enzymnatur

Die von Rohpräparaten bewirkten Umsetzungen eines Substrates sind dann enzymatischer Natur, wenn sie genauso wie hochgereinigte Enzyme auf charakteristische Einflußgrößen reagieren. Solche sind:

- o Der pH-Wert des Reaktionsmilieus

Alle Enzyme besitzen mehr oder minder deutlich ausgeprägte pH-Aktivitäts- und -Stabilitäts-Optima. Ein Beispiel für Phosphatasen zeigte bereits Abbildung 2, aus der das Vorhandensein von 2 in der Literatur gut beschriebenen Typen, einer sauren, in Pflanzen und Mikroorganismen, und einer alkalischen, lediglich

Tabelle 3: pH-Optima verschiedener Bodenenzyme

Enzym	pH-Optimum
Sacharase *	4,2 und 5,5
β-Glucosidase	6,2
Amylase	5,5
Urease	6,7
Phosphatasen	5,0; 7,0; 9,6

* Das Optimum 4,2 tritt nur in sauren Böden auf und ist einer Pilz-Sacharase zuzuordnen.

in den Letzteren angebotenen Form hervorgeht. Die Identität eines dritten Typs mit Optimum im Neutralbereich ist unsicher.

Auch die übrigen Hydrolasen (Tab. 3) ha-

ben solche Aktivitätsoptima. Von ihnen weichen die Stabilitätsoptima in der Regel etwas ab.

Wegen der Schwierigkeit, die von sich aus stark gepufferten Böden nacheinander erst auf eine Abfolge von pH-Werten, die das Letztere eingabeln, sowie hernach auf den pH-Wert des Aktivitätsoptimums zur Bebrütung einzustellen, ließen sich die Stabilitätsoptima nicht bestimmen. Infolge der hohen Salzkonzentrationen, die dabei im Ansatz entstehen, wurden die Enzyme so stark gehemmt, daß keine eindeutigen Ergebnisse zustandekamen.

o Die Temperaturabhängigkeit

Wie alle chemischen laufen auch die biologischen Reaktionen mit steigender Temperatur schneller ab, wobei sich die Zunahme von einer anfänglichen Steigerung auf das Doppelte bei Erhöhung um 10 °C mit Annäherung an eine optimale Temperatur verlangsamt und von da ab bis zur Hitzedenaturierung des Enzyms steil abfällt. Ein Beispiel für Phosphatasen zeigt Tabelle 4. Die Zahlen sind die Quotienten (Q₁₀)

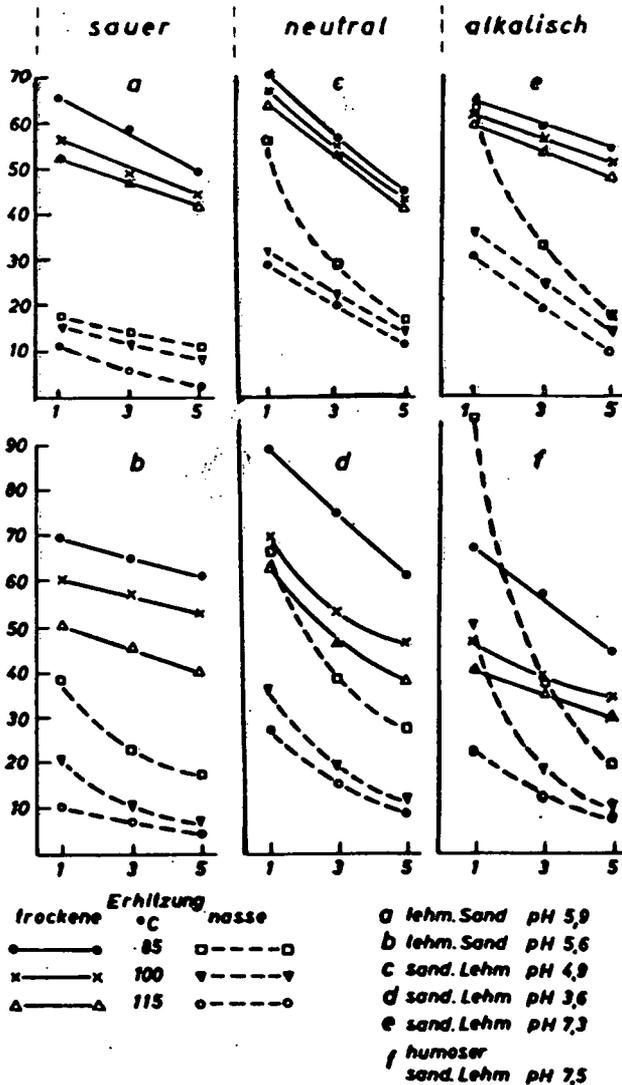
Tabelle 4: Temperaturkoeffizienten von Bodenphosphatasen

Temperaturintervall in °C	P h o s p h a t a s e					
	sauer		neutral		alkalisch	
	sandiger Lehm	Lehm	lehmiger Sand	Sand	sand. Lehm	hum. sand. Lehm
	6,3	7,5	6,4	6,7	7,5	7,3
17 - 27	2,35	1,58	1,52	1,66	2,88	2,18
27 - 37	1,68	1,36	1,45	1,58	1,67	1,44
37 - 47	1,32	1,20	1,27	1,27	1,32	1,20
47 - 57	1,13	1,06	1,16	1,14	1,13	1,11
57 - 67	kaum Aktivität		bei 67°		1,02	wie links

aus den Aktivitäten an den beiden Enden der Intervalle und deuten auf ein Temperaturoptimum bei rund 60 °C hin. Seine Lage hängt von der Bebrütungsdauer (hier 3 Stunden) ab. Es verschiebt sich bei längeren Zeiten wie sie bei den maßanalytischen Methoden für Carbohydrasen nötig waren (1-4 Tage) zu niedrigeren Werten, weshalb auch die fotometrischen Methoden auf 37 °C eingerichtet wurden.

Werden Enzyme in wässriger Lösung auf höhere Temperaturen erhitzt, tritt in der Regel eine irreversible Inaktivierung durch Veränderungen am Eiweißträger ein. Oberhalb von 80 °C sind nur ziemlich wenige Enzyme stabil, kolloide Begleitstoffe schützen sie meist gegen Hitzedenaturierungen, so daß auch Temperaturen von 100-120 °C vertragen werden. Die Bodenenzyme sind stets mit solchen Schutzkörpern (Ton- und Humuskolloide) vergesellschaftet. Ihre Schutzwirkung

Abbildung 3: Hintzeinaktivierung von Bodenphosphatasen



Abzissen: Einwirkungsdauer der Hitzebehandlung in Stunden
 Ordinaten: Aktivität in % der unbehandelten Probe

auf Carbohydrasen ist schon früher (SEEGERER, 1951; HOFFMANN, 1958) beschrieben worden, die Wirkung auf Phosphatasen zeigte Abbildung 3.

Feuchte Hitze wirkt sich erheblich stärker aus als trockene, die höchstens eine Verminderung der Ausgangsaktivität um 60% bewirkt. Die in einstündigem Abstände während der Bebrütung wiederbefeuchteten Proben verlieren 60 bis 90 Prozent. Eine völlige Zerstörung der Enzyme war in diesen Versuchen infolge der Schutzwirkung der Bodenkolloide in keinem Falle zu erreichen. Sie trat erst nach Erhitzen auf 140 °C und minimal 12 Stunden auf. Die Wirkung einer 3-tägigen Hoherhitzung geht aus Tabelle 5 hervor. Auch in den aktivsten Böden verbleiben danach nur noch Spuren von Aktivität im Bereich der Nachweisgrenze der Methode.

Tabelle 5: Einfluß langanhaltender Hoherhitzung auf die Phosphatasen des Bodens

Boden Art	pH	Phosphatasetyp *	Phosphatasezahl 3 Tage	
			normal	bei 140 °C
Lehm	4,25	A	79,2	1,3
sandiger Lehm	4,75	A	58,8	0,3
Moor	4,65	A	157,5	1,0
lehmiger Sand	5,35	A	54,8	0,5
		S	35,4	0,3
sandiger Lehm	6,00	A	23,0	0,5
		N	30,2	0,5
		S	39,5	1,0
Moor	6,75	A	48,5	0,0
		N	57,2	4,5

* A = alkalisch; S = sauer; N = neutral

o Kinetik der Umsetzungen

Die bei der Behandlung der Grundlagen der Methodik wieder-gegebene Abbildung 1

Tabelle 6: Kennzahlen der Reaktionskinetik von Bodenphosphatasen (mMol Substrat/l)

Phosphatasetyp	Anfangs-Geschwindigkeit	Maximal-Geschwindigkeit	K _M
sauer	8,2	12,6	4,8
neutral	16,5	24,6	4,4
alkalisch	8,1	9,9	2,3

ist ein Beleg für die Enzymnatur der

Umsetzung des Substrats (Dinatriumphenyl-Phosphat) in Gegenwart von Boden.

Tabelle 6 weist darüberhinaus aus, daß es sogar 3 deutlich verschiedene Ty-

pen der Phospho-Monoesterasen sind, denn sie unterscheiden sich nicht allein durch ihre pH-Optima, denn auch die Konstanten ihrer Kinetik sind nicht identisch. In der Anfangsgeschwindigkeit ähnelt die saure der alkalischen, in den Michaelis-Konstanten die saure der neutralen Phosphatase, während die alkalische mit nur dem halben Wert für K_M eine viel höhere Affinität zum Substrat aufweist, als die beiden anderen Typen. In der Maximalgeschwindigkeit sind vollends alle 3 verschieden.

o Der Einfluß von Effektoren

Von vielen Ionen gehen teils hemmende, teils aktivierende Einflüsse auf Enzyme aus, wobei ein und dasselbe Ion ein Enzym hemmen, ein anderes aktivieren kann. Alle diese Substanzen werden unter dem Begriff Effektoren zusammengefaßt. Die aus Versuchen mit gereinigten Präparaten bekannten charakteristischen Wirkungen treten im natürlichen Milieu der Enzyme meist nicht so deutlich hervor, teils werden sie sogar umgekehrt, weil es durch andere Reaktionspartner zu Maskierungen (Schwermetalle können von Humusstoffen komplexiert werden usw.) oder zu Fällung der Effektoren (z.B. Fluorid in Gegenwart von Ca-Ionen) kommen kann.

So aktiviert Kochsalz und inaktiviert Quecksilber die Amylase. In Gegenwart von Boden wirkt NaCl kaum und Hg erst in außerordentlich hoher Konzentration merklich (HOFMANN und HOFFMANN, 1955). Ähnliches ergibt sich auch bei Phosphatasen.

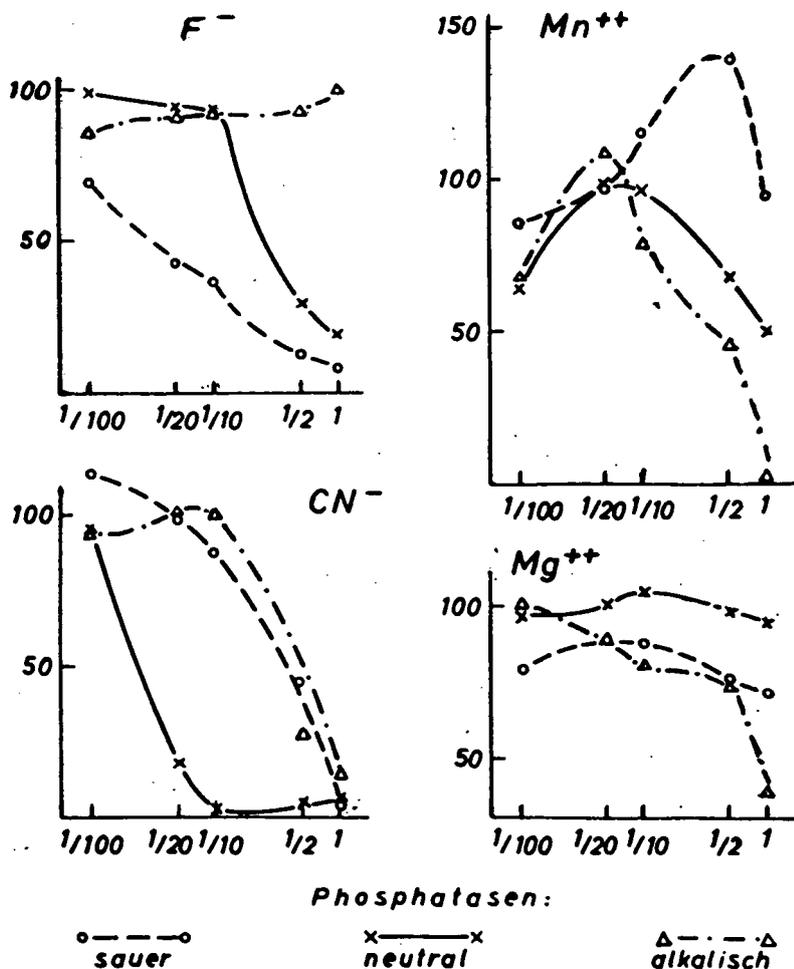
Die saure Phosphatase wird i.A. durch F^- stark gehemmt und durch CN^- und Mg^{++} (ebenso Co^{++} , Mn^{++} und Zn^{++}) nicht beeinflusst. Die alkalische Phosphatase wird im Gegensatz dazu von CN^- gehemmt, F^- hat keine Wirkung, Mg^{++} aktiviert im Normalfall, wie auch die 3 übrigen Kationen.

An der Wirkung steigender Mengen der o.g. Effektoren (ohne Co^{++}) wurde die Umsetzung von Dinatriumphosphat in 3 für je einen der Enzymtypen charakteristischen Böden auf ihre tatsächliche Enzymnatur geprüft. Als Konzentrationen 1/1 sind eine 0,66%ige NaF-Lösung bzw. $0,5 \cdot 10^{-1} \text{ Mol/l KCN}$ bzw. der o.g. Kationen als Sulfate zu verstehen, die auf

1/2 bis 1/100 (s. Abszissen Abb. 4) verdünnt wurden. 5 ml der Lösungen wirkten längere Zeit auf je 10 g Boden ein, bevor die Enzymbestimmung angesetzt wurde.

Gegenüber F^- und CN^- verhalten sich die saure und die alkalische Phosphatase typgerecht, d.h. Fluorid hemmt die saure schon in der niedrigsten Konzentration deutlich und beeinflusst die alkalische kaum. Cyanid inaktiviert die Letztere praktisch total und fördert die Erstere eher in nied-

Abbildung 4: Einfluß von Effektoren auf Bodenphosphatasen



Ordinaten: Aktivität in % von unbehandelt

Abszissen: log. Konzentration (Absolutwerte im Text)

rigen Konzentrationen. Erst bei hohem Angebot tritt eine untypische Hemmung ein. Die z.Zt. noch nicht identifizierte neutrale Phosphatase müßte aufgrund der Effektorversuche, aber auch wegen anderer Eigenschaften, einem Untertyp der sauren Monoesterasen zugeordnet werden.

Da man die Umsetzungen des organischen Phosphorsäureesters Dinatriumphenylphosphat aufgrund dieser Versuche auf die Wirkung gut bekannter Phosphatasetypen zurückführen kann, besteht an ihrer Enzymnatur an sich kein Zweifel.

o Synthetische Wirkungen

Viele Enzyme sind in Reinform befähigt, während der Umsetzung ihrer Substrate auftretende Spaltprodukte bzw. diese selbst auch ohne Gegenwart des Substrats zu höhermolekularen Körpern mit stereochemisch definierter Bindungsform zu verknüpfen (Literatur bei HOFFMANN, 1958). So bildet z.B. Emulsin aus Glucose das Disaccharid Gentiobiose. Auf abiotischem Wege entstehen solche Substanzen dagegen unter den milden Bedingungen eines Enzymansatzes nicht

Wenn Böden aus verschiedenen Substraten die gleichen Produkte bilden wie die reinen Enzyme, kann man daraus mit sehr großer Sicherheit auf den rein enzymatischen Charakter der Aktivitätsmessung in den Enzymansätzen nach HOFFMANN schließen.

Zum Nachweis solcher eventueller Wirkungen wurden normale Ansätze zur Bestimmung der Enzymaktivität mit vielen verschiedenen Substraten hergestellt und 40 Tage lang unter wiederholtem Ersatz von verdunstetem Toluol bebrütet, weil in der Literatur mehrwöchige Einwirkungszeiten angegeben waren, bis genügende Mengen an den neuen Körpern gebildet wurden. Ab 8 Stunden bis zu 40 Tagen wurden neben einem Nullwert zum Zeitpunkt der Herstellung der Ansätze 9mal aliquote Anteile auf Circular-Papierchromatogramme aufgetragen, jeweils sofort angetrocknet, nach dem letzten Termin im Überlauf chromatographiert und selektiv eingefärbt. Jeweils in der Mitte der Zeitreihe befindet sich zum Vergleich eine Bahn mit dem Substrat und dem zu erwartenden Hydrolyseprodukt, wenn nur eine Spaltung stattfände.

Die Versuche mit Maltose, Cellobiose, löslicher Stärke und einem Gemisch aus Asparagin-/Brenztraubensäure wurden für die Abbildung 5 als Belege ausgewählt. Die Ergebnisse der

Abbildung 5: Synthetische Wirkungen von Bodenzymen

Maltose



Cellobiose



lösl. Stärke



Aspartat/Pyruvat



Versuche mit weiteren Kohlenhydraten, Glycosiden und Ureiden waren dem Prinzip nach mit den ausgewählten identisch. Von links nach rechts nimmt in allen Fällen das Spaltprodukt der Enzymwirkung (bei Maltose und Cellobiose nur Glucose, bei Stärke auch Maltose) zu und das Substrat ab. Bereits nach 8 Stunden erscheinen die ersten aus den Kohlenhydraten entstandenen Neubildungen mit kürzeren R_f -Werten als die Substrate. Mit zunehmender Einwirkungszeit steigt ihre Anzahl. Einige Verbindungen treten in deutlich größeren Mengen auf. Sie konnten mit selektiven Färbemitteln und aus der Beziehung von $\log(1/R_f - 1)$, gegen den Polymerisationsgrad aufgetragen, als die Polymerhomologen von Maltose identifiziert werden.

Im Gemisch Asparagin-/Brenztraubensäure entsteht durch die Wirkung einer Transaminase Alanin. Der breite leere Keil am rechten Rand des Chromatorgramms belegt, daß im Boden keine freien Aminosäuren in meßbarer Menge vorhanden sind oder im Verlaufe der Inkubation aus der organischen Substanz freiwerden.

Diese für einzelne Enzyme sehr charakteristischen Synthesen belegen ebenfalls, daß der nach HOFMANN bestimmten Enzymaktivität der Böden tatsächlich enzymatische Vorgänge zugrundeliegen.

4.2 Mikroorganismen als Produzenten der Bodenenzyme

Wie schon erwähnt, ist es bei Betrachtung aller im Boden ablaufenden biologischen Vorgänge als Gesamtheit, von untergeordneter Bedeutung, ob die sie bewirkenden Enzyme nur von Mikroorganismen oder auch aus anderen Quellen stammen. Zu Anfang, als man noch glaubte, die Enzyaktivitäten nur als Meßgrößen für den Keimbesatz der Böden benutzen zu können, wurde dieser Frage ein beträchtliches Augenmerk gewidmet.

Ein direkter Nachweis ist schwierig, weil die meisten Enzyme ubiquitär verbreitet sind, die Methoden zur Keimzahlbestimmung dagegen infolge der Notwendigkeit, mit Nährböden arbeiten zu müssen, stets eine gewisse Selektion vornehmen und man nicht weiß, ob der Anteil der jeweils erfaßten Keime zur Gesamtanzahl in einer konstanten Relation steht.

Aus Analogieschlüssen kann man aber folgern, daß die Enzymgehalte dann mit dem Mikroorganismenbesatz korrespondieren werden, wenn sie auf verschiedene Einflußgrößen, die das Bodenleben fördern oder hemmen, genauso reagieren, wie es aus der mikrobiologischen Literatur von den Keimzahlen bekannt ist. Die wesentlichen Faktoren sind:

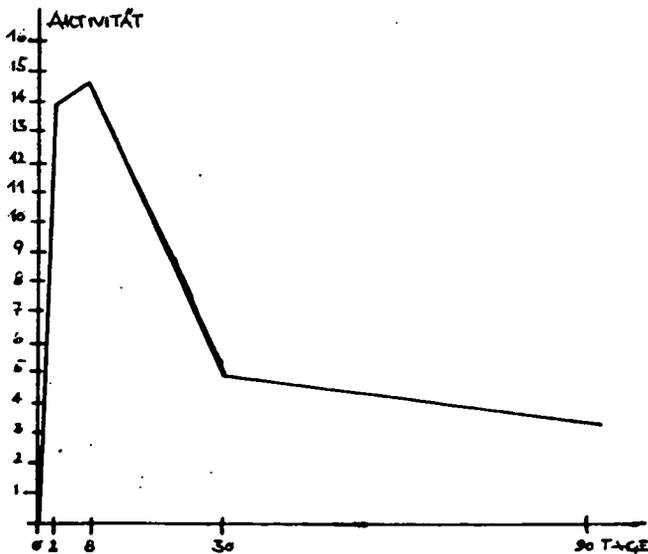
- o die organische Substanz als Energiequelle,
- o die Textur des Bodens, von der seine Wasser- und Luftverhältnisse abhängen, und
- o der pH-Wert.

Darüberhinaus ist aus fluoreszenzmikroskopischen Keimzahlbestimmungen bekannt (BURRICHTER, 1953;1958), daß vornehmlich die mit Humussubstanzen eingehüllten Schluffpartikel dichter besiedelt sind als die Fraktionen Sand und Ton. Schließlich nehmen die Keimzahlen mit der Bodentiefe ab, weil auch weniger organische Stoffe anwesend sind und die dichtere Lagerung die physikalischen Verhältnisse der tieferen Bodenschichten für die Entwicklung der Kleinlebewesen verschlechtert.

In gewachsenen Böden lassen sich die Einflüsse der verschiedenen Faktoren auf Keimzahlen und Enzymaktivitäten kaum voneinander trennen, weil man in den seltensten Fällen kontinuierliche Reihen von Bodenindividuen antrifft, die sich nur in einer Eigenschaft voneinander unterscheiden. Aus diesem Grunde wurde ein Modellversuch angelegt, in dem ein Sand- und ein Lehmboden aus dem Untergrund, die praktisch keinerlei Enzymaktivität aufwiesen, in den Verhältnissen 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 und 0:1 gemischt wurden. Der pH-Wert der Mischungen betrug 5,5 (HOFFMANN, 1958). Je 100g wurden 2,5 g sterilisiertes Luzernemehl zugesetzt. Die Mischung 1:3 (D in der Tabelle 7) wurde in einer getrennten Reihe mit Kalkmilch auf die pH-Werte 6,0 und 6,4 aufgekalkt und in einer dritten mit 1,0, 5,0 und 7,5 g Luzernemehl versetzt. Weitere, hier nicht abgehandelte Varianten erhielten Heu statt Luzernemehl in der genannten Steigerung, zusätzliche mineralische Voll- und Mangeldüngungen bzw. wurden sie auf verschiedene Wasserkapazitäten angefeuchtet.

Um ein Mikrobenleben in Gang zu bringen, wurde jedes Gefäß mit einer filtrierten Ausschüttelung von Kompost, die der aus 1g Kompost ausschüttelbaren Mikroorganismenmenge je 100 g Boden entsprach, beimpft und Wasser bis zu 80% der Wasserkapazität zugegeben. Auf diesen Feuchtigkeitsgehalt wurde während der 90tägigen Versuchsdauer laufend ergänzt. Die Aktivitäten von Sacharase, β -Glucosidase, Amylase und Urease sind zu Beginn und nach 2, 8, 30 und 90 Tagen bestimmt worden. Im folgenden werden die Ergebnisse vom 30. Tag wiedergegeben, da sich ab dann ein relativ konstanter Enzymspiegel eingestellt hatte (Abb. 6). Der Verlauf der Enzymaktivität entsprach dabei der Keimentwicklung nach Zusatz eines leicht zugänglichen Nährsubstrates, mit einem Maximum zu Anfang und Abklingen mit fortschreitendem Verbrauch seiner leicht verfügbaren Anteile. Die übrigen Enzyme verhielten sich ähnlich, nur mit geringerem Ausschlag zu Anfang des Versuches.

Abbildung 6: Zeitlicher Verlauf der Sacharase-Entwicklung in einem sandigen Leimboden nach Zusatz von Luzernemehl und Beimpfung mit Kompostextrakt



Den Einfluß der Textur des Bodens, einer pH-Erhöhung und von steigenden Mengen an organischer Substanz auf die Aktivität der 4 untersuchten Enzyme gibt Tabelle 7 wieder.

Tabelle 7: Die Aktivität von 4 hydrolytischen Enzymen unter dem Einfluß verschiedener Bodenfaktoren in einem Modellversuch

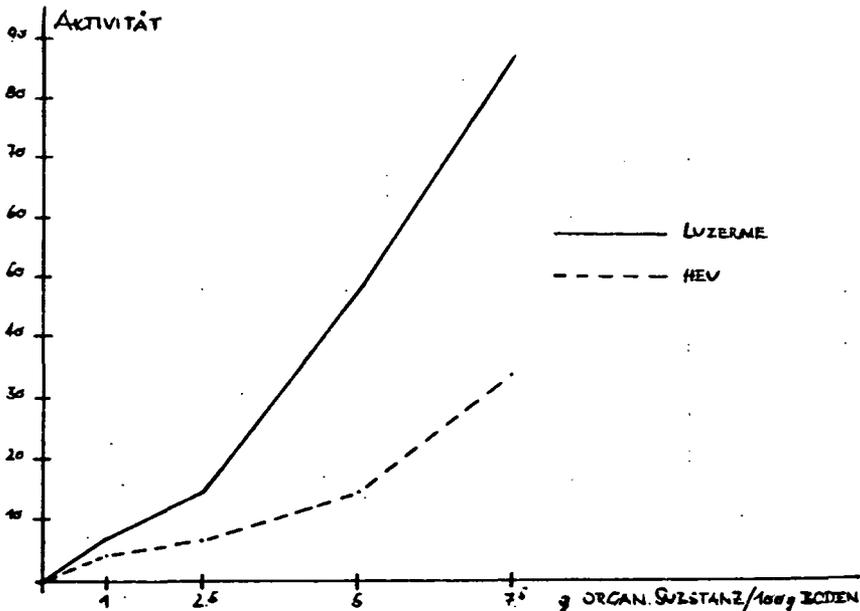
Faktor	Boden Bez.	% Frakt. 20 u	% org. Subst. *	Sacharase	β -Glucosidase	Amylase	Urease	
Textur	A	Spur		1,1	0,7	0,5	1,0	
	B	11		5,3	3,2	1,7	1,3	
	C	21	2,5	<u>5,9</u>	<u>3,4</u>	<u>1,8</u>	<u>2,2</u>	
	D	26		<u>4,9</u>	<u>3,0</u>	<u>1,1</u>	<u>2,8</u>	
	E	36		3,7	1,6	1,2	<u>3,6</u>	
pH-Wert		5,5		4,9	3,0	1,1	2,8	
	D	6,0	26	2,5	6,5	2,1	1,0	3,7
		6,4			<u>7,6</u>	2,8	<u>1,7</u>	<u>4,0</u>
organ. Subst.	D	26		1,0	3,1	0,7	0,4	1,7
				2,5	4,9	3,0	1,1	2,8
				5,0	25,0	5,6	2,9	11,6
				7,5	<u>55,0</u>	<u>11,7</u>	<u>7,0</u>	<u>20,5</u>

* Luzernemehl. Werte vom 30. Versuchstag.
 Unterstrichen sind die höchsten Aktivitäten jedes Enzyms.

In dem mittelschweren Boden, der den Mikroorganismen unter den Bedingungen des Modellversuches offensichtlich die besten Entwicklungsmöglichkeiten geboten hatte, stellte sich das Optimum der Aktivität der Carbohydrasen mit flachen Flanken zu leichteren bzw. schwereren Mischungen ein. Urease weicht davon ab, da sie sich, wie in Tabelle 9 noch gezeigt wird, in der Tonfraktion am stärksten anreichert. Wie von Bakterien bekannt, die sich bei annähernd neutraler Reaktion am stärksten entwickeln, findet man auch am höchsten, im Versuch erreichten pH-Wert die höchsten Aktivitäten. Ebenso steigen sie mit zunehmendem Angebot an organischer Substanz, zunächst verhaltener, zwischen den beiden letzten Gaben aber besonders steil an. Das N-ärmere Heumehl (1,63% N i.T.) hat dabei eine schwächere Wirkung als Luzernemehl (3,33 %), wie Abbildung 7 vom 8. Versuchstag zeigt.

Zwischen der Populationsdichte an Mikroorganismen in verschiedenen tiefen Bodenschichten und der Enzymaktivität liegt ein enger Zusammenhang vor, wie HOFMANN und SEEGERER (1951) für Sacharase durch Vergleiche von Keimzählungen und Aktivitätsmessungen nachgewiesen haben. Ihre Befunde bestätigen Beobachtungen der Mikrobiologen, wonach die aeroben Mikroorga-

Abbildung 7: Einfluß steigender Mengen von organischer Substanz verschiedenen Stickstoffgehaltes auf die Sacharaseaktivität



nismen in den oberen, sauerstoffreichen Partien der Profile bessere Lebensbedingungen finden als in größerer Bodentiefe. Nur in offenen Böden, z.B. auf Ackerland, das noch keinen Bestandesschluß aufweist, findet man den höchsten Bakteriengehalt einige Zentimeter unter der Oberfläche. An der neutralen Phosphatase wird gezeigt (Tab. 8), daß diese Befunde auch für andere Enzyme gelten.

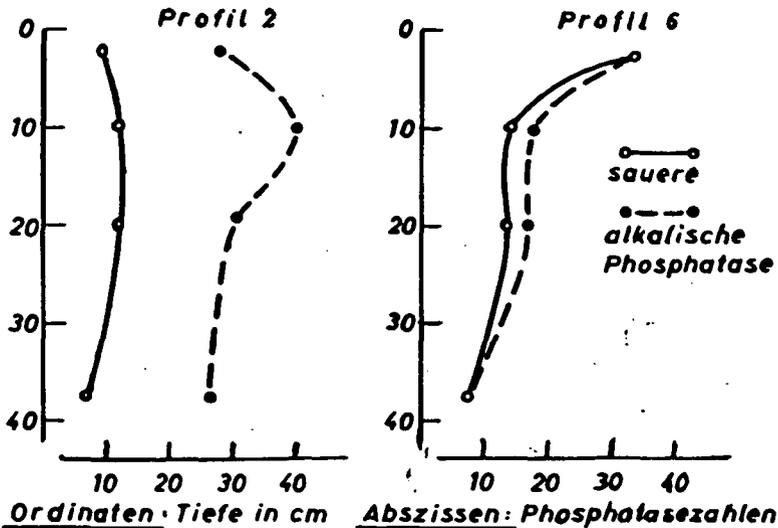
Im Beispiel haben die Oberschichten wie zu erwarten stets die höchste Aktivität. Sie sinkt mit zunehmender Bodentiefe. In Äckern ist der Abfall durch einen scharfen Knick am Übergang zum Unterboden gekennzeichnet; die wechselfeuchte Zone zwischen 10-20 cm Tiefe ist leicht begünstigt. In den meist tiefgründiger bearbeiteten Gartenböden ist der Abfall allmählich. Unter Wiesennarbe erreicht die Aktivität das Doppelte (gelegentlich auch ein Mehrfaches) der Werte in der gleichen Schicht unter Acker. Innerhalb der nächsten 10 cm tritt ein jäher Sturz auf die Aktivität der Ackerkrume ein. Ein ähnliches Bild findet man auch in Ackerböden aus ariden Gebieten

Tabelle 8: Abhängigkeit der Aktivität neutralen Phosphatase von der Tiefe der Probenahme in Lehm Böden verschiedener Nutzung

Entnahmetiefe in cm	Phosphataseaktivität in					
	Ackerboden		Gartenboden		Wiesenboden	
	absolut	relativ	absolut	relativ	absolut	relativ
0 - 10	47,4	100	44,8	100	94,0	100
10 - 20	48,5	103	41,4	92	38,0	40
20 - 40	17,5	37	34,1	76	38,0	40
40 - 70	11,8	25	27,5	61	21,4	22
70 - 100	5,5	12	9,0	20	9,5	10

(Abb. 8 aus KESSEBA, 1962). Profil 2 der Abbildung stammt aus dem nahezu regenlosen Süden, Profil 6 aus dem genügend feuchten Norden von Ägypten. Im Süden trocknet die oberste Schicht der Krume selbst nach Bewässerung rasch aus, so daß sich die höchste Aktivität erst in einigen Zentimeter Tiefe entfaltet, während im feuchteren Norden die Verhältnisse den mitteleuropäischen ähnlich sind, besonders wenn bewässert wird.

Abbildung 8: Abhängigkeit der Phosphataseaktivität von der Bodentiefe in 2 ägyptischen Böden aus verschiedenen Klimazonen des Landes



Wie weiter vorn zitiert, fand BURRICHTER bei fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen den dichtesten Keimbesatz an den mit einer Humushaut umhüllten Schluffpartikeln. Um den Enzymgehalt einzelner Fraktionen bestimmen zu können, wurden grös-

sere Bodenmengen mehrere Stunden in Wasser geschüttelt und dann in üblicher Weise durch Sedimentieren und Abhebern der nach den entsprechenden Fallzeiten überstehenden Bodensuspensionen, die anschließend zentrifugiert wurden, in die Fraktionen 2000-200, 200-60, 60-20, 20-6, 6-2 und 2 μ zerlegt. Bei Sammlung der 3 Fraktionen zwischen 20 und 6 μ lagerte sich auf der Oberfläche der Bodensätze jeweils eine dunkler gefärbte humusreiche Schicht ab, die durch wiederholtes Aufwirbeln vom humusärmeren Rest getrennt und gesondert untersucht wurde (HOFFMANN, 1958).

Aus Tabelle 9 geht die Verteilung der Aktivitäten von Saccharase, β -Glucosidase, Amylase und Urease auf die Fraktionen eines sandigen Lehmbodens hervor. Sie entspricht bei den Carbohydrasen völlig den von BURRICHTER gefundenen Keimverteilungen. Die Werte sind im Schluff am höchsten und in den gesplitteten Fraktionen stets im humusreicheren Anteil deutlich höher als im Rest.

Nur Urease erreicht ihre höchste Aktivität im Ton. Sie wird daher im wesentlichen an die anorganischen, die Carbohydrasen dagegen mehr an die organischen Kolloide sorbiert sein. Die saure Phosphatase verhält sich ähnlich wie Urease, die neutrale und die alkalische wie Carbohydrasen (HOFFMANN, 1964).

Tabelle 9: Enzymaktivitäten in den Fraktionen eines sandigen Lehmbodens

Fraktion μ	% organ. Subst.	Sacha- rase	β -Gluco- sidase	Amylase	Urease
<2000	2,68	6,7	3,9	1,2	6,1
>200	0,13	0,3	Spur	0,2	0,4
60 - 200	0,06	0,4	Spur	Spur	0,3
20 - 60	0,03	0,4	0,0	0,0	0,0
	2,64	5,8	4,6	1,3	1,2
6 - 20	0,39	1,6	0,5	Spur	0,6
	4,19	17,4	4,6	1,5	2,3
2 - 6	2,13	17,4	4,6	1,5	2,3
	5,57	46,0	9,2	4,0	5,9
< 2	3,36	10,9	1,4	1,1	7,9

Alle vorgestellten Ergebnisse sprechen für einen sehr engen Zusammenhang zwischen Enzymaktivität und Mikroorganismenbesatz der Böden, so daß der Schluß durchaus gerechtfertigt ist, sie als die überwiegende Quelle der Enzyme anzusehen. Ein besonders starkes Argument für diese Annahme ist das Vorkommen einer alkalischen Phosphatase in Böden, die bislang ausschließlich als mikrobielles Enzym nachgewiesen worden ist.

5. Möglichkeiten zur Charakterisierung besonderer Bodenverhältnisse mit Enzymaktivitäten

Über die ursprüngliche Absicht der Bestimmung der Enzymaktivität der Böden als Meßgröße für ihren allgemeinen biologischen Zustand hinaus, wofür ein Beispiel in Tabelle 2 gegeben worden ist, können mit ihrer Hilfe auch Aussagen über spezielle Probleme erhalten werden, die entweder mit dem Umsatz bestimmter Bindungsarten der organischen Substanz oder dem Einfluß des Angebots an mineralischen Nähr- oder Schadstoffen auf die enzymproduzierende Mikroflora zusammenhängen. Obwohl global sehr enge Korrelationen zwischen der organischen Substanz der Böden und der Aktivität aller Enzyme bestehen, gibt es häufig Durchbrechungen des klaren Zusammenhanges, die dann auf Störungen im Abbau gewisser Bindungen schließen lassen.

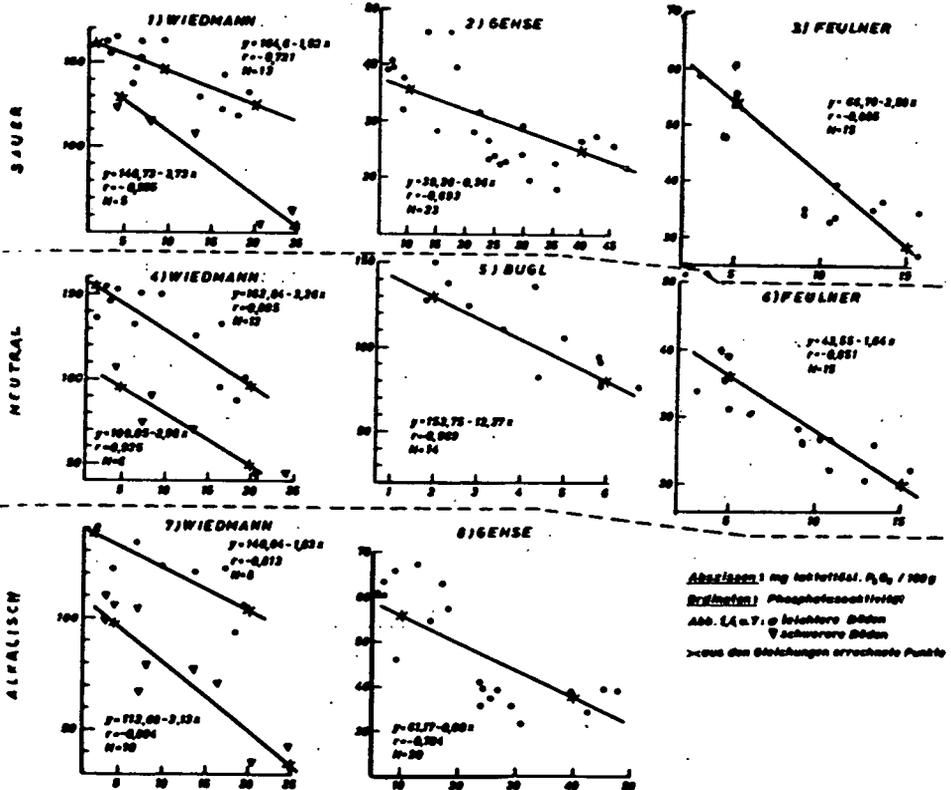
Aus den verschiedenen Möglichkeiten werden 2 Problemkreise herausgegriffen und an ihnen exemplarisch die Verwendbarkeit von Enzymmethoden für ergänzende Untersuchungen zur Nähr- und Schadstoffproblematik vorgestellt.

5.1 Phosphatasen als Anzeiger der Phosphatverfügbarkeit

Mikroorganismen verringern ihre Phosphataseproduktion, wenn ihnen in Reinkultur leicht lösliches Phosphat als mineralischer Nährstoff angeboten wird (DOBY, 1931). HOFFMANN (1964) bestätigte die Gültigkeit dieser Beziehung auch für die Phosphatasen im Boden, sofern es sich um in sich einheitliche Äcker handelte, die langfristig im wesentlichen mit der gleichen Phosphatform gedüngt worden sind. Von dieser Aktivitätsminderung mit steigendem Angebot sind alle 3 Phosphatase in gleicher Weise betroffen (Abb. 9). Sie kann mit von DOBY als Reaktion der Mikroorganismen auf ein genügendes Angebot des

Nährstoffs in verfügbarer Form interpretiert werden, das die Produktion eines Enzyms zur Erschließung schwerer zugänglicher Phosphatquellen erübrigt.

Abbildung 9: Korrelationen der Phosphataseaktivität zum Gehalt der Böden an laktatlöslichem Phosphor

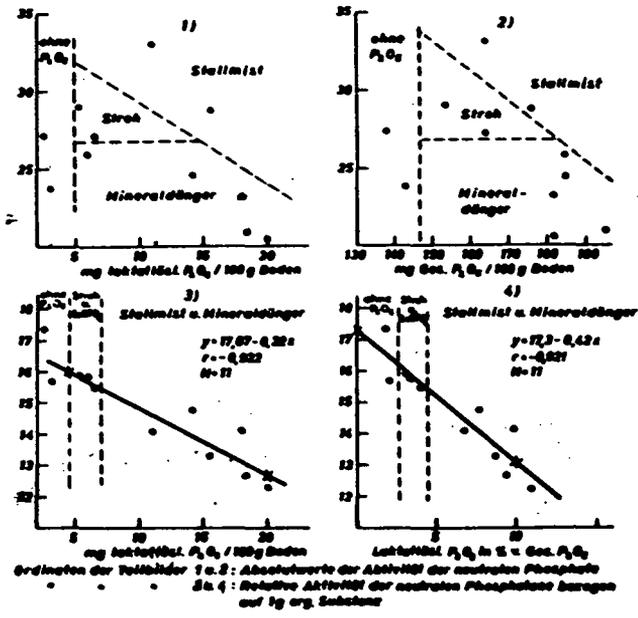


In einem Phosphat-Formenversuch auf einem schwach sauren sandigen Lehmboden, in dem Phosphor in gleichen Gesamtmengen sowohl organisch gebunden (Stroh und Stallmist) als auch in Form mineralischer Dünger (Dicalcium-, Super-, Rhenania-, Thomas- und Hyperphosphat) langjährig verabreicht worden war, ließ sich diese Beziehung nicht erkennen, gleichgültig ob das als verfügbar anzusehende laktalösliche (Abb. 10, Teilbild 1) oder Gesamt-Phosphat (Teilbild 2) als Bezugsgröße dienten.

In der Abbildung lassen sich beide Male 4 Gruppen von Werten gegeneinander abgrenzen, die Absolutwerte der Aktivität ergeben jedoch keine Beziehung zum Phosphatgehalt der Böden, möglicherweise, weil zwar die Bodenart gleich, der Gehalt an

organischer Substanz in den beiden Stallmistparzellen um 0,5% höher ist als in den übrigen Versuchsgliedern. Um ihren Einfluß zu eliminieren berechnet man eine "relative" auf 1g organische Masse bezogene Aktivität durch Division der Absolutwerte durch Prozent organische Substanz. MASHTAKOW (1955) hat in dieser Weise relative Keimzahlen errechnet und nachgewiesen, daß einander dadurch Humus- und Mineralböden im Bakterienbesatz sehr ähnlich werden.

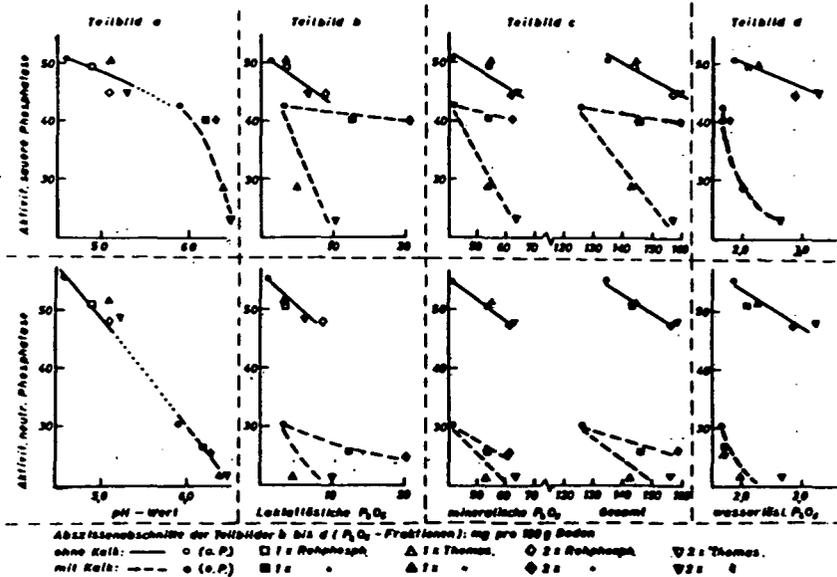
Abbildung 10: Aktivität der neutralen Phosphatase eines Phosphat-Formenversuchs in Beziehung zum P_2O_5 -Gehalt des Bodens



Bei dieser Art der Darstellung (Abb. 10, Teilbild 3 u. 4) ordnen sich die relativen Aktivitäten zu hochkorrelierten Regressionslinien, die nunmehr den bekannten Zusammenhang zwischen Phosphataseaktivität und Phosphatgehalt der Böden auch für verschiedene Düngerformen bestätigen.

Ähnlich wie steigender Phosphatgehalt senkt auch steigender pH-Wert die Phosphataseaktivität, weil in der Regel mit abnehmender Azidität die Verfügbarkeit der Phosphorsäure zunimmt. Dieser Zusammenhang geht aus einem kombinierten Kalk-Phosphatformen-Steigerungsversuch hervor (Abb. 11, Teil a).

Abbildung 11: Aktivitäten der sauren und der neutralen Phosphatase eines sauren Lehmbodens in Abhängigkeit von Kalkung und P-Steigerung mit 2 verschiedenen Phosphatformen



Prüft man das Datenmaterial auf den Zusammenhang zwischen Aktivität und Phosphatgehalt der Parzellen, dann bleibt die Beziehung nur in der ungekalkten Reihe erhalten, in der die schwache pH-Erhöhung nur auf den Kalkanteil der Düngemittel zurückgeht und die P-Verfügbarkeit der Höhe der Gaben noch weitestgehend entspricht. In der gekalkten Reihe fällt die ohne Kalk geschlossene Beziehungslinie in zwei, den beiden P-Formen (weicherdiges Roh- = oberer, Thomasphosphat = unterer Linienzug) zugehörige, von der P-freien Parzelle ausgehende Äste auseinander, gleichgültig ob das laktatlösliche oder das mineralische bzw. gesamte Phosphat als Bezugsgröße genommen wird. Die saure Phosphatase reagiert dabei stärker auf die Phosphatformen als die neutrale, diese wiederum stärker auf die Kalkung. Die Ursache für diesen scheinbaren Widerspruch ist die starke Zunahme an laktatlöslichem Phosphor bei Düngung mit weicherdigem Rohphosphat, die der biologischen Verfügbarkeit nicht entspricht und sich in höheren Enzymaktivitäten ausprägt, als dem P-Gehalt des Bodens zukäme. Dieses Beispiel zeigt die Verwertbarkeit von Enzymbestimmungen zur Beurteilung der wahren Verfügbarkeit von Pflanzennährstoffen.

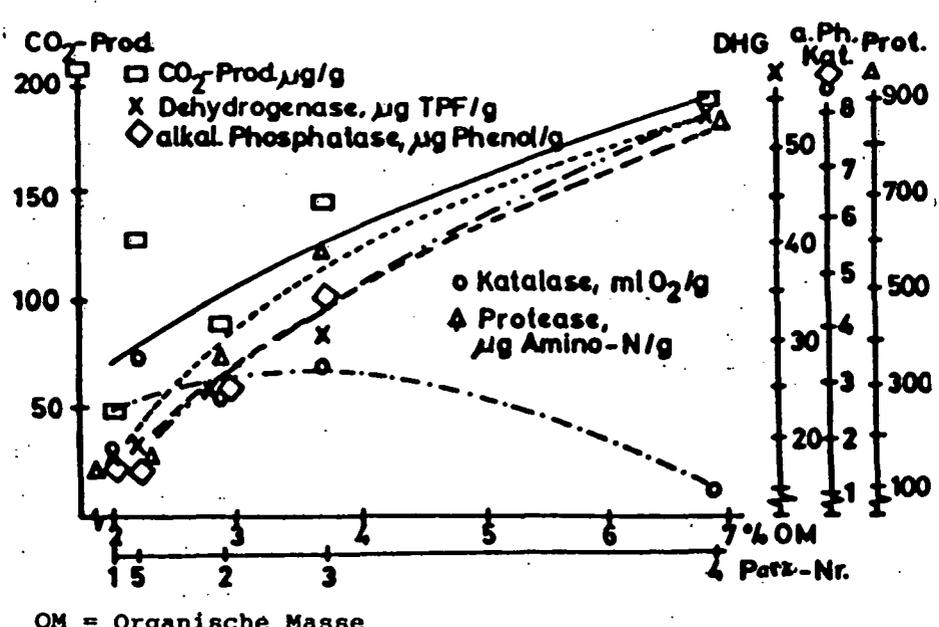
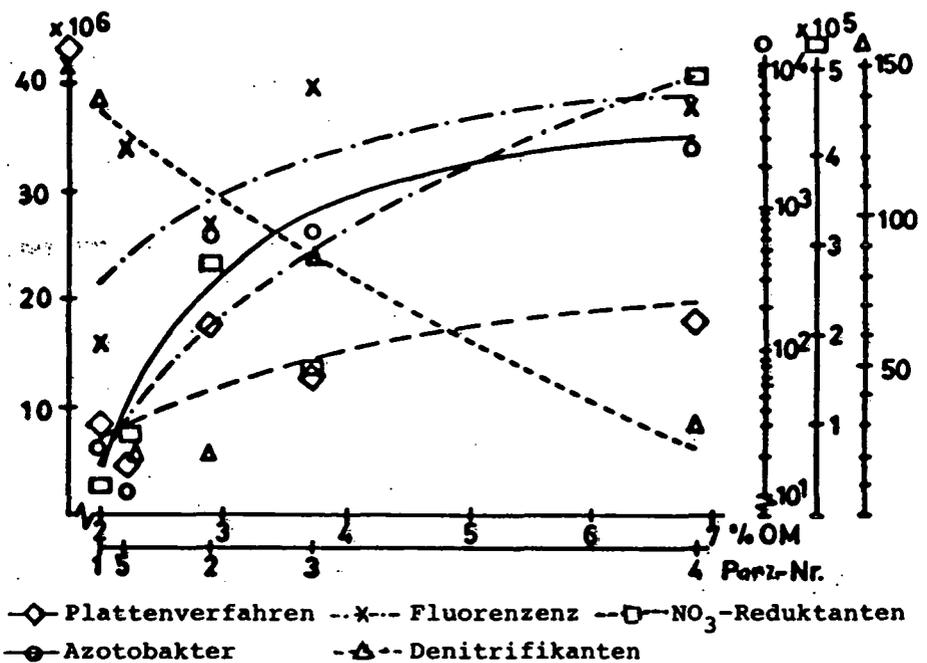
5.2 Enzymmethoden zur Charakterisierung von Schadstoffwirkungen auf die Biologie eines Weinbergbodens

Rebböden in Steillagen benötigen die Zufuhr großer Mengen an organischer Substanz als Erosionsschutz. Da in den Weinbaubetrieben kein Vieh mehr gehalten wird, müssen Stallmist-Ersatzstoffe verwendet werden, u.a. auch Siedlungskomposte, die neben organischer Substanz und mineralischen Pflanzennährstoffen auch potentielle Schadstoffe, besonders Schwermetalle enthalten. Bei langjähriger Anwendung solcher aus Müll hergestellter Komposte kann es zu einer starken Anreicherung an Schwermetallen im Boden kommen, die zu einer Beeinträchtigung der Mikroflora führen kann.

Zur Überprüfung dieser Annahme wurde ein Versuch, in dem im Laufe von 8 Jahren bis zu 1200t Müllkompost je Hektar ausgebracht worden waren, auf Keimzahlen und die Aktivität einiger Enzyme untersucht. Die Pazellen mit den höchsten Kompostgaben sind dabei mit Zink auf 490, mit Blei auf 230 mg /kg, d.h. deutlich über die Grenzwerte der Klärschlammverordnung (Zn 300, Pb 100), angereichert worden. Der Kupfergehalt erreichte mit 105 mg/kg eben den Grenzwert von 100 mg, der Cadmiumgehalt blieb mit 0,9 mg weit unter dem Grenzwert von 3 mg pro kg Boden (alle Werte als Gesamtgehalte im Aufschluß mit Königswasser).

Trotz dieser hohen Anreicherungen mit Schwermetallen wirkte sich die Kompostanwendung eindeutig steigernd auf die Gesamtkeimzahlen (Plattenverfahren und Fluoreszenzmikroskopie), die Zahlen von Azotobacter und von nitratreduzierenden Bakterien aus (Abb. 12, obere Hälfte). Lediglich die denitrifizierenden Bakterien nahmen ab, weil die Böden durch die hohen Gaben an organischen Stoffen besser durchlüftet waren. Wie die Keimzahlen verhielten sich die CO₂-Produktion und die Aktivitäten von Dehydrogenase, alkalischer Phosphatase und Protease (Abb. 12, untere Hälfte). Katalase wurde bis zur mittleren Kompostgaben gefördert und sank bis zur höchsten Menge stark ab, wofür es keine Erklärung von der Schwermetallseite her gibt, da am Scheitelpunkt der Förderung auch bereits Werte in der Nähe der Grenzgehalte der Klärschlammverordnung angetroffen wurden (Zink 270, Blei 120 mg/kg.)

Abbildung 12: Keimzahlen, CO₂-Produktion und Enzymaktivitäten in einem mit Schwermetallen angereicherten Boden einer Rebanlage (aus HOFFMANN, 1983)



Wie gegen viele andere Schadstoffe erwiesen sich die Mikroorganismen des Bodens, gegen die aus Siedlungskomposten akkumulierten ziemlich hohen Gesamtgehalte an Schwermetallen als unempfindlich, was nicht ausschließt, daß weitere Anreicherungen dann zu Störungen führen können, wenn sich die Löslichkeitsverhältnisse ändern. Anzunehmen ist aber, daß laufende Untersuchungen belasteter Böden, insbesondere auf die gegen Schwermetalle relativ empfindliche Urease rechtzeitig vor weiteren Zufuhren durch sinkende Aktivität warnen.

6. Zusammenfassung - Summary

Das Referat gibt einen Einblick in die Pionierzeit der Bodenenzymologie, die zumindest im mitteleuropäischen Raum eng mit dem Wirken von Ed. HOFMANN und seiner Schule verbunden ist. Dargestellt werden

- o die wissenschaftlichen Wurzeln des Verfahrens
- o die Entwicklung der Methodik auf der Grundlage kinetischer Gesetzmäßigkeiten
- o die Ziele der Untersuchung der Böden auf ihre Enzymgehalte
- o die Arbeiten zum Nachweis der Enzymnatur der gemessenen Umsetzungen verschiedener Substrate durch Bodenproben
- o die Versuche zum Nachweis, daß Mikroorganismen die wesentlichen Produzenten der Bodenenzyme sind
- o Beispiele der Verwendbarkeit von Enzymaktivitäten zur Charakterisierung der Umsetzung bestimmter Bindungsarten der organischen Materie, zur Kennzeichnung des Phosphatverfügbarkeit und zur Prüfung des Einflusses von Schadstoffen auf das Bodenleben.

Soil Enzymes as Characteristics of the Biological Activity and the Turn-over of Organic Materials in Soils

The paper presents a review over the pioneer-years of soil enzymology, which at least in middle Europe were closely connected with the work of Ed. HOFMANN and his collaborators. In the following are demonstrated

- o the scientific roots of the procedure to determine the enzymatic activity of soils
- o the development of the methodology, based on rules of enzyme kinetics
- o the aim of the analysis of soils for their enzyme-activity

- o the investigations to certify the enzymatic nature of the turn-over of different substrates by soil samples
- o the experiments to certify, that microbes would be the most important source of soil-enzymes
- o examples for the usefulness of enzymatic activities to characterize the turn-over of certain linkages of the organic matter, to demonstrate the availability of soil-phosphorus and to check the influence of harmful substances on soil-biology

7. Literatur

BECK, Th. (1971): Die Bestimmung der Katalaseaktivität von Böden. Z.Pflanzenernähr.,Bodenkde. 130, 68-81

BURRICHTER, E. (1953): Z.Pflanzenernähr.,Düng.,Bodenkde. 63, 15 ff.

BURRICHTER, E. (1958): Ber.Deutsch.Bot.Ges. LXX, Heft 2

CONRAD, J.P. (1940): Hydrolysis of urea in soils by thermolabile catalysis. Soil.Sci. 49, 253-263

DOBY, G.v. (1931): Z.physiol.Chem. 196, 189 ff.

DROBNIK, J. (1961): On the role of toluene in the measurement of soil enzymes. Plant and Soil XIV, 94/95

FERMI, C. (1910): Sur la presence des enzymes dans le sol, dans les eaux et dans les poussieres. Zbl.Bact.II.Abt. 26, 230 ff.

FISCHER, W.R., PFANNEBERG, Traudl, SCHNEIDER, Ellen (1979) Die analytische Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Unterwasserböden. Z.Pflanzenernähr.,Bodenkde. 142, 124-127

HOFFMANN, Gg. (1958): Wirkungsweise, Verteilung und Herkunft einiger Enzyme im Boden. Diss. TU-München-Weihenstephan

HOFFMANN, Gg. (1964): Die isodynamen Phosphomonoesterasen als Charakteristika für biologische Aktivität und Phosphatumsatz der Böden. Habil.Schrift TU-München-Weihenst.

HOFFMANN, Gg. (1983): Recycling of municipal waste compost in vineyard soils. Transact. VIII. Intern.Sympos."Humus et Planta", Prag, Vol. II, 446-449

HOFMANN, Ed. (1950): Der Fermentgehalt des Bodens als Maßstab seiner biologischen Aktivität. Bioch.Z. 321, 97

HOFMANN, Ed. (1952): Enzymreaktionen und ihre Bedeutung für die Bestimmung der Bodenfruchtbarkeit. Z.Pflanzenernähr.,Düng.,Bodenkde. 56(101), 68-72

HOFMANN, Ed. (1955): Die Enzyme im Boden und ihre Bedeutung für seine Biologie und Fruchtbarkeit. Z.Acker- u.Pfl. Bau 100, 31-35

HOFMANN, Ed. (1956): Der Enzymspiegel im Boden. Landwirt. Forsch. 7.Sonderh., 80-82

HOFMANN, Ed., HOFFMANN, G. (1955): Über Herkunft, Bestimmung und Bedeutung der Enzyme im Boden. Z.Pflanzenernähr., Düng.,Bodenkde. 70(115), 9-16

HOFMANN, Ed., HOFFMANN, G. (1955a): Über das Enzymsystem unserer Kulturböden VI. Amylase. Z.Pflanzenernähr.,Düng., Bodenkde. 70, 97-104

HOFMANN, Ed., HOFFMANN, G. (1961): Über die Zuverlässigkeit der Methoden zur Bestimmung der Aktivität von Bodenenzymen nach Ed. HOFMANN. Plant and Soil XIV, 96-99

HOFMANN, Ed., HOFFMANN, G. (1966): Die Bestimmung der biologischen Tätigkeit in Böden mit Enzymmethoden. Adv.Enzymol. 28, 365-390

HOFMANN, Ed., SEEGERER, A. (1950): Der Fermentgehalt des Bodens als Maßstab seiner biologischen Aktivität. Diss. TU-München-Weihenstephan

JACKMAN, R.H., BLACK, C.A. (1952): Phytase activity in soils. Soil Sci. 73, 115.125

KAPPEN, H. (1910): Fühlings Landwirtsch.Z. 59, 657-679; cit.: SCHARRER (1927)

KESSEBA, A. (1962): Die biologische Aktivität ägyptischer Böden, gemessen mit Enzymmethoden. Diss. TU-München-Weihenstephan

KÖNIG, J., HASENBÄUMER, J., COPPENRATH, E. (1906): Landw. Vers.Stat. 63, 471-478; cit. SCHARRER (1927)

KUPREWITSCH, W.F. (1951): Die biologische Aktivität von Böden und Methoden zu ihrer Bestimmung. Dokl.Akad.Nauk. CCCP 79, 863 ff.

LENHARD, G. (1956): Die Dehydrogenaseaktivität des Bodens als Maß der Mikroorganismen-tätigkeit im Boden. Z.Pflanzenernähr.,Düng.,Bodenkde. 73(118), 1-11

MASHTAKOW, S.M. (1955): ref. Soils and Fertilizers XVIII, 37; Originalarb. Dokl.Akad.Nauk CCCP 98, 141 ff. 1951

ROGERS, H.T., PEARSON, R.W., PIERRE, W.H. (1940): Absorption of organic phosphorus by corn and tomato plants and the mineralizing action of exoenzyme systems of growing roots. Soil Sci.Amer.Proc. 5, 285-291

ROTINI, O.T. (1932): La presenza e l'attivita delle pirofosfatasi in aleuni substrati organini e nel terreno. Atti 19.Congr.Soc.Prog.Sci-Roma, 79 ff.

ROTINI, O.T. (1935): La transformatione enzymatica dell'urea nell terreno. Ann.Lab.Ferm.Spallanzani, Milano 3, 79ff

ROTINI, O.T., CARLONI, L. (1953): La trasformazione dei metafosfati in ortofosfati promossa del terreno. Ann.Sper. Agr. 7, 1789 ff.

SEEGERER, A. (1951): Der Fermentgehalt des Bodens als Maßstab seiner biologischen Aktivität. Diss. TU-München-Weihenstephan

SCHARRER, K. (1927): Zur Kenntnis der Hydroperoxid spaltenden Eigenschaft der Böden. Bioch.Z. 189, 125-149

THALMANN, A. (1968): Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität der Böden mit TTC (Triphenyltetrazoliumchlorid). Landwirtsch.Forsch. 31, 249 ff

WACHTEL, P. (1912): Diss. Jena; cit SCHARRER (1927)

Anschrift: Prof.Dr. Georg Hoffmann

Innichnerstr. 1

D 8050 Freising

Aussagekraft und Bedeutung enzymatischer und mikrobiologischer
Methoden bei der Charakterisierung des Bodenlebens von land-
wirtschaftlichen Böden

von Th. B e c k

1. Einleitung

Die Pflanzenbauwissenschaften haben in den letzten Jahren ein wachsendes Interesse an quantitativen Analysen der mikrobiologischen Vorgänge im Boden bekundet. Es ist dies nicht verwunderlich bei der Fülle der möglichen Wechselwirkungen zwischen Bodenleben und pflanzlicher Produktion. Der enge Bezug zwischen den beiden Disziplinen wird auch klar, wenn man sich überlegt, daß es, von ganz wenigen Ausnahmen abgesehen, keine Stoffumsetzungen im Boden gibt, an denen Mikroorganismen nicht direkt oder wenigstens indirekt beteiligt sind.

Mehr als in früheren Jahren wird heute auch verstärkt die Frage diskutiert, ob bei neuzeitlicher Bodenbenutzung die biologischen Komponente der Bodenfruchtbarkeit, d.h. das mikrobielle Ökosystem, in Gefahr ist. Als besondere Konfliktfelder sind dabei die zweckmäßigste Fruchtfolgegestaltung, der Einsatz von Mineraldüngern und Pflanzenbehandlungstoffen sowie Bodenbearbeitungsmaßnahmen und neuerdings auch Immissionen zu nennen.

Was die Landwirtschaft von der Bodenmikrobiologie gerade heute erwartet, sind daher, neben den zweifellos sehr wichtigen Grundlagen von Teilvorgängen der Stoffumsetzungen, und einer möglichst vollständigen Bestandsaufnahme der Einzelglieder der Mikroflora, Aussagen über mehr oder weniger starke Auswirkungen unserer neuzeitigen Bewirtschaftungsweisen auf das mikrobielle Ökosystem in seiner Gesamtheit. Man ist an bodenmikrobiologischen Untersuchungen deswegen so starkt interessiert, weil die Nachhaltigkeit bestimmter Bewirtschaftungsweisen in erster Linie eine Funktion des Nährstoffgehaltes bzw. der Nährstoffverfügbarkeit sowie der Struktureigenschaften der Böden ist. Beide Eigenschaften werden maßgeblich von der Humusversorgung beeinflusst, Humus ist aber wiederum Folgeprodukt mikrobieller Stoffumsetzungen.

2. Grundsätzliches zur mikrobiologische Bodenanalyse

2.1 Zielsetzung und Arbeitsweise

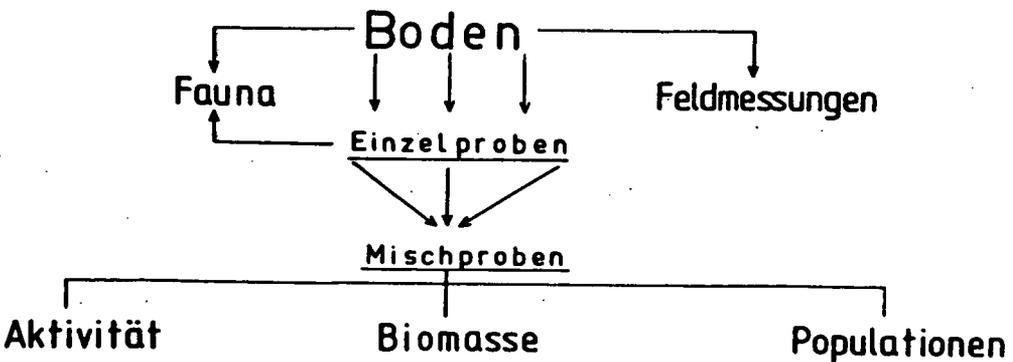
Wenn man sich nun über die mikrobiologischen Eigenschaften an einem gegebenen Standort informieren möchte bzw. Beeinflußung dieser Eigenschaften etwa durch bestimmte Bewirtschaftungsmaßnahmen feststellen

will, stellt sich zunächst die Frage nach den geeigneten Parametern dessen was man untersuchen möchte. Man kann sich fragen, ob, ähnliche wie bei den höheren Pflanzen und Tieren, die Forderung nach weitgehendem Artenschutz zur Erhaltung eines stabilen Ökosystems auch auf den Bereich der Bodenmikroflora übertragbar ist. Oder ist für die Bodenfruchtbarkeit mehr die von den Mikroorganismen bewirkte Stoffwechsellleistung von besonderer Bedeutung? Und wie steht es mit der Erhaltung oder Mehrung der mikrobiellen Biomasse in der Gesamtheit aller stoffwechselaktiven Mikroben, da man doch weiß, daß sich davon langfristig deutliche Beziehungen zur Humusbilanz ableiten lassen. Entsprechend diesen Fragestellungen, gibt es grundsätzlich auch ganz unterschiedliche, in ihrer Arbeitsweise und Zielsetzung verschiedenartige Wege des Zugangs zum Bodenleben wie sie in Abb. 1 schematisch dargestellt sind: Aktivitätsmessungen, Biomassebestimmungen und Populationsuntersuchungen.

Im Normalfall geht man bei den in Abb. 1 aufgeführten Untersuchungsverfahren von Mischproben aus, um repräsentativ für eine Fläche sein zu können. Grundsätzlich besteht bei bestimmten Aktivitätsmessungen aber auch die Möglichkeit von bodenmikrobiologischen Messungen am Standort selbst.

Abbildung 1

Grundsätzliche Möglichkeiten der Messung des Bodenlebens



Im folgenden soll nun die Aussagekraft und Bedeutung dieser in drei großen Gruppen zusammengefaßten Untersuchungsverfahren für eine Charakterisierung des Bodenlebens im Einzelnen diskutiert werden. Für die praktische Durchführung der mikrobiologischen Bodenanalyse sind vorab noch eine Reihe von Gesichtspunkten, die mit der Probennahme zusammen hängen, bedeutsam. Es handelt sich dabei um technische Details, die in erster Linie den Fachmann angehen; sie müssen jedoch bei dem mir gestellten Thema kurz genannt werden, da sie Einfluß nehmen auf die Reproduzierbarkeit der Meßwerte, eine Eigenschaft die wiederum Voraussetzung für eine zufriedenstellende Aussagekraft von Verfahren ist.

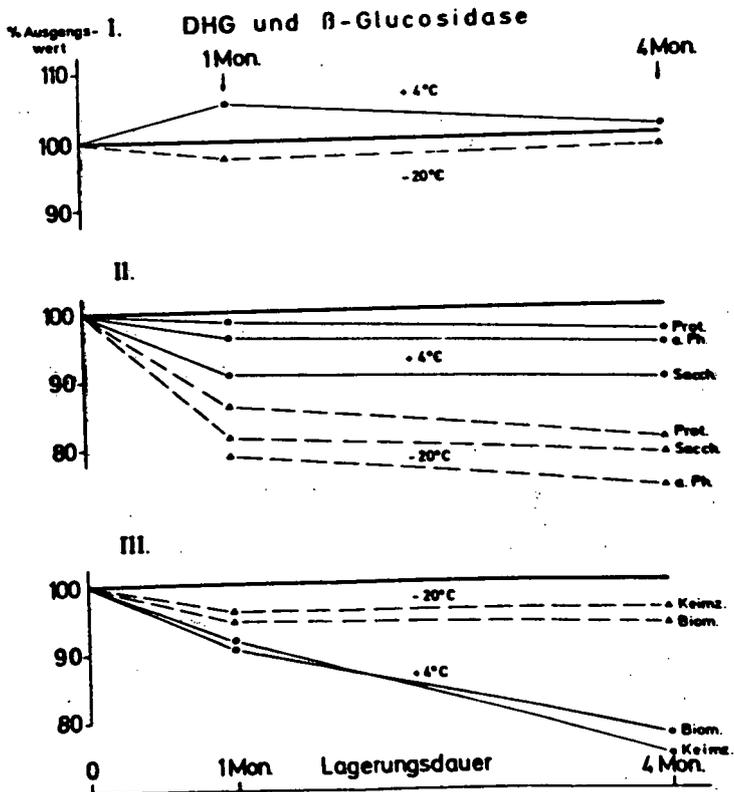
2.2 Probenahme und Probenaufbewahrung

Über das zweckmäßige Vorgehen bei der Probennahme für bodenmikrobiologische Analysen liegen in der Literatur vergleichsweise wenig fundierte Untersuchungen vor. Unsere langjährigen Erfahrungen gehen dahin, daß die Zahl der Einzelproben pro Untersuchungsfläche gar nicht groß genug sein kann, um bestehende Standortsunterschiede bzw. Abweichungen auszugleichen. Bei einer 500 m² Parzelle z.B. ziehen wir mit einem geeigneten Bohrstock mindestens 100 Einzelproben in Form von kleine Bodenzylinder mit 2-3 cm Durchmesser und 5-10 cm Länge und stellen daraus Mischproben her. Um das Untersuchungsergebnis abzusichern bzw. signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten von einzelnen Probenserien festzustellen zu können, ist die Untersuchung mehrerer Stichproben bzw. Mischproben einer Fläche wichtiger als eine hohe Anzahl von Wiederholungen aus einer Mischprobe. Soll das Bodenprofil untersucht werden, wie das etwa bei Fragen zur Auswirkung der Bodenbearbeitung notwendig ist, muß allerdings der aufwendigere Weg über Profilaufgrabungen oder die portionsweise Entnahme von Profilproben aus dem Pürkhauerbohrer mit größerem Durchmesser gewählt werden. Unsere Devise ist es, auf die Probennahme und die Herstellung von Mischproben im naturfeuchten, auf 2 mm gesiebten Zustand, ähnlich viel Zeit und Aufmerksamkeit zu verwenden, wie auf die genauen Durchführung der Analysen. In der Praxis der mikrobiologischen Bodenuntersuchung wird natürlich die jeweilige Laborkapazität bzw. die zeitliche Auslastung des Labors die Zahl der Wiederholungen bzw. Stichproben bestimmen wobei man sich aber bewußt sein sollte, daß erst ab mindestens 4 Wiederholungen eine statistische Absicherung möglich wird.

Neben der Probennahme selbst, verdient ein weiterer Gesichtspunkt, die Lagerung der Bodenproben Beachtung. Es ist wohl nur in den seltensten Fällen möglich, die Proben am Tage der Probennahme zu verarbeiten. Die Fachgruppe "Landwirtschaftliche Mikrobiologie des VDLUFA" empfiehlt daher bis zum Untersuchungsansatz die gesiebten, naturfeuchten Proben bei Kühlschranktemperatur aufzubewahren. Eine Vorstellung, wie sich die Aufbewahrung von Bodenproben bei Kühlschrank- bzw. Gefrierschranktemperaturen in Abhängigkeit von der Lagerdauer auf eine Reihe wichtiger mikrobiologischer Eigenschaften auswirkt, zeigt die Abb. 2. Nach diesen bisher, noch unveröffentlichten Versuchsergebnissen, können nach ihrem Lagerungsverhalten 3 Eigenschaftsgruppen unterschieden werden.

Abbildung 2

Lagerungs-Temperatur-Versuch Veränderung in % zum Ausgangswert Ø 5 Ackerböden



I. Enzymaktivitäten wie die Dehydrogenase und β -Glucosidase die praktisch über 4 Monate bei niedriger Temperatur unbeeinflusst bleiben.

II. Enzymaktivitäten wie Protease, Saccharase und alk. Phosphatase die bei Kühlschranklagerung weniger als bei Gefrierschranktemperaturen abnehmen und

III. Biomasse- und Keimzahlwerte die bei Gefrierschrankaufbewahrung nur wenig, bei Kühlschranklagerung jedoch deutlicher abfallen.

Insgesamt gesehen, ist die Abnahme der mikrobiologischen Kennwerte während einer Lagerung der Proben bei niedrigen Temperaturen, vergleichsweise gering, wenn die Lagerdauer etwa 3-4 Wochen nicht überschreitet.

Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, daß es prinzipiell auch die Möglichkeit gibt, einzelne Teilvorgänge des mikrobiellen C-Stoffwechsels am Standort selbst zu messen. Es handelt sich dabei im wesentlichen um die Bestimmung des standortspezifischen Zelluloseabbau, gemessen durch Rückbestimmung gewisser Zeit im Boden vergrabener Zellulose oder um die Messung der sog. Feldatmung, d.h. der gesamten durch Boden und Vegetation über einer Glasglocke angesammelten CO_2 -Menge.

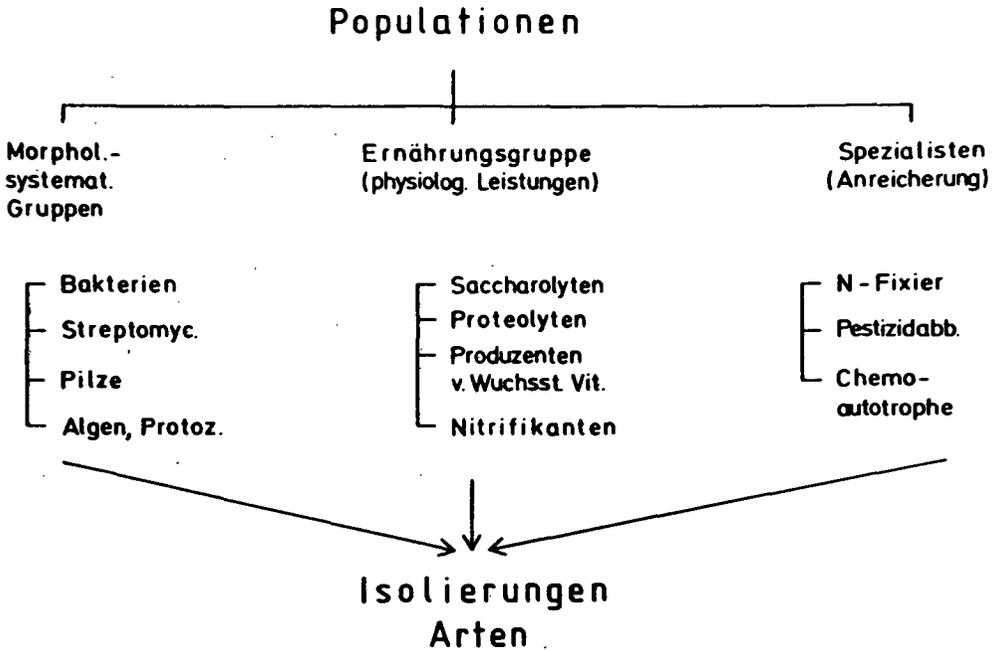
Beide Verfahren besitzen aus methodischen Gründen und wegen der Inhomogenität des Bodenlebens im Mikrostandortsbereich m.E. kaum eine Aussagekraft zur Charakterisierung des mikrobiellen Ökosystems. Meines Wissens sind, anders als bodenzoologischen Untersuchungen, mikrobiologische Messungen in Freiland in letzter Zeit auch nicht mehr durchgeführt worden.

3. Methoden zur mikrobiologischen Bodenanalyse

3.1 Populationsuntersuchungen

Bei den Populationsuntersuchungen soll die Zusammensetzung des Ökosystems aus unterschiedlichen systematischen Einheiten oder physiologischen Ernährungsgruppen erfaßt werden (Abb. 3) Eine vollständige Analyse des Artenbestandes des Bodenlebens ist bisher nur bei einzelnen größeren Bodentieren, mit Einschränkungen und verbunden mit großem Arbeitsaufwand z.T. auch noch bei den Bodenpilzen, nicht jedoch bei den Bakterien möglich. Der Grund ist die außerordentliche Vielfalt von Bakterienspezies und Subspezies im Boden, sowie die Schwierigkeit

Abbildung 3: Möglichkeiten von Populationsuntersuchungen



einer Differenzierung isolierter Kulturen nach einer Vielfalt physiologischer und biochemischer Eigenschaften.

Beim Boden liegt eben eine ganz andere Situation vor wie bei den human- und pflanzenpathogenen Bakterienarten, bei denen es nur einige hundert wohldefinierte Arten gibt, deren Eigenschaften in den Bestimmungsbüchern aufgeführt sind.

Will man Reinkulturen isolieren, deren Biologie untersucht werden soll, oder die ganz bestimmte Fähigkeit als Spezialisten haben, ist ein solches methodisches Vorgehen in Form von Anreicherungskulturen durchaus angebracht. Was aber ökologische Untersuchungen angeht, hat man zu Recht die Frage gestellt, was denn nun zur Kennzeichnung der Bodenmikroflora wichtiger ist, die Feststellung unterschiedlicher Ernährungsansprüche von Gliedern der Population und daraus abgeleiteter taxonomischer Ansprachen oder die Messung der aktuellen, im Boden selbst durch spezielle Mikrobengruppen bewirkten Stoffwechselleistung, wie etwa Teilvorgänge der C-, N- und P-Mobilisierung.

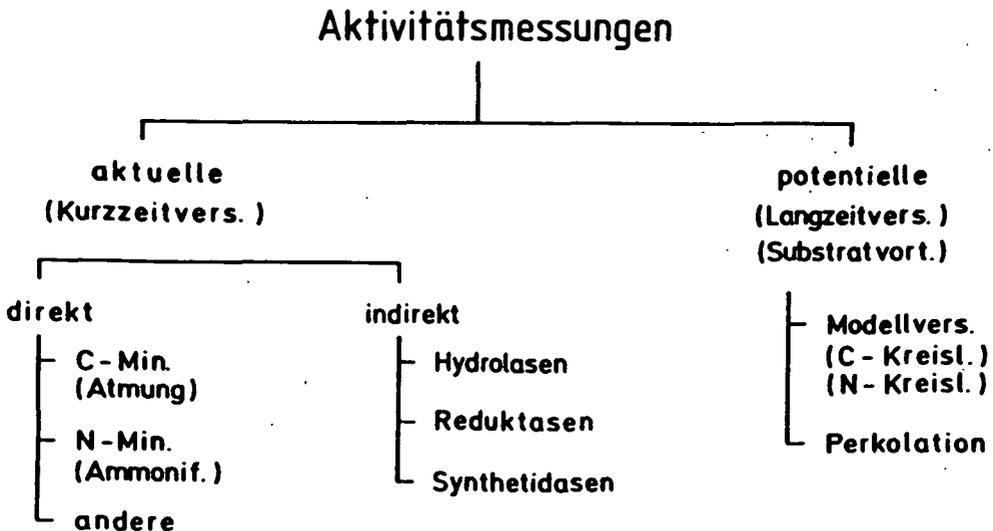
Neben solchen prinzipiellen Einwendungen darf nicht vergessen werden, daß Populationsuntersuchungen auch große methodische Schwierigkeiten mit sich bringen können. Die Erfahrungen die wir in einer Arbeitsgruppe "Methodik" der Fachgruppe Landwirtschaftliche Mikrobiologie des VDLUFA gerade auf diesem Sektor gesammelt haben, sind wenig ermutigend. Bei der 1985 durchgeführten Vergleichsuntersuchung mit 4 verschiedenen Bodenproben wurden mittels des Verdünnungsverfahrens die MPN-Werte von 6 verschiedenen physiologischen Mikrobengruppen wie z.B. N-Fixierer, NH_3 - und NO_2 -Oxidanten oder Fe-Reduzierer von verschiedenen Untersuchern ermittelt. Die an den verschiedenen Untersuchungsstellen gefundenen Werte schwankten dabei sehr stark, z.T. bis 2 Zehnerpotenzen. Die schlechten Ergebnisse dieser Vergleichsuntersuchungen sind wohl in erster Linie auf die zu wenig genaue Standardisierung der Verfahrensvorschriften zurückzuführen. Bei den Kollegen unserer Fachgruppe besteht die Meinung, daß man bei wichtigen physiologischen Bakteriengruppen im Boden solange die Aussagekraft solcher Zahlverfahren nicht prüfen kann, als ihr analytischer Nachweis größere methodische Schwierigkeiten bereitet.

Zum Glück bestehen diese Einschränkungen der Nachweisbarkeit bzw. Reproduzierbarkeit der Messwerte bei den beiden verbleibenden Gruppen von mikrobiologischen Methoden nicht oder in nur sehr geringem Umfang.

3.2 Aktivitätsmessungen

Bei den Aktivitätsmessungen (Abb. 4) bestimmt man die von den Bodenorganismen bewirkten Stoffwechselleistungen, wie sie

Abbildung 4: Möglichkeiten der Aktivitätsmessung



- a) zum Zeitpunkt der Probenahme gegeben sind, d.h. die aktuelle Aktivität und
- b) die potentielle Aktivität, d.h. das was der Boden zu leisten in der Lage ist, wenn unter optimalen Bedingungen verwertbare Substanzen, z.B. Stroh, zugesetzt wird. Außerdem ist zu unterscheiden zwischen direkt von Mikroben ausgehenden Leistungen, z.B. Bodenatmung, N-Mineralisierung, und indirekten, von zellfreien Enzymen, vorwiegend mikrobiellen Ursprungs ausgehenden Stoffwechselaktivitäten.

3.2.1 Direkte aktuelle Aktivitätsmessungen

Zu den direkten, aktuellen Lebensäußerungen der Mikroorganismen zählen besonders die bodenbürtige Atmung sowie das Mineralisierungsvermögen der bodeneigenen organischen Stickstoffverbindungen. Beide Verfahren, für die in der Literatur eine ganze Reihe von methodischen Vorschlägen gemacht wurden, sind in der Vergangenheit bei mikrobiologischen Untersuchungen besonders häufig eingesetzt worden. Sie sind der Ausdruck der von der überwiegenden Masse der ursprünglichen, d.h. zum Zeitpunkt der Probenahme, vorhandenen Bodenorganismen, durchgeführten Stoffabbauprozesse. Voraussetzung dafür, daß es sich wirklich um eine aktuelle Aktivitätsmessung handelt, d.h. während der Messung selbst, keine stärkeren Veränderungen der Mikroflora in quantitativer oder qualitativer Hinsicht eintreten, ist in jedem Falle eine Kurzzeitmessung und die Unterlassung von Substratzusatz an verwertbaren C- oder N-Verbindungen. Lediglich die Temperatur und der Wassergehalt werden für die Zeit des Meßvorganges optimal eingestellt. Unter diesen Voraussetzungen ist dann die feststellbare Atmungsrate oder die Ammonifikationsintensität, gemessen als Zuwachs an N_{min} , eine Funktion sowohl der Aktivität der vorhandenen Mikroflora wie auch des Gehaltes an verwertbaren bodeneigenen organischen Verbindungen.

Was das methodische Vorgehen betrifft, so sind etwa bei der Messung der Bodenatmung zu beachten, daß in karbonathaltigen Böden keinesfalls die CO_2 -Bildung als Maß für die Atmungsintensität heranzuziehen ist, wie ganz allgemein bei Atmungsmessungen der O_2 -Aufnahme der Vorzug zu geben ist, da hierbei abiotische Vorgänge wegfallen. Bei der Ammonifikation sollte man sich der Schwierigkeiten bewußt sein, daß es besonders in tonreichen Böden zu einer NH_4 -Fixierung kommen kann oder das gebildete Nitrat bei gestörtem C/N-Verhältnis sehr rasch in Biomasse immobilisiert werden kann.

Ein weiteres Verfahren, das Herr Alef in Bayreuth vor kurzen ausgearbeitet hat, die Desaminierung von bestimmten Aminosäuren im Kurzzeitver-

such, gehört ebenfalls in diese Gruppe der direkten, aktuellen Aktivitätsmessungen.

Nach den bisher vorliegenden Vergleichsuntersuchungen scheint dieses Verfahren ebenfalls gut geeignet die augenblickliche mikrobielle Aktivität von Böden zu kennzeichnen.

3.2.2 Indirekte aktuelle Aktivitätsbestimmungen

Über die Zweckmäßigkeit der Bestimmung von zellfreien Enzymaktivitäten als Indikatoren der biologischen Bodenaktivität ist in den letzten Jahren wiederholt diskutiert worden (BURNS, 1978). Die Ursachen mancher Uneinheitlichkeit in den Aussagen enzymatischer Untersuchungen bestehen darin, daß bei der Vielzahl vorgeschlagener Methoden vielfach in der Vergangenheit entscheidend wichtige Grundvoraussetzungen bei der Durchführung der bodenenzymatischen Analyse, wie etwa die Blockierung der Enzymneusynthese oder das optimale Enzym-Substrat-Verhältnis, nicht oder nur ungenügend beachtet wurden.

Autoren, die diese wichtigen methodischen Grundvoraussetzungen beachtet haben (es sollen stellvertretend nur ein paar Namen genannt werden: DUTZLER-FRANZ 1976, VERSTRAETE und VOETS 1977 oder auch die Mitarbeiter der Arbeitsgruppe SCHINNER in Innsbruck, 1978) berichteten über gut gesicherte Beziehungen von Enzymaktivitäten verschiedener Bodentypen zur Wurzelmassebildung, zu Klimafaktoren und Nutzungsstufen oder auch zum Ertrag. Die genannten Autoren, wie auch die meisten übrigen Untersucher, kommen daher zu dem Schluß, daß zahlreiche Enzyme gute Indikatoren des biologischen Zustandes eines Bodens darstellen.

Bei der Auswahl der für diese Zwecke am besten geeigneten Verfahren sollten u.E. solche Enzyme berücksichtigt werden, die beim Abbau des Bestandsabfalls die wichtigste Rolle spielen. Neben Proteasen sind hier Carbohydrasen zu nennen, wobei den β -Glucosidasen eine größere Bedeutung zukommen dürfte als Amylasen oder Saccharase, die α -glucosidische Bindung spalten. Wahrscheinlich sind auch Xylanasen (SCHINNER und HOFFMANN, 1978) oder Lävansucrase, die eine Polysaccharidsynthese (Schleimbildung) von Kohlenhydratmonomeren katalysieren (KISS et. al., 1975), für die Stoffumsetzungen im Boden von besonderer Bedeutung. Polyphenoloxidasen könnten ebenfalls Indikatorfunktion zukommen, da sie oxidative Kuppelungsreaktionen mit Di- und Triphenolen unter Bildung braungefärbter, Melaninartiger Huminstoff-Vorstufen durchführen.

Werden die methodischen Grundvoraussetzungen bei der Durchführung der Enzymaktivitätsmessung eingehalten, so ergibt die Enzym-

analyse durchwegs sehr gut reproduzierbare Werte. Am Beispiel der β -Glucosidase, die im Rahmen der letzten VDLUFA-Enquete von 6 Untersuchern geprüft wurde, ist dies aus den Werten in Tab.1 ersichtlich.

Tabelle 1: Reproduzierbarkeit der β -Glucosidaseaktivität, gemessen in Vergleichsuntersuchungen

Bl. 3.3 - VDLUFA/Enquete 1985 β -Glucosidase ($\mu\text{g Salig./1g TS}$) (6 bzw. 8 Untersucher)
Böden Puch

Boden Nr.	Frucht	\bar{x}	S	Sx	\bar{x}_a	\bar{x}_b
1	Schw. Br.	27.3 ⁴⁾	3.8	13.9	10.9 ⁴⁾	23.1 ⁴⁾
2	WW (Fr.f.)	86.3 ¹⁾	12.4	14.4	40.6 ¹⁾	30.6 ¹⁾
3	SW (Mono)	69.1 ³⁾	7.9	11.4	31.3 ³⁾	23.4 ³⁾
4	K (Mono)	80.7 ²⁾	8.0	9.9	36.6 ²⁾	30.0 ²⁾
Mittel 1 - 4		65.9	8.0	12.4	23.0	26.8

Daß nicht alle zellfreien Enzyme des Bodens gleichermaßen für eine Beurteilung der mikrobiologischen Bodeneigenschaften geeignet sind, zeigen z.B. die von HOFFMANN und PFITSCHER, (1982) festgestellten und auch von uns in Voruntersuchungen bestätigten nur sehr wenig gesicherten Beziehungen der Urease zu den übrigen Enzymaktivitäten bzw. Biomassewerten.

Es wird allgemein angenommen, daß die in Böden vorhandenen Enzyme sowohl mikrobieller als auch pflanzlicher Natur sind. In der Beobachtung, daß die alkalische Phosphatase, die als einziges Enzymsystem nicht von Pflanzenwurzeln, wohl aber von den meisten Bodenmikroorganismen ausgeschieden wird, mit den übrigen Hydrolasen und Reduktasen sehr gut korreliert, sehen wir einen indirekten Hinweis auf die überwiegende mikrobielle Herkunft auch der übrigen Enzyme.

3.2.3 Potentielle Aktivitätsmessungen

Völlig anders in ihrem Aussagewert für die Ansprache und Bedeutung des Bodenlebens beurteilen wir alle jene Verfahren die man als potentielle Aktivitätsuntersuchungen zusammenfaßt. Wie schon kurz ausgeführt, bemüht man sich dabei, das was der Boden unter optimalen Bedingungen nach Substratzusatz und nach längerer Bebrütung zu leisten in der Lage ist, festzustellen. Zur Charakterisierung eines gegebenen Standortes sind solche Verfahren u.E. nicht oder nur sehr wenig geeignet, weil als Folge des Angebotes, meist sogar Überangebote an leicht verwertbaren Mikrobennahrung sehr schnell eine stärkere Veränderung von Mikrobenzahlen und Aktivität während des Versuchsansatzes einsetzt, Veränderungen die keine Beziehungen zum Ausgangszustand mehr erkennen lassen. Diesen Sachverhalt konnten wir bei unserer letzten Enquete recht deutlich machen. Auf Anregung eines schweizer Kollegen, Herrn Jäggi, haben wir die Bestimmung des Celluloseabbaues, dieses mal nicht im Freiland sondern im Laborversuch getestet, mit in unser Programm aufgenommen. Dazu wurden genormte Filterpapierscheiben in einer Petri-Schale mit feuchten Böden bedeckt und nach mehrwöchiger Bebrütung der Abbau durch Zurückbestimmung der noch verbliebenen Cellulose bestimmt. Aus den Werten in Tabelle Nr. 2 ist zu entnehmen, daß sich die 4 geprüften Böden hinsichtlich der Geschwindigkeit des Celluloseabbaues deutlich und gesichert unterscheiden. Auch die Abweichungen bei den jeweiligen Untersuchern halten sich in engen Grenzen. Ein ähnliches Ergebnis erhält man, wenn man Cellulosepulver Böden zusetzt und die Mehratmung als Ausdruck des Substratabbaues mißt

Tabelle 2 Reproduzierbarkeit der Messung des Celluloseabbaues

BL 3.3 - VOLUFA/Enquete 1985 Zelluloseabbau (5 Untersucher)

Boden Nr. Frucht	Methode Jäggi (Δ mg/cm ²)			Methode Δ mg CO ₂ (München)	Biomasse mgC/100/g	μ g NO ₃ -N/1g (Ausgangsw.)
	\bar{x}	S	Sx	10 Tg		
1 Schw. Br.	2.03 ⁴⁾	0.14	6.9	25.1 ⁴⁾	14.0 ⁴⁾	10.8 ⁴⁾
2 Wf (Fr.f)	5.56 ²⁾	0.68	12.2	45.2 ²⁾	49.3 ¹⁾	25.5 ²⁾
3 SW (Mono)	4.39 ³⁾	1.31	29.8	43.0 ³⁾	38.5 ²⁾	12.8 ³⁾
4 K (Mono)	12.04 ¹⁾	1.42	11.8	58.5 ¹⁾	33.3 ³⁾	101.0 ¹⁾
Mittel	6.00	0.89	15.2			
1 + 90 μ g NO ₃ - N/1g				55.0 ¹⁾		100.8

Am Index ist erkennbar, daß die gleiche Rangfolge in der Intensität des Celluloseabbaues nach den beiden unterschiedlichen Verfahren festzustellen ist (Index ¹ bedeutet Boden mit der höchsten, Index ⁴ mit der niedrigsten Aktivität).

Wie irreführend es aber wäre, daraus auf die Stärke der Bodenbelegung zu schließen, erkennt man aus dem Vergleich zu den in der Tabelle gleichzeitig aufgeführten Biomassewerten.

Abgesehen von der Schwarzbrache stimmt die Rangfolge Biomasse und Celluloseabbau in keiner Weise mehr überein. Wenn schon nicht der Mikrobengehalt bzw. die Mikrobenaktivität Einfluß auf den Celluloseabbau nimmt, welcher Bodenfaktor dann? Es ist, wie aus der letzten Spalte der Tabelle ersichtlich, der Gehalt der Böden an verfügbarem mineralischen Stickstoff. Aus den Zahlen ergibt sich, daß die Geschwindigkeit des Celluloseabbaus geradezu eine Funktion des zufällig mehr oder weniger hohen N-min-Gehaltes im Boden ist. Setzt man dem am wenigsten belebten Schwarzbrache-Boden, Nr. der gleichzeitig auch den geringsten N-min-Gehalt hat, soviel Nitrat zu, daß er den gleichen Gehalt wie Nr. 4 hat, ist der Celluloseabbau nahezu gleich schnell wie bei diesem, mit wesentlich höherem Biomassegehalt und noch deutlicher höher als bei dem am besten belebten Boden Nr. 2, der aber geringeren Ausgangs-N-min besitzt.

Wie bereits erwähnt, stehen wir, wegen der Möglichkeit der mehr oder weniger starken Veränderungen der Mikroflora während der Zeit der Messung, solchen potentiellen Aktivitätsuntersuchungen als Parameter zur Charakterisierung des Bodenlebens recht skeptisch gegenüber. Im Gegensatz dazu sind solche Verfahren aber recht gut geeignet, die Abhängigkeit bestimmter Eigenschaften bzw. definierte Stoffumsetzungen von einer Reihe wichtiger chemischer oder physikalischen Eigenschaften aufzuzeigen. Um es noch einmal zu betonen, man bestimmt mit den potentiellen Aktivitätsmessungen das was der Boden unter optimalen Bedingungen nach Substratangebot zu leisten in der Lage ist bzw. welche Faktoren bestimmte mikrobielle Stoffumsetzungen fördern oder hemmen. Im eben erwähnten Beispiel des Celluloseabbaues, kann man etwa den Einfluß von tatsächlichen oder auch nur vermeintlichen Hemmstoffen auf die Abbauintensität prüfen. Es wird z.B. immer wieder behauptet, daß Stroh nach vorangegangener Pestizidbehandlung des Getreides langsamer verrottet. Dazu eine Untersuchung bei der unter kontrollierten Bedingungen im Bodenmodellversuch Getreidestroh aus einem Feldversuch mit 3-maliger Fungizidbehandlung und aus der unbehandelten Kontrolle bei 2 verschiedenen Böden auf seine Mineralisierungsgeschwindigkeit geprüft wurde. Wie Abb. 5 zeigt, bestand zwischen

Abbildung 5: Verlauf der Strohm mineralisierung bei 2 Böden unter Verwendung von Weizenstroh aus Fungizidversuchen (+F) und unbehandelter Kontrolle (-F) (BECK, 1986)

Strohm mineralisierung (Fungizidversuch 1980)

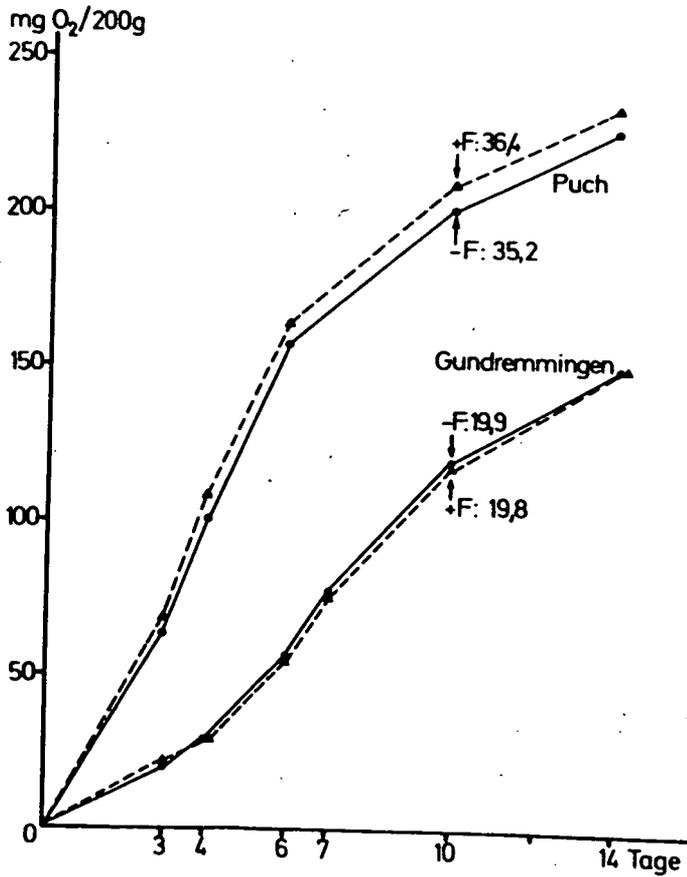


Abbildung 6: Zeitlicher Verlauf und Hemmung der Nitrifikation durch spezifische Nitritide im Bodenmodellversuch. (BECK, 1979)

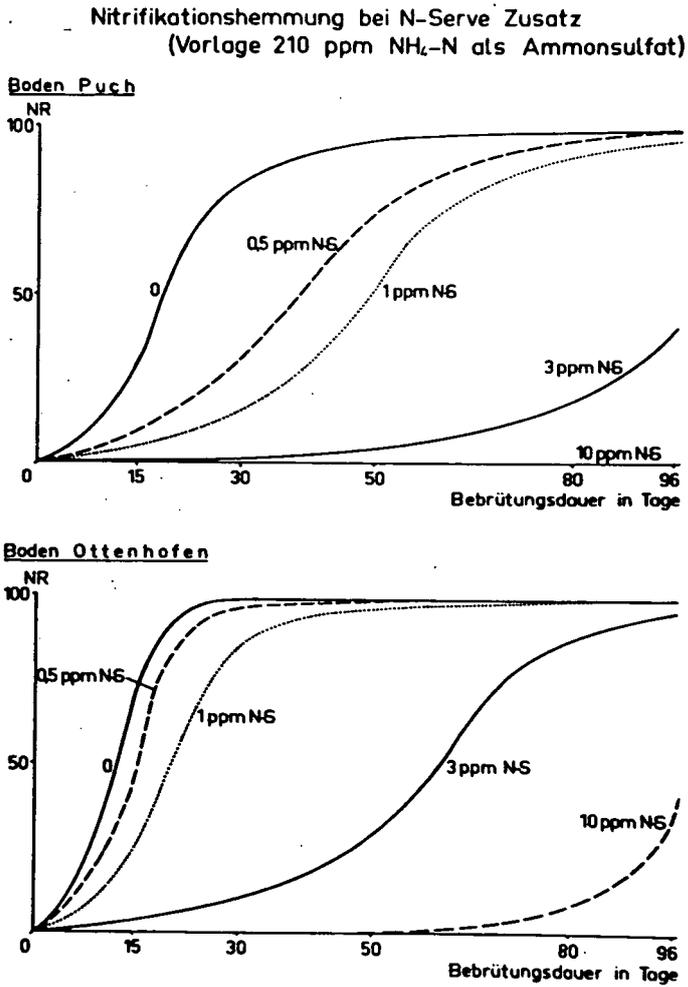
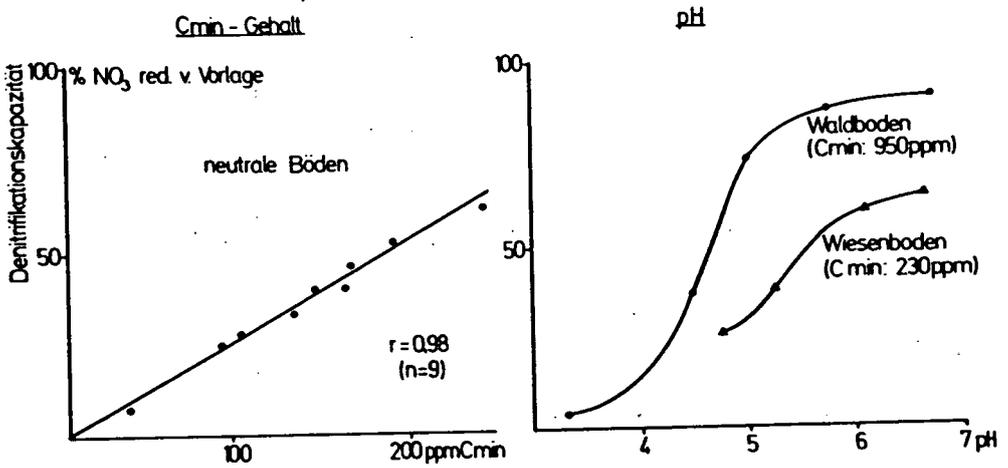


Abbildung 7: Abhängigkeit der Denitrifikation vom pH und dem Gehalt der Böden an leicht mineralisierbarem C_{min} (Bodenmodellversuch unter anaeroben Bedingungen) (BECK, unveröffentlicht).

Denitrifikationskapazität in Abhängigkeit vom
(4mg $NO_3/10g$ Boden Vorlage)



Kontrolle und Fungizidbehandlung keinerlei Unterschied. Lediglich die Abbaugeschwindigkeit war bei den 2 Versuchsböden deutlich verschieden.

Als weitere Beispiele potentieller Aktivitätsmessungen sollen 2 wichtige Teilvorgänge des N-Kreislaufes im Boden, die Nitrifikation und die Denitrifikation vorgestellt werden. In Abb. 6 ist der sigmoide Verlauf der Nitrifikation bei Vorlage von $\text{NH}_4\text{-N}$ in 2 verschiedenen Ackerböden dargestellt und die zeitliche Verzögerung bzw. Hemmung der Ammoniakoxidation bei Zusatz unterschiedlicher Mengen eines spezifischen Nitrifizides, des sog. N-Serves. Auch das Gegenstück zur Nitrifikation, die Intensität der Denitrifikation läßt sich im Modellversuch unter strikt anaeroben Bedingungen recht einfach am Verschwinden der zu Versuchsbeginn vorgelegten Mengen an $\text{NO}_3\text{-N}$ nachweisen.

Aus Abb. 7 ergibt sich etwa, daß die Reaktionen die Denitrifikationsstärke sehr stark beeinflußt und bei neutralen Böden, der Gehalt an leicht mineralisierbaren C-Verbindungen für die gasförmigen N-Verlust verantwortlich ist. Es besteht für die Denitrifikationskapazität eine nahezu lineare Beziehung zum C_{min} -Gehalt der Böden. Solche Modellversuche bieten gegenüber Freilandversuchen den unschätzbaren Vorteil, daß man mit weitgehend homogenisiertem Bodenmaterial arbeiten und eine nahezu unbegrenzte Zahl von Varianten anlegen kann. Sie werden fragen "und wie steht es mit der Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Laborversuchen auf Praxisbedingungen?" Klimaverhältnisse lassen sich u.U. auch im Laborversuch simulieren. Schwieriger ist es schon den Einfluß der Vegetationsdecke mit seinem fortwährenden Eintrag von verwertbarer Mikrobennahrung nachzuahmen. Gänzlich ungeeignet sind aber dann Modellversuche, wenn es sich etwa um den Einfluß von Fruchtfolgemaßnahmen oder veränderten Strukturverhältnissen auf mikrobiologischen Eigenschaften handelt. Hier bleibt der Feldversuch, möglichst langfristig durchgeführt, die einzige Möglichkeit, bestehende Gesetzmäßigkeiten aufzufinden.

3.3 Biomasseuntersuchungen

Als letzte Gruppe von Methoden die u.E. für eine Charakterisierung des Bodenlebens besonders gut geeignet erscheinen, sollen nun die Möglichkeiten der Messung der Biomasse behandelt werden. Abbildung 8.

Die mikrobiellen Biomassenbestimmungen informieren über die Menge aller insgesamt vorhandenen stoffwechselaktiven Mikroben unterschiedlicher, systematischer Zugehörigkeit (Bakterien, Strahlenpilze, Schimmelpilze). Die neueren Biomassebestimmungen beruhen, anders als bei früher

Abbildung 8: Möglichkeiten der Biomassebestimmung

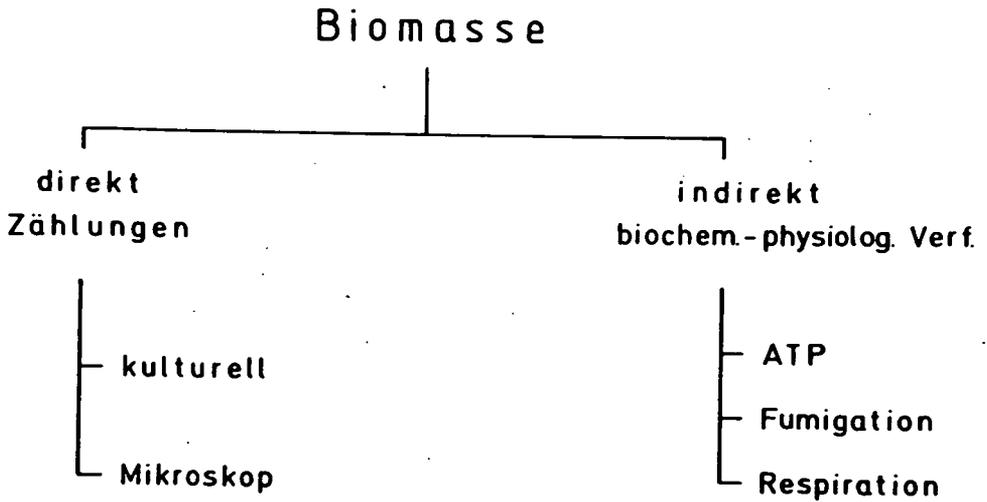


Tabelle 3: Reproduzierbarkeit der Biomassebestimmung mittels O₂- bzw. CO₂-Messungen

Bl. 3.3 - VDLUFA/Enquete 1985 Biomasse: mgC/100g TS
 Böden: Puch

Boden Nr.	Frucht	Biomasse via CO ₂ (6 Untersucher)			Biomasse via O ₂ (4 Untersucher)		
		\bar{x}	S	Sx	\bar{x}	S	Sx
1	Schw. Br.	10.4	1.18	11.3	13.5	0.72	5.3
2	MM (Fr.f.)	49.4	4.18	8.5	49.1	4.43	9.0
3	SM (Mono)	36.8	4.00	10.9	40.1	4.75	11.8
4	K (Mono)	33.1	5.55	16.8	33.5	2.55	7.6
Mittel 1 - 4		32.4	3.72	11.9	34.1	2.79	8.2

üblichen Zählungen, die nur grobe Annäherungswerte ermöglichten, entweder auf der Messung von Zellbestandteilen der Mikroben (z.B. ATP-Untersuchung) oder auf physiologischen Verfahren, die mit Reinkulturen geeicht sind. Möglichkeiten dazu bieten sowohl die Fumigationstechnik (JENKINSON und POWLSON, 1976) als auch die Respirationmethode (ANDERSON und DOMSCH, 1978a). Bei Vergleichsuntersuchungen hat sich gezeigt, daß diese drei, auf unterschiedlichen Meßprinzipien aufbauenden Verfahren, ATP, Fumigationstechnik- und Respirationstechnik nahezu identische Biomassenwerte lieferten. Da es bei unseren Arbeiten jeweils um größere Serien geht, haben wir uns für die Respirationstechnik nach Glucosesättigung der Böden in der Version der O_2 -Messung entschieden. Bei genauer Einhaltung der Meßbedingungen liefert aber auch die CO_2 -Messung über den Isemeyer'schen Atmungsversuch recht gut reproduzierbare Biomassezahlen, wie das Ergebnis der letzten VDLUFA-Enquete zeigt (Tabelle 3).

Bei den Biomassebestimmungen erhält man Werte, die besagen, daß etwa 1-5% der organischen Substanz des Bodens aus lebender, stoffwechselaktiver Biomasse besteht. Es bedeutet dies in grober Annäherung, daß Bodenorganismen entsprechend einer Menge von 20 Großvieheinheiten pro Hektar landwirtschaftlicher Nutzfläche fortwährend unter der Erde tätig sind. Man stellt dabei folgende Reihung mit steigendem Biomassegehalt in Abhängigkeit von der Vegetationsform fest: Ödland, extensive und intensive Ackerflächen, Grünland, Laubwald, entsprechend dem unterschiedlichen Gehalt der Böden an organischer Substanz. Am Gesamtbiomassegehalt hat die Faunenbiomasse einen Anteil von ca. 10%, die pilzliche Biomasse etwa von 60 %.

Der Wert solcher Messungen liegt nach allgemeiner Überzeugung in einer Quantifizierung des Nährstoff-Flusses von der unlöslichen in die pflanzenverfügbare Form, d.h. die mikrobielle Biomasse ist praktisch identisch mit dem Pool an bodeneigenen, verwertbaren Pflanzennährstoffen (ANDERSON und DOMSCH, 1978b).

Korrelation mikrobiologischer und chemischer Bodeneigenschaften

4.1 Korrelation von Aktivitätszahlen und Biomassewerten untereinander

Für die Bewertung der bei der mikrobiologischen Bodenanalysen erhaltenen Zahlen erhebt sich die Frage, welchen der bisher besprochenen Verfahren und Methoden für eine Charakterisierung des Bodenlebens der Vorzug zu geben ist.

Sieht man einmal von Populationsuntersuchungen oder den potentiellen Aktivitätsmessungen ab, deren Bedeutung auf einem anderen Sektor liegt,

Die geprüften mikrobiologischen Eigenschaften zeigten wiederum sehr enge Korrelationen untereinander ebenso wie zum C_t - und N_t -Gehalt. Bemerkenswert erschien uns bei diesem Vergleich, daß auch recht gute, wenn auch nicht ganz so enge Beziehungen zur einer gemessenen bodenphysikalischen Eigenschaft, der Aggregatstabilität erkennbar waren. (DIEZ, 1986)

Die somit als sicher geltende, sehr enge Beziehung einer Reihe bodenmikrobiologischer Eigenschaften untereinander waren die Voraussetzungen dafür, daß man aus diesen Daten einen Mittelwert, einen Index für die Intensität der Bodenbelebung ableiten kann. Aus der nächsten Darstellung ist ersichtlich, wie wir dabei vorgehen. (Abbildung 9).

Bei den für die einzelnen Eigenschaften hier noch aufgeführten Faktoren handelt es sich um Umrechnungsfaktoren die eine gemeinsame Verrechnungsbasis der absoluten in relative Analysenzahlen gleicher Wertigkeit ermöglichen. In anderen Worten: jeder Analysenzahlen muß annähernd ein gleicher Stellenwert bei Mittelbildungen zuerkannt werden.

Die Ermittlung eines bodenmikrobiologischen Index, der "Bodenmikrobiologischen Kennzahl" aus einer Reihe von Einzeleigenschaften führen wir durch, weil Mittelbildungen den tatsächlichen Verhältnissen am Standort wohl besser entsprechen als nur ein Kriterium allein. Die sehr gute Korrelation Biomasse/mittlere Enzymaktivität läßt jedoch auch den Schluß zu, daß in all den Fällen, in denen eine rasche und weniger zeitaufwendige Untersuchung angestrebt wird, für viele Böden Biomassebestimmungen allein schon geeignet sind die erwünschten Indikatoren zu liefern.

4.2 Korrelationen mikrobiologischer Eigenschaften zum Humusgehalt der Böden

Die Beobachtung, daß bei den untersuchten 33 Bodenproben prinzipiell Beziehungen zwischen dem Humusgehalt und den mikrobiologischen Bodeneigenschaften bestehen, war aus grundsätzlichen Überlegungen und nach den vielen Hinweisen aus der Literatur zu erwarten. Bemerkenswert scheint die hohe Signifikanz ($r = 0,93$) zwischen diesen Parametern bei der Vielzahl von unterschiedlichen Böden. (Abb. 10).

Trotz dieser, bei der Untersuchung einer größeren Zahl von Böden gefundenen sehr engen Beziehungen bodenmikrobiologischer Parameter zum C_{org} -Wert, läßt sich daraus nicht die Folgerung ableiten, daß generell der C_{org} -Wert mit den bodenbiologischen Eigenschaften gleichgesetzt bzw. auf die Eigenschaften geschlossen werden könnte.

Abbildung 9:

Berechnung der Bodenmikrobiologischen Kennzahl (BMK)

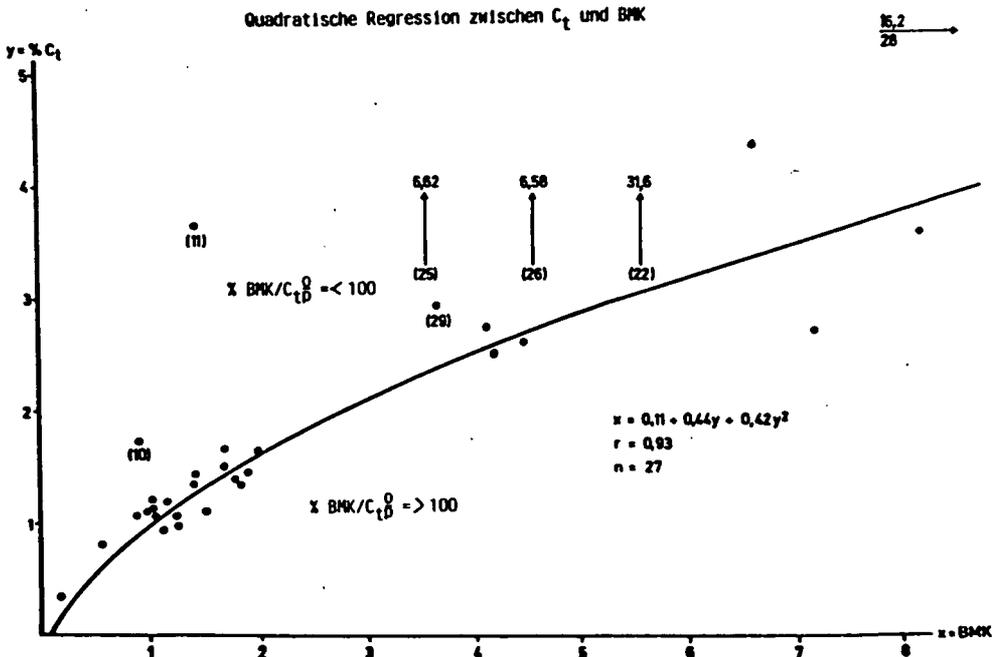
$$BMK = \frac{a) \text{ Biomasse} + b) \text{ Reduktasen} + c) \text{ Hydrolasen}}{3}$$

a) Biomasse x 0,06 (bzw. mg O₂/h/100 g Boden)

b) Reduktasen: $\frac{\text{Katalase} \times 0,2 + \text{DHG} \times 1,5}{2}$

c) Hydrolasen: $\frac{\text{Saccharase} \times 0,06 + \text{a.Phosph.} \times 0,03 + \text{Protease} \times 5}{3}$

Abbildung 10: Beziehungen zwischen dem Humusgehalt und der "Bodenmikrobiologischen Kennzahl - BMK" bei 33 verschiedenen Böden (BECK, 1984)



Beim Einzelvergleich der untersuchten Böden ergab sich z.T. charakteristische Unterschiede vom Mittel aller Böden sowohl im Verhältnis der Kennwerte bezogen auf den Gehalt an organischen Substanzen als auch Abweichungen bei bestimmten Einzeleigenschaften. So steigt etwa nach Strohdüngung die β -Glucosidase-Aktivität stärker als die Protease oder die Biomasse in solchen Böden an.

Mit allen Vorbehalten, die Messungen aus nur wenigen und mit einer immer noch recht kleinen Zahl von Proben notwendig machen, scheinen diese in Beziehung zum C_t -Wert der Böden gesetzten Zahlen Hinweise zu liefern, ob und in welcher Richtung und Geschwindigkeit sich der Humusspiegel zum Zeitpunkt der Untersuchung verändert. Falls diese Annahmen zutreffen, würde sich eine Möglichkeit ergeben, in bestimmten Böden die relative Stabilität der organischen Bodensubstanz zu bestimmen. Die vermuteten Zusammenhänge werden hier als Arbeitshypothese vorgetragen, die bei den zukünftigen Versuchsauswertungen weiter überprüft werden sollen.

4.3 Charakterisierung des Bodenlebens am Beispiel von 2 Feldversuchen

Zum Abschluß meines Beitrages zur mikrobiologischen Bodenuntersuchung möchte ich Ihnen noch zwei praktische Versuchsergebnisse vorstellen, aus denen, wie ich meine, Bedeutung und Aussagekraft von in geeigneter Auswahl eingesetzter mikrobiologischer Analysen

- a) zur Ansprache des Bodenlebens und
- b) generell zu Kennzeichnung langfristig im Boden ablaufender Stoffumsetzungen besonders gut absehbar sind.

Es handelt sich wie Tab. 5 zeigt, im ersten Fall um die Auswirkungen unterschiedlicher Vorfrüchte in Form von Hackfrucht und Leguminosen bei Winterweizen auf einzelne Parameter. Die erwartete günstige Wirkung von Rotklee als Vorfrucht ist in allen geprüften Eigenschaften eindeutig gegenüber Kartoffel erkennbar. Obwohl es sich hier nur um die Auswirkungen einer 1-jährigen unterschiedlichen Bewirtschaftungsweise eben, der Vorfrucht, handelt, sind die Kennwerte bei Leguminosen relativ einheitlich um etwa 1/4 bis 1/3 gegenüber der Hackfrucht erhöht.

Beim 2ten Versuch wurden die bodenmikrobiologischen Auswirkungen eines Langzeitversuches von Monokultur und Fruchtfolge bei Getreide und Hackfrucht auf unserem Paradeversuchsfeld in Puch bei München, einer Parabraunerde aus Löß, untersucht.

Die Tabelle 6 zeigt, daß die C_t -Werte in Krümenproben der Schwarzbrache, die über 34 Jahren keinerlei C-Eintrag hatte, sowie denen der 3 Kartoffel-

Tabelle 4: Mikrobiologische Kennwerte von Getreideböden nach unterschiedlicher Vorfrucht (BACHTHALER et al., 1985)

Geprüfte Eigenschaften	Verbesserte Dreifelderfruchtfolge nach	
	Kartoffel	R.-Klee
■. Biomasse (mgC/100g TS)	33.9	38.9
Keimzahl (x 10 ⁶ /g)	53	72
■. Enzymaktivität (2 Redukt.; 3 Hydrol.)	1.25	1.65
N-Mineralisierung (Brutvers. µg Nmin/10g)	9.1	11.1
"BMK"	1.36	1.67
Σ BMK o/p	81	84

Tabelle 5: Humus- und Biomassegehalt von Böden nach langjähriger Monokultur bzw. Fruchtfolge (BECK, 1986)

Vergleich: Monokultur - Fruchtfolge (Standort Puch, 34 Jahre)

Eigenschaften		Schw. Brache	Kartoffeln			Getreide		
			Monokultur - St.M.	Fr.folge - St.M.	Fr.folge - St.M.	Monokultur - Zw.fr.	Fr.folge - Zw.fr.	Fr.folge - Zw.fr.
C _t	abs.	0.75	1.15	1.25	1.39	1.45	1.49	1.61
	± % C _t ³⁾	-52	-21	-14	-4	0	+3	+11
Biomasse ¹⁾		10.9	23.5	33.3	40.6	48.2	51.8	61.6
Rel. Stab. org. Sub ²⁾		57	72	90	94	106	109	116

Bemerkung 1) mgC/100gTS
 2) % Biom. $\frac{O}{P}$
 3) Basis: C_t = 1.45

und Getreidevarianten von 0,75 bis 1,61 ansteigen. Geht man von der Basis Getreide-Monokultur ohne Zwischenfrucht mit einem C_t von 1,45 aus, ein Wert, der auch zu Versuchsbeginn vorgelegen haben dürfte, dann entspricht das einem Humusabbau in 34 Jahren bei der Schwarzbrache von etwa der Hälfte, bei Kartoffel-Monokultur ohne Stallmist von etwa einem Fünftel, bei Getreide in der Fruchtfolge aber einem Anstieg von ca. 10%. Gleichsinnig ist die Entwicklung der mikrobiellen Biomasse zu beurteilen, allerdings sind die Unterschiede wesentlich stärker. Böden mit Getreide in der Fruchtfolge enthalten etwa 6fach mehr mikrobielle Biomasse als Schwarzbracheböden. Entsprechend den vorher getroffenen Festlegungen über eine sehr enge Korrelation von Biomassewerten mit den Aktivitätszahlen, konnten wir bei diesem Versuch auch eine weitgehende Parallelität der Werte dieser beiden, u.E. wichtigsten Eigenschaftsgruppen zur Charakterisierung des Bodenlebens beobachten. Die Werte für die relative Stabilität der organischen Substanz, nur aus einer Momentaufnahme erhalten, zeigen eine gute Übereinstimmung zu den tatsächlichen gemessenen Humusabbauwerten. Die Zahlen weisen auf eine extrem negative Humusbilanz bei der Schwarzbrache hin. Bei den Kartoffel-Varianten bleibt die Humusbilanz auf der negativen Seite, mit deutlich steigender Tendenz über Monokultur mit Stallmist zur Fruchtfolge. Das Getreide hat in den Daueranbauvarianten eine nahezu ausgeglichene, in der Fruchtfolge eine leichte steigende Tendenz.

5. Zusammenfassung

- 1) Voraussetzung für jeden Einsatz bodenmikrobiologischer Methoden ist zunächst, die Reproduzierbarkeit der jeweiligen Verfahren zu kennen. Es werden dazu die Ergebnisse mehrjähriger Vergleichsuntersuchungen einer Arbeitsgruppe des VDLUFA vorgestellt und die methodischen Voraussetzungen für eine repräsentative Bodenprobennahme diskutiert.
- 2) Von den 3 Hauptgruppen mikrobiologischer Untersuchungen zur Charakterisierung des Bodenlebens, Populationsuntersuchungen, Biomassebestimmungen und Aktivitätsmessungen, einschließlich enzymatischer Verfahren, wird aus prinzipiellen wie aus methodischen Gründen den aktuellen Aktivitätsmessungen und Biomassewerten der Vorzug gegeben. Potentielle Aktivitätsbestimmungen nach Substratvorlage in Form von Bodenmodellversuchen sind dagegen besonders gut geeignet, die Abhängigkeit etwa der mikrobiellen N-Umsetzungen von chemisch-physikalischen Faktoren aufzuzeigen.
- 3) Für eine Charakterisierung des Bodenlebens scheint es zweckmäßig, besonders wenn es um die Auswertung von Feldversuchen geht, eine einzige Kennzahl als Index der Intensität der Bodenbelebungen anzugeben. Die in den

letzten Jahren beim Vergleich unterschiedlicher Böden von verschiedenen Arbeitsgruppen gefundenen guten Korrelationen einer Reihe von Enzymaktivitätswerten untereinander, sowie die ebenfalls sehr engen Beziehungen dieser Werte zu den Biomasseangaben, bieten dazu die notwendige Voraussetzung.

4) Die Auswertung zahlreicher Feldversuche mit längerer Laufzeit und Fragestellungen die unterschiedliche Bewirtschaftungsweisen betrafen, ließ erkennen, daß zwischen den bodenmikrobiologischen Eigenschaften und dem Gehalt bzw. der Veränderung der organischen Substanz der Böden hoch signifikante Beziehungen bestehen.

6. Literatur

- ANDERSON, J.P.E. und DOMSCH, K.H. (1978a): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. *Soil Biol. Biochem.* 10, 215-221
- ANDERSON, J.P.E. und DOMSCH, K.H. (1978b): Mineralization of bacteria and fungi in Chloroform-fumigatet soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 207-213
- BACHTHALER, H., BECK, Th., BEHRINGER, P. und BORCHERT, H. (1985): Kornertäge, Schaderregerauftreten und Bodenzustand bei einem Weizendaueranbau innerhalb einer 30 jährigen Getreiderotation. *Die Bodenkultur* 36, 213-235
- BECK, Th. (1979): Die Nitrifikation in Böden (Sammelreferat). *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 142, 344-364
- BECK, Th. (1984): Mikrobiologische und Biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden. I. Mitt. Die Ermittlung einer Bodenmikrobiologischen Kennzahl; II Mitt. Beziehungen zum Humusgehalt. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 147, 456-475
- BECK, Th. (1986): Einfluß der Landbewirtschaftung auf das Bodenleben. *VDLUFA-Schriftreihe, Congr. Bd. 1985 (in Drucklegung)*
- BURNS, R.G. (1978): *Soil Enzymes*. Acad. Press, London, New York, San Francisco
- DIEZ, Th., BORCHERT, H., BECK, Th. (1985): Bodenphysikalische, chemische und biologische Vergleichsuntersuchungen auf konventionell und alternativ bewirtschafteten Betriebsschlägen. *VDLUFA - Schriftreihe (in Drucklegung)*
- DUTZLER-FRANZ, G. (1976): Der Einfluß einiger chemischer und physikalischer Bodenmerkmale auf die Enzymaktivität verschiedener Bodentypen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 140, 329-371
- HOFMANN, J. und PFITSCHER, A. (1982): Korrelationen von Enzymaktivitäten im Boden. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 145, 36-41

JENKINSON, D.S. und POWLSON, D. S. (1976): The effects of biocidal treatments on metabolism in soils. A method for measuring soil biomass. Soil Biol. Biochem. 8, 209-213

KISS, S., DRAGAN-BULARDA, M. und RADULESCU, D. (1975): Biological significance of enzymes accumulated in soil. Adv. in Agronomy 27, 25-87

SCHINNER, F. und HOFMANN, J. (1978): Zellulase- Xylanase- und Pektinase-aktivitätsmessungen in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. Veröff. d. österreichischen MaB Hochgebirgsprogrammes Hohe Tauern Bd. 2 Univ. Verlag Wagner Innsbruck 251-258

VERSTRAETE, W. und VOETS, J.P. (1977): Soil microbial and biochemical characteristics in relation to soil management and fertility. Soil Biol. Biochem.. 9, 253-258

Anschrift : Dr.Theodor Beck

Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau

Menzinger Straße 54

D-8 München 19

Automatisierte photometrische Durchflußmethoden zur Bestimmung der Aktivität von Bodenzymen - ihre Anwendung und einige Ergebnisse

von F. H o l z

1. Einleitung

Da Aktivitätsbestimmungen von Bodenzymen ausgezeichnete Indikatoren der Stärke und Geschwindigkeit der im Boden ablaufenden Stoffumsetzungen sind, wurde von BECK (1984) zur Charakterisierung der Intensität dieser Umsetzungen in landwirtschaftlich genutzten Böden eine bodenmikrobiologische Kennzahl "BMK" eingeführt. Dieser in bestimmter Weise errechnete Quotient aus 6 Einzeleigenschaften kann als ein Index für die Intensität der mikrobiellen Umsetzungen im Boden angesehen werden. Als Einzeleigenschaften wurden außer der gesamten mikrobiellen Biomasse die Aktivitäten solcher Enzyme in die Berechnung der "BMK" einbezogen, die an grundlegenden Prozessen des Bodenlebens beteiligt sind, wie die Hydrolasen Saccharase, alk. Phosphatase und Protease sowie die Reduktasen Katalase und Dehydrogenase. Zur Bestimmung der Aktivität der aufgeführten Enzyme mit Ausnahme der Dehydrogenase sowie zusätzlich zur Ermittlung der β -Glucosidase- und der Amylaseaktivität wurden teil-automatisierte Bestimmungsmethoden entwickelt. Die Bestimmungsprinzipien der verschiedenen Methoden zur Aktivitätsbestimmung werden erläutert, die Anwendung der Methoden gezeigt und einige Ergebnisse mitgeteilt.

2. Zur Methodik der automatisierten Aktivitätsbestimmungen

Die zur Bestimmung der Enzymaktivitäten notwendigen Inkubationen werden im wesentlichen nach den Methodenvorschlägen des VDLUFA mit einigen methodischen Änderungen durchgeführt. Die Bestimmung der enzymatisch freigesetzten Substratbruchstücke erfolgt jedoch mit Hilfe automatisierter photometrischer Durchflußverfahren unter Verwendung eines Auto-Analyzers. Zur Ermittlung der Aktivität der 6 Bodenzyme Katalase, Saccharase, alk. Phosphatase, β -Glucosidase, Amylase und Protease wird naturfeuchter Boden nach Zugabe von Toluol bei Langzeitinkubationen, von Puffern bestimmter pH-Werte und von bestimmten Substraten unter Rotieren oder im Schüttelwasserbad bei 37°- 50° für 30 min. bis zu 5 Stunden inkubiert. Die notwendigen Substrate, die Inkubationszeiten und die Inkubationstemperaturen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Menge des

Nr.	Enzym	Substrat	pH-Wert der Inkubation	Inkubationstemperatur °C	Inkubationszeit h
1.	Katalase	Perborat(H ₂ O ₂)	7,0	RT	0,5
2.	Saccharase	Saccharose	5,6	37	3
3.	Alk Phosphatase	Phenylphosphat	10,0	37	5
4.	β-Glucosidase	Salicin	6,2	37	5
5.	Amylase	Stärke(nach Zulkowsky)	pH des Bodens	37	5
6.	Protease	Na-Caseinat	8,1	50	2

Tab.1: Substrate, pH-Werte der Inkubation, Inkubationstemperaturen und Inkubationszeiten zur Bestimmung der Aktivität von Bodenenzymen

restlichen, nach der Inkubation zurückbleibenden nichtzersetzten H₂O₂ bei der Bestimmung der Katalaseaktivität, bzw. die Menge der enzymatisch freigesetzten Substratbruchstücke bei den Aktivitätsbestimmungen der übrigen Bodenenzyme ist ein Maß für ihre Aktivität. Diese enzymatisch freigesetzten Substratbruchstücke, bzw. das restliche, weder enzymatisch noch nichtenzymatisch zersetzte H₂O₂ werden mittels automatisierter photometrischer Durchflußverfahren bestimmt.

Es war unser Bestreben, diese freigesetzten Substratbruchstücke bzw. das H₂O₂ in einem einheitlichen Durchflußverfahren mit nur geringen Abweichungen im Fließdiagramm und Schlauchsystem für die Aktivitätsbestimmungen der verschiedenen Enzyme automatisch zu bestimmen. Dies gelang für die Aktivitätsbestimmung der Katalase, Saccharase, alkalischen Phosphatase und β-Glucosidase durch Anwendung des Prinzips der oxydativen bzw. enzymatisch-oxydativen Kupplung.

Bestimmte heterocyclische Amine oder Hydrazine lassen sich mit tertiären aromatischen Aminen oder mit Phenolen oxydativ zu gefärbten Indaminen oder Indophenolen kuppeln. Bei den entwickelten automatisierten photometrischen Bestimmungen stellt entweder ein Substratbruchstück eine Kupplungskomponente dar, oder das zur oxydativen Kupplung notwendige Oxydationsmittel, wie hier z.B. H₂O₂ wird

bestimmt. In den Abbildungen 1 und 2 sind die Reaktionen wiedergegeben, die den oxydativen Kupplungsreaktionen zur photometrischen Bestimmung von H_2O_2 , Glucose, Phenol und Saligenin bei der Ermittlung der Katalase-, Saccharase-, alkalischen Phosphatase- und β -Glucosidaseaktivität zu Grunde liegen.

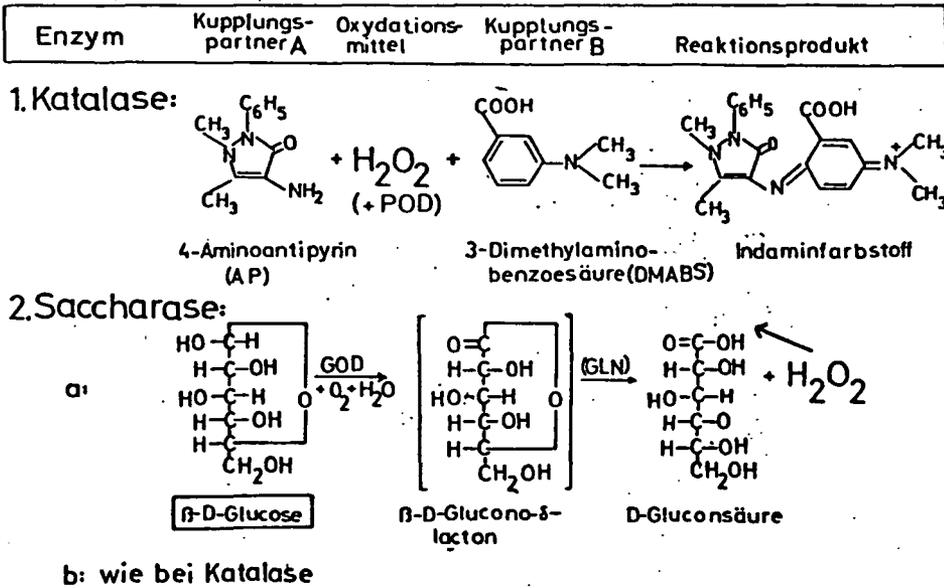


Abb. 1: Bestimmung der Katalase- und Saccharaseaktivität. Reaktionsschema der enzymatisch-oxydativen Kupplung zur Analyse von H_2O_2 und Glucose

Zur der Ermittlung der Katalaseaktivität wird das restliche, weder enzymatisch durch die Wirkung der Katalase, noch durch nichtenzymatische katalytische Reaktionen zersetzte H_2O_2 unter der katalytischen Mitwirkung von Peroxydase bestimmt. Kupplungskomponenten sind 4-Aminoantipyrin und 3-Dimethylaminobenzoessäure (HOLZ, 1980). Dieses Bestimmungsprinzip gilt auch für die photometrische Bestimmung der aus Saccharose durch die Saccharase des Bodens enzymatisch freigesetzte Glucose. Glucose wird jedoch mittels des Enzyms Glucoseoxydase über Gluconolacton in Gluconsäure und H_2O_2 umgewandelt. H_2O_2 reagiert dann analog der Festimmung der Katalaseaktivität als Oxydationsmittel bei der enzymatisch-oxydativen Kupplungsreaktion. Die enzymatische Oxydation der Glucose findet während der Bestimmung der Glucose im Durchflusssystem statt. Bei der Bestimmung der alkalischen Phosphata-

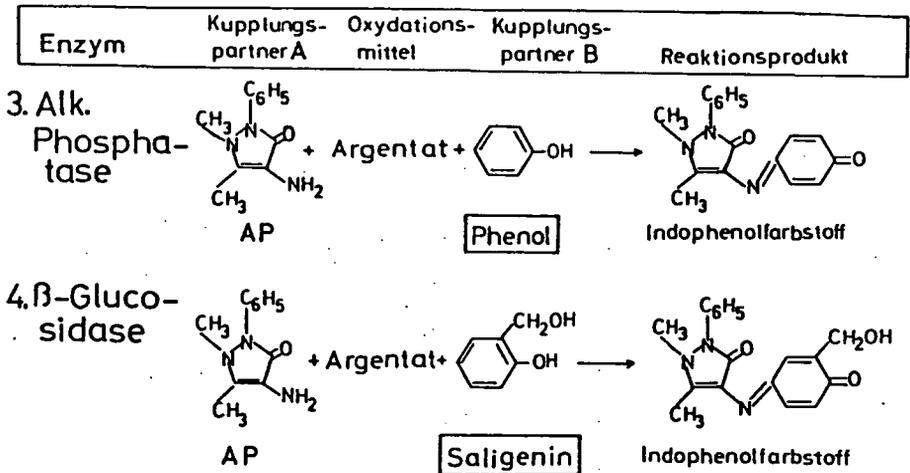


Abb. 2: Bestimmung der alkalischen Phosphatase- und β -Glucosidaseaktivität. Reaktionsschema der oxydativen Kupplung zur Analyse von Phenol und Saligenin

seaktivität bildet das enzymatisch aus Phenylphosphat freigesetzte Phenol neben 4-Amino-antipyrin die zweite Kupplungskomponente bei der Bildung eines Indophenolfarbstoffes. Das Reaktionsschema bei der Bestimmung der β -Glucosidaseaktivität entspricht dem Schema bei der Analyse von Phenol. Hier bildet das enzymatisch aus Salicin freigesetzte Saligenin die zweite Kupplungskomponente bei der oxydativen Kupplung.

Zur Ermittlung der Amylase- und Proteaseaktivität konnte das Prinzip der oxydativen Kupplung für die Bestimmung der enzymatisch aus Stärke bzw. Caseinat abgespaltenen Bruchstücke nicht angewandt werden. In Abbildung 3 sind die Prinzipien für die Bestimmung der Amylase- bzw. Proteaseaktivität wiedergegeben. Die aus Stärke durch die enzymatische Wirkung der Amylase freigesetzte Maltose bzw. Malto-Oligosaccharide reduzieren Cu-Aspartat. Die dabei gebildeten Cu-I-Ionen formen mit 2,2'-Bicinchoninat einen violett gefärbten Cu-I-2,2'-Bicinchoninsäure-Komplex, der photometrisch bestimmt wird. Zur Ermittlung der Proteaseaktivität können die enzymatisch freigesetzten NH_2 -Gruppen bestimmt werden. Es wurde hierfür, wie bereits in früheren Veröffentlichungen zur Bestimmung von enzymatischen Spaltungs-raten (HÖLZ, 1980, 1981) eine automatisierte TNBS-Methode angewandt.

Enzym	Substratbruchstück	Bestimmungsprinzip
5. Amylase	Maltose + Malto-Oligosaccharide	a: Maltose + Cu-II-Aspartat → Maltonsäure + Cu-I-Aspartat b: Cu ⁺ + 2,2'-Bicinchoninat → Cu-I-Bicinchoninsäure-Komplex (violett)
6. Protease	$\begin{array}{c} R_x \\ \\ H_2N-CH-COOH \\ \text{Aminosäuren} \\ \\ R_y \\ \\ H_2N-CH-CO- \left[\begin{array}{c} R_z \\ \\ -NH-CH-CO- \end{array} \right]_n -OH \\ \text{Peptide} \end{array}$	+ Trinitrobenzolsulfonsäure (TNBS) → TNP-Aminosäuren → TNP Peptide (gelb)

Abb. 3: Bestimmung der Amylase- und Proteaseaktivität. Reaktionsschema der Bestimmung von Maltose und NH₂-N

Trinitrobenzolsulfonsäure (TNBS) bildet mit Aminosäuren und Peptiden stark gelb gefärbte N-Trinitrophenyl-Aminosäuren bzw. Peptide, die photometrisch bestimmt werden.

Alle durchflußphotometrischen Bestimmungen laufen mit einer Probenfrequenz von 30 Analysen pro Stunde ab.

3: Ergebnisse und Diskussion

Reproduzierbarkeit und Präzision der Bestimmungen von Substratbruchstücken

Die Ergebnisse der Mehrfachbestimmung (n = 5) der Substratbruchstücke: (H₂O₂), Glucose, Phenol, Saligenin, Maltose und NH₂-N aus je 3 enzymatischen Inkubationsansätzen zur Bestimmung der entsprechenden Enzymaktivitäten sind in verkürzter Form in Tabelle 2 dargestellt. Aus räumlichen Gründen können die Schreiberdiagramme der automatisierten photometrischen Bestimmungen der Substratbruchstücke sowie die Tabellen mit den Einzelmesswerten nicht wiedergegeben werden. Die relative Standardabweichung für die automatisierte photometrische Bestimmung aller untersuchten Substratbruchstücke wurde zu durchschnittlich s% = ± 0,45 (von s% = ± 0,09 bis s% = ± 0,79) errechnet, bei insgesamt 5 x 3 x 6 = 90 Einzelbestimmungen. Diese relative Standardabweichung für die Bestimmung der Sub-

stratbruchstücke kann als ausgezeichnet angesehen werden.

Boden Nr.	Mittelwert		Rel. Stand. abw.	Mittelwert		Rel. Stand. abw.	Mittelwert		Rel. Stand. abw.
	Katalaseaktivität		s%	Saccharaseaktivität		s%	Alk. Phosphataseaktivität		s%
	mg/l H ₂ O ₂			mg/l Glucose			mg/l Phenol		
1.	143,6	--0,25		41,2	--0,72		49,7	--0,70	
2	183,0	--0,11		79,9	--0,78		18,6	--0,56	
3	238,3	--0,09		212,5	--0,40		96,3	--0,49	
	β-Glucosidaseaktivität		s%	Amylaseaktivität		s%	Proteaseaktivität		s%
	mg/l Saligenin			mg/l Maltose			mg/l NH ₂ -N		
1	14,9	--0,45		79,8	--0,36		8,5	--0,79	
2	85,2	--0,34		366	--0,59		4,6	--0,47	
3	56,0	--0,21		127,0	--0,41		22,5	--0,34	

n = 5

Tabelle 2: Reproduzierbarkeit und Präzision der automatisierten photometrischen Bestimmung von H₂O₂ und verschiedenen Substratbruchstücken aus Inkubationsansätzen

Reproduzierbarkeit und Präzision der Aktivitätsbestimmungen von Bodenenzymen

Bei mehrfacher Bodeneinwaage (n = 5) und Inkubation wurde die relative Standardabweichung der gesamten Aktivitätsbestimmung der 6 untersuchten Bodenenzyme ermittelt und errechnet. Die Ergebnisse sind auch hier in verkürzter Form in Tabelle 3 zusammengestellt.

Boden Nr.	Mittelwert		Rel. Stand. abw.	Mittelwert		Rel. Stand. abw.	Mittelwert		Rel. Stand. abw.
	Katalaseaktivität		s%	Saccharaseaktivität		s%	Alk. Phosphataseaktivität		s%
	[μg H ₂ O ₂ · g ⁻¹ · 0,5h ⁻¹]			[μg Glucose · g ⁻¹ · 3h ⁻¹]			[μg Phenol · g ⁻¹ · 5h ⁻¹]		
1	977,6	±5,9		844,2	±5,7		2053	±5,9	
2	1320,1	±4,2		1147,8	±2,2		5327	±3,0	
3	1111,1	±1,1		1879,0	±2,9		4034	±3,1	
	β-Glucosidaseaktivität		s%	Amylaseaktivität		s%	Proteaseaktivität		s%
	[μg Sal · g ⁻¹ · 5h ⁻¹]			[μg Malt · g ⁻¹ · 5h ⁻¹]			[μg NH ₂ -N · g ⁻¹ · 2h ⁻¹]		
1	150,9	±2,9		489,9	±2,0		41,2	±5,1	
2	245,9	±2,2		284,5	±10,1		137,2	±5,0	
3	414,3	±2,6		624,8	±3,9		70,3	±1,7	

n = 5

Tabelle 3: Reproduzierbarkeit und Präzision der Aktivitätsbestimmung verschiedener Bodenenzyme

Es wurden Variationskoeffizienten zwischen $s\% = +1,7$ und $s\% = +10,1$, im Mittel $s\% = +4,0$ erhalten. Die Reproduzierbarkeit liegt im üblichen Rahmen enzymatischer und agrikulturochemischer Analysen und wird unter Berücksichtigung der sehr guten Präzision der Substratanalysen vor allem durch die Inhomogenität des Untersuchungsmaterials bestimmt.

Beziehung der Enzymaktivitäten verschiedener Bodenprofile zur Probenahmetiefe

Als ein Beispiel für die Anwendung der beschriebenen Verfahren zu ihrer automatisierten Bestimmung wurden die Aktivitäten der 6 untersuchten Bodenenzyme bei einer Probenahmetiefe von 0 - 10; 10 - 20; 20 - 40 und 40 - 60 cm bzw. 0 - 30; 30 - 60 und 60 - 90 cm bestimmt. Um die erhaltenen Ergebnisse auch optisch darzustellen sind die Schreiberaufzeichnungen dieser Serie von Aktivitätsbestimmungen in den Abbildungen 4a - 4f wiedergegeben; die Ergebnisse sind in den Tabellen 4a - 4f zusammengestellt.

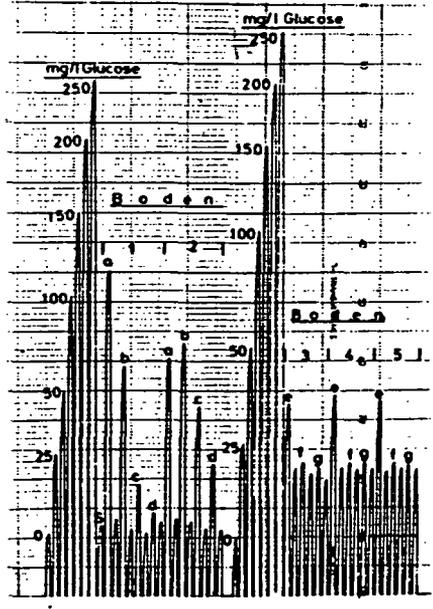
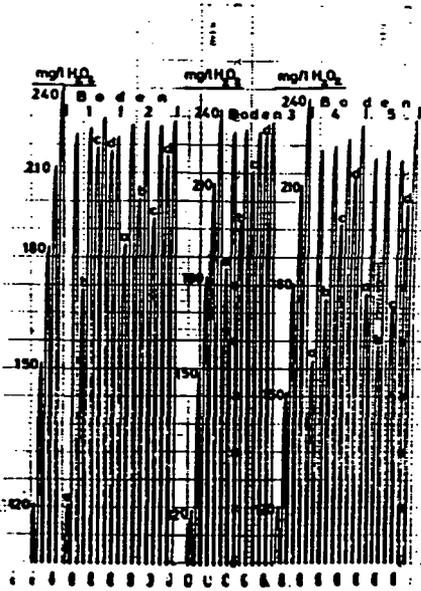


Abb.4a: Bestimmung der Katalaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

Abb.4b: Bestimmung der Saccharaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

(Erläuterung für Abbildung 4a - 4f: a = 0-10 cm; b = 10-20 cm; c = 20-40 cm; d = 40-60 cm; e bzw. a₁ = 0 - 30 cm; f bzw. b₁ = 30-60 cm; g bzw. c₁ = 60-90 cm; jeder zweite nichtbezeichnete peak = Bodenblindwert; S = Substratblindwert

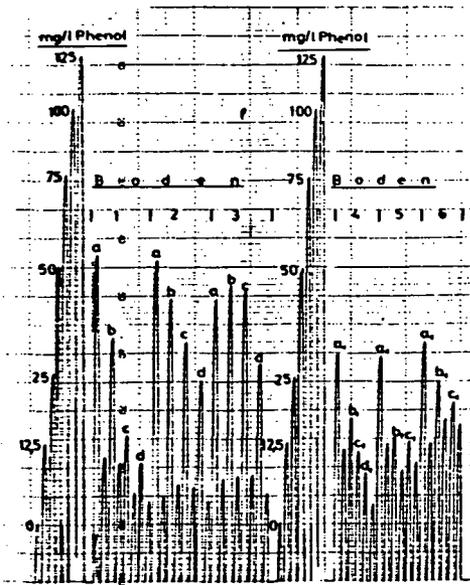


Abb.4c: Bestimmung der Alk. Phosphataseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

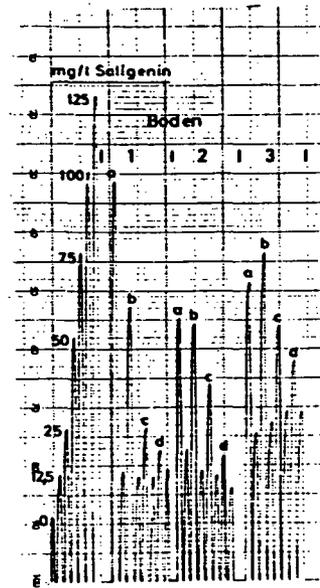


Abb. 4d: Bestimmung der β-Glucosidaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

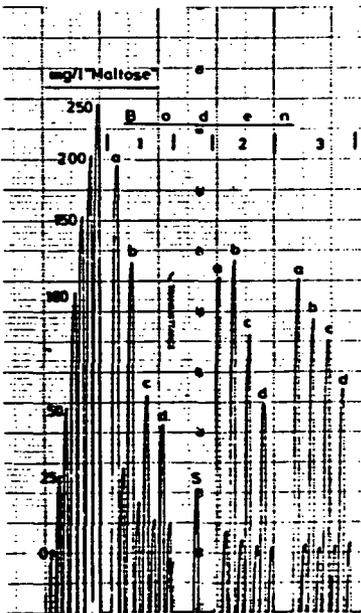


Abb.4e: Bestimmung der Amylaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

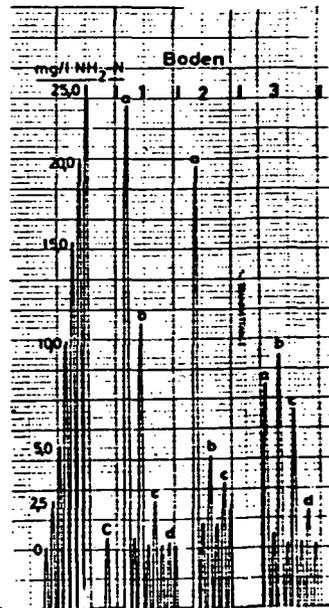


Abb. 4f: Bestimmung der Proteaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

Nr.	B o d e n	Profiltiefe cm	Trockensubstanz %	C _{org} %	Nichtenzym. Blindwert mg/l H ₂ O ₂	Probe mg/l H ₂ O ₂	Katalaseaktivität
1	Dülmen, LFH, G1	0 - 10	83,0	2,45	221,3	120,0	3072
		10 - 20	86,7	1,64	223,8	169,1	1593
		20 - 40	86,7	0,61	227,8	218,4	267
		40 - 60	87,4	0,22	220,6	215,0	161
2	Navisbeck	0 - 10	84,4	0,96	225,1	182,5	1270
		10 - 20	83,0	1,03	226,4	197,2	886
		20 - 40	82,1	0,92	224,4	190,6	1037
		40 - 60	83,5	0,48	226,4	212,8	410
3	Dülmen, LFH II	0 - 10	90,6	1,10	230,9	181,3	1374
		10 - 20	89,3	1,10	232,0	194,6	995
		20 - 40	90,2	0,62	230,9	215,8	420
		40 - 60	91,2	0,28	234,7	229,4	146
4	Dülmen, Karthaus	0 - 10	87,1	1,11	221,4	158,7	1809
		10 - 20	84,8	1,46	227,8	175,0	1418
		20 - 40	85,7	1,07	225,6	197,2	830
		40 - 60	84,9	0,67	230,0	211,0	536
5	Dülmen, LFH VIII	0 - 10	85,2	1,37	219,0	177,2	1234
		10 - 20	85,3	1,08	221,6	162,7	1736
		20 - 40	84,4	0,99	218,6	172,5	1374
		40 - 60	84,5	0,59	232,2	203,8	845

* Katalaseaktivität berechnet als: µg zersetztes H₂O₂ je g trockenen Bodens in 30 Minuten bei Raumtemperatur (Berechnungsformel unter 9.2)

Tab.4a: Bestimmung der Katalaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

Nr.	B o d e n	Profiltiefe cm	Probe mg/l Glucose	Boden- blindwert mg/l Glucose.	Saccharaseaktivität [µg Glucose · g ⁻¹ · 3h ⁻¹]
1	LFH, Grünland	0-10	116,43	3,89	1352
		10-20	63,83	0,81	715
		20-40	14,58	0,14	141
		40-60	5,85	3,02	8
2	Karthaus	0-10	68,50	3,89	725
		10-20	76,03	3,37	844
		20-40	45,25	0,98	498
		40-60	21,62	0,81	223
3	LFH, Tykiel, k	0-30	35,80	18,27	179
		30-60	20,08	17,06	10
		60-90	18,42	15,41	10
4	LFH, VI 4b	0-30	38,32	18,42	198
		30-60	19,78	18,12	n.w.
		60-90	19,93	18,42	n.w.

Saccharoseblindwert = 216 mg/Glucose

Tab.4b: Bestimmung der Saccharaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

Wie bereits von anderen Autoren berichtet, z.B. von HOFFMANN und ELIAS-AZAR (1965) für Saccharase, β-Glucosidase, Urease, alkalische Phosphatase und saure Phosphatase oder von DUTZLER-FRANZ (1977) für Protease, Amylase, β-Glucosidase, Katalase, Dehydrogenase und Urease ist eine deutliche Abnahme der Enzymaktivitäten mit zunehmender

Nr.	B o d e n	Profil- tiefe cm	Probe mg/l Phenol	Boden- blindwert mg/l Phenol	Alkalische Phosphataseaktivität [$\mu\text{g Phenol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
1	LFH Dülmen, Grünland	0-10	51,62	10,32	488
		10-20	32,59	9,47	255
		20-40	13,88	4,59	90
		40-60	9,47	3,28	55
2	Karthaus	0-10	50,11	4,03	519
		10-20	41,06	5,80	405
		20-40	31,52	5,24	294
		40-60	23,97	3,37	229
3	Dülmen, LFH VIII	0-10	41,06	6,64	393
		10-20	43,92	7,20	420
		20-40	42,82	7,49	408
		40-60	27,26	4,59	255
4	Dülmen, LFH Gb1c	0-30	30,06	11,89	195
		30-60	17,31	11,59	49
		60-90	7,86	2,69	42
5	Dülmen, LFH Gb 4b	0-30	29,49	12,88	169
		30-60	13,98	8,35	45
		60-90	12,98	9,72	20
6	Dülmen, LFH Gb 8a	0-30	32,29	13,08	197
		30-60	24,68	17,21	66
		60-90	20,30	16,19	30

Substratblindwerte = 1,44 mg/l "Phenol"

Tab. 4c: Bestimmung der Alkalischen Phosphataseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

Nr.	B o d e n	Profil- tiefe cm	Probe mg/l Sal.	Boden- blindwert mg/l Sal.	β -Glucosidase- aktivität [$\mu\text{g Sal} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
1	Dülmen, LFH Grünland	0-10	96,84	12,50	518
		10-20	59,49	11,02	281
		20-40	24,90	11,02	74
		40-60	18,56	13,32	24
2	Dülmen, LFH II	0-10	56,17	18,88	203
		10-20	54,52	12,83	231
		20-40	37,22	11,68	137
		40-60	17,09	7,88	45
3	Dülmen, LFH III	0-10	66,19	23,44	252
		10-20	74,72	26,36	290
		20-40	54,02	29,60	144
		40-60	44,20	29,44	83

Salicinblindwert: 1,23 mg/l Saligenin.

Tab. 4d: Bestimmung der β -Glucosidaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

der Probenahmetiefe bei allen untersuchten Bodenprofilen festzustellen. In der Regel liegen die Maximalwerte der Enzymaktivitäten in der untersuchten Bodenschicht 0 - 10 cm, gelegentlich jedoch auch zwischen 10 - 20 cm und fallen dann in jedem Fall stark ab. In allen untersuchten tiefsten Bodenschichten von 40 - 60 cm bzw. 60 - 90 cm konnte, von wenigen Ausnahmen abgesehen, bei allen 6 Enzymen noch

Nr	B o d e n	Profiltiefe cm	Probe mg/l "Maltose"	Boden- blindwert mg/l "Maltose"	Amylaseaktivität [$\mu\text{g "Maltose"} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 5\text{h}^{-1}$]
1	Dülmen, LFH Grünland	0-10	190,12	27,28	893
		10-20	118,70	15,70	497
		20-40	54,13	9,69	144
		40-60	42,83	8,24	88
2	Karthaus	0-10	109,81	6,06	496
		10-20	120,01	3,13	594
		20-40	80,06	1,40	355
		40-60	51,09	0,42	189
3	Dülmen, LFH VIII	0-10	108,57	1,65	528
		10-20	87,65	0,66	407
		20-40	77,74	1,40	347
		40-60	56,66	2,39	212

Stärkeblindwert: 19,54 mg/l "Maltose"

Tab. 4e: Bestimmung der Amylaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

Nr.	B o d e n	Profiltiefe cm	Probe mg/l $\text{NH}_2\text{-N}$	Boden- blindwert mg/l $\text{NH}_2\text{-N}$	Proteaseaktivität [$\mu\text{g NH}_2\text{-N} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 2\text{h}^{-1}$]
1	Dülmen, LFH Grünland	0-10	23,53	0,57	263
		10-20	10,88	0,24	119
		20-40	2,35	0,17	19
		40-60	0,33	0,11	nvw
2	Dülmen, Gb 8a	0-30	19,58	1,21	100
		30-60	4,51	1,15	16
		60-90	3,26	2,17	3
3	Dülmen, LFH II	0-10	7,93	0,64	38
		10-20	9,29	0,17	49
		20-40	6,67	0,20	34
		40-60	1,88	0,14	7

Caseinblindwert: 0,51 mg/l $\text{NH}_2\text{-N}$

Tab. 4f: Bestimmung der Proteaseaktivität verschiedener Bodenprofile bei tiefengestaffelter Probenahme

immer eine geringe Enzymaktivität nachgewiesen und bestimmt werden. Im Vergleich zu Ackerböden sehr hohe Enzymaktivitäten konnten bei 5 der 6 untersuchten Enzyme bei dem untersuchten Grünlandboden ermittelt werden. Nur die alkalische Phosphataseaktivität übertraf nicht die der untersuchten Ackerböden.

Korrelation der ermittelten Enzymaktivitäten zum Gehalt an organischer Substanz

Von allen Bestandteilen des Bodens hat neben dem pH-Wert die organische Substanz den größten Einfluß auf das Bodenleben. Die Aktivität

der Bodenenzyme sollte deshalb eine eindeutig positive Korrelation zum Gehalt an organischem Kohlenstoff bzw. organischer Substanz der Böden aufweisen. Der Gehalt verschiedener Bodenkrumen (0 - 10 cm bzw. 0 - 30 cm; Stichprobenumfang: n = 7 - 10) sowie mehrerer Bodenprofile (n = 3 - 5; 3 - 4 Schichten je Profil) an organischem Kohlenstoff C_{org} wurde mit Hilfe einer abgewandelten Methode nach SPRINGER und KLEE (1955) bestimmt und die Korrelation gegen die ermittelten Enzymaktivitäten errechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Enzym	Krume verschiedener Böden (0-10 bzw. 0-30cm) ^a		Bodenprofile (tiefen- gestaffelte Probenahme) ^b		
	r	n	r	n	x/y
Katalase	+	+	0,91 ^{***}	20	5/4
Saccharase	0,75 ^{**}	10	0,66 ^{**}	17	2/4+ 3/3
Alk. Phosphatase	0,39	8	0,68 ^{**}	12	3/4
β-Glucosidase	0,51	8	0,97 ^{***}	12	3/4
Amylase	0,91 ^{***}	7	0,97 ^{***}	12	3/4
Protease	0,79 ^{**}	10	0,92 ^{***}	11	2/4+ 1/3

Tab. 5: Korrelation von Enzymaktivitäten gegen den Gehalt an C_{org} .
(r = Korrelationskoeffizient; n = Anzahl der untersuchten Proben;
x/y = Anzahl der untersuchten Bodenprofile/Schichten je Profil;
a = 0,96 - 2,45% C_{org} ; b = 0,22 - 2,45% C_{org})

Die Verrechnung führte für die 6 untersuchten Enzymaktivitäten und für die Krumböden zu einer positiven Korrelation mit Korrelationskoeffizienten zwischen r = 0,39 und r = 0,91, wobei die Korrelation der alkalischen Phosphatase und der β-Glucosidase gegen den Kohlenstoffgehalt sich nicht als signifikant erwies. Dagegen wurden hochsignifikante Korrelationen für die Enzymaktivitäten aller Schichten der untersuchten Bodenprofile gegen den Kohlenstoffgehalt (C_{org} = 0,22 - 2,45%) ermittelt, mit Korrelationskoeffizienten zwischen r = 0,66 und r = 0,97 bei einem Stichprobenumfang von nur n = 12 bis n = 20. Auch aus den Ergebnissen der Untersuchungen von HOFMANN und

PFITSCHER (1982) ergaben sich hochsignifikante Korrelationen der Amylase-, Katalase- und Saccharaseaktivität gegen den Kohlenstoffgehalt mit Korrelationskoeffizienten zwischen $r = 0,83$ bis $r = 0,96$ bei einem Stichprobenumfang von $n = 68$. Bereits von DUTZLER-FRANZ (1977) wurden die Beziehungen zwischen Enzymaktivitäten und Gehalt an organischer Substanz untersucht. Wurden alle untersuchten Böden in die Verrechnung einbezogen, so konnte keine statistisch gesicherte Beziehung zwischen dem Gehalt an organischer Substanz und den Enzymaktivitäten festgestellt werden, da auch die Bodenreaktion einen starken Einfluß auf die Enzymgehalte der Böden ausübte. Wurden jedoch die Enzymaktivitäten der sauren und neutralen Böden getrennt mit dem Gehalt an organischer Substanz in Beziehung gebracht, so ergaben sich hochsignifikante, positive Korrelationen. In neutralen Böden zeigte die Saccharaseaktivität keine Korrelation mit dem Humusgehalt der Böden, während die Dehydrogenase-, Katalase-, Amylase-, alkalische Phosphatase- und β -Glucosidaseaktivität eine hochsignifikante Korrelation aufwiesen, mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,88$ bis $r = 0,96$ bei $n = 9 - 13$.

Korrelationen der untersuchten Enzymaktivitäten

Die Korrelationen der nach den Beschriebenen Verfahren ermittelten Enzymaktivitäten gleicher Bodenprofile gegeneinander wurden errechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Wie die Er-

	Katalase	Saccharase	Alk. Phosphatase	β -Glucosidase	Amylase	Protease
Katalase	-	n=8 2/4	n=12 3/4	n=12 3/4	n=12 3/4	n=8 2/4
Saccharase	0,97***	-	n=17 2/4+3/3	n=8 2/4	n=8 2/4	n=7 1/4+1/3
Alk. Phosphatase	0,83***	0,91***	-	n=8 2/4	n=12 3/4	n=7 1/4+1/3
β -Glucosidase	0,94***	0,98***	0,76*	-	n=8 2/4	n=8 2/4
Amylase	0,96***	0,99***	0,81**	0,98***	-	n=4 1/4
Protease	0,37	0,96***	0,97***	0,96***	0,99***	-

Tab. 6: Korrelationskoeffizienten der untersuchten Enzymaktivitäten. n = Anzahl der untersuchten Proben; x/y = Zahl der in die Verrechnung einbezogenen Profile/Schichten je Profil

gebnisse der Tabelle 6 verdeutlichen, ergeben sich zwischen den 6 untersuchten Enzymaktivitäten der Bodenprofile (n = 4 - 17; 1 - 5 Bodenprofile mit je 3 - 4 Schichten) hochsignifikante Korrelationen

mit Korrelationskoeffizienten zwischen $r = 0,76$ (β -Glucosidase/alk. Phosphatase) und $r = 0,99$ (Amylase/Saccharase und Amylase/Protease). Nur die Korrelation Protease/Katalase mit $r = 0,37$ war nicht gesichert. Bereits BECK (1984) hatte bei der Ausarbeitung der Methodik zur Ermittlung einer Bodenmikrobiologischen Kennzahl bei 33 untersuchten Böden (0 - 5 cm) für die Enzyme Katalase, Dehydrogenase, Saccharase, alk. Phosphatase, Protease und die mikrobielle Biomasse hochsignifikante Korrelationen ermittelt, mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,77$ bis $r = 0,98$. Diese hohe Korrelation ist eine der Voraussetzungen für die Ermittlung einer Bodenmikrobiologischen Kennzahl. Auch HOFMANN und PFITSCHER (1982) erhielten hochsignifikante positive Korrelationen für die Aktivitäten der Amylase, Katalase und Saccharase (neben anderen Enzymen und Bodenparametern) mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,85$ bis $r = 0,94$ bei 68 untersuchten alpinen und subalpinen Böden.

4. Zusammenfassung - Summary

Zur Ermittlung der Aktivität von Bodenzymen werden teilautomatisierte Methoden beschrieben. Zur Bestimmung der bei der Erfassung der Saccharase-, alk. Phosphatase- und β -Glucosidaseaktivität enzymatisch freigesetzten Substratbruchstücke: Glucose, Phenol und Saligenin sowie zur Bestimmung des restlichen H_2O_2 bei der Ermittlung der Katalaseaktivität wird das Prinzip der oxydativen Kupplung angewandt. Auch zur Bestimmung der Amylase- und Proteaseaktivität wurden photometrische Verfahren entwickelt, um die enzymatisch freigesetzten Bruchstücke analytisch zu erfassen. Alle Bestimmungen laufen im Durchfluß ab, mit einer Probenfrequenz von 30 - 40 Analysen pro Stunde. Die Bestimmungsprinzipien werden kurz erläutert.

1. Die relative Standardabweichung der automatisierten photometrischen Bestimmung aller 6 Substratbruchstücke bzw. von H_2O_2 beläuft sich auf durchschnittlich $s\% = \pm 0,45$ bei $n = 5$.
2. Eine Berechnung der relativen Standardabweichung der gesamten Aktivitätsbestimmung unter Einschluß einer mehrfachen Bodeneinwaage und Inkubation ergab für die 6 untersuchten Enzyme einen Durchschnittswert von $s\% = 4,0$ (Bereich: $\pm 1,7 - 10,1$) bei $n = 5$.
3. Mit zunehmender Profiltiefe nimmt die Katalase-, Saccharase-, alk. Phosphatase-, β -Glucosidase-, Amylase- und Proteaseaktivität stark ab. Die Maxima der Enzymaktivitäten liegen in der Regel in der obersten Bodenschicht zwischen 0 - 10 cm; gelegentlich zwischen 10 - 20 cm.

4. Von einigen Ausnahmen abgesehen korrelieren die Aktivitäten der 6 untersuchten Bodenzymen hochsignifikant positiv mit dem Gehalt an organischen Kohlenstoff mit hohen Korrelationskoeffizienten trotz nur geringer Probenanzahl von 7 bis maximal 20.
5. Die Beziehungen der Enzymaktivitäten untereinander sind sehr eng. Mit einer Ausnahme korrelieren die 6 untersuchten Enzymaktivitäten der Bodenprofile bei einem nur sehr geringen Stichprobenumfang von 4 bis maximal 17 meist sogar hochsignifikant mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,95$.

Automated Photometric Continuous Flow Methods for the Determination of the Activity of Soil Enzymes - its Application and some Results

Partial automated methods for the determination of the activity of soil enzymes are communicated. For analysing the fragments of substrates, liberated enzymatically for the purpose of determination the activity of saccharase, alk. phosphatase and β -glucosidase, and for measurement the residual H_2O_2 in analysing the activity of catalase, the principle of oxydative coupling is used. For determining the activity of amylase and protease in soils photometric automated methods were developed likewise. All methods are running in a continuous flow way with a frequency of 30 - 40 analyses per hour. The principles of the methods are explained in a short way.

1. The relative standard derivation of the automated photometric determination of all fragments of the substrates or of H_2O_2 respectively was estimated at $s\% = \pm 0,45$ on average ($n = 5$).
2. The relative standard derivation of the total determination of the activities of the 6 enzymes investigated including multiple weighting and incubation was calculated as $s\% = \pm 4,0$ ($n = 5$).
3. With increasing depth of sampling the activities of catalase, saccharase, alk. phosphatase, β -glucosidase, amylase and protease decrease considerably. The maxima of activity were found usually in the upper layer of soil at 0 - 10 cm; sometimes at 10 - 20 cm.
4. With some exceptions there is a good correlation of the activities of the 6 investigated soil enzymes with the content of organic carbon, with high coefficients of correlation despite of a small number of samples from 7 to maximal 20.
5. With one exception a high significant correlation of the 6 investigated enzymes with each other was calculated with coefficients $r = 0,95$ despite a small number of samples from 4 to maximal 17.

5. Literatur

- BECK, Th. (1984): Mikrobiologische und biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden. I. Mitteilung: Die Ermittlung einer Bodenmikrobiologischen Kennzahl. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 147, 456-466
- DUTZLER-FRANZ, G. (1977): Der Einfluß einiger chemischer und physikalischer Bodenmerkmale auf die Enzymaktivität verschiedener Bodentypen. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 140, 329-350
- HOFFMANN, Gg., ELIAS-AZAR, K. (1965): Verschiedene Faktoren der Bodenfruchtbarkeit nordiranischer Böden und ihre Beziehungen zur Aktivität hydrolytischer Enzyme. Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenk. 108, 199-217
- HOFMANN, J., PFITSCHER, A. (1982): Korrelationen von Enzymaktivitäten im Boden. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 145, 36-41
- HOLZ, F. (1980): Automatisierte, enzymatisch-photometrische Lysinbestimmung und ihre Anwendung als Screeningmethode in Züchtungsprogrammen. Landwirtsch. Forsch. 33, 272-289
- HOLZ, F. (1981): Untersuchungen zur enzymatischen Freisetzung von Lysin, Methionin, Cyst(e)in und Tryptophan aus Casein und Getreideproteinen und deren photometrische Direktbestimmung. Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde. 46, 72-89
- SPRINGER, U., KLEE, J. (1955): Feststellung der optimalen Reaktionsverhältnisse beim reduktometrischen Chromschwefelsäureverfahren zur Schnellbestimmung von Kohlenstoff und Vorschlag einer verbesserten Arbeitsweise. Z. Pflanzenernähr., Düng. Bodenk. 71, 193-208

Anschrift: Dr. Friedhelm Holz
Landwirtschaftliche Forschung Hanninghof
der Ruhr-Stickstoff AG, Bochum
Hanninghof 35
D-4408 Dülmen

Der Einsatz enzymatischer Methoden am Beispiel eines Stroh-
und Klärschlammdüngungsversuchen

von E. K a n d e l e r

1. Einleitung

Das Interesse an bodenenzymatischen Untersuchungen hat in den letzten Jahren sehr stark zugenommen. Besonders untersucht wurde unter anderem die Frage, wie weit sich das Bodenleben durch verschiedene Bewirtschaftungsweisen ändert. In vielen Fällen wurden Modellversuche im Labor durchgeführt, bei denen unter streng definierten Bedingungen z.B. bestimmte Konzentrationen an Schwermetallen oder an organischer Substanz (in Form von Glucose, Saccharose und Stroh) dem Boden zugefügt werden. Man hat auf diese Weise bereits einen guten Überblick über die hemmende Wirkung von Schwermetallen auf verschiedene Bodenenzyme erhalten, wenn diese Schwermetalle in leichtlöslicher Form dem Boden zugesetzt wurden (TYLER 1981, TABATABAI 1977, AL-KHAFAJI und TABATABAI 1979), ebenso kennt man die Wirkung von leichtabbaubaren organischen Verbindungen (LADD und PAUL 1973). Die Bedeutung dieser Ergebnisse für die Landwirtschaft kann jedoch nur dann voll beurteilt werden, wenn sie unter Freilandbedingungen überprüft werden.

Im Freiland muß man mit Schwankungen der Temperatur-, der Wasser- und teilweise auch der Nährstoffverhältnisse rechnen. Diese physikalischen und chemischen Veränderungen bedingen eine Veränderung der Populationsdynamik von Mikroorganismen und der von diesen erbrachten biochemischen Umsetzungsleistungen (STADELMANN 1982). Es ist nun die Frage, ob sich Veränderungen oder gar Störungen der bodenbiologischen Aktivität und bodenbiologischen Prozesse durch verschiedene Bewirtschaftungsweise trotz dieser natürlichen Schwankungsbreite erkennen lassen. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von Stroh und Klärschlamm, sowohl einzeln als auch gemeinsam verabreicht, auf bodenbiologische Aktivitäten in einem Feldversuch zu überprüfen.

2. Material und Methodik

2.1 Standort und Boden

Zur Bestimmung bodenbiologischer Kenngrößen stand ein Feldversuch zur Prüfung des Einflusses von Stroh und Klärschlamm in Groß Enzersdorf/Marchfeld zur Verfügung. Der Versuch wurde 1978 auf einem Tschernosem auf kalkhaltigem Feinsediment angelegt. Bodenart (0 - 25 cm): sandig schluffiger Lehm (Ton 18,5 %, Schluff 46,6 %, Sand 34,8 %, pH 7,5, Humus 1,9 %, Kalk 22,8 %).

2.2 Versuchsplan und Düngungsverfahren

Das Versuchsfeld hat ein Ausmaß von 100 m x 135 m und ist in 11 Parzellen mit einer Breite von 8 m unterteilt. Die einzelnen Parzellen sind durch einen 0,4 m breiten Streifen voneinander getrennt. Im einzelnen wurden folgende Behandlungen angelegt:

1. Mineraldüngung (NPK)
2. Kontrolle (PK, ohne N-Düngung) (-N)
3. Strohdüngung (St)
4. Bewässerte Strohdüngung (St + W)
5. Stroh- und Klärschlammdüngung (St + KS)
6. Klärschlammdüngung (KS)

Um Bodeninhomogenitäten teilweise auszugleichen, wurde zwischen den einzelnen Düngungsvarianten Parzellen mit mineralischer Düngung als Standard angelegt. 1984 wurde Winterweizen (Sorte "Perlo"), 1985 Durum-Weizen (Sorte "Grandur") und 1986 Mais (Sorte "Mirna") angebaut. Die Höhe der Düngergaben sind aus Tab. 1 zu entnehmen.

Tab. 1: Höhe der Düngergaben für die einzelnen Versuchsparzellen

*Der Handelsdünger wurde in kg/ha/Jahr in Reinnährstoffen angegeben. N wurde als Nitramoncal (28%N), $P_2O_5:K_2O=1:2$ als Fruchtfolgedüngung gegeben.

	Stroh	KS	H ₂ O	N*	K ₂ O*	P ₂ O ₅ *
	kg/ha	m ³	m ³	1984/1985/1986		
NPK	-	-	-	125/125/170	72	36
-N	-	-	-	-	72	36
St	5000	-	-	125/125/170	72	36
St+W	5000	-	150	125/125/170	72	36
St+KS	5000	150	-	-	72	36
KS	-	150	-	-	72	36

2.3. Probenahme und Vorbereitung der Böden

Die Entnahme der Bodenproben erfolgte am 16.8.1984, 17.8.1984, 20.8.1984, 25.4.1985, 24.10.1985, 2.4.1986 und 17.4.1986. Pro Parzelle wurde mit einem Bodenbohrer (Einstichtiefe 20 cm) ca. 60 Einstiche entnommen, zu einer Mischprobe vereinigt, gekühlt transportiert und bis zur Analyse in naturfeuchtem Zustand bei 4 ° C im Kühlhaus gelagert. Für die Ureasebestimmung wurde ein Teil der Mischprobe luftgetrocknet und anschließend auf 2 mm gesiebt. Für die übrigen enzymatischen Untersuchungen (alkalische Phosphatase, Phosphatase bei bodeneigenen pH-Wert, Protease, Xylanase und β -Glucosidase) und für die Bestimmung der Biomasse wurden die Böden in naturfeuchtem Zustand durch ein Sieb mit der Maschenweite 2 mm gerieben. Jede Bodenprobe wurde mit 3 Wiederholungen analysiert. Die Ergebnisse stellen Mittelwerte der 3 einzelnen Analysen einer Bodenprobe dar.

2.4. Bodenbiologische Untersuchungen

Protease: nach LADD und BUTLER (1972)

alkalische Phosphatase: nach HOFFMANN (1968)

Phosphatase bei bodeneigenem pH-Wert: nach HOFFMANN (1968)
modifiziert. Bei dieser Methode wurde anstelle
des Boratpuffers (pH=10,0) entionisiertes Wasser
verwendet.

β -Glucosidase: nach HOFFMANN und DEDEKEN (1965)

Urease: nach KANDELER und GERBER (1986)

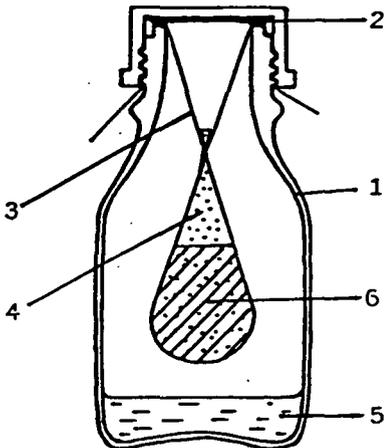
Xylanase: nach SCHINNER (1982)

N-Mineralisation: nach BECK (1983)

Biomasse: nach ISERMAYER (1952) und JÄGGI (1976)

Die Methode wurde im folgenden Punkt modifiziert:
Anstelle der Reagenzröhrchen zur Aufnahme der
Bodenproben wurden Säckchen aus Monolen Polyester-
gewebe Nr. 120 d (Bezugsquelle: Firma Sergraphia,
1160 Wien, Wurlitzergasse 49) verwendet. Zur Her-
stellung dieser Säckchen wurden kreisförmige Stücke
Polyestergewebe (Durchmesser 15 cm) ausgeschnitten
und am Rand mit einem Nylonfaden durchzogen. Die
mit 20 g Boden gefüllten Säckchen werden in 250 ml
Standflaschen (SCHOTT) gehängt und mit einem
Schraubverschluß gut verschlossen (Abb.1)

Abb.1: Schnitt durch ein Reaktionsgefäß zur Bestimmung
der CO_2 -Bildung in Bodenproben



- 1..Schott-Flasche
- 2..Kunststoffdichtung
- 3..Nylonfaden
- 4..Säckchen aus Polyester-
gewebe
- 5..Natronlauge
- 6..Boden

Angabe der Ergebnisse:

Falls nicht anders angegeben, wurden die Daten als %-Abweichung vom Mittel aus den beiden angrenzenden Standardparzellen (mineralische Düngung) berechnet.

3. Ergebnisse:

Es zeigte sich, daß alle untersuchten Parameter (Biomasse, Protease, Urease, alkalische Phosphatase, Phosphatase bei bodeneigenem pH-Wert, Xylanase, β -Glucosidase) bei fehlender N-Düngung um bis zu 20 % gegenüber dem Standort niedriger lagen (Abb. 2 u. 3). Ein deutlicher Anstieg der Biomasse ist bei Strohdüngung, aber auch bei den anderen Versuchsvarianten zu verzeichnen (Abb. 2). Am empfindlichsten reagiert die Protease: durch Klärschlammapplikation (mit und ohne Stroh) erhöht sich die Aktivität der Protease bis zu 93 % gegenüber der Standardparzelle. Die N-Mineralisation wird durch organische Düngung ebenfalls gefördert. Es besteht eine enge Korrelation der N-Mineralisation mit dem N_{\min} -Gehalt der einzelnen Bodenproben ($r = 0,87$; Ergebnis nicht abgebildet).

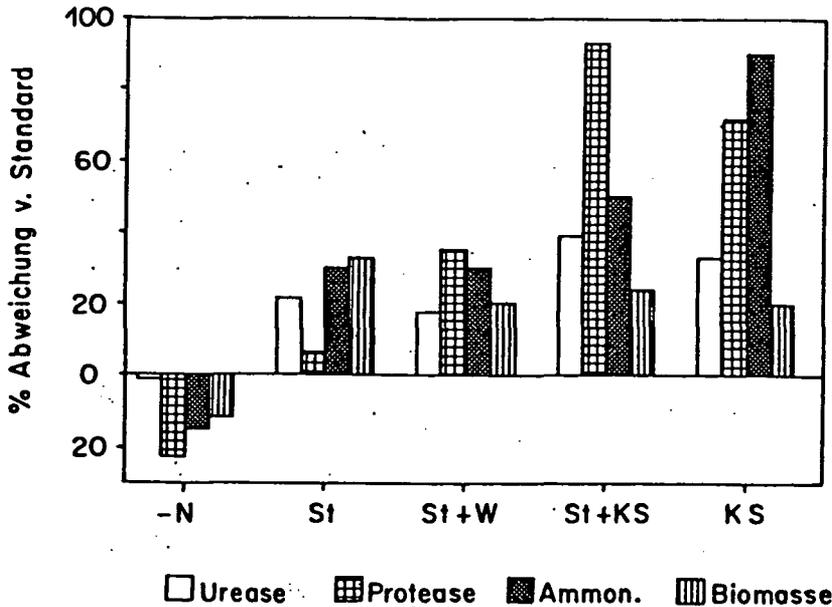


Abb. 2: Urease- und Proteaseaktivität, Ammonifikation und Biomasse in Böden der einzelnen Versuchsglieder (-N: Kontrolle ohne N-Düngung, St: Stroh, St + W: Stroh + Wasser, St + KS: Stroh + Klärschlamm, KS: Klärschlamm)

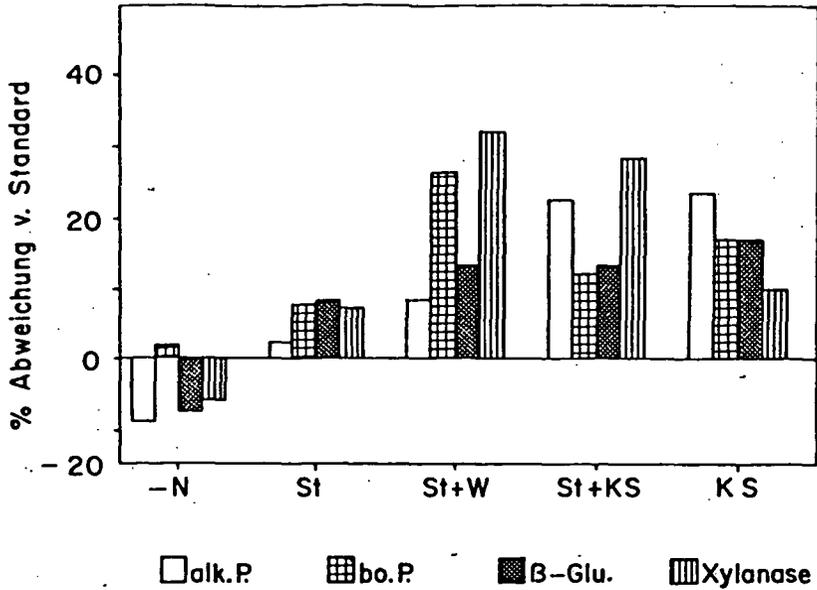


Abb. 3: Der Einfluß von Stroh- und Klärschlammdüngung auf folgende Bodenenzyme: alkalische Phosphatase (alk.P.), Phosphatase bei bodeneigenem pH-Wert (bo.P), β -Glucosidase (β -Glu.) und Xylanase. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

Bei Klärschlammdüngung sind vor allem Phosphatasen im alkalischen Bereich für den Abbau von organischen P-Verbindungen verantwortlich, bei Stroh-Düngung dagegen ist die Aktivität jener Phosphatasen besonders erhöht, die ihr Optimum im bodeneigenen pH-Bereich ($\text{pH} = 7,2$) besitzen (Abb. 3). Durch Zufuhr organischer Substanz (Stroh oder Klärschlamm) wird der Abbau glycosidischer Verbindungen in ähnlicher Weise gefördert.

Interessant ist es, zu verfolgen, wie stabil dieser Effekt während unterschiedlicher Zeitdauer ist. Seit 1984 wurde zu 7 unterschiedlichen Zeitpunkten Bodenproben entnommen und

untersucht. Die geringere Aktivität bei der Parzelle ohne N-Düngung ist bei jeder Probenahme sichtbar, auch beobachtet man in allen Fällen eine erhöhte Aktivität nach Zufuhr von organischer Substanz (Abb. 4 - 6). Das Ausmaß dieser Erhöhung ist dagegen bei den unterschiedlichen Zeitpunkten verschieden hoch.

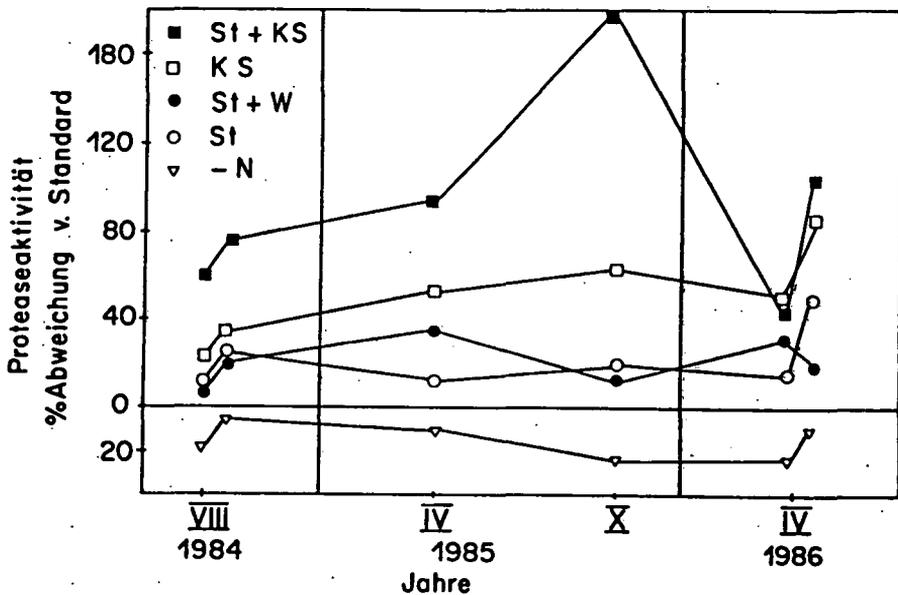


Abb. 4: Veränderungen der Proteaseaktivität eines Ackerbodens in Abhängigkeit von Jahreszeit und Düngungsverfahren. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

Bei allen Untersuchungen reagiert die Protease am empfindlichsten auf die unterschiedlichen Bewirtschaftungsweisen. Besonders zeigt sich der Anstieg der Proteasen bei der Stroh-Klärschlamm-Parzelle im Herbst (Abb. 4). Es werden also sehr rasch nach Aufbringen des Klärschlammes ein großer Teil an organischen N-Verbindungen zu Aminosäuren abgebaut.

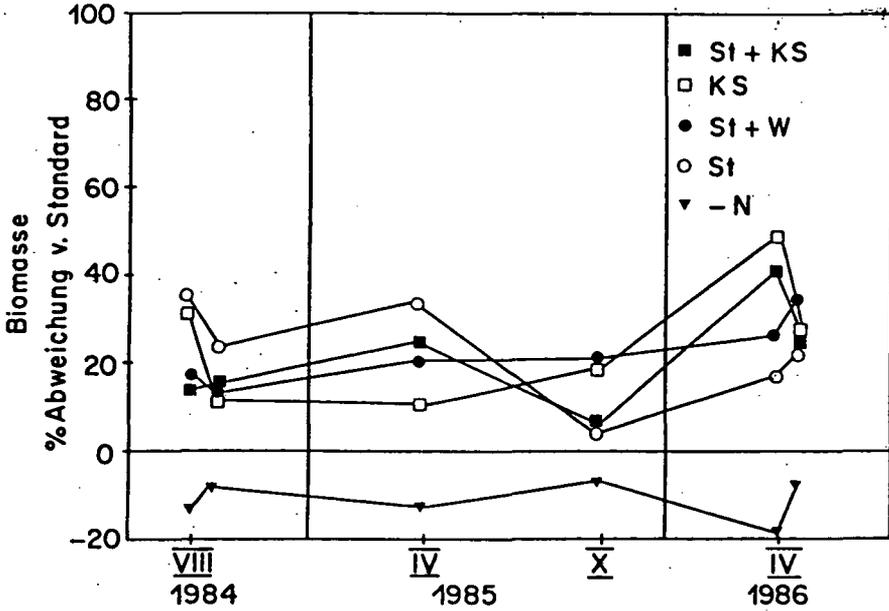


Abb. 5: Veränderung der Biomasse eines Ackerbodens in Abhängigkeit von Jahreszeit und Düngungsverfahren. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

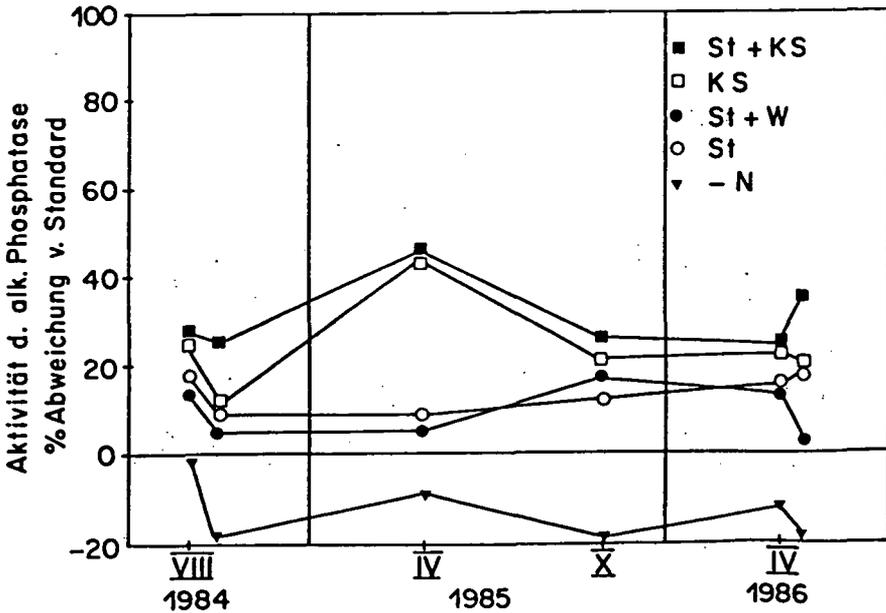


Abb. 6: Veränderungen der Aktivität der alkalischen Phosphatase in Abhängigkeit von Jahreszeit und Düngungsverfahren. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

Weiter wurde getestet, wie weit die gefundenen Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsvarianten bei jahreszeitlich-klimatischen Schwankungen erkennbar bleiben oder verloren gehen. Die natürliche Schwankungsbreite (Amplitude) der einzelnen Enzymaktivitäten wurde in Bezug zu dem Mittelwert der 7 Kollektionsdaten gesetzt (Abb. 7 - 11). Die Amplitude der Ureaseaktivität ist relativ gering, die einzelnen Düngungsvarianten lassen sich von der Parzelle ohne N deutlich abgrenzen (Abb. 7). Die Schwankungsbreite ist bei der Protease höher, aber auch hier ist eine deutliche Trennung des Düngungseinflusses von der natürlichen Veränderung möglich (Abb. 8). Dagegen ist das Aktivitätsniveau der β -Glucosidase stärker vom Zeitpunkt der Probenahme als von der Düngerform abhängig (Abb. 9). Eine (teilweise) Abgrenzung der einzelnen Versuchsvarianten unter Freilandbedingungen ist bei folgenden Parametern möglich:

- Biomasse (Abb. 10), Protease (Abb. 8), Urease (Abb. 7): gut
- alkalische Phosphatase (Abb. 11): schlecht
- β -Glucosidase (Abb. 9): nicht möglich

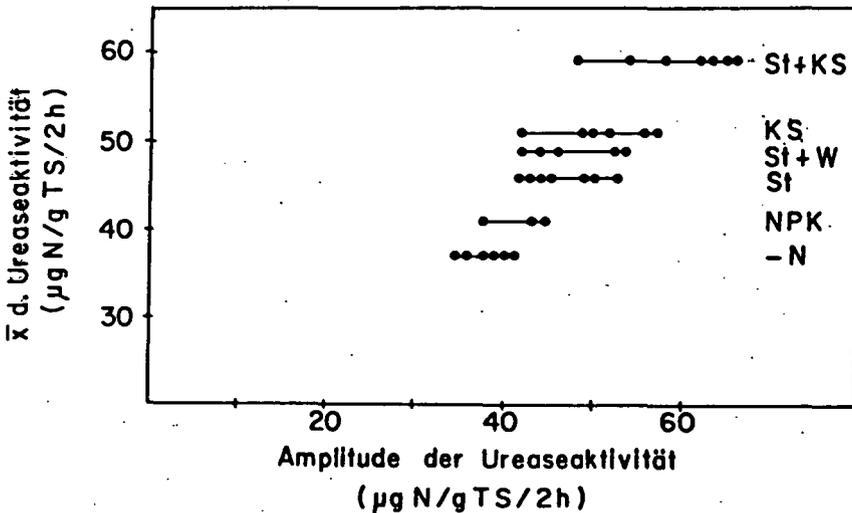


Abb. 7: Schwankungsbreite (Amplitude) der Ureaseaktivität in Abhängigkeit von Düngungseinfluß (\bar{x} = Mittel der Ureaseaktivität von sieben Probenahmen). Die einzelnen Punkte bezeichnen die erhaltene Aktivität bei einer Probenahme. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

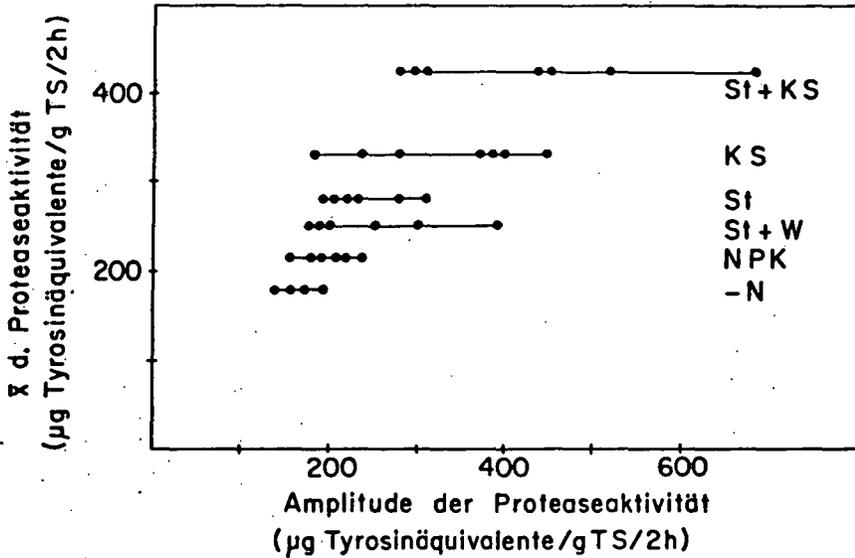


Abb. 8: Schwankungsbreite (Amplitude) der Proteaseaktivität in Abhängigkeit von Düngungseinfluß (\bar{x} = Mittel der Proteaseaktivität von sieben Probenahmen). Die einzelnen Punkte bezeichnen die erhaltene Aktivität bei einer Probenahme. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

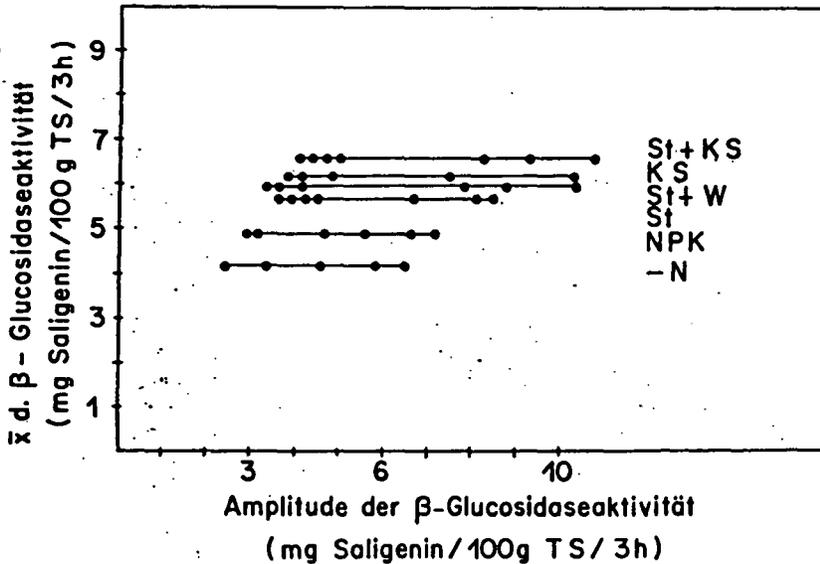


Abb. 9: Schwankungsbreite (Amplitude) der β-Glucosidaseaktivität in Abhängigkeit von Düngungseinfluß (\bar{x} = Mittel der β-Glucosidaseaktivität von sieben Probenahmen). Die einzelnen Punkte bezeichnen die erhaltene Aktivität bei einer Probenahme. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

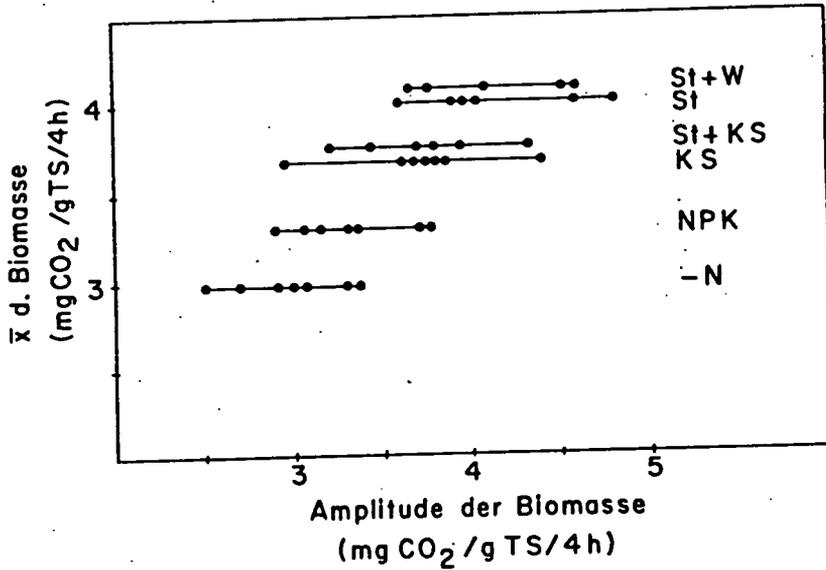


Abb. 10: Schwankungsbreite (Amplitude) der Biomasse in Abhängigkeit vom Düngungseinfluß (x = Mittel der Biomasse von sieben Probenahmen). Die einzelnen Punkte bezeichnen die erhaltene Aktivität bei einer Probenahme. Versuchsvarianten: vgl. Abb.2

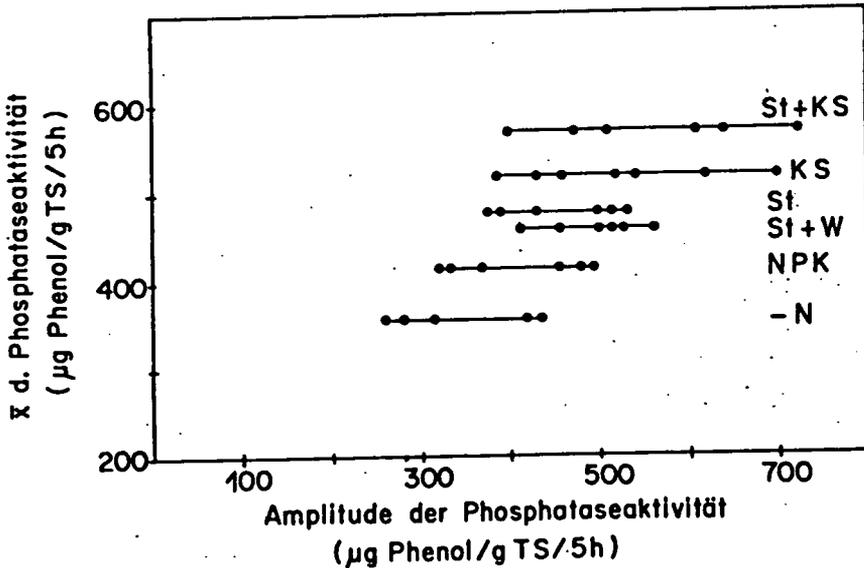


Abb. 11: Schwankungsbreite (Amplitude) der alkalischen Phosphataseaktivität in Abhängigkeit vom Düngungseinfluß (x = Mittel der alkalischen Phosphataseaktivität von sieben Probenahmen). Die einzelnen Punkte bezeichnen die erhaltene Aktivität bei einer Probenahme. Versuchsvarianten: vgl. Abb. 2

Im Zusammenhang mit der Klärschlammausbringung wird immer wieder die Frage der Schwermetallbelastung diskutiert. Bei diesem Feldversuch werden Klärschlämme verwendet, die aus häuslichen Abwässern stammen. Die Analyse folgender Schwermetalle zeigte keine Erhöhung der Konzentration: Mn, Fe, Ni, Cd. Die Anreicherung von Zn, Cu und Pb seit 1978 ist deutlich zu beobachten (Abb. 12).

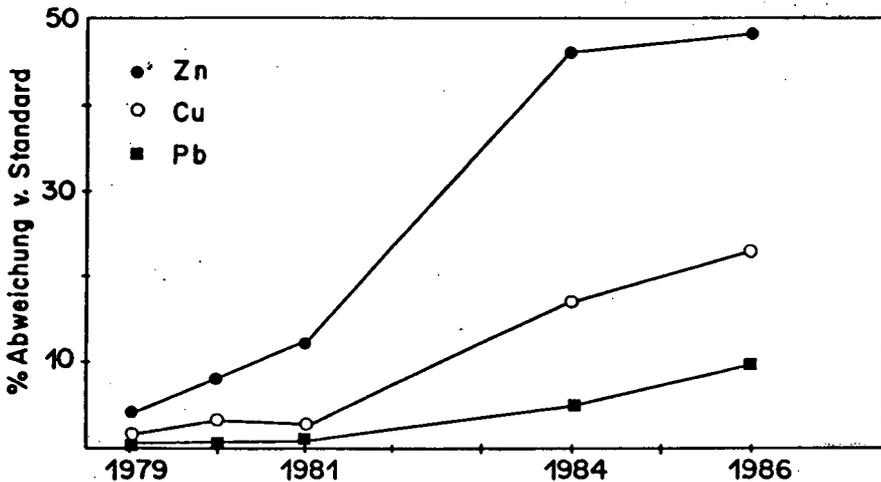


Abb. 12: Die Veränderung der Zn-, Cu- und Pb-Konzentrationen durch Klärschlammapplikation in Abhängigkeit von der Versuchsdauer

Zur Zeit liegen die Zn-Konzentrationen noch unter den von KLOKE (1977) angegebenen Werten. Die Klärschlammparzelle weist eine Zn-Konzentration von 100 ppm auf, der Grenzwert liegt bei 300 ppm Zn. Dieser Wert wird in der Literatur als tolerierbar für Pflanze und Boden angesehen. Es gibt aber Hinweise, daß bei den als tolerierbar bezeichneten Schwermetallkonzentrationen bereits negative Auswirkungen auf bodenbiologische Aktivitäten zu beobachten sind (DOMSCH 1984). Die Schwermetallgehalte des Feldversuches liegen bis jetzt in einem Konzentrationsbereich, bei dem keine hemmende Wirkung feststellbar war.

4. Diskussion

Die bisherigen Untersuchungen zeigten, daß die Aufbringung von Stroh und Klärschlamm einen Anstieg der Biomasse und einiger ausgewählter Bodenenzyme (Protease, Urease, alkalische Phosphatase, Phosphatase bei bodeneigenem pH-Wert, Xylanase und β -Glucosidase) bewirken (Abb. 2 und 3). Bei sehr hohem Angebot an organischer Masse wird diese Reaktion durch die Förderung heterotropher Mikroorganismen verursacht. Bei Klärschlammaufbringung kann die Aktivitätssteigerung zusätzlich durch die große Menge an aktiven Mikroorganismen im Klärschlamm bewirkt werden. Bei einer Klärschlammmenge von $130 \text{ m}^3/\text{ha}/\text{Jahr}$ stellten BECK und SÜSS (1979) ebenfalls eine Erhöhung der mikrobiellen Bodenaktivität fest. Sehr viel höhere Aufwandmengen ($800 \text{ m}^3/\text{ha}$) führten unter Laborbedingungen zu einem Rückgang der mikrobiellen Biomasse. Die Autoren erklären diesen Effekt durch den stärkeren pH-Abfall bei hoher Mineralisierung der aufgebrauchten organischen Masse.

Trotz Schwankungen der Temperatur- und Wasserverhältnisse im Freiland wurde die Abnahme der biologischen Aktivität bei fehlender N-Düngung und die Erhöhung der Aktivität durch Zufuhr von organischer Masse bei allen 7 Probenahmeterminen festgestellt (Abb. 4 - 6). Die Bestimmung der Biomasse, der Protease und der Urease ermöglicht eine Abgrenzung der einzelnen Versuchsvarianten unter Freilandbedingungen. Das Aktivitätsniveau der alkalischen Phosphatase und der β -Glucosidase war dagegen stärker vom Zeitpunkt der Probenahme als von der Versuchsbehandlung abhängig. Die Bakterienkeimzahl, die Aktivität der Katalase und der C-Mineralisierung zeigten bei einem mit Klärschlamm behandelten Dauergrünlandboden ebenfalls eine hohe natürliche Schwankungsbreite (STADELMANN 1982).

Durch den hohen Gehalt an organischen N-Verbindungen im Klärschlamm waren Veränderungen von Teilprozessen des N-Kreislaufes zu erwarten. Tatsächlich wurde die Proteaseaktivität durch Klärschlamm deutlich erhöht (Abb. 4). Die nieder-

molekularen N-Verbindungen (Aminosäuren) wurden verstärkt mineralisiert (Abb. 2). Die sehr enge Korrelation der N-Mineralisation mit dem N_{\min} -Gehalt der einzelnen Bodenproben deutet darauf hin, daß die Versuchsvarianten eine ähnliche potentielle N-Nachlieferung besitzen, daß aber bei Stroh- und Klärschlammdüngung mehr Substrat zur N-Mineralisation vorhanden ist. Modellversuche über das N-Mineralisationspotential von klärschlammbehandelten Böden zeigen, daß ein großer Anteil des organischen N im Klärschlamm innerhalb von 15 Wochen mobilisiert werden kann (LINDEMANN und CARDENAS 1984). Unter Feldbedingungen wurden 55 % Verlust an organischem N innerhalb von 17 Wochen festgestellt (MAGDOFF und AMADON 1980). Die hohe Mineralisation gewährleistet also bei günstigen klimatischen Verhältnissen einen raschen Abbau des Strohs und des Klärschlammes. Durch den raschen Abbau des Klärschlammes werden im Herbst zu hohe Mengen an Nitrat gebildet, die das Grundwasser gefährden können. N_{\min} -Untersuchungen von ULLAH (1983) zeigten ebenfalls eine zu hohe N-Versorgung der Klärschlamm behandelten Parzellen.

Danksagung

Mein Dank gilt Univ. Doz. Dr. O. H. DANNEBERG für wertvolle Hinweise während der Experimente und für die Durchsicht des Manuskripts, sowie Fr. A. HOFRICHTER für die gewissenhafte Durchführung der Analysen.

5. Zusammenfassung - Summary

In einem Feldversuch wurde die Wirkung von Stroh, Klärschlamm und der Kombination Stroh + Klärschlamm im Vergleich zur mineralischer Düngung und Kontrolle (ohne N-Düngung) auf die Biomasse und einige Bodenenzyme untersucht. Nach sieben zeitlich gestaffelten Probenahmen während der Jahre 1984 - 1986 zeigten sich folgende Ergebnisse:

- Bezieht man die Ergebnisse auf die angrenzenden Standardparzellen (mineralische Düngung), so beobachtet man bei

allen Stroh- und Klärschlammvarianten einen deutlichen Anstieg der Biomasse und folgender Enzyme: Protease, Urease, alkalische Phosphatase, Phosphatase bei bodeneigenem pH-Wert, Xylanase und β -Glucosidase. Bei der Kontrollvariante (ohne N) zeigt sich ein Absinken aller untersuchten Parameter nur bis zu 20 %.

- Die Protease reagiert am empfindlichsten auf die unterschiedliche Bewirtschaftungsweise.
- Trotz Schwankungen der Temperatur- und Wasserverhältnisse im Freiland wurde die Abnahme der biologischen Aktivität bei fehlender N-Düngung und die Erhöhung der Aktivität durch Zufuhr von organischer Masse bei allen sieben Probenahmen festgestellt.
- Da der Klärschlamm von häuslichen Abwässern stammt, wurde keine Anreicherung von Mn, Fe, Cr, Ni, Pb und Cd festgestellt, die Konzentrationen von Zn erhöhten sich um 48 % und die von Cu um 17 %. Die Gehalte dieser Schwermetalle liegen bis jetzt unter den zulässigen Grenzwerten.

Enzymatic Methods for Soil Testing: The Example of a Field Trial with Straw and Sewage Sludge Treatment:

Enzymatic methods for soil-testing: The example of a field trial with straw- und sewage sludge treatments.

In a field experiment the influence of straw, sewage sludge and a combination of both on microbial activity was investigated. For the determination of heavy metal contents, biomass and the activities of protease, urease, β -glucosidase and alkaline phosphatase 7 soil samples were taken between 1984 and 1986.

Comparing straw- and sewage sludge treatments with mineral fertilisation we could observe a marked increase in biomass and in the activities of protease, urease, β -glucosidase and alkaline phosphatase in the plots treated with organic wastes. Soils without N showed smaller amounts of biomass and lower enzyme-activities.

Protease was the most sensitive enzyme.

In spite of different temperatures and different water conditions we could observe at each of the 7 sampling periods the

above mentioned decrease of biological activities when N was missing and also the increase of activities when organic matter was brought to the field.

There was no systematic difference between the contents of Fe, Mn, Cr, Ni and Cd in the different samples, but Zn- and Cu-contents showed an increase of 48 % and 17 %, respectively, in the sewage sludge treated plots. Untill now the metall contents are within the range of uncritical values.

6. Literatur

- AL-KHAFAJI, A.A. und TABATABAI, M.A. (1979): Effects of trace elements on arylsulfatase acivity in soils. Soil Sci. 127, 129 - 133.
- BECK, TH. (1983): Die N-Mineralisierung von Böden im Laborbrutversuch. Z.Pflanzenern. Bodenkd. 146, 243 - 252.
- BECK, TH. und SÜSS, A. (1979): Der Einfluß von Klärschlamm auf die mikrobielle Tätigkeit im Boden. Z.Pflanzenern. Bodenkd. 142, 299 - 309.
- DOMSCH, K.H. (1984): Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil. Plant and Soil 76, 367 - 378
- HOFFMANN, G. (1968): Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Phosphataseaktivität im Boden. Z. Pflanzenern. Bodenkd. 118, 161 - 171.
- HOFFMANN, G. und DEDEKEN, M. (1965): Eine Methode zur kolorimetrischen Bestimmung der β -Glucosidaseaktivität in Böden. Z.Pflanzenern. Bodenkd. 108, 195 - 201.
- ISERMEYER, H. (1952): Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Carbonate im Boden. Z.Pflanzenern. Bodenkd. 56, 26 - 38.
- JÄGGI, W. (1976): Die Bestimmung der CO_2 -Bildung als Maß der bodenbiologischen Aktivität. Schweiz.Landw.Fo. 15, 371 - 380.
- KANDELER, E. und GERBER, H. (1986): Ein einfaches Verfahren zur Bestimmung der Ureaseaktivität in Böden. VDLUFA-Schriftreihe, Kongreßband (Publikation im Druck).

KLOKE, A. (1977): Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente im Kulturboden. Mitt. VDLUFA 2, 32 - 38.

LADD, J.N. und BUTLER, J.H.A. (1972): Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. Soil Biol.Biochem. 4, 19 - 30.

LADD, J.N. und PAUL, E.A. (1973): Changes in enzymic activity and distribution of acid-soluble, amino acid-nitrogen in soil during nitrogen immobilization and mineralization. Soil Biol. Biochem. 5, 825 - 840.

LINDEMANN, W.C. und CARDENAS, M. (1984): Nitrogen mineralization potential and nitrogen transformations of sludge-amended soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 48, 1072 - 1077.

MAGDOFF, F. R. und AMADON, F.F. (1980): Nitrogen availability from sewage sludge. J. Environ. Qual. 9, 451 - 455.

SCHINNER, F. (1982): CO₂-Freisetzung, Enzymaktivitäten und Bakteriendichte von Böden und Spaliersträuchern unter Polsterpflanzen in der alpinen Stufe. Acta oecologia 3, 49-58.

STADELMANN, F.X. (1982): Die Wirkung steigender Gaben von Klärschlamm und Schweinegülle in Feldversuchen. Schweiz. Landw.Fo. 21, 239 - 259.

TABATABAI, M.A. (1977): Effects of trace elements on urease activity in soils. Soil Biol.Biochem. 9, 9 - 13.

TYLER, G. (1981): Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: PAUL, E.A., und LADD, J.N. (editors). Soil Biochem. 5, 371 - 414.

ULLAH, S.M. (1983): Einfluß der Stroh- und Klärschlammdüngung auf chemische und physikalische Kenngrößen des Bodens. Dissertation, Universität für Bodenkultur, Wien.

Anschrift: Dr. Ellen Kandeler
Bundesanstalt für Bodenkultur
Denisgasse 31
A-1200 Wien

Der Einsatz enzymatischer Methoden am Beispiel eines Grünland-
düngungsversuches

von R. Ö h l i n g e r

1. Einleitung

Der Grünlandversuch wird im alpinen Grünland bei Aigen im Ennstal durchgeführt. Diesem Exaktversuch lagen folgende Fragenkomplexe zugrunde (BUCHGRABER, 1984):

- Vergleich der "konventionellen" und "biologischen" Landbaumethoden. Beim "biologischen" Landbau werden die Methoden "organisch-biologisch" und "biologisch-dynamisch" mit verschiedenen Intensitäten des auf naturwissenschaftlicher Basis arbeitenden "konventionellen" Pflanzenproduktions-systems verglichen.
- Vergleich des Stallmist + Jauche-Systems mit dem Güllesystem in den einzelnen Landbaumethoden.
- Gegenüberstellung des Einflusses der Düngerbereitungsverfahren auf den Nährstoffgehalt, den Gehalt an organischer Substanz, den TS-Gehalt, auf die Geruchsemissionen und Pflanzenverträglichkeit der Wirtschaftsdünger:
 - . Belüftung der Gülle und Jauche;
 - . Zuschlagstoffe und Zusatzstoffe zu Gülle und Jauche;
 - . Biologisch-dynamische Präparate;
 - . Verdünnung von Gülle;
 - . Frischmist, Rottemist und Mistkompost.
- Unmittelbare Düngewirkung und Nachwirkung der Dünger bei Herbst- und Frühjahrsausbringung, bei einer Zeitstufendüngung von Jauche, Gülle und Mineraldünger in den zwei Subvarianten.

Diese Fragen wurden durch Prüfgrößen wie Nährstoffbilanzen, Trockensubstanzerträge, Qualitätsparameter und Pflanzenbestand zu klären versucht (BUCHGRABER, 1984).

Parallel dazu erfolgte auch eine Untersuchung wichtiger Stoffumsetzungen des Bodens (Enzymaktivitäten). Durch sie sollen etwaige Änderungen des Bodenlebens durch die verschiedenen Düngungsvarianten aufgezeigt und damit auch für die Praxis wichtige Entscheidungshilfen gegeben werden.

2. Material und Methode

In Tab. 1 (BUCHGRABER, 1984) ist der Versuch nach seiner Düngerart, Düngermenge und zeitlicher Düngergabe aufgliedert. Insgesamt werden 11 Düngervarianten in 2 Dünungszeitstufen (Subvariante 1 und 2) geprüft. Jede Variante wird 6 x wiederholt, davon die eine Hälfte als Subvariante 1 (Düngung zum 1. und 2. Schnitt) und die andere Hälfte als Subvariante 2 (Düngung zum 1. und 3. Schnitt).

Das Bodenleben wurde mittels folgender Parameter untersucht:

- Biomasse-C nach ANDERSON und DOMSCH, 1978 (Isermeyer-Ansatz)
- Protease nach LADD und BUTLER, 1972
- Dehydrogenase nach THALMANN, 1968
- CO₂-Freisetzung nach ISERMEYER, 1952 (Mod. JÄGGI, 1976)
- Urease nach TABATABAI und BREMNER, 1972
- β -Glucosidase nach HOFFMANN und DEDEKEN, 1965

Die Bodenproben wurden aus dem Oberboden von 0-10 cm entnommen, auf 5 mm gesiebt und bei 4^o C gelagert. Im Jahresverlauf wurden 4 Probenahmen durchgeführt entsprechend der drei Schnitte und eine im Herbst.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem Grenzdifferenztest mit 5 %iger Irrtumswahrscheinlichkeit.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Enzymaktivitätsverlauf in den beobachteten Versuchsjahren 1983 und 1984

In den Abb. 1 - 8 (Anhang) sind die einzelnen Aktivitätsverläufe während der Versuchsjahre aufgezeigt. Zur Vereinfachung wurden in Tab. 2 die Anzahl der Aktivitätshöhepunkte von allen Varianten angegeben. Es zeigte sich ein uneinheitlicher Verlauf der einzelnen biochemischen Parameter während des Versuchszeitraumes.

Die Dehydrogenaseaktivität erreichte ihre höchste Aktivität zur Zeit des 2. und 3. Schnittes.

Die CO₂-Freisetzung ist meistens zum 2. Schnitt am höchsten.

Versuchsobj.	Subvar. 1		Subvar. 2			
	1. Schnitt	2. Schnitt	3. Schnitt	1. Schnitt	2. Schnitt	3. Schnitt
ungedüngt	-	-	-	-	-	-
PK (min.)	P/2+K/2	P/2+K/2	-	P/2+K/2	-	P/2-K/2
NPK (min.)	50 kg N	50 kg N	50 kg N	50 kg N	50 kg N	50 kg N
	60 kg N	60 kg N	-	60 kg N	-	60 kg N
	P/2+K/2	P/2+K/2	-	P/2+K/2	-	P/2+K/2
RMJ	SOM.i.Hbst.	WiJ.	-	WiM.i.Frj.	-	SoJ.
FMJ (o.-b.)	WiMK.i.Hbst.	WiJ.	-	WiM.i.Frj.	-	SoJ.
MKJ (b.-d.)	Wi-Gülle	WiJ.	-	SOMK.i.Frj.	-	SoJ.
GU (konv.)	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle
GB	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle
GV(1:1konv)	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle
G+N	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle
+ 50 kg N +)	Wi-Gülle	+ 50 kg N	-	Wi-Gülle	-	+ 50 kg N
+ 120 kg N +)	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle
	+ 30 kg N	+ 30 kg N	60 kg N	+ 30 kg N	60 kg N	+ 30 kg N
GOB	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle
GBD	Wi-Gülle	So-Gülle	-	Wi-Gülle	-	So-Gülle

Hbst. = Herbst, Wi. = Winter, Frj. = Frühjahr, So. = Sommer, min. = mineralisch, M = Mist, MK = Mistkompost, J = Jauche, RMJ = Rottemist + Jauche, FMJ = Frischmist + Jauche (organisch-biologisch), MKJ = Mistkompost + Jauche (biologisch-dynamisch), GU = Gülle unbelüftet, GB = Gülle belüftet, GV = Gülle verdünnt, GOB = Gülle organisch-biologisch, GBD = Gülle biologisch-dynamisch.

+) Düngung in den Jahren 1979 und 1980 bzw. 1981 und 1982

Tab. 1: Düngerart, Düngermenge und zeitliche Düngergabe der Versuchsobjekte.

	Dehydro- genase	Protease	CO ₂ -Frei- setzung	Biomasse-C	β-Glucosi- dase	Urease
1. Schnitt (April)	0(1) 0(2)	0(1) 2(2)	0(1) 0(2)	0(1) 0(2)	0(1) 0(2)	0(1) 1(2)
2. Schnitt (Juni)	5(1) 10(2)	0(1) 7(2)	11(1) 10(2)	3(1) 1(2)	0(1) 0(2)	0(1) 4(2)
3. Schnitt (Juli, 1983 August 1984)	14(1) 13(2)	2(1) 1(2)	0(1) 0(2)	9(1) 11(2)	12(1) 2(2)	8(1) 7(2)
Herbst (September)	5(1) 1(2)	22(1) 14(2)	1(1) 2(2)	0(1) 0(2)	0(1) 10(2)	4(1) 0(2)

Tab. 2: Anzahl der jeweiligen Aktivitätshöhepunkte von allen Varianten (inkl. Subvar. 1(1) und Subvar. 2(2)) über den 2-jährigen Versuchszeitraum.

Die Biomasse erfuhr ihre größte Steigerung zum 3.Schnitt.

β -Glucosidase und Urease strebten ihren Aktivitätshöhepunkt zur Zeit des 3.Schnittes bzw. im Herbst entgegen, wobei hier die Subvarianten sich deutlich voneinander unterschieden.

Aus diesen Beobachtungen kann man 2 Tendenzen feststellen:

- Die erste, hauptsächlich beschrieben durch die Parameter Dehydrogenase, CO_2 -Freisetzung und Biomasse-C zeigte die höchsten Aktivitätswerte in der Hauptwachstumsphase des Grünlandes (Frühjahr bis Sommer).
- Die zweite, im besonderen dargestellt durch die Proteaseaktivität und zum Teil auch durch die β -Glucosidaseaktivität wies auf einem Aktivitätshöhepunkt im Herbst hin. Dies mag enzymepezifisch zu erklären sein, da hochmolekulare organische Verbindungen (Proteine und Hemizellulose) erst zu einem späteren Zeitpunkt, wenn leichter verfügbare Substrate schon limitiert sind, verstärkt angegriffen werden.

Bemerkenswert war der zeitliche Unterschied der Aktivitätsspitzen zwischen CO_2 -Freisetzung und Biomasse. Der CO_2 -Peak war um einen Monat früher als der der Biomasse. Das würde bedeuten, daß anfangs mehr katabolisiert und dadurch Energie gewonnen wurde, die nachfolgend für anabolische Vorgänge verwendet wird.

Die Dehydrogenaseaktivität zeigte aufgrund ihrer Komplexität (Systeme von Dehydrogenasen) den uneinheitlichsten Aktivitätshöhepunkt. Deutlich war hier auch der Unterschied zwischen den beiden Düngungszeitstufen. Während bei Subvariante 1 (2.Düngung zum 2.Schnitt) die höchsten Aktivitäten hauptsächlich zur Zeit des 3.Schnittes auftraten, waren sie bei Subvariante 2 (2.Düngung zum 3.Schnitt) zwischen 2. und 3. Schnitt aufgeteilt. Es ist dies ein Hinweis, daß eine später angesetzte 2.Düngung (Subvariante 2) ein ausgewogeneres hohes Aktivitätsniveau hervorruft.

3.2. Häufigkeit der Aktivitätsunterschiede zwischen den einzelnen Varianten im Jahresverlauf

Der Vergleich einzelner Enzymaktivitäten zwischen den Düngungsvarianten erfolgte mit Hilfe des Grenzdifferenztestes. Dabei war der Zeitpunkt im Jahresverlauf für die unter-

suchten biochemischen Parameter von Interesse, bei dem Unterschiede zwischen den einzelnen Düngungsvarianten am meisten auftraten. Tab. 3 soll dies zahlenmäßig veranschaulichen.

Sub- var.	1. Schnitt	1 9 8 3			1 9 8 4				
		2. Schn.	3. Schn.	Herbst	1. Schn.	2. Schn.	3. Herbst		
Dehydro-	1	25	29	3	38	0	26	23	24
genase	2	43	11	19	35	17	25	35	18
Protease	1	0	30	19	0	40	16	25	17
	2	25	24	0	32	51	0	36	18
Biomasse	1					39	51	31	37
	2					45	48	48	40
Urease	1	0	1	0	0				
	2	0	5	0	0				
CO ₂ -Frei-	1	0	20	1	0				
setzung	2	0	23	0	0				
β-Glucosi-	1	24	0	7	2				
dase	2	11	37	0	0				
Summe	1	49	80	30	40	79	93	79	78
	2	79	100	19	67	103	73	119	76

Tab. 3: Anzahl der lt. Grenzdifferenztest ausgefolgten Unterschiede über den Versuchszeitraum

Es fällt auf, daß der Zeitpunkt des Aktivitätshöhepunktes meistens nicht mit den auftretenden gesicherten Aktivitätsunterschieden zwischen den einzelnen Düngervarianten zusammenfiel (Vgl. dazu Tab. 2). Ausnahme ist die CO_2 -Freisetzung. Die Biomasse-Bestimmung wies im Jahresverlauf sowohl bei Subvar. 1 und 2 keinen deutlich günstigen Zeitpunkt zur "Unterschiedsfeststellung" aus. Nach vorliegendem Ergebnis wäre jeder der geprüften Probenahmezeitpunkte gleich gut geeignet. Für die CO_2 -Freisetzung und Urease empfiehlt sich die Probenahme zum 2. Schnitt. Dort konnten Trends am besten festgestellt werden.

Für die Dehydrogenase, Protease und β -Glucosidase war der Trend, sowohl innerhalb der Subvariante als auch zwischen den beiden Subvarianten uneinheitlich. Vor allem für Dehydrogenase und Protease wäre eine Beobachtung des ganzen Jahresablaufes empfehlenswert.

Für die β -Glucosidase galt dies für Subar. 1, hingegen für den Düngungsmodus der Subvar. 2 (1. und 3. Schnitt) konzentrierten sich die Unterschiede deutlich auf die erste Jahreshälfte.

Zusammenfassend soll nach vorliegendem Ergebnis für einen Vergleich von Düngungsvarianten im Grünland hinsichtlich biochemischer Parameter mehrmals im Jahresablauf Proben gezogen werden, um gesicherte Unterschiede feststellen zu können.

3.3. Nachhaltige Veränderungen der bodenbiologischen Aktivität durch die angeführten Düngungsvarianten

Für die Feststellung einer nachhaltigen Veränderung bei einem der bestimmten mikrobiologischen Parameter durch angegebene Düngungsarten wurde folgender Auswertemodus des Grenzdifferenztestes gewählt, aus dem sich folgende drei Entscheidungen herauslesen lassen.

- a.) Die Entscheidung "signifikant größer"
- b.) Die Entscheidung "signifikant niedriger"
- c.) Die Entscheidung "kein Unterschied"

Werden nun diese drei über alle Probenahmen für die jeweiligen Vergleiche gegenübergestellt, so erhält man eine positive (+), negative (-) oder neutrale "Bewertungszahl". Sie soll

über nachhaltige Veränderungen (positiv, negativ oder neutral) Auskunft geben. So wurde jede Variante für jeden einzelnen biologischen Parameter, sowohl für Subvar.1 und Subvar.2 verglichen.

Aus den 12 aufzuzeigenden Tabellen konnten nur die nachfolgenden vier (Tab. 4-7) aufgezeigt werden, da nur hier der beschriebene Auswertemodus Bewertungszahlen ergab.

	O	PK	NPK	RMJ	FMJ	MKJ	GU	GB	GV	G+N	GOB	GBD
O			-2	-4	-2		-2	-2	-4	-2	-4	-2
PK				-2	-4		-2	-2	-2		-4	-4
NPK	+2											
RMJ	+4	+2				+2						
FMJ	+2	+4							+2			
MKJ				-2							-2	
GU	+2	+2										
GB	+2	+2										
GV	+4	+2										
G+N	+2				-2							-2
GOB	+4	+4				+2						
GBD	+2	+4					+2			+2		

Tab. 4: Bewertungszahlen für Biomasse-C (Subvar. 1)

	O	PK	NPK	RMJ	FMJ	MKJ	GU	GB	GV	G+N	GOB	GBD
O				-4	-4	-4	-4	-4	-4	-4	-4	-4
PK				-4	-4	-4	-4	-4	-4	-4	-4	-4
NPK				-4	-4	-4	-2	-4	-4	-4	-2	-2
RMJ	+4	+4	+4							-2		
FMJ	+4	+4	+4									
MKJ	+4	+4	+4									
GU	+4	+4	+2									
GB	+4	+4	+4									
GV	+4	+4	+4									
G+N	+4	+4	+4	+2							+4	
GOB	+4	+4	+2							-4		
GBD	+4	+4	+2									

Tab. 5: Bewertungszahlen für Biomasse-C (Subvar. 2)

O	PK	NPK	RMJ	FMJ	MKJ	GU	GB	GV	G+N	GOB	GBD
O											
PK			-1	-1		-1					
NPK				-3							
RMJ	+1										
FMJ	+1	+3								+1	
MKJ											
GU	+1										
GB											
GV											
G+N											
GOB				-1							
GBD											

Tab. 6: Bewertungszahlen für Dehydrogenase (Subvar. 2)

O	PK	NPK	RMJ	FMJ	MKJ	GU	GB	GV	G+N	GOB	GBD
O											
PK					-3						
NPK				-3	-3						
RMJ											
FMJ		+3								+3	
MKJ	+3	+3									
GU											
GB											
GV											
G+N											
GOB				-3							
GBD											

Tab. 7: Bewertungszahlen für Protease (Subvar. 2)

Nach vorliegendem Ergebnis zeigte sich ein nachhaltiger Einfluß hauptsächlich bei Biomasse-C, weniger bei Dehydrogenase und Protease und bei den übrigen Parametern (β -Glucosidase, Urease und CO_2 -Freisetzung) keiner. Bei letzteren hoben sich entweder die positiven und negativen Testergebnisse gegeneinander auf oder werden von den Neutralentscheidungen kompensiert.

Aus den Tabellen ist auch ersichtlich, wo die Bewertungs-

zahlen auftreten. So konzentrieren sich die nachhaltigen Aktivitätsunterschiede zwischen den mineralischen und organischen Düngervarianten. Letztere zeigten mehr Bodenleben. Es wird auch deutlich, daß der Düngungszeitpunkt, repräsentiert durch die zwei Subvarianten, starken Einfluß auf diverse biologische Aktivitäten ausübt. Es treten, wie aus den Tab. 4-7 ersichtlich ist, die Aktivitätsunterschiede bei Subvar. 2 (Düngung zum 1. und 3. Schnitt) deutlicher hervor als bei Subvar. 1 (Düngung zum 1. und 2. Schnitt). Dies mag vor allem auf das überhöhte Substratangebot bzw. auf starke Milieuveränderungen durch die unmittelbar aufeinander folgende Düngung zurückzuführen sein.

Ebenso war es möglich vor allem für die Varianten Mistkompost + Jauche und Gülle + min. N den optimalen Düngungszeitpunkt anzugeben. Für diese besonders und auch für die meisten übrigen organischen Varianten empfiehlt sich der Düngungsplan von Subvar. 2. Als Ausnahme schien die NPK-Variante auf, für die die Düngungszeitpunkte von Subvar. 1 günstiger waren. Durch Summenbildung der einzelnen Bewertungszahlen für jede Variante wurde eine grobe Reihung nach der höheren bodenbiologischen Aktivität (hier nur durch Biomasse-C und z.T. durch Dehydrogenase und Protease repräsentiert) angeführt:

Subvar. 1:

Förderung: GOB, GBD > FMJ, MKJ > GV > GU, GB > NPK

Schwächung: G+N < MKJ < PK < O

Subvar. 2:

Förderung: FMJ > MKJ, G+N > GB, GV > RMJ, GU > GBD > GOB

Schwächung: O < NPK < PK

Interessant waren auch die Unterschiede im Stallmist-Jauchesystem. Neben der schon erwähnten und vorteilhaften Aktivitätssteigerung der Mistkompostvariante bei Subvar. 2 war auch jener Effekt bei Frischmist+Jauche zu beobachten. Die Rottemistvariante zeigte zum Vergleich die geringsten Unterschiede in den Bewertungszahlen der beiden Subvarianten. Langfristig gesehen trat auch zwischen belüfteter und unbelüfteter Gülle in den Enzymaktivitäten kein besonderer Unterschied auf. Bei den naturnahen Güllevarianten (GOB, GDB) blieb die biologisch-dynamische bei beiden Subvarianten "gleich aktiv", die organisch-biologisch fällt hingegen bei Subvar. 2

zurück. Bei Subvar. 1 war kein Unterschied zwischen den naturnahen Güllevarianten zu beobachten.

Wie aus den Tab. 4-7 hervorgeht, lieferten nur der Biomasse-C und Dehydrogenase und Protease Bewertungszahlen, die nachhaltige Veränderungen anzeigten. Dies sollte bei ähnlicher Versuchsanlage und -frage bei der Auswahl von bodenmikrobiologischen bzw. -biochemischen Prüfgrößen berücksichtigt werden.

3.4. Kurzfristige Tendenzen der biochemischen Parameter bei den einzelnen Düngervarianten

Im Gegensatz zum oben beschriebenen Auswertemodus wurden hier die Neutralentscheidungen des Grenzdifferenztestes nicht berücksichtigt. Die so erhaltenen Bewertungszahlen sollen kurzfristige Veränderungen in den einzelnen Enzymaktivitäten durch Düngung besser hervorheben (Tab. 8 und 9).

	O	PK	NPK	RMJ	FMJ	MKJ	GU	GB	GV	G+N	GOB	GBD
DHG	+8	+3	+4	+8	+2	+6	+2	-10	+27	-40	-2	-6
Prot.	+2	-15	-8	+14	-4	-6	-10	-6	+13	-13	+14	+18
Biom.	-34	-26	-4	+9	+10	+8	-3	+8	+14	-4	+15	+23
Ure.			-1								+1	
CO ₂	-1	-5	+2	+1	+4	+3	-1	+2	+2	-9	+2	+1
ß-Glu.	-10	-2	-6	-1	-9	+2	+6	+2	+5	+1	+5	+7
Summe	-35	-48	-13	+31	+3	+13	-6	-6	+61	-65	+35	+43

Tab. 8: Bewertungszahlen für kurzfristige Veränderungen bei Subvar. 1

3.4.1 Vergleich der Ergebnisse der beiden Auswertesysteme

Im wesentlichen decken sich die Aussagen der beiden Auswertemodi.

Die Varianten GBD und GV und GU, GB und G+N können durch die richtige Wahl des Düngungszeitpunktes bodenbelebend wirken. Im Gegensatz zu den drei letztgenannten waren für die Varianten GBD und GV der Modus der Subvar. 1 günstiger. Nach den Tab. 4-7 hatte auf Variante GBD der Düngungszeitpunkt keinen wesentlichen Einfluß. Die Variante GV steht im schein-

baren Gegensatz zum ersten Ergebnis (siehe Punkt 3.3.). Die biologischen Aktivitäten wurden dort bei beiden Subvarianten gefördert, wobei die Förderung bei Subvar. 2 etwas stärker ausfiel. Nach der kurzfristigen Betrachtungsweise wurde hingegen die Subvar. 1 eindeutig favorisiert. Da aber durch Hinzunahme der Neutralentscheidungen beim Auswertemodus von Pkt.3.3. die "Chancengleichheit" auf Bewertungszahlen für beide Subvarianten nicht so gegeben war, wie beim darauffolgenden Auswertesystem ohne Neutralentscheidungen, war der Anstieg der Bewertungszahl von Variante GV bei Subvar. 1 von + 6 auf + 12 bei Subvar. 2 nur ein gradueller.

Für die Varianten GU, GB und G+N waren die Düngungszeitpunkte der Subvar. 2 am günstigsten, was durch das vorangegangene Ergebnis (Pkt. 3.3.) bestätigt wurde.

Übereinstimmung herrschte auch für die Variante GOB. Hier erwies sich ebenfalls Subvar. 2 als der bessere Düngungsplan. Ebenso waren sich die Tendenzen der Stallmist-Jauchevarianten in beiden Ergebnissen ähnlich. War zwar für die Variante RMJ der Düngungszeitpunkt nicht entscheidend, so waren für FMJ und MKJ die Düngung zum 1. und 3. Schnitt entscheidend förderlicher für das Bodenleben. Hier übertrafen sie sogar jenes der Rottemistvariante.

	O	PK	NPK	RMJ	FMJ	MKJ	GU	GB	GV	G+N	GOB	GBD
DHG	+14	-36	-24	-8	+22	+25	+13	+8	-4	+4	-15	+1
Prot.	+6	-22	-25	+29	+29	+24	-2	-6	-9	-3	+24	-1
Biom.	-36	-39	-30	+7	+14	+12	+3	+18	+19	+30	-7	-9
Ure.	-1	-2	-3	-2	-2	+6	+9	-2	-3	+3	-2	-1
CO ₂	+2	+4	+1	+1	+15	+4	-10	-3	-12	0	-4	+2
β-Glu.	-10	-7	-3	0	+7	+5	-4	+1	-9	+12	+5	+3
Summe	-25	-102	-84	+27	+85	+76	+9	+16	-18	+46	+1	-5

Tab. 9: Bewertungszahl für kurzfristige Veränderungen bei Subvar. 2

Es ist bei diesem Auswertemodus noch bemerkenswert, daß im Vergleich die mineralischen Varianten immer einer Schwächung des Bodenlebens unterliegen, die z.T. stärker als jene der Kontrolle ausfällt. Im Gegensatz zu Pkt. 3.3. war die Variante NPK auch bei Subvar. 1 im negativen Bereich.

Ergänzend sei auch für diesen Auswertemodus eine Reihung der Düngevarianten nach den höheren bodenbiologischen Aktivitäten angeführt:

Subvar. 1:

Förderung: GV > GBD > GOB > RMJ > MKJ > FMJ

Schwächung: GU, GB < NPK < O < PK < G+N

Subvar. 2:

Förderung: FMJ > MKJ > G+N > GB > RMJ > GU > GOB

Schwächung: GBD < GV < O < NPK < PK

3.4.2. Die bodenbiologischen Aktivitäten bei Subvar. 1

Hier fielen die mineralischen Varianten in allen Parametern (außer Dehydrogenase) deutlich zurück. Bei manchen Enzymaktivitäten (Protease, Urease und CO₂-Freistzung) lagen sie sogar hinter der Kontrolle.

Das Stallmist-Jauchesystem erwies sich meist als Aktivator von biochemischen Stoffumsetzungen. Im internen Vergleich war die Rottemistvariante den übrigen zwei (Frischmist und Mistkompost) überlegen. Dies wird vor allem in der deutlich höheren Proteaseaktivität sichtbar. Die β -Glucosidaseaktivität war bei der Mistkompostvariante am günstigsten.

Die unterschiedliche Aufbereitung der Stallmist-Jauchedünger schaffte verschieden günstige Milieubedingungen für diverse biochemische Stoffumsetzungen im Boden. Für das System erwies sich bei Subvar. 1 Rottemist + Jauche als bodenbelebendste Düngeart (Vgl. dazu Pkt. 3.3.).

Bei den Güllevarianten waren z.T. große Unterschiede in den Enzymaktivitäten zu beobachten. Verdünnte Gülle (GV) und die naturnahen Güllesysteme (GOB und GBD) waren wesentlich besser aktivierend als Gülle belüftet, Gülle unbelüftet und vor allem Gülle + mineral. N. Das dürfte in der nicht so "aggressiven" Gülle der erstgenannten Varianten liegen. Zwischen belüfteter und unbelüfteter Gülle war nach Summenbildung kein Unterschied festzustellen, der mit belüfteter Gülle gedüngte Boden besaß aber mehr Biomasse.

Auffällig war auch die fördernde Wirkung der Gölledüngung auf die β -Glucosidaseaktivität.

3.4.3. Die bodenbiologischen Aktivitäten bei Subvar. 2

Wie bei Subvar. 1 schnitten die mineral. Düngervarianten auch bei Subvar. 2 schlecht ab. Dies war besonders bei Dehydrogenase, Protease und der Biomasse sichtbar. Das Stallmist-Jauchesystem erwies sich auch zu diesem Düngungszeitpunkt als aktivitätsfördernd (Protease, Dehydrogenase und Biomasse). Dies gilt vor allem für Frischmist und Mistkompost. Wie bereits erwähnt (Pkt. 3.3.) war für jene der Düngungszeitplan der Subvar. 2 sehr günstig. Der Aufbau eines beständig höheren Biomasseniveaus im Boden wurde durch den zeitlich verzögerten Düngereinsatz der Subvar. 2 gewährleistet.

Bei den Güllevarianten fiel die positive Düngerwirkung von Gülle belüftet und unbelüftet und vor allem von Gülle + mineral. N auf (hohe Biomasse). Für die genannten Varianten ist ebenso der Düngermodus der Subvar. 2 empfehlenswert. Beim internen Vergleich zwischen unbelüfteter und belüfteter Gülle besaß letztere wie bei Subvar. 1 eine höhere Biomasse. Die Ureaseaktivität war hingegen bei unbelüfteter Gülle höher (besseres Substratangebot durch geringeren N-Verlust bei der Güllebehandlung). Die Urease als Unterscheidungsmerkmal trat überhaupt erst bei Subvar. 2 stärker in Erscheinung. Sie steht als harnstoffabbauendes Enzym am Ende einer Kette und war daher erst als Nachwirkung bei Subvar. 2 besser "erkennbar".

Die Varianten Gülle verdünnt und die naturnahen Gölledünger erfuhren bei Subvar. 2 kurzfristige Aktivitätseinbußen. Hier wirkte sich der zeitlich verzögerte Düngereinsatz eher nachteilig aus. Aufgrund der schon erwähnten minderen "Aggressivität" der Gölle (verdünnt oder mit Zusätzen) kam zum 2. Schnitt die zweite Düngung gerade rechtzeitig, um die Bodenbelebung auf einem hohen Niveau zu halten.

3.5. Zusätzliche Informationen und Entscheidungshilfen für die Praxis durch bodenbiologische Untersuchungen

Die praxisorientierten Untersuchungen bei diesem Grünlanddüngungsversuch wurden auf Trockensubstanzerträge, Qualitätsparameter, Pflanzenbestand und Nährstoffbilanzen durch-

geführt. Da diese Prüfparameter nicht mit dem Bodenleben korrelieren sind Messungen der bodenbiologischen Aktivität ein zusätzlicher Informationsgewinn. Sie vermögen auch auf wichtige ökologische Fragen Antwort zu geben.

Nach vorliegenden Ergebnissen erwies sich eine Düngung des Grünlandes zum 1. und 3. Schnitt (April und Sommer) für die Düngervarianten Frischmist + Jauche, Mistkompost + Jauche und Gülle belüftet und unbelüftet als vorteilhaft. Besonders hervorzuheben ist die Intensivvariante Gülle + mineral. N, für die dieser Düngungszeitplan sehr zu empfehlen ist. Eine Düngung zum 1. und 2. Schnitt hätte hier deutliche Depressionen in den Aktivitäten zur Folge ("Gülleschock").

Die Bodenbiologie braucht bei den erwähnten Varianten nach der ersten Düngung genügend Zeit zur Anpassung und ihrer Entfaltung.

Für Rottemist + Jauche ist keine der Subvarianten deutlich zu bevorzugen.

Für die Varianten Gülle verdünnt, Gülle organisch-biologisch und Gülle biologisch-dynamisch ist hingegen der Düngungszeitplan von Subvar. 1 (Düngung zum 1. und 2. Schnitt, April-Juni) vorteilhafter.

Die Wahl des günstigsten Düngezeitpunktes ist aber auch bei den schon an sich schwach aktivierenden mineral. Düngevarianten wichtig. Der durch sie gedüngte Boden fällt oft hinter der biologischen Aktivität der Kontrolle zurück. Das würde auf die Dauer die Humusnachlieferung des Bodens deutlich einschränken. Nach vorliegenden Ergebnis ist für die mineral. Varianten eine Düngung zum 1. und 2. Schnitt etwas günstiger. Bei einem Düngungssystemvergleich hinsichtlich der Förderung des Bodenlebens kann folgende Reihenfolge angegeben werden: Stallmist-Jauchsystem \gg Güllesystem $>$ mineral. System
Die erwähnten Empfehlungen ließen sich aus den Ertragsuntersuchungen und dgl. (BUCHGRABER, 1984) nicht eindeutig ableiten. Dort gab es keine statistisch abgesicherte Unterschiede im jeweiligen Systemvergleich.

4. Zusammenfassung - Summary

Am Beispiel eines Grünlanddüngungsversuches, der verschiedene Düngungssysteme (Stallmist+Jauche, Gülle und mineral. System) miteinander verglich, wurden auch bodenbiochemische Untersuchungen auf Dehydrogenase-, Protease-, Urease-, β -Glucosidasaktivität, CO_2 -Freisetzung und Biomasse-C durchgeführt. Dabei konnte folgendes festgestellt werden:

- Die einzelnen Enzymaktivitätsverläufe sind im Jahresverlauf unterschiedlich. Während hauptsächlich Dehydrogenase, CO_2 -Freisetzung und Biomasse-C ihre höchsten Werte in der Hauptwachstumsphase zeigten, war der Kulminationspunkt der Proteaseaktivität (z.T. auch der β -Glucosidase) im Herbst.
- Die mit Hilfe eines Grenzdifferenztestes erfolgte Unterschiedsfeststellung zwischen den einzelnen Düngervarianten zeigte für die biologischen Parameter keinen einheitlich günstigen Zeitpunkt für eine Probenahme im Jahresverlauf. Für eine bodenmikrobiologische Beurteilung eines derartigen Versuches sind daher mehrere über das Jahr verteilte Probenahmen zu empfehlen. Dabei soll auf die Düngungspraxis für den jeweiligen Standort Rücksicht genommen werden.
- Bei der Feststellung nachhaltiger und langfristiger Veränderungen im Bodenleben erwiesen sich hauptsächlich die Bestimmung des Biomasse-C und z.T. auch die Protease- und Dehydrogenaseaktivitätsbestimmungen als sensible Parameter.
- Kurzfristige Veränderungen wurden durch alle biologische Parameter angezeigt.
- Während mineral. Düngervarianten in den Enzymaktivitäten von der Kontrolle kaum verschieden waren, zeigten die Systeme Stallmist+Jauche und Gülle meistens höhere Aktivitäten.
- Für die Höhe der Bodenbelebung war die Wahl des Düngungszeitpunktes wichtig. Bei den Varianten Mistkompost + Jauche, Frischmist + Jauche, Gülle belüftet und unbelüftet und besonders bei Gülle + mineral. N konnte der optimale Düngungszeitpunkt des 2. Düngereinsatzes mit dem 3. Schnitt angegeben werden. Für die Varianten Gülle verdünnt, Gülle organisch-biologisch und Gülle biologisch-dynamisch war die 2. Düngung zum 2. Schnitt günstiger.

- Nach vorliegendem Ergebnis konnte für die angewandten Düngungssysteme folgende Reihung nach der besseren Förderung bodenbiologischer Aktivitäten angegeben werden: Stallmist-Jauchesystem >> Gülle > mineral. System

The Application of Biochemical and Enzymatic Methods in Soil Analysis at a Fertiliser Trial on Grassland

A field trial was carried out proving effects of different systems of fertilisation and manuring on an alpine grassland. The systems were: "Stable manure + liquid manure" (rotted manure + liquid manure, fresh manure + liquid manure (organic farming) decomposed manure + liquid manure (biodynamic)) and "slurry" (with and without ventilation, deluted, +N, organic farming treatment, biodynamic treatment) and "mineral fertilisation" (PK, NPK). Soil microbial biomass - C and soil enzymes such as dehydrogenase and protease and urease and β -glucosidase and CO_2 - release were estimated to investigate changes in soil microbial activity due to fertilisation.

The course of microbial activities was not uniform within the investigated periods (2 years). Dehydrogenase and biomass-C and CO_2 - release mostly showed their highest activities during the main growing phase of the grassland. On the other hand protease and partly β -glucosidase came up to their highest point in autumn.

It was impossible to recommend an appointed date for sampling within a year, which was favorable to see effects of fertilisation on different soil microbial activities. Therefore several samples should be taken in course of the year adapted to practices of grassland cultivation.

Enduring changes (promotion) of soil microbial activities were mainly found out by the determination of biomass-C less by dehydrogenase and protease and no enduring changes were established by urease and β -glucosidase and CO_2 - release.

Short dated changes were shown by each biochemical parameter. Microbial activities of mineral fertilised soil were not very different to control. On the other hand activities were

enhanced by the other systems (manure and slurry). The extent of enhancement mostly depended on the fertilisation date. Decomposed manure (biodynamic) and fresh manure (organic farming), slurry with and without ventilation and especially slurry + N should be applied at first and third reaping. The second fertilisation with slurry "deluted" and slurry "organic" and "biodynamic" was more favorable at the second reaping.

According to the results of the fertiliser trial it was possible to establish following sequence due to enhancement of soil microbial activities:

Stable manure + liquid manure \gg slurry $>$ mineral fertilisation.

5. Literatur

- ANDERSON, J.P.E., and DOMSCH, K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 215-221
- BUCHGRABER, K. (1984): Die Wirksamkeit konventioneller und alternativer Dungungssysteme auf dem Grünland. *Forderungsdienst* 11, 306-313
- HOFFMANN, G. und DEDEKEN, M. (1965): A colorimetric method for determining β -glucosidase activity in soils. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd.* 108, 193-198
- ISERMAYER, H. (1952): Eine einfache Methode zur Bestimmung der Pflanzenatmung und der Karbonate im Boden. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd.* 56, 26-28
- JÄGGI, W. (1976): Die Bestimmung der CO_2 - Bildung als Mass der bodenbiologischen Aktivität. *Schweiz. Landw. Forsch.* 15, 371-380
- LADD, J.N. and BUTLER, J.H.A. (1972): Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.* 4, 19-30
- TABATABAI, M.A. and BREMNER, J.M. (1972): Assay of urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 4, 479-487

THALMANN, A. (1968): Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Landwirtsch.Forsch. 21, 249-258

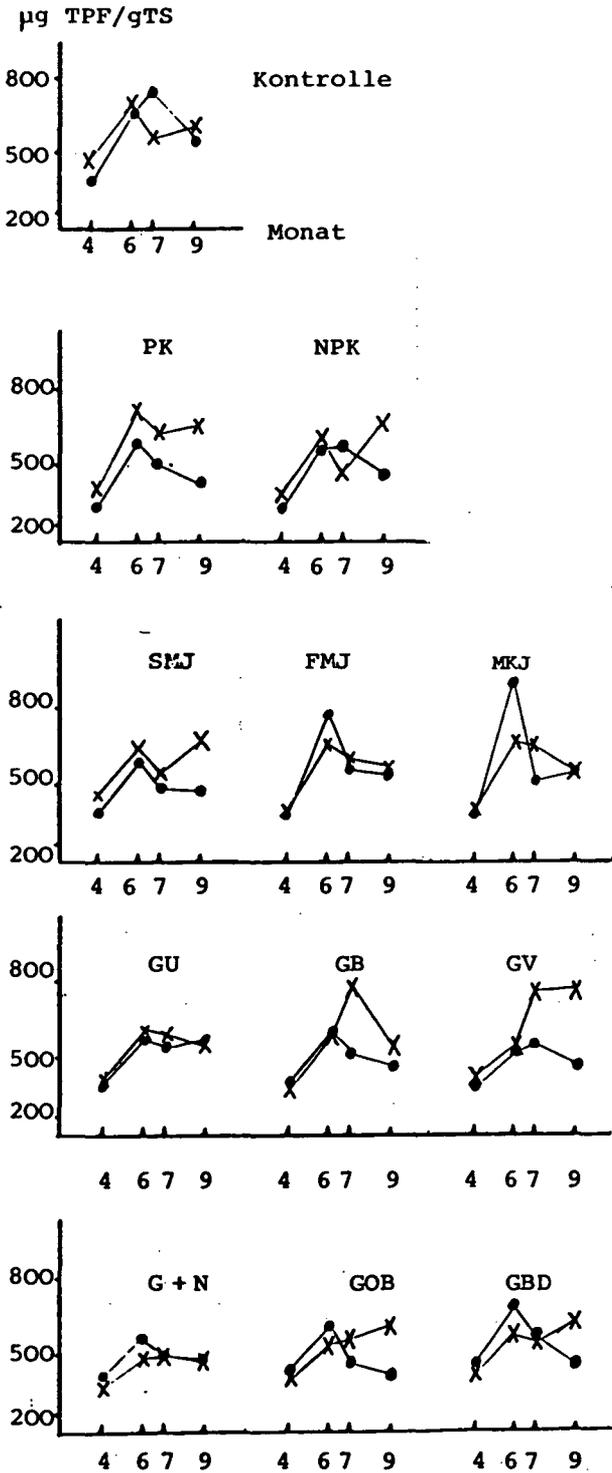
Anschrift: Dipl.Ing. Richard Öhlinger
Landwirtschaftlich-chemische Bundesanstalt
Wieningerstr. 8
A-4025 Linz

Abb. 1

DEHYDROGENASE

Versuchsjahr 1983

- × Subvar. 1
- Subvar. 2



Mineraldüngung

Stallmist-Jauche-System

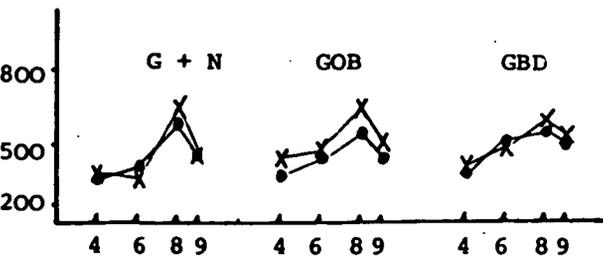
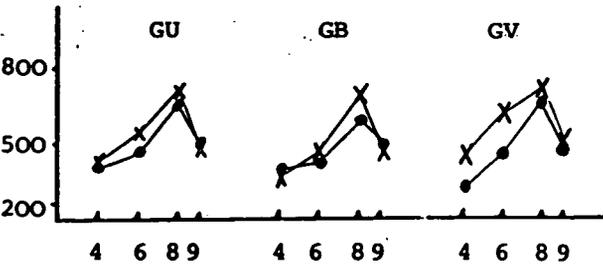
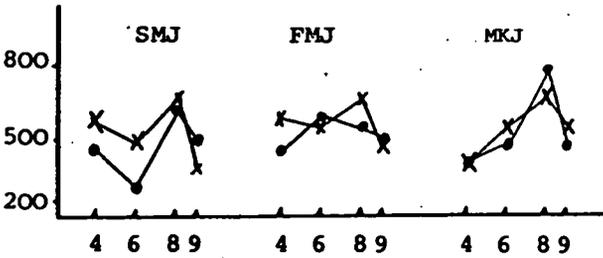
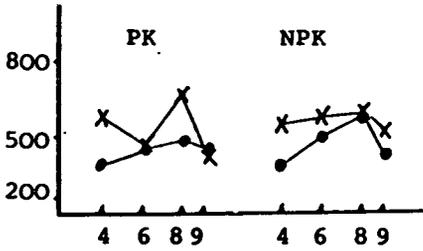
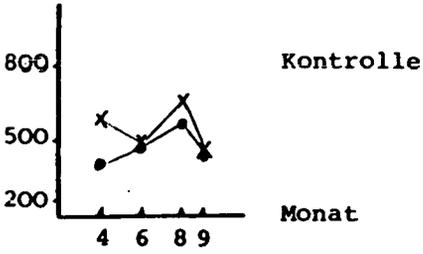
Güllesystem

Abb. 2

DEHYDROGENASE
Versuchsjahr 1984

× Subvar. 1
● Subvar. 2

µg TPF/gTS



Mineraldüngung

Stallmist-Jauche-System

Gülesystem

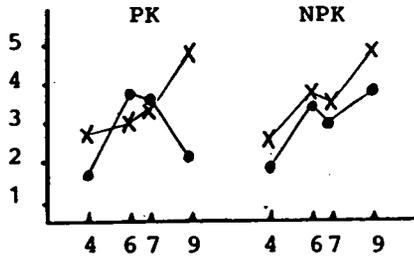
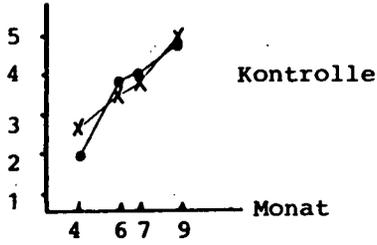
mg Ty.-A./gTS

Abb. 3

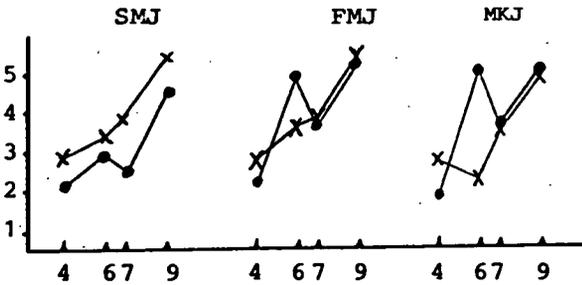
PROTEASE

Versuchsjahr 1983

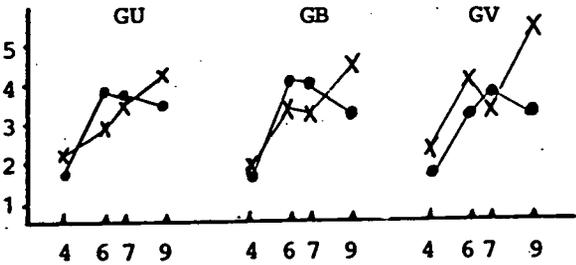
- X Subvar. 1
- Subvar. 2



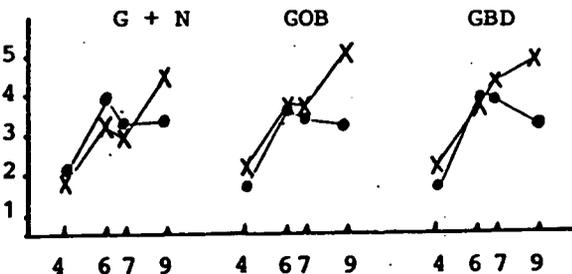
Mineraldüngung



Stallmist-Jauche-System



Güldesystem



mg Ty.-Ä./gTS

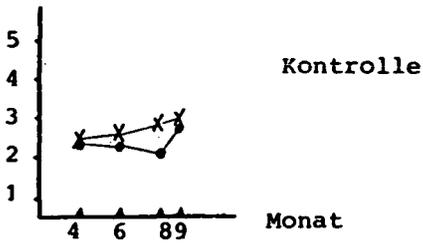


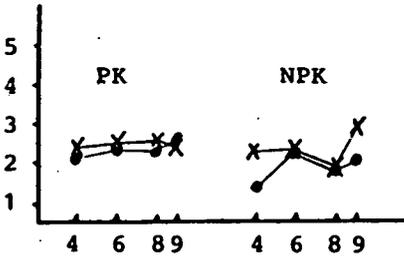
Abb. 4

PROTEASE

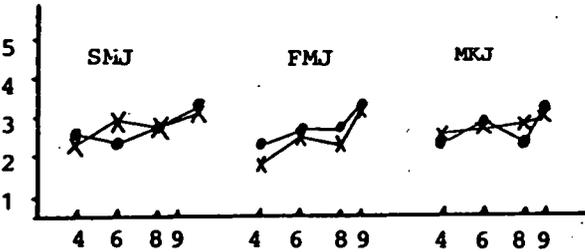
Versuchsjahr 1984

X Subvar. 1

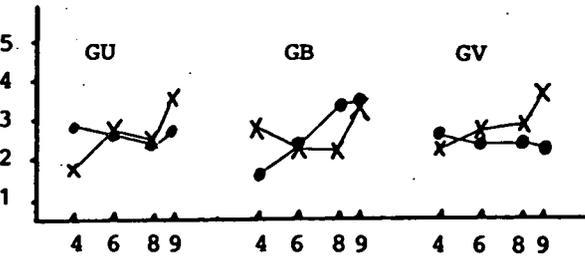
● Subvar. 2



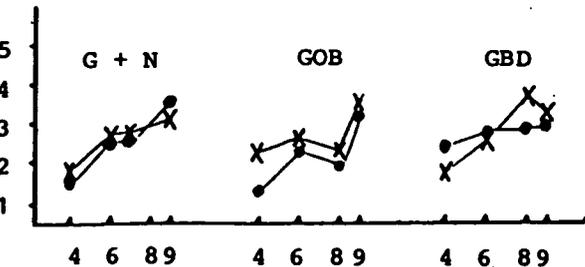
Mineraldüngung



Stallmist-Jauche-System



Gülfesystem



mg CO₂/h.100gTS

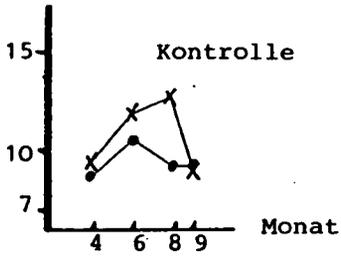
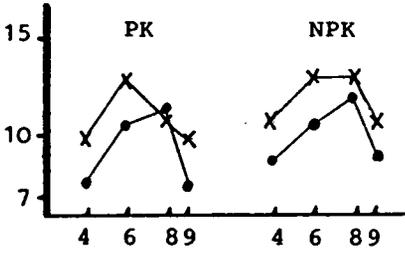


Abb. 5

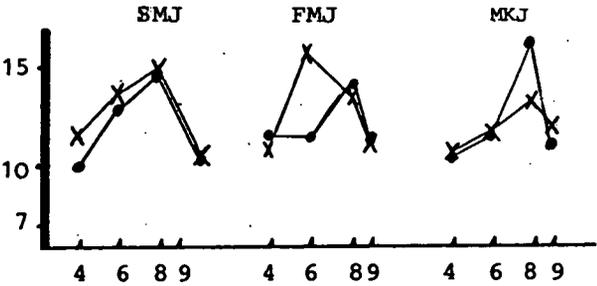
BIOMASSE-C

Versuchsjahr 1984

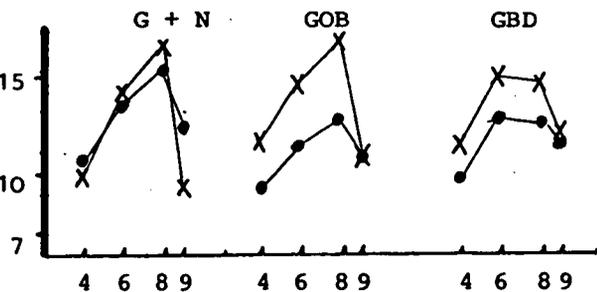
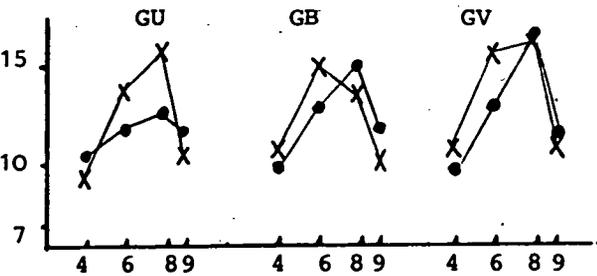
- X Subvar. 1
- Subvar. 2



Mineraldüngung



Stallmist-Jauche-System



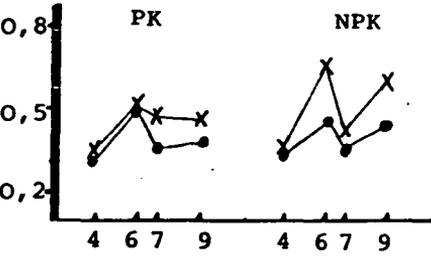
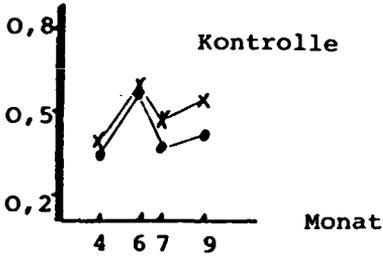
Güllesystem

Abb. 6

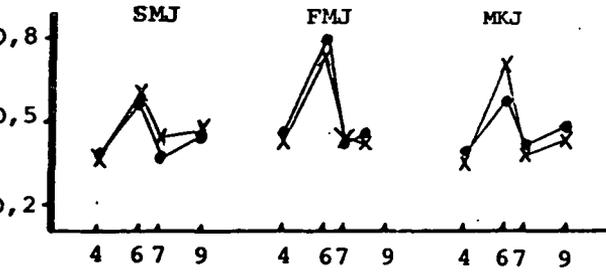
CO₂-FREISETZUNG
Versuchsjahr 1983

- X Subvar. 1
- Subvar. 2

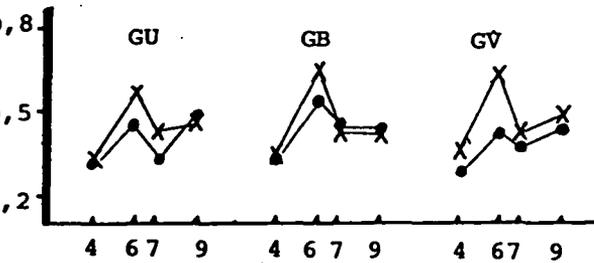
mg CO₂/gTS.24h



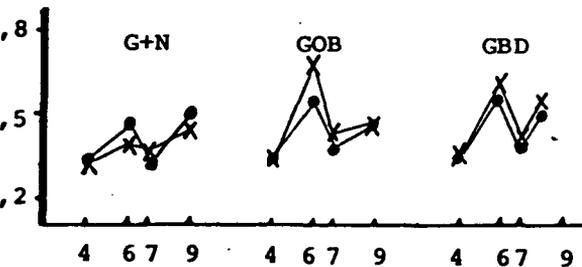
Mineraldüngung



Stallmist-Jauche-System



Gülesystem



β -Glucosidasezahl

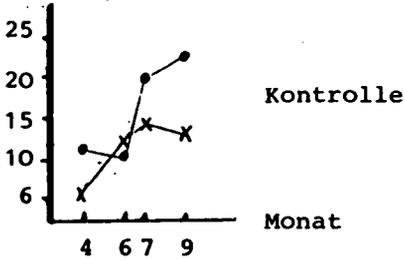
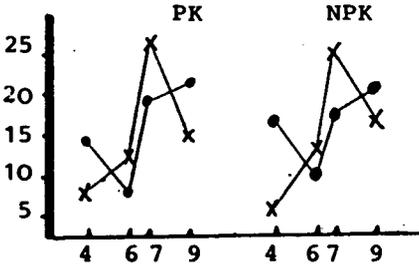


Abb. 7

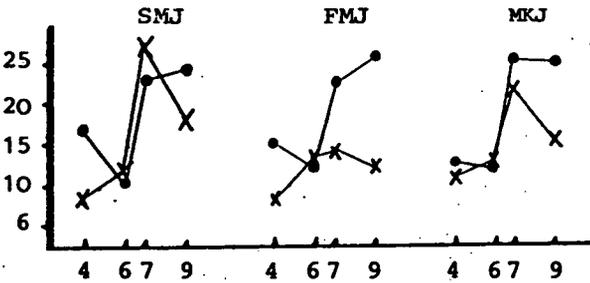
β -GLUCOSIDASE

Versuchsjahr 1983

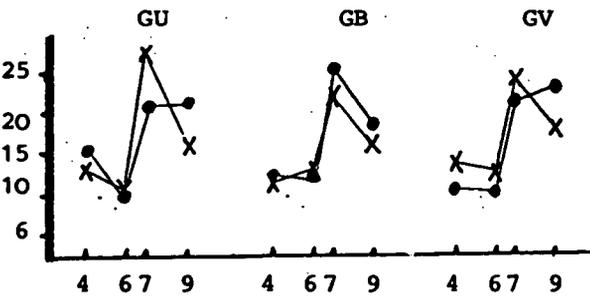
X Subvar. 1
● Subvar. 2



Mineraldüngung



Stallmist-Jauche-System



Gülfesystem

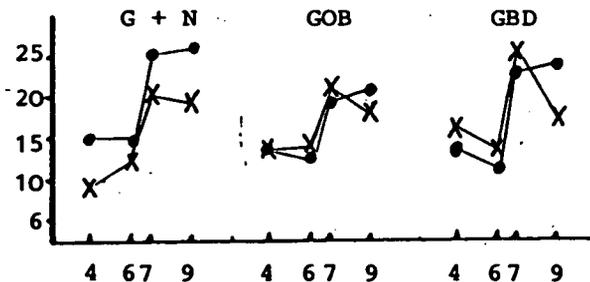
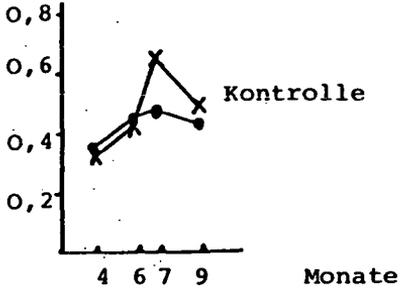


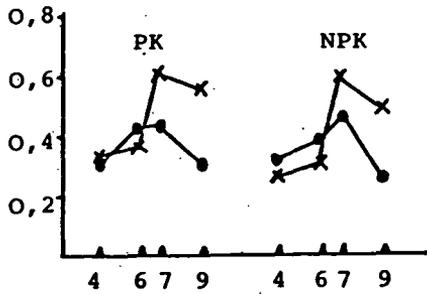
Abb. 8

mg NH₄-N/g

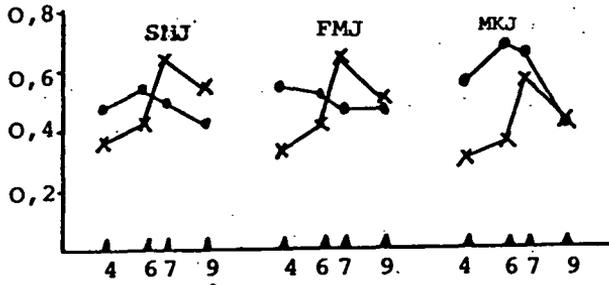


UREASE
Versuchsjahr 1983

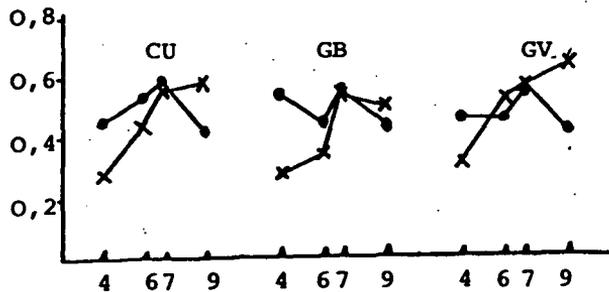
× Subvar. 1
● Subvar. 2



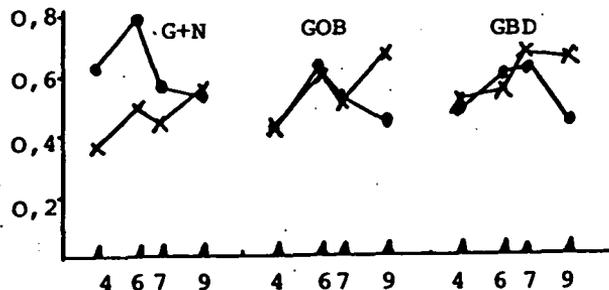
Mineraldüngung



stallmist-Jauche-System



Gülesystem



Arginine Ammonification in soil samples

von K. A l e f und D. K l e i n e r

1. Introduction

Several methods are available to assess the microbial activity in soils, like direct counting of the microorganisms (SÖDERSTRÖM, 1977), soil extraction and determination of ATP (OADES and JENKINSON, 1979), enzymes (KUPREVICH and SHCHERBAKOVA, 1971) or cell components (SWIFT, 1973), physiological methods such as an assay of respiratory activities, or the determination of biomass (ANDERSON and DOMSCH, 1975). Most of these methods are time-consuming and require expensive equipment. In the present work we developed a simple and inexpensive method to determine microbial activity potentials in soils, based on ammonification of arginine. Ammonification is defined as ammonia liberation from nitrogenous compounds which are used as C- and N-sources.

2. Materials and Methods

A total of 23 surface soil samples (2 - 5 cm depth), selected to obtain a wide range in pH (4.0 to 7.9), organic C (0.9 to 8 %) and clay (5 to 48 %) were used. The samples were sieved (2 mm screen) in the field-moist condition and stored moist at +4°C. All measurements were carried out with samples stored at +4°C for about 2 - 3 weeks. 24 hours before used the samples were removed from +4°C and incubated at room temperature.

Soil samples of 2 g (moist soil) were placed in small flasks (d = 2.2 cm, h = 4.4 cm). The flasks were prepared with cotton plugs and incubated at 30°C for 1 hour, then 0.5 ml of arginine (0.2 % in water) was added (dropwise). At specified times (0, 1, 2 up to 6 hours) the flasks were removed and stored at -20°C. Routinely 2 - 3 replicates were measured.

After storage the samples were mixed with 8 ml 2M KCl and stirred for 15 min in 50 ml beakers.

After centrifugation (2 - 5 min), 0.5 ml of the clear supernatant was used for ammonium estimation as described (GADKARI, 1984).

Measurement of O₂ consumption:

O₂ consumption was determined in an electrolytic respirometer at 22°C as described (ANDERSON and DOMSCH, 1975).

3. Results

More than 80 strains (bacteria and fungi) from several soils and which differed in morphology, pigmentation and Gram-staining were able to ammonify several amino acids. The best response was with arginine as substrate. Similar results were found when soil samples were used. Further we found that the ammonification rate remains linear for at least 1 hour, indicating that the microorganisms ammonify at once without changing their physiological status (Fig. 1).

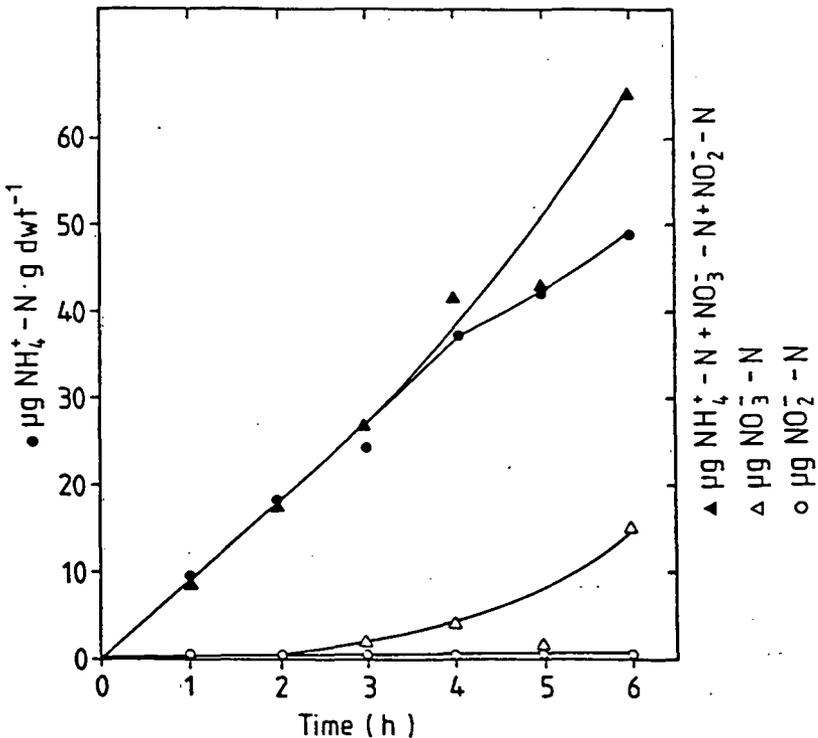


Fig.1. Time course of arginine ammonification by soil sample.

During the early incubation time (0 to 3 hours) depending on the pH of the soils, no or up to 10% of the liberated ammonia was oxidized to nitrite and nitrate.

Moreover measurements could be carried out over wide range of temperature (Fig.2).

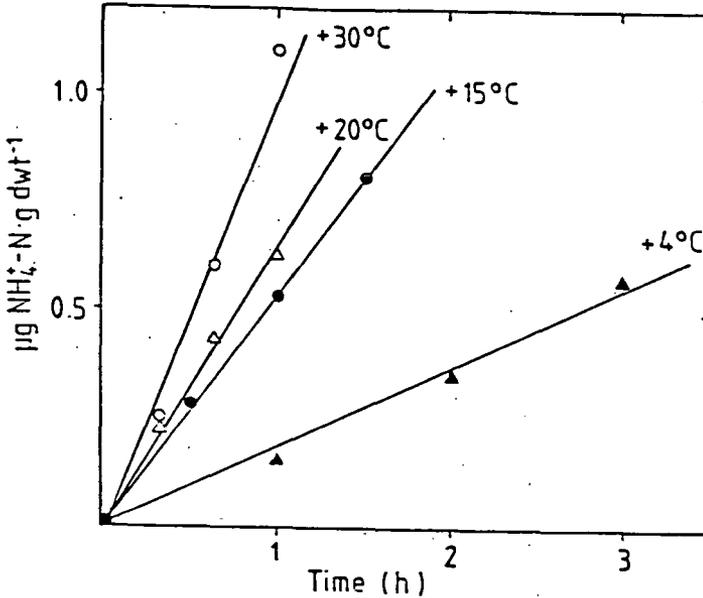


Fig.2. Temperature dependence of arginine ammonification by soil sample.

The ammonification of arginine and respiration by 23 surface soil samples was compared. Fig. 3 shows that there is a direct relationship between arginine ammonification and respiration in the soils studied. This correlation is highly significant ($r = 0.908$).

Statistical analysis showed that arginine ammonification is significantly correlated with organic C in the samples ($r = 0.785$) (Fig. 4).

There was no significant relationship between arginine ammonification and soil pH or percentage clay.

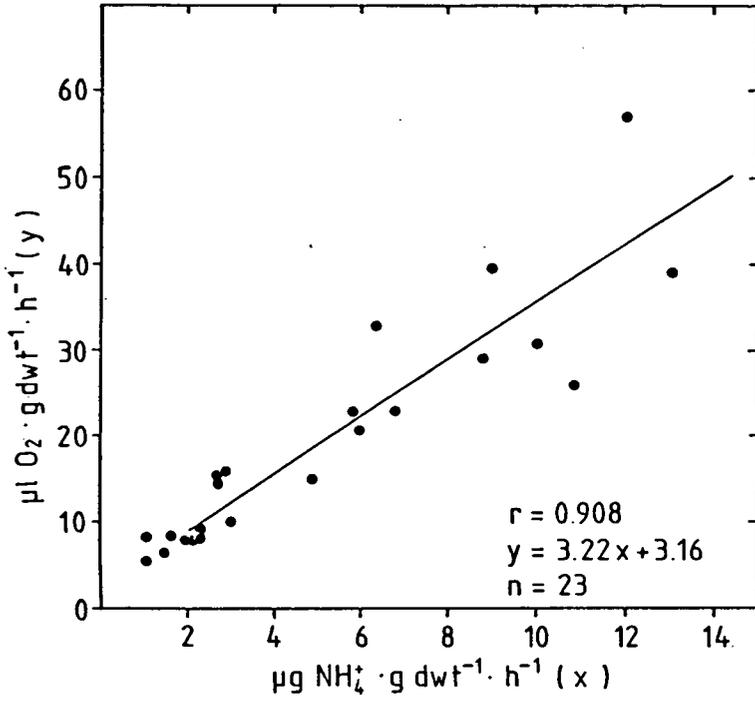


Fig.3. Relationship between arginine ammonification and respiration in soils.

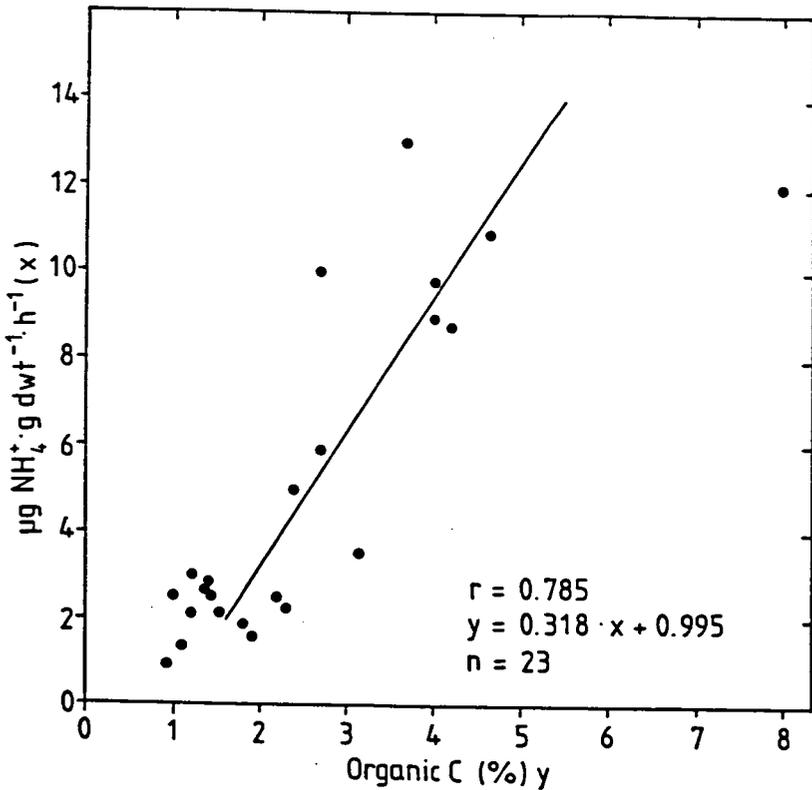


Fig.4. Relationship between arginine ammonification and organic C in soils.

4. Discussion

Our results confirmed the observations (ALEXANDER, 1977) that most if not all heterotrophic microorganisms liberate NH_4^+ when using nitrogen-rich compounds as C-sources. The linear rates of arginine ammonification measured indicate that both the activity and the number of microorganisms remain unchanged during the test. The consistent relationship between the arginine ammonification, respiration rate and organic C content justify the use of arginine ammonification as a valid indicator of microbial activity in soil.

5. Summary

A simple and inexpensive method to determine microbial activity potential, based on ammonification of arginine, was developed and tested on bacterial cultures and soil samples. Statistical analysis indicated that the arginine-ammonification is significantly correlated with respiratory activities ($r = 0.908$), and organic C ($r = 0.785$), in the 23 surface soil samples studied. There was no significant relationship between arginine ammonification and the soil pH or percentage clay.

6. References

- ALEXANDER, M. (1977): Soil Microbiology. Wiley, New York
- ANDERSON, J.P.E., DOMSCH, K.W. (1975): Measurements of bacterial and fungal contribution to respiration of selected agricultural and forest soils. Canadian Journal of Microbiology 21, 314 - 322
- GADKARI, D. (1984): Influence of the herbicides Goltix and Sencor on nitrification. Zbl. Mikrobiol. 139, 623 - 631
- KUPREVICH, V.F., SHCHERBAKOVA, T.A. (1971): Soil Enzymes (English translation). Indian Natural Science Documents Centre, New Delhi
- OADES, J.M., JENKINSON, D.S. (1979): The adenosine triphosphate content of the soil microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry 11, 201 - 204

SÖDERSTRÖM, B.E. (1977): Vital staining of fungi in pure cultures and in soil with fluorescein diacetate. Soil Biology and Biochemistry 9, 59 - 63

SWIFT, M.J. (1973): Estimation of mycelial growth during decomposition of plant litter. Bulletin of Ecological Research communications (Stockholm) 17, 53 - 59

Anschrift: Dr. Kassem Alef
Lehrstuhl für Mikrobiologie der Universität
8580 Bayreuth, FRG

Eine verbesserte Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und
mikrobiellen Biomasse

von G. Bachmann, A. Baumgarten und H.
Kinzel

1. Einleitung

Einer der wesentlichen Faktoren für die Aufrechterhaltung eines günstigen Bodenzustandes ist eine intakte Bodenmikroflora. Daher gewinnt Information über Größe und Aktivität dieser Mikroorganismenpopulation immer mehr an Bedeutung.

Beide Parameter lassen sich über die CO_2 -Evolution eines Bodens bestimmen: die Aktivität, indem man einfach den CO_2 -output, die "Bodenatmung", mißt; die Größe, indem man durch Zugabe von Glucose maximale Respiration stimuliert. Diese steht in einem direkten Verhältnis zur mikrobiellen Biomasse (ANDERSON und DOMSCH, 1978).

Es wurde nun versucht, bereits beschriebene Meßanordnungen durch Modifikationen und teilweise Neukonstruktionen weitestgehend zu verbessern.

2. Meßanordnung (Abb. 1)

Umgebungsluft wird über eine Pumpe in zwei hintereinandergeschaltete Waschflaschen (Schott, 500 ml) eingeleitet. Durch ca. 3n KOH oder NaOH wird das CO_2 absorbiert und die Luft wassergesättigt, wodurch ein Austrocknen der Proben verhindert wird. Der Gasstrom wird nun über einen Verteilerblock in die Küvetten (Abb. 2) geführt, die von unten nach oben durchströmt werden. Verteilerblock und Küvetten sind in einem Klimaschrank (Fa. Heraeus) installiert, um die von ANDERSON und DOMSCH verlangte Temperaturkonstanz ($22^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ$) zu gewährleisten. *(Probleme)* Nach dem Passieren von Staubfiltern wird die Probenluft über einen automatischen Probenumschalter (Fa. ADC, Type WA-161-3H Gas Handling Unit) zu einem Ultrarot-Absorptionsschreiber (URAS, Fa. ADC, Type 225 Mk3 Plant Physiology) weitergeleitet, der den CO_2 -Gehalt mißt. Ein nach den Waschflaschen abgezwigter Gasstrom, der zur Entwässerung durch eine Kältefalle geleitet wird, dient als Referenz für die Messung im URAS. Die Menge des evoluierten CO_2 wird in

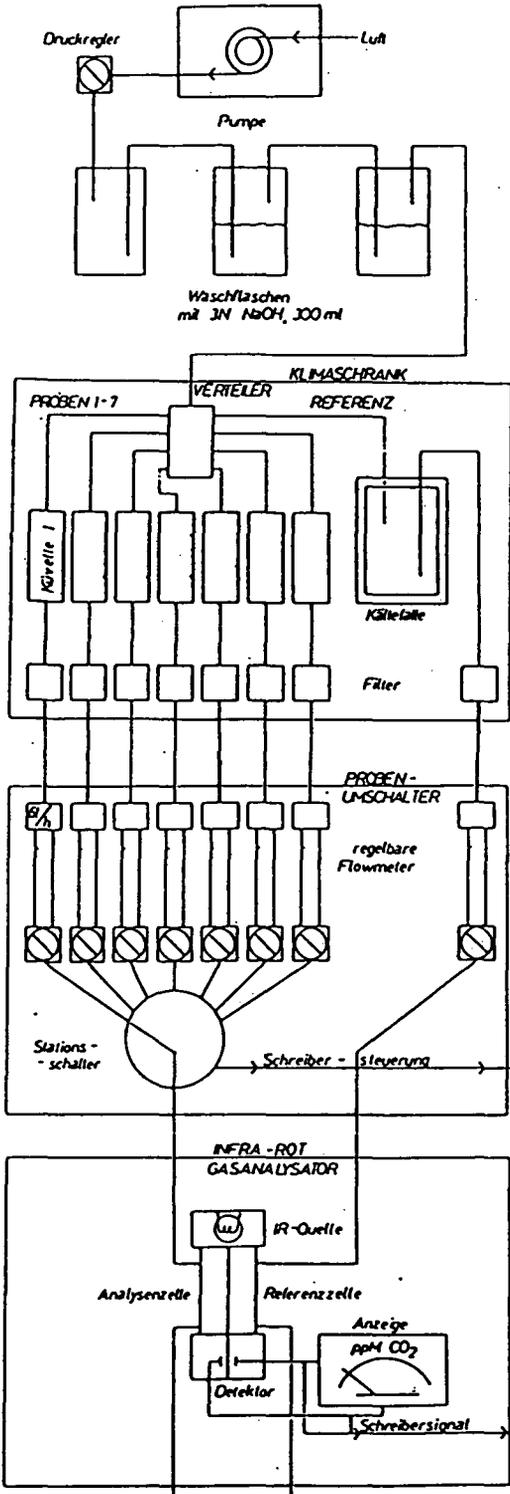


Abb. 1: Meßanordnung für CO₂-Bestimmung

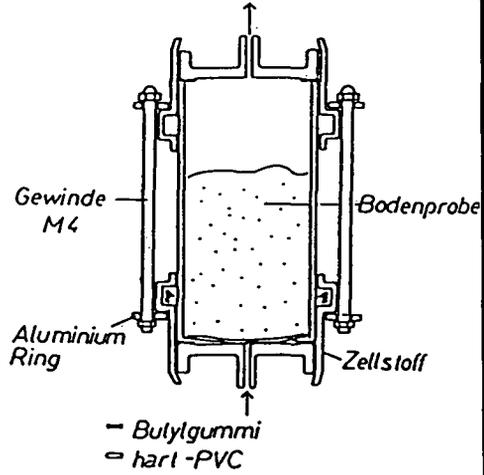
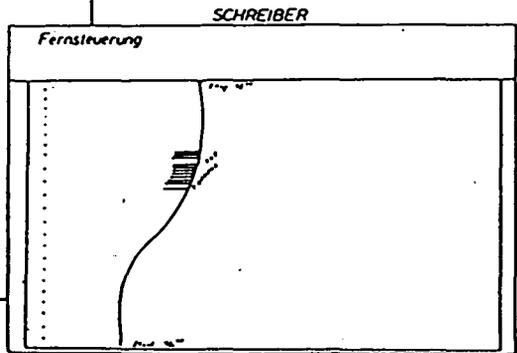


Abb. 2: Kuvette

G. Bachmann



ppm angezeigt und aufgezeichnet (Beckmann 10"Recorder). Eine Fernsteuerung durch den Probenumschalter ermöglicht es, nur jeweils die letzten 15 Sekunden einer Meßperiode aufzuzeichnen, wobei zur besseren Identifikation bei der ersten Küvette 30 Sekunden registriert werden. Die Durchflußrate beträgt 6l/h , die Meßdauer im allgemeinen 5 Minuten.

Der Gasstrom wird in Edelstahlrohren (Durchmesser 4 mm, Wandstärke 2 mm) geführt, für flexible Zwischenstücke wird PVC-Schlauch der gleichen Dimension (Fa. ADC) verwendet.

3. Umrechnung der Werte

3.1. ppm in ml CO₂/h/100g Frischsubstanz (FS)

$$x = \frac{d \cdot c}{10 \cdot e}$$

d... Durchflußrate in l/h

c... Konzentration in ppm

e... Einwaage in g

x... ml CO₂/h/100g FS

3.2. ppm in mg CO₂/h/100g FS

$$y = 1.96x$$

y... mg CO₂/h/100g FS

3.3. Berechnung der mikrobiellen Biomasse nach Anderson und Domsch

$$b = 40.04x + 0.37$$

b... Biomasse-C/100g FS

4. Diskussion

Zur Herstellung der Bodenküvetten wurde Hart-PVC-Rohr verwendet. Durch die Ineinanderschachtelung von Manschetten und Rohr, die doppelte Dichtung sowie das Metallkorsett kann

eine Undichtigkeit im Bereich der Küvetten praktisch ausgeschlossen werden. Die CO_2 -Permeabilität der Küvette und des gesamten Systems ist in Abb. 3 und 4 dargestellt.

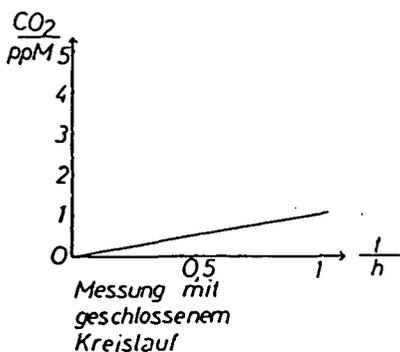


Abb. 3: CO_2 -Permeabilität der Küvette

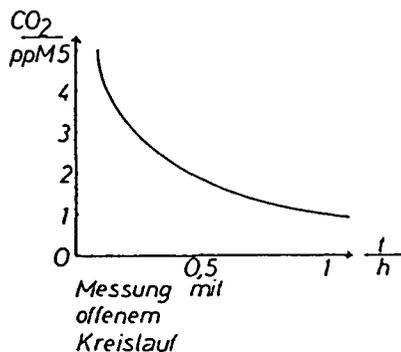


Abb. 4: CO_2 -Permeabilität des Systems

Man erkennt die extrem niedrigen Werte für die Eindiffusion von CO_2 . Dadurch ist eine hohe Genauigkeit der Meßwerte gewährleistet. Bei entsprechend sorgsamer Probenvorbereitung kann dadurch auch die Reproduzierbarkeit gesteigert werden.

Die Gasleitungen aus Edelstahl ermöglichen eine platzsparende und übersichtliche Installation sowie einen wartungsarmen Betrieb, da keinerlei Verschleißerscheinungen wie bei vergleichbarem Kunststoffmaterial auftreten. Lediglich die PVC-Schläuche müssen regelmäßig ausgetauscht werden, da aufgrund eines Alterungsprozesses die CO_2 -Permeabilität steigt.

Eine kontinuierliche Messung sollte nicht länger als 24 Stunden dauern, da sich in den Leitungen vor den Küvetten Kondenswasser sammeln kann. Dieses muß im Anschluß an jede Messung aus dem System entfernt werden. Bei Einhaltung dieser Reinigungsperioden kann die CO_2 -Evolution von Bodenproben mit den entsprechenden Unterbrechungen beliebig lang verfolgt werden.

Der besondere Vorteil dieser Meßmethode gegenüber der häufig angewendeten Absorptionsmethode (ISERMEYER, 1952)

liegt in der Möglichkeit der Beobachtung des zeitlichen Verlaufes des Atmungsvorganges. Außerdem wird durch das Durchströmen der Bodenprobe die Bildung von anaeroben Mikroarealen verhindert.

5. Zusammenfassung-Summary

Es wird eine verbesserte Meßanordnung zur Bestimmung von Bodenatmung und mikrobieller Biomasse nach ANDERSON und DOMSCH vorgestellt. Ihr besonderer Vorteil liegt in einer neuartigen Küvettenkonstruktion, die durch sehr geringe CO₂-Permeabilität hohe Meßgenauigkeit und damit auch verbesserte Reproduzierbarkeit gewährleistet. Durch fix installierte Stahlgasleitungen kann der Wartungsaufwand bei Dauerbelastung wesentlich verringert werden.

An Improved Method for the Determination of Soil Respiration and Microbial Biomass

An improved measuring system for the determination of soil respiration and microbial biomass by the method of ANDERSON and DOMSCH is presented. Its main advantage is the newly constructed cuvette, which guarantees high measuring accuracy and, as a consequence, improved reproducibility due to minimal CO₂-permeability. Fixed steel-tubings help to minimize the service time during continuous use.

6. Literatur

- ANDERSON, J.P.E., DOMSCH, K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. Soil Biol. Biochem. 10, 215 - 221
- ISERMEYER, H. (1952): Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Carbonate im Boden. Z. Pflanzenern. Düng. Bodenk. 56, 26 - 38

Anschrift: Gert Bachmann

Inst. für Pflanzenphysiologie, Universität Wien
Althanstraße 14
1091 Wien

Ansätze einer vergleichenden Darstellung bodenbiologischer
Parameter

von A. Baumgarten, M. Müllerbner und H.
Kinzel

1. Einleitung

Chemische und physikalische Parameter dienen seit jeher der Charakterisierung bestimmter Bodentypen. In jüngster Zeit wurden diese Untersuchungsmethoden jedoch durch ein Spektrum an bodenbiologischen und bodenbio-chemischen Analysenmöglichkeiten erweitert, die im Hinblick auf die Untersuchung anthropogener Einflüsse auf den Boden, aber auch den aktuellen Bodenzustand immer mehr an Bedeutung gewinnen.

Es wurde nun versucht, festzustellen, ob diese neuen, unmittelbar mit Lebensvorgängen im Boden verknüpften Parameter ähnliche, für bestimmte Böden charakteristische Muster aufweisen. Zu diesem Zweck sollte eine möglichst anschauliche Darstellungsweise entwickelt werden.

2. Ergebnisse und Diskussion

Als für diesen Zweck am besten geeignet erwies sich das Sterndiagramm (Abb. 1).

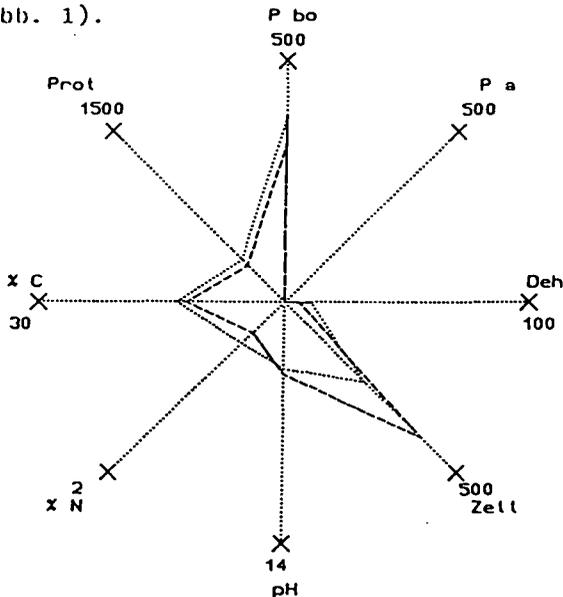


Abb. 1

Saure Braunerde unter Fichte

August 85

01.11.85

Legende:

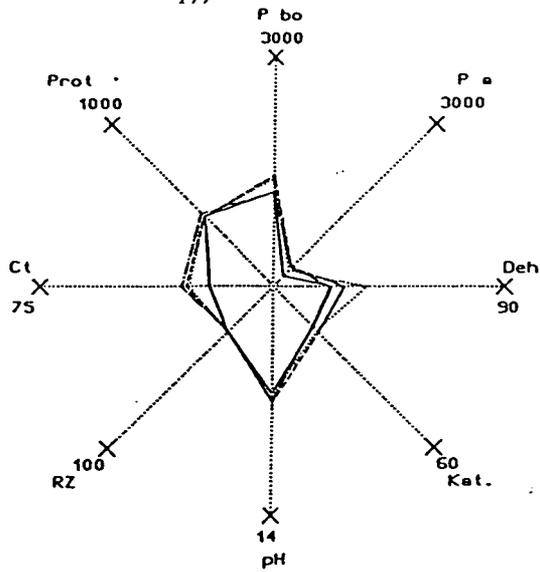
- P bo...Phosphatase im bodeneigenen pH-Bereich (Methode nach HOFFMANN, 1968, mod. nach MÜLLEBNER, 1984) in $\mu\text{g Phenol/gTS/h}$
- P a....alkalische Phosphatase (Methode nach HOFFMANN, 1968, mod. nach MÜLLEBNER, 1984) in $\mu\text{g Phenol/gTS/h}$
- Deh....Dehydrogenase (Methode nach THALMANN, 1967, mod. nach MÜLLEBNER) in $\mu\text{g Formazan/gTS/h}$
- Zell...Zellulase (Methode nach SCHINNER und HOFFMANN, 1978, mod. nach BAUMGARTEN, 1986) in $\mu\text{g Glucose/gTS/h}$
- Prot...Protease (Methode nach LADD und BUTLER, 1972) in $\mu\text{g Tyrosin/gTS/h}$
- pH.....pH-Wert in Wasser
- % N....Stickstoffgehalt in % TS
- % C....Kohlenstoffgehalt in % TS

Es können Meßdaten acht verschiedener Parameter an sternförmig angeordneten Achsen aufgetragen werden. Der Maßstab kann je nach Fragestellung willkürlich gewählt werden, z.B. ein mehrfaches eines Mittelwertes aus allen Meßdaten. Um die Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungen zu gewährleisten, empfiehlt es sich jedoch, einheitliche Größen zu verwenden.

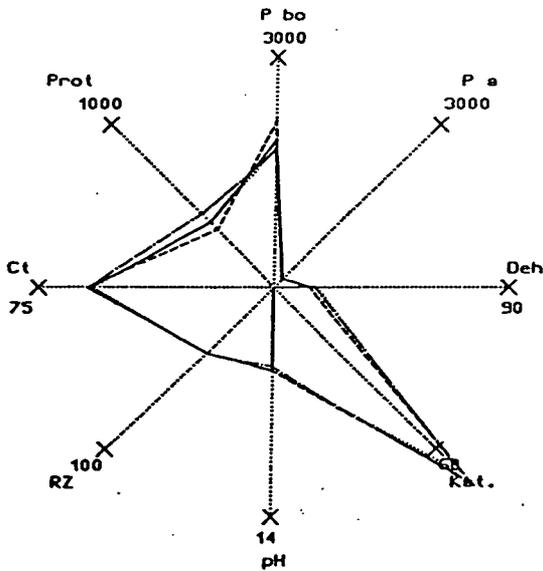
Die entsprechenden Punkte werden verbunden, wodurch eine sternförmige Figur entsteht. Auf diese Art läßt sich recht gut ein qualitativer Gesamteindruck gewinnen.

Es wurden Untersuchungsergebnisse sowohl von landwirtschaftlichen als auch forstlichen Böden in Sterndiagrammen dargestellt. Dabei ergaben sich im Hinblick auf individuelle Muster folgende Aspekte:

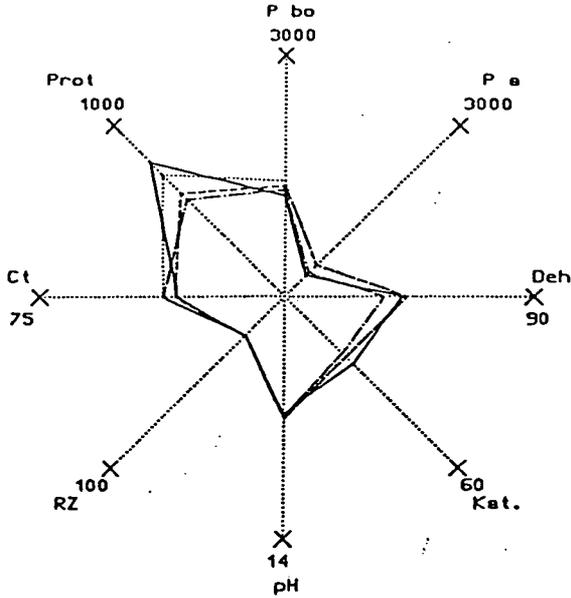
Im ersten Fall blieben die Werte das Jahr über relativ konstant oder änderten sich im gleichen Verhältnis, sodaß sich für einzelne Böden konstante charakteristische Sterne ergaben (Abb. 2). Zum Teil waren die Schwankungen der einzelnen Aktivitäten im Jahresverlauf jedoch so groß, daß keine wiederkehrenden Muster festgestellt werden konnten (Abb. 3). In diesen Fällen zeigten aber ähnliche Böden eines Standorts zum gleichen Zeitpunkt kongruentes Verhalten (Abb.4).



Silikat. Felsbraunerde - Acker



Silikat. Felsbraunerde - Wald



Silikat. Felsbraunerde - Wiese

- 13.4.
- 5.6.
- 28.7.
- . - . 8.10.

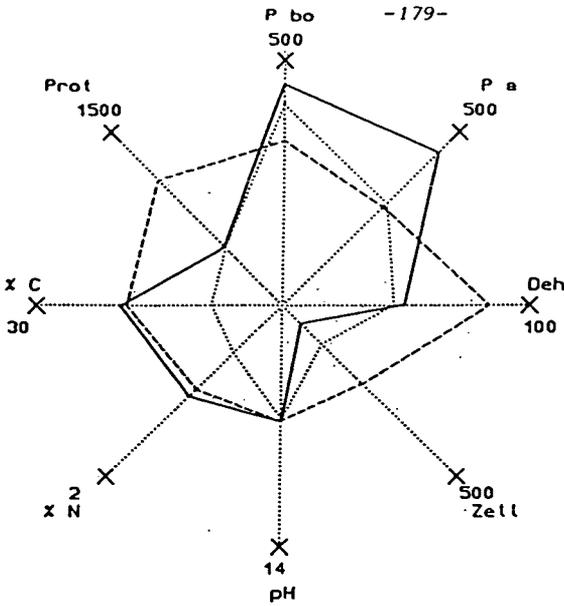
Ergänzung der Legende:

Kat....Katalasezahl (Methode nach BECK, 1971)

RZ.....Gehalt an Rohton und Schluff in %TS

Ct.....Kohlenstoffgehalt in mg/gTS

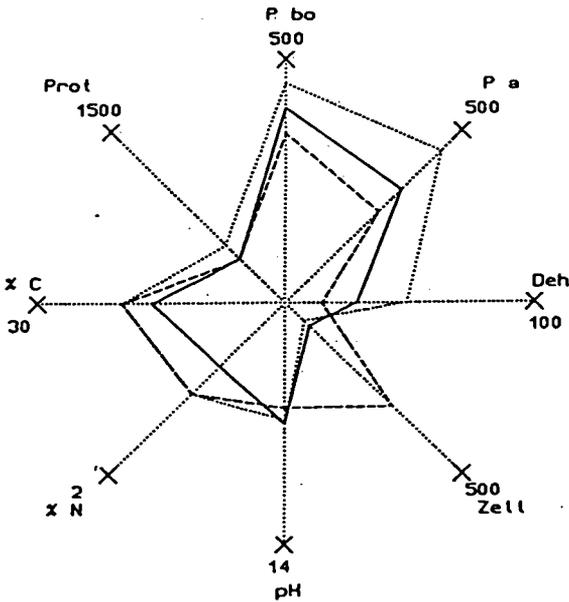
Abb. 2



Braunerde auf Kalk unter Fichte

Abb. 3

— Mai 85
 August 85
 - - - - - Oktober 85



Mai 85

Abb. 4

— Braunerde auf Kalk
 Braunerde auf Kalk
 - - - - - Braunerde auf Kalk

Ein zusätzlicher Vorteil dieser überblicksmäßigen Darstellungsmethode ist das schnelle Erkennen von Schwerpunkten bzw. Verschiebungen. Abb. 5 zeigt die für die untersuchten sauren Waldböden typische Gewichtung auf Zellulase und die Phosphatase im bodeneigenen pH-Bereich. Abb. 6 läßt die Reaktion eines Bodens auf das Absterben von Bodentieren erkennen.

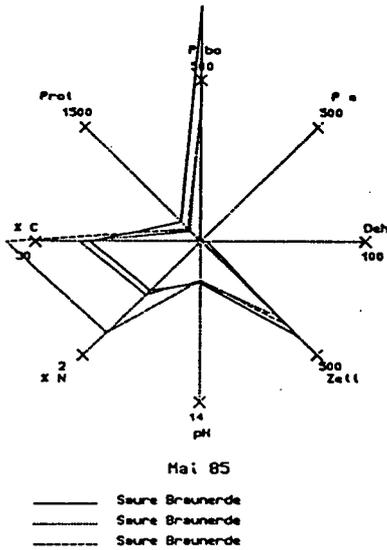


Abb. 5

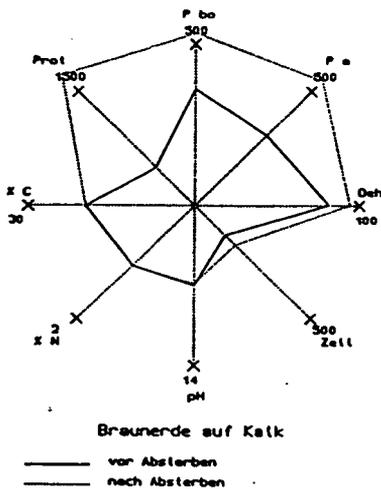


Abb. 6

Die Darstellung in Sterndiagrammen kann vor allem als anschauliche Ergänzung und Interpretationshilfe für verschiedenste Vergleiche herangezogen werden.

3. Zusammenfassung - Summary

Sterndiagramme dienen als anschauliche Ergänzung und Interpretationshilfe für verschiedenste Vergleiche. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, "individuelle Muster" boden-biologischer und bodenchemischer Parameter von verschiedenen Böden darzustellen. In der Zusammenschau zahlreicher Meß-daten zeigten sich bei einigen Böden charakteristische Sterne, die im Jahresverlauf konstant blieben, zum Teil ergaben sich für ähnliche Böden eines einheitlichen Standortes (z.B. Wald) zu bestimmten Zeiten ähnliche Muster.

Die Darstellungsweise in Form von Sterndiagrammen erleichtert weiters ein schnelles Erkennen von Schwerpunkten und Verschiebungen einzelner Parameter.

A New Method for Comparative Presentation of Soil Biological Parameters

Star-diagrams serve as illustrative addition and aid for the interpretation of various comparisons. In the present work it has been tried to figure out "individual patterns" of soil-biological and soil-chemical parameters in different soils. In the review of several data some soils appeared to give characteristic star-diagrams, that stayed constant throughout the year. In some cases similar soils from uniform areas (e.g. forests) showed comparable patterns at distinguished times. Furthermore, star-diagrams help to recognize "dominant" parts and changes of special parameters.

4. Literatur

- BAUMGARTEN, A., KINZEL, H. (1986): Biologie des Wurzelraumes geschädigter Bäume. (unveröffentlicht)
- BECK, Th. (1971): Messung der Katalaseaktivität von Böden Z. Pflanzenern. Bodenk. 130, 68 - 81
- HOFFMANN, G. (1968): Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Phosphataseaktivität im Boden. Z. Pflanzen-

ern. Düng. Bodenk. 118, 161 - 172

LADD, J.N., BUTLER, J.H.A. (1972): Short term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and peptide derivatives as substrates. Soil Biol. Bioch. 4, 19 - 30

MÖLLEBNER, M. (1984): Enzymaktivitätsuntersuchungen im Wurzelbereich von Böden unter einigen Vegetationseinheiten mit verschiedenartiger Nutzung. Diss. Universität Wien, Inst. f. Pflanzenphysiologie

SCHINNER, F., HOFFMANN, J. (1978): Zellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivitätsmessungen in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. In Cernusca, A., 1978: Ökologische Analysen von Almflächen im Gasteiner Tal. Veröffentlichung des österr. Ma B Hochgebirgsprogrammes Hohe Tauern, Bd. 2, Universitätsverlag Wagner, Innsbruck

THALMANN, A. (1967): Über die mikrobielle Aktivität und ihre Beziehungen zwischen Fruchtbarkeitsmerkmalen einiger Böden unter besonderer Berücksichtigung der Dehydrogenaseaktivität. Diss. Universität Gießen

Anschrift: Andreas Baumgarten

Inst. f. Pflanzenphysiologie, Universität Wien

Althanstraße 14

1091 Wien

Acetylenreduktion (Stickstofffixierung) und Stickstoffmineralisation in verschiedenen Böden Ostösterreichs

von S. B o l t e n s t e r n und H. K i n z e l

Einleitung

Trotz einer Flutwelle von Publikationen zur biologischen Stickstofffixierung in den letzten Jahren, gibt es hierzu kaum vergleichende Untersuchungen im mitteleuropäischen Raum, bei denen die Aktivität von freilebenden Bodenbakterien unter natürlichen Bedingungen gemessen wurde. In diesen Zusammenhang erschien es wichtig, auch die Stickstoffmineralisation sowie Gesamtstickstoff- und Kohlenstoffgehalte zu erfassen.

Untersucht wurden 27 verschiedene Böden an 10 Standorten, die ein möglichst breites Spektrum von Bodentypen wiedergeben sollten. Je nach den örtlichen Gegebenheiten wurden an jedem Standort auch der Einfluß der Vegetation durch die Beprobung von Wald-, Wiesen- und Ackerflächen getestet. Die Messungen erstreckten sich über zwei Jahre, in denen durchschnittlich vier Aufsammlungen durchgeführt wurden.

Material und Methoden

Stickstofffixierung:

Die Nitrogenaseaktivität wurde mit Hilfe der Acetylen-Reduktionsmethode erfaßt. Um das System möglichst wenig zu stören, wurden die Proben in Form von Bodenzylindern (7cm x 8cm \emptyset) aus dem A-Horizont entnommen und noch am selben Tag vermessen.

Die Inkubation erfolgte in 1/2l-Glasgefäßen der Fa. Luminarc, Frankreich, die mit einem Septumverschluß zur Entnahme von Gasproben versehen worden waren.

Die Meßdauer betrug maximal 48 Stunden. Während dieser Zeit wurden die Proben bei 22 $^{\circ}$ C im Dunkeln gelagert. In Abständen von 2-10 h wurde die Zunahme an Ethylen im Gefäß gaschromatographisch festgehalten, nachdem zu Beginn des Versuchs 10 Volumensprozent Acetylen in das Gefäß injiziert worden waren. Verwendet wurde ein Gaschromatograph Packard 427 mit Integrator Typ 3390A, Säulenfüllung Porapak R, 80-100 mesh, Ofentemperatur 100 $^{\circ}$ C, Trägergas N $_2$, 20 ml/min und einem Flammenionisationsdetektor.

Stickstoffmineralisation:

Die Stickstoffmineralisation wurde nach der Methode von GERLACH (1973) untersucht. Eine Mischprobe wurde in 4 Teile geteilt. Die Teile 1 und 2 wurden sofort auf Ammonium und Nitrat geprüft, Teil 3 wurde für 6 Wochen am Standort vergraben und Teil 4 im Labor bei 22°C bebrütet. Für die Aufstellung der Tabelle wurde der Mittelwert von 1 und 2 bzw. 3 und 4 verwendet.

Die Analyse erfolgte durch alkalische Destillation nach Kjeldahl, vor und nach Zugabe von Devarda-Reagenz.

Weitere Analysen:

Kohlenstoffgehalt, Stickstoffgehalt und C:N-Verhältnis wurden an einem CHN-Analyzer der Fa. Hereus nach Verbrennung, mittels Wärmeleitfähigkeitsdedektor bestimmt.

Die pH-Messung erfolgte in 0,01 M CaCl₂-Lösung nach SCHEFFER/SCHACHTSCHABEL (1984)

Die Beschreibung der Böden wurde unter Zuhilfenahme der Bodenkarten der Bundesanstalt für Bodenkultur, Wien durchgeführt. Die Vegetationseinheiten wurden von Mag. Zechmeister, Inst.f. Pflanzenphysiologie, Wien, nach OBERDORFER (1975) und ELLENBERG (1978) klassifiziert.

3. Ergebnisse

Tabelle 1 und 2 geben eine Beschreibung der Bodenverhältnisse und der Vegetation wieder. In Tabelle 3 sind die bodenchemischen Ergebnisse aufgelistet, sowie die Ethylenproduktion in Zahlen (Mittelwert und Standardabweichung). Die Umrechnung von Ethylenproduktion auf Stickstofffixierung erfolgt theoretisch durch Division durch den Faktor 3 (nmol /g Boden Frischgewicht/ Tag) bzw. Multiplikation mit der Zahl 4 (kg / ha / Jahr).

Diese Werte müssen aber erst durch Versuche mit markiertem Stickstoff ¹⁵N verifiziert werden, da manche Böden in ihren Umrechnungsfaktoren von diesem theoretischen Wert abweichen können. (LETHBRIDGE, 1982) Besonders bei der Extrapolation auf den Jahresumsatz kann es sich nur um eine Schätzung handeln.

Die Abbildungen 1 und 2 geben nebeneinander Stickstofffixierung, Stickstoffmineralisation und Nitrifikationsgrad zu jedem Boden wieder. Die Mineralisationsblöcke sind durch eine vegetationsbezogene Schraffierung gekennzeichnet. Der direkt

Kürzel	Ort	Bodenbeschreibung	pH	Vegetation
JU-I	Judenburg	Ranker aus kristallinem Schiefer und anderem Kristallin, mäßig trocken	3,6	Fichtenforst, alter Bestand Vaccinium myrtillus, Avenella flexuosa Stammablauf
JU-II	--	--	3,4	
JU-III	--	--	3,7	Fichtenforst, jüngerer Bestand
JU-IV	--	--	5,3	Mähwiese mit hohem Rotkleeanteil Kl. Molinio-Arrhenatheretea
AI-I	Aigen	Schwach entwickelte Felsbraunerde aus silikat. Material Hanglage, mäßig feucht	4,0	Artenarmer Kiefern/Tannenschwald Ass. Vaccinio-Abietetum Kl. Quercu-Fagetes Roggenfeld
AI-II	--	Tiefgründigere kalkfreie Felsbraunerde aus silikatischem Material Mittelhang, mäßig feucht	5,9	
AI-III	Grohdorf	Braunerde in Talboden ebene Lage, feucht	6,0	Feuchtwiese O. Molinietales Kl. Molinio-Arrhenatheretea
ST-I	Stuhleck	kalkfreie Felsbraunerde aus Hangschutt, Hanglage mäßig trocken	3,1	Fichtenforst ohne Unterwuchs
ST-II	--	--	4,3	Goldhaferbergwiese V. Polygono-Trisetion Kl. Molinio-Arrhenatheretea
RE-I	Rekawinkel	Podsol in Oberhanglage	3,1	Tannenforst ohne Unterwuchs
RE-II	--	Silikatische Felsbraunerde aus sandig-tonigem Flyschverwitterungsmaterial, ebene Lage mäßig feucht	4,2	Hainsimsen-Buchenwald UV. Luzulo-Fagion Kl. Quercu-Fagetes
RE-III	--	--	6,1	Feuchtwiese UV. Molinietales Kl. Molinio-Arrhenatheretea
FU	Furbach	n.b.	6,8	Weingarten

Tab. 1

Kürzel	Ort	Bodenbeschreibung	pH	Vegetation
HB-I	Stopfenreuth	Vergleyter, kalkhaltiger, reifer grauer Auboden aus feinem Schwemmaterial, gut wasser-versorgt, ebene Lage	7,3	Weichholzau UV.Salicion Kl.Querco-Fagetea
HB-II	"-	Feines Schwemmaterial direkt an Altarm	7,4	keine Vegetation
HB-III	"-	wie HB-I	7,3	Mähwiese Kl.Molinio-Arrhenatheretea
BE	Berg	Degradierter Tschernosem aus Löss, Hanglage, trocken	5,0	Robinienforst
NI-I	Nickelsdorf	Tschernosem aus Löss Hanglage, trocken	7,6	Robinienforst
NI-II	"-	Tschernosem aus Löss Oberhang, trocken	7,4	Subozeanischer (Halb)trocken-rasen, O.Brometalia erecti Kl.Festuco- Brometea
SW-I	Oberstinker-see	Überlagerter, versalzter, karbonat-hältiger Gley aus Kalksand über feines Schwemmaterial, feucht	8,0	Zickgraswiese Ass.Puccinellio-Asteretum K.Puccinellio-Salicornetea
SW-II	Hölle	Karbonathaltiger Solontschak-Solonetz aus feinem Schwem-material, wechselfeucht	9,3	Blindzigstelle Ass.Puccinellio-Lepidietum Kl.Puccinellio-Salicornietea
SW-III	Kirchsee	Karbonathaltiger Solontschak-Solonetz mit hohem Grobanteil (Kies, Schotter), naß	7,8	Salzbinsenröhricht Ass.Juncetum gerardii K.Salicornetea
SW-IV	Apetlon	Karbonathaltiger Solonetz wechselfeucht	8,1	Wermutsteppe Ass.Staticeto-Artemisietum
WV-I	Meloner Au	Übergangswaldmoor	3,3	Fichtenwald auf Torf Ass.Bazzanio-Piceetum Kl.Vaccinio-Picetea
WV-II	"-	Dystrophes Torfmoor	3,5	Bergkiefernhochmoor Ass.Pinus mugo-Sphagnetum Kl.Oxycocco-Sphagnetea
WV-III	"-	oligotrophes Torfmoor	3,5	Braunseggenstumpf Ass.Caricetum nigrae Kl.Scheuchzerio-Caricetea nigrae
WV-IV	"-	Torfgyttia	3,3	Torfschlammshlenke ohne Vegetation

Tab.2

Proben- bezeichnung	N ₂ -Fixierung nmol C ₂ H ₄ /g /d	%N	%C	C:N
JU-I	0,206±0,043	0,50	11,30	22,71
II	0,113-0,056	0,38	11,79	31,85
III	0,237-0,125	0,29	6,64	22,83
IV	*135,240-100,240	0,33	3,48	10,61
AI-I	0,035-0,012	0,64	14,35	22,59
II	0,071-0,065	0,19	2,87	15,32
III	*14,109-11,001	0,47	5,54	11,79
ST-I	0,105-0,075	0,67	15,70	23,33
II	*2,696-1,649	0,49	6,29	12,82
RE-I	0,028-0,008	0,92	22,85	25,41
II	0,026-0,010	0,08	1,87	23,39
III	0,895-0,340	0,08	1,76	22,30
PU	0,028-0,005	0,22	3,62	18,10
HB-I	0,394-0,056	0,25	6,67	26,50
II	1,155-0,666	0,11	4,97	43,96
III	0,157-0,021	0,13	4,50	35,68
BE	*10,263-4,419	0,41	4,77	11,67
NI-I	0,607-0,831	0,29	4,22	14,54
II	1,158-0,434	0,44	4,39	12,70
SW-I	2,245-1,256	0,21	8,65	40,66
II	3,480-3,176	0,06	5,65	129,06
III	5,973-3,859	0,05	4,06	72,55
IV	4,744-3,079	0,14	2,66	18,73
WV-I	0,804-0,997	1,99	40,87	20,56
II	16,857-9,284	2,43	47,10	19,86
III	4,867-2,025	3,72	42,03	11,31
IV	1,041-0,461	2,30	45,06	19,59

* Leguminosen beteiligt

Tab.3

Ethylenproduktion (Stickstofffixierung) N-min Freisetzung in 6 Wochen
 Mittelwert aus 4 Aufsammlungen Nitrifikationsgrad der exp. Probe

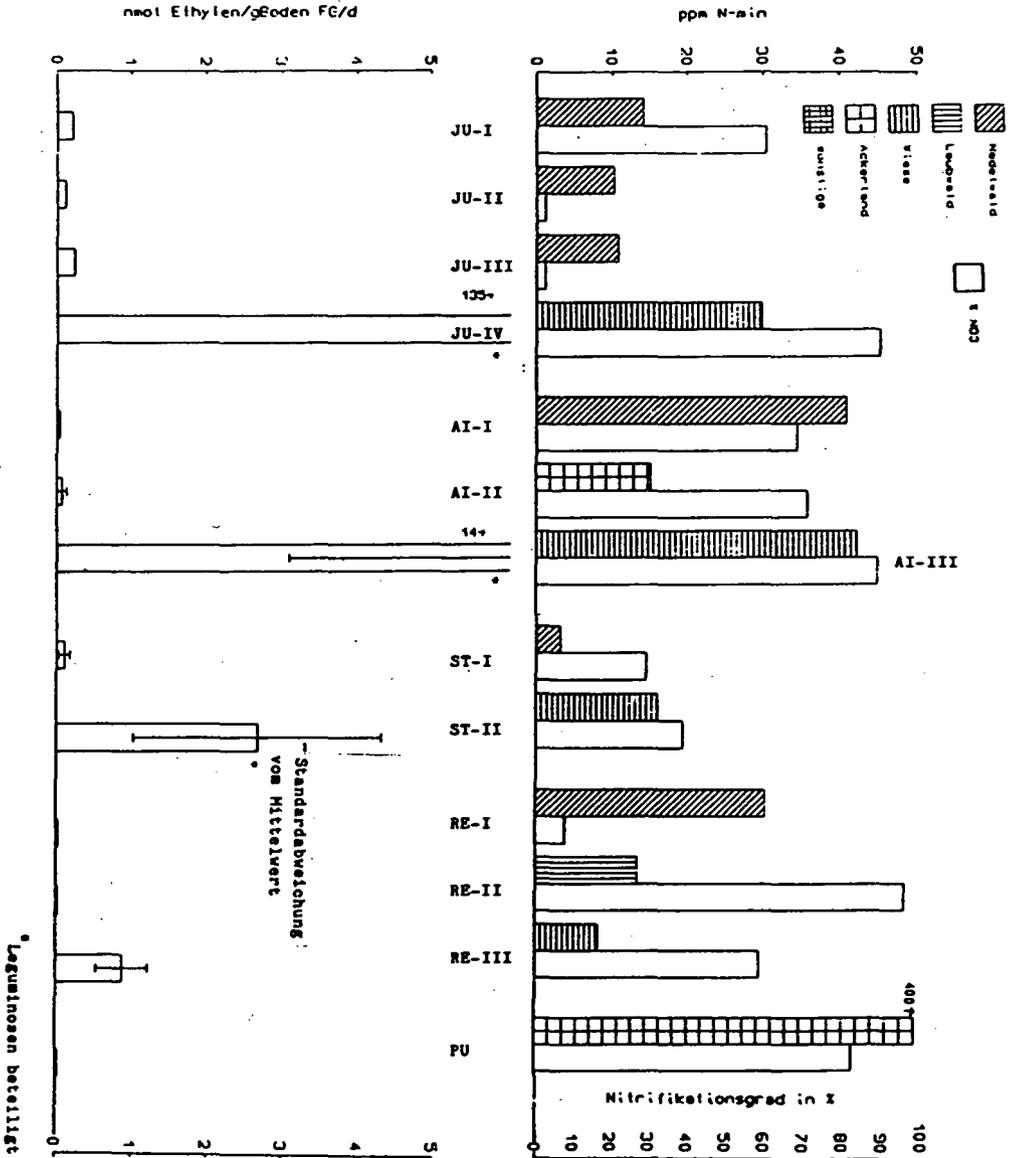


Abb. 1

Ethylenproduktion (Stickstofffixierung) N-min Freisetzung in 6 Wochen
 Mittelwert aus 4 Aufsammlungen Nitrifikationsgrad der exp. Probe

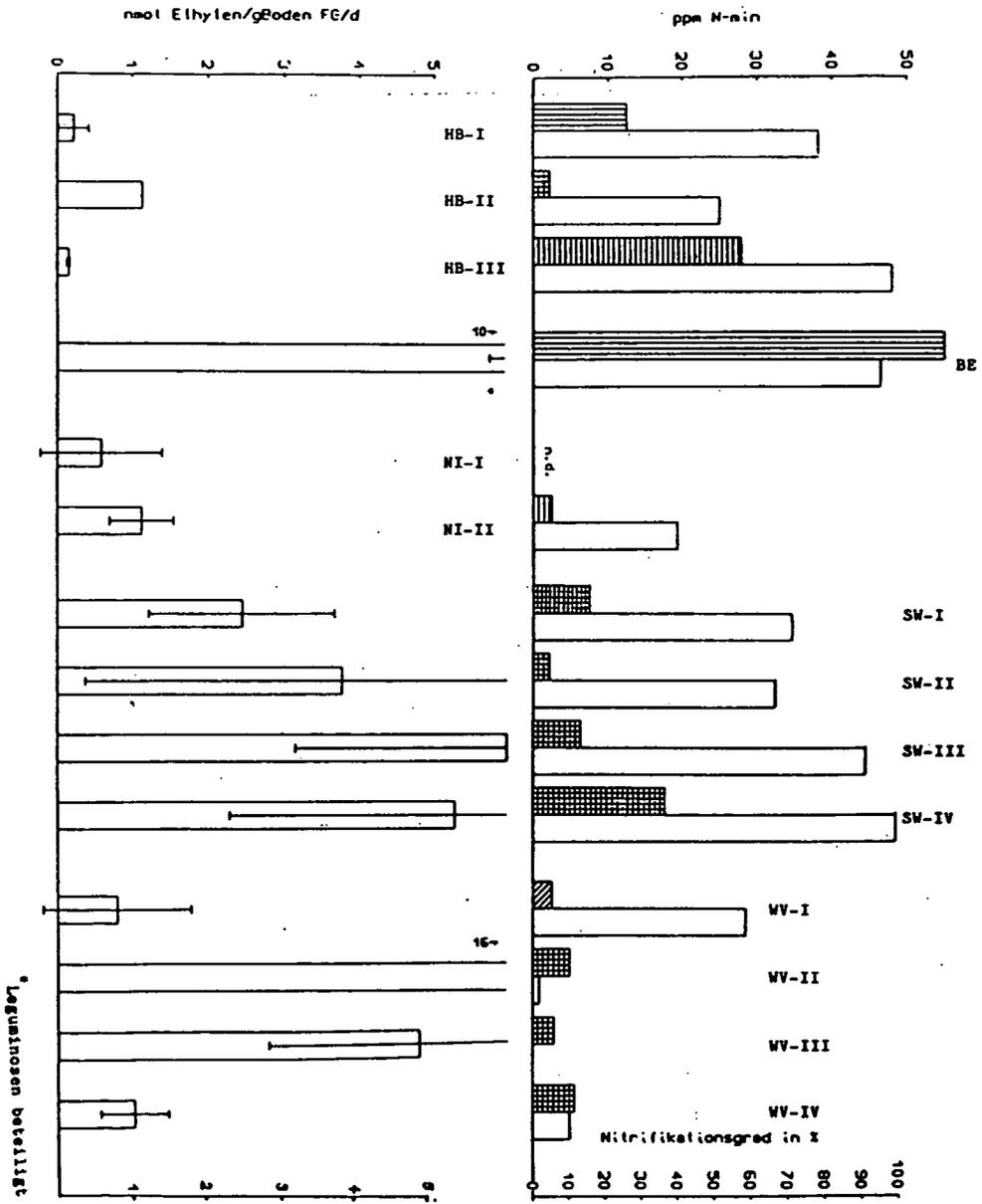


Abb.2

anschließende leere Block zeigt den Nitrifikationsgrad der exponierten Probe an (Rest auf 100% = Ammoniumstickstoff).

Es zeigt sich zum Beispiel, daß die Nadelwaldböden einen geringeren Nitrifikationsgrad haben, als entsprechende Laubwald- oder Wiesenböden.

4. Diskussion

Die hervorstechendsten Ergebnisse sind wohl die hohen Acetylenreduktionswerte der Seewinkler und Waldviertler Proben. Diese reichen an die Aktivitäten von symbiontischen Stickstoffbindern heran. Bei Hochrechnung ergibt sich z.B. für SW-III eine Bindung von 24 kg N/ha/y. Ein Stickstoffeintrag in diesem Ausmaß spielt im System der Salzböden sicher eine wichtige Rolle. Eine endgültige Absicherung dieser Werte muß mit abschließenden Untersuchungen über eine endogene Ethylenproduktion noch durchgeführt werden. (NOHRSTEDT 1983)

Eine Erklärung für die hohen Aktivitäten der Salz- und Torfböden liegt in dem hohen Wassergehalt dieser Systeme und damit dem Schutz der empfindlichen Nitrogenase vor Sauerstoff.

Da die Proben im Dunkeln exponiert wurden, ist die Beteiligung von Blaualgen ausgeschlossen. Es gibt jedoch Berichte von einer Assoziation heterotropher Stickstoffbinder mit Torfmoosen (BASILIER 1979), die in den Proben WV-I-IV vorhanden sein könnte.

Außerdem wurden auch stickstofffixierende Bakterien an den Wurzeln von Salzmarschpflanzen an der Meeresküste entdeckt. (PATRIQUIN 1978) Die Mikroorganismen können von der Pflanze Energie in Form von Wurzelausscheidungen beziehen. Aus letzterem Grund sind wahrscheinlich auch die Aktivitäten in einer dichtdurchwurzelten Wiese durchwegs höher als im benachbarten Wald.

Weder beim Wald noch beim Weingarten konnte eine erwähnenswerte Stickstoffbindung festgestellt werden, was nicht verwundert, wenn man die Empfindlichkeit der Nitrogenase auf Veränderung der Bodenstruktur (Sieben bzw. Pflügen) in Betracht zieht.

Beim Vergleich der nichtsymbiontischen Stickstofffixierung mit der Stickstoffmineralisation zeigt sich, daß sich in den Böden JU bis NI diese Faktoren entgegengesetzt verhalten, obwohl nur in einem Fall (PU) eine Nitrogenasehemmende Stickstoffmenge mineralisiert wurde. (NOHRSTEDT 1983)

In positiver Beziehung steht die Stickstofffixierung mit dem C:N-Verhältnis. Dies mag an der Verfügbarkeit von energieliefernder organischer Substanz für die Stickstoffbinder liegen.

In den sehr sauren Böden liegt der Großteil des Mineralstickstoffs als Ammonium vor. Der Abbau zu Nitrat durch die säureempfindlichen Nitrifikanten ist hier gehemmt. Die Messung dieses Prozesses stellt einen aussagekräftigen Faktor, auch bei der Untersuchung von landwirtschaftlichen Böden dar. Sie läßt, ebenso wie die Stickstoffmineralisation, im Zusammenhang mit dem Gesamtstickstoffgehalt, Schlüsse auf eine Beeinflussung der Mikroflora, und in der Folge der Bodenfruchtbarkeit, zu.

Von der Aktivität freilebender Stickstoffbinder auf Bodenqualitäten zu schließen, scheint noch verfrüht. Dieses System ist sehr komplex, von vielen Faktoren abhängig und reagiert oft unerwartet auf äußere Einflüsse. Zum Beispiel zeigt sich eine Steigerung der Aktivität bei Zusatz von Phenolen oder gewissen Pflanzenschutzmitteln. (KROTZKY, 1983)

Abschließend kann gesagt werden, daß die Stickstofffixierer im Verband der Bodenorganismen, vor allem bei Extremböden eine bedeutende Rolle spielen. Ihre positive Wirkung sollte auch in der Landwirtschaft voll ausgeschöpft werden.

5. Zusammenfassung - Summary

Acetylenreduktion (Stickstofffixierung), sowie Stickstoffmineralisation wurden an 27 Böden von 10 Standorten in Ostösterreich untersucht. Die höchsten Werte wurden im Bereich des burgenländischen Seewinkels und in einem Waldviertler Moor gemessen. An letzterem Standort betrug die Acetylenreduktion bis zu $16 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. In Wiesen wurden höhere Aktivitäten festgestellt, als in benachbarten Wald- und Ackerböden. Die Nitrifikation war in einigen sehr sauren Böden gehemmt.

Acetylene reduction (N₂fixation) and nitrogen mineralization in different soils of Eastern Austria

Acetylene reduction (N₂fixation), aswell as nitrogen mineralization were studied on 27 surface soils from 10 sites in Eastern Austria.

The highest values could be obtained from saline soils near the Neusiedlersee and from fens and bogs in Lower Austria. In the latter area acetylene reduction reached $16 \text{ nmol C}_2\text{H}_4$

*g⁻¹*d⁻¹. Meadows showed higher activities than deciduous forests and arable soils. Nitrification was inhibited in some soils of pH below 3,5.

6. Literatur

- BASILIER, K. (1979): Moss-associated nitrogen fixation in some mire and coniferous forest environments around Uppsala, Sweden. *Lindbergia* 5, 84-88
- ELLENBERG, H. (1978): *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen*. Ulmer VL., Stuttgart
- GERLACH, A. (1973): *Methodische Untersuchungen zur Bestimmung der Stickstoffnettonmineralisation*. *Scripta Geobotanica* 5, Göttingen
- KROTZKY, A., BERGGOLD, R., JAEGER, D., DART, P.J., WERNER, D. (1983): Enhancement of aerobic nitrogenase activity (acetylene reduction assay) by Phenol in soils and the rhizosphere of cereals. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 146, 634-642
- LETHBRIDGE, G., DAVIDSON, M.J., SPARLING, G.P. (1982): Critical evaluation of the acetylene reduction test for estimating the activity of nitrogen-fixing bacteria associated with the roots of wheat and barley. *Soil Biol. Biochem.* 14, 27-35
- NOHRSTEDT, H.Ö. (1983): Natural formation of ethylene in forest soils and methods to correct the results given by the acetylene-reduction assay. *Soil Biol. Biochem.* 15, 281-286
- OBERDORFER, E. (1957): *Süddeutsche Pflanzengesellschaften*. Fischer VL., Jena
- PATRIQUIN, D.G., KEDDY, C. (1978): Nitrogenase activity (acetylene reduction) in a nova scotian salt marsh: Its association with angiosperms and the Influence of some edaphic factors. *Aquat. Bot.* 4, 227-244
- SCHACHTSCHABEL, P., BLUME, H.-P., HARTGE, K.-H., SCHWERTMANN, U. (1984): *Lehrbuch der Bodenkunde*, VL. Enke, Stuttgart

Anschrift: Sophie Boltenstern

Inst. für Pflanzenphysiologie, Universität Wien
Althanstraße 14, A-1091 Wien

Einfluß von Kalkung und schwefelsaurer Beregnung auf bodenbiologische Aktivitäten eines belasteten Waldstandortes

von R. F i n k e r n a g e l und F. S c h i n n e r

1. Einleitung

Die Versauerung der Niederschläge stellt heute eine der größten Umweltprobleme der Industriestaaten dar: Veränderungen der Bodenchemie (Tamm 1976, Malmer 1976, Norten 1977, Mc Fee et al. 1977), Beeinflussung mikrobieller Prozesse im Boden (Tamm 1977, Alexander 1980, Francis 1982, Bewley und Stotzky 1983, Killham et al. 1983, Baumgarten und Kinzel 1985), Schädigung des Pflanzenwachstums (Reuss 1977, Haines 1980, Abrahamsen 1980, Ulrich und Matzner 1983) und Versauerung von Gewässern (Odon 1976, Rosenquist et al. 1980) sind die Folge.

Das Ziel der Arbeit war die Beurteilung des Einflusses von Kalkung und zusätzlicher saurer Beregnung auf verschiedene bodenbiologische Aktivitäten.

2. Material und Methoden

Standort

Als immissionsbelastete Versuchsfläche diente ein Waldboden im Raum Brixlegg/Tirol (Abb.1). Die Gegend war bis vor kurzem durch ein Hüttenwerk stark durch SO_2 und Schwermetalle (Abb.2) beeinflusst. Als Vergleichsstandort diente eine Waldfläche bei Terfens/Tirol.

Versuchsdurchführung und Probenaufbereitung

Die Versuchsflächen des belasteten und gering belasteten Standortes wurden jeweils in 4 Parzellen zu 4 m^2 unterteilt. Beide Versuchsflächen wurden gleicher Behandlung unterzogen:

Versuchsfeld 1: Kontrollfläche

2: Behandlung mit 1 kg Düngekalk/ 4 m^2

3: Behandlung mit 5 l schwefelsaurem Wasser
pH-Wert 3,2 / m^2

4: Behandlung mit 1 kg Düngekalk/ 4 m^2 und
zusätzliches Begießen mit 5 l schwefelsaurem
Wasser pH-Wert 3,2 / m^2

Die Probenentnahme erfolgte aus der O_1-O_f Auflage des kalkhaltigen Bodens. Die Mischproben (Stichtiefe 5 cm) wurden im Labor zum Trocknen (20°C) aufgelegt.

Analysenmethoden

CO_2 -Bestimmung (Methode nach Isermeyer 1952, verändert nach Mitterer 1980)

Dehydrogenaseaktivität (nach Rainer 1983)

Phosphataseaktivität (nach Tabatabei und Bremner 1969)

Xylanaseaktivität (Schinner und Hofmann 1978, verändert nach Schinner et al. 1983)

Ureaseaktivität (Tabatabei und Bremner 1972, verändert nach Bayer et al. 1982)

pH-Wert wurde mit aqua dest. bestimmt

3. Ergebnisse

Sämtliche untersuchten bodenbiologischen Parameter zeigten im belasteten Waldboden signifikant niedrigere Aktivitäten als im geringer belasteten Vergleichsboden.

Nach Kalkung erfolgte in beiden Böden eine Aktivitätssteigerung der CO_2 -Freisetzung (Abb.3) und der Dehydrogenaseaktivität (Abb.4). Sie bewirkte auch eine signifikante Erhöhung des pH-Wertes (Abb.8), der auch bei Abbruch des Versuches nach 7 Monaten nur geringfügig niedriger war. Die Phosphataseaktivität (Abb.5) dagegen wurde nach Kalkung in beiden Böden gehemmt. Die Xylanaseaktivität (Abb.7) reagierte im unbelasteten Boden nach Kalkung zuerst mit einem Aktivitätsverlust, erst 2 Monate nach der Applikation kam es zu einer Aktivitätserhöhung, die bis zum 7. Monat anhielt. Im belasteten Boden kam es nach Kalkung zu keiner Aktivitätsverbesserung der Urease - und Xylanaseaktivität (Abb.6 und Abb.7). Eine Beregnung mit schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) zeigte keinen Einfluß auf die Xylanase - und Ureaseaktivität des belasteten Bodens sowie auf die Dehydrogenaseaktivität beider Böden. Es erfolgte auch keine Änderung des pH-Wertes nach mehrmaliger saurer Beregnung. Die Phosphataseaktivität des belasteten Bodens wurde nach der 1. und 3. Beregnung gehemmt. Stimuliert gagegen wurde die CO_2 -Freisetzung beider Böden, wobei die Stimulierung im geringer belasteten Boden später

erfolgte, dafür konnte die Aktivitätserhöhung bei Versuchsende festgestellt werden. Nach 1. und 3. Beregnung kam es auch zu einer kurzfristigen Stimulierung der Xylanaseaktivität im geringer belasteten Boden; bei Abbruch des Versuches nach 7 Monaten erreichte die Xylanaseaktivität wieder den Wert der unbehandelten Kontrollfläche.

Eine Kalkung und gemeinsame Applikation von schwefelsaurem Wasser bewirkte einen Aktivitätsverlust gegenüber einer alleinigen Kalkung.

4. Diskussion

Nur sehr wenige Arbeiten befaßten sich mit der Beeinflussung von Bodenenzymaktivitäten durch sauren Regen (Strayer und Alexander 1981, Killham et al. 1983, Baumgarten und Kinzel 1985) .

In vorliegender Untersuchung wurde die Wirkung der sauren Beregnung zusätzlich durch den hohen Schwermetallgehalt überlagert. Die CO_2 -Freisetzung und die Enzymaktivitäten waren gegenüber dem geringer belasteten Boden signifikant gesenkt. Die hemmende Wirkung von Cu, Zn, Pb und Cd auf die CO_2 -Freisetzung, auf die Phosphatase- und Ureaseaktivität ist bekannt (Tyler 1974, Tabatabaei 1972, Ebregt und Boldewijn 1977, Brunner und Schinner 1983).

Eine " schwefelsaure Beregnung " zeigte in den sauren Waldböden keine nennenswerten negativen Auswirkungen. Die Mikroorganismen scheinen in den sauren Waldböden besser an saure Bedingungen adaptiert zu sein als vergleichsweise in schwach sauren oder kalkhaltigen Böden (Finkernagel 1984).

Eine zusätzliche Kalkung bewirkte einen CO_2 -Anstieg. Eine abiotische CO_2 -Bildung nach Kalkung saurer Böden ist möglich, wird aber im vorliegenden Fall nur bedingt angenommen, da der CO_2 -Anstieg mit der Dehydrogenaseaktivität korreliert. Im belasteten Boden läßt sich der Aktivitätsanstieg nach einer Kalkung und damit pH Erhöhung, auf eine Immobilisierung der Schwermetalle an organisches Material zurückführen. Bei niederem pH-Wert liegen die Schwermetalle biologisch wirksam in gelöster Form, als Kationsäuren vor. Die Anhebung des pH bewirkte weiters eine bessere Verfügbarkeit von Nährstoffen. Auch das pH-Optimum vieler Enzyme befindet sich

im neutralen Bereich. Die Xylanaseaktivität, deren pH-Optimum bei pH 5,2 liegt, wurde hingegen bei Kalkung inhibiert, erst 2 Monate später scheinen sich die Mikroorganismen an die veränderten pH-Verhältnisse angepaßt zu haben, das sich in einer Aktivitätserhöhung zeigte.

Das Absinken der Phosphataseaktivität nach Kalkung wird damit erklärt, daß bei besserer Verfügbarkeit von Phosphor infolge der pH-Erhöhung eine Endprodukt-Repression die Enzymaktivität absenkt.

Die vorliegende Untersuchung läßt erkennen, daß für die Ausbildung eines " Krankheitssymptoms " meist nicht ein einziger, sondern mehrere Faktoren verantwortlich sind. Im Detail wurde aufgezeigt, daß verschiedene chemische und biologische Parameter auf eine Immission unterschiedlich reagieren.

5. Zusammenfassung - Summary

In dieser Arbeit wurde die Auswirkung von schwefelsaurem Wasser und Kalkung auf die bodenbiologische Aktivität eines immissionsbelasteten und gering belasteten Standortes verglichen.

Der Boden des durch Rauchgas und Schwermetalle belasteten Standortes zeigte stark verminderte Atmungs- und Enzymaktivitäten. Eine zusätzliche " saure Beregnung " brachte keine nennenswerte Verschlechterung der Ausgangsbedingungen. Im Boden des geringer belasteten Standortes zeigte eine zusätzliche Säureapplikation eine nachweislich empfindliche Reaktion der bodenbiologischen Aktivitäten.

Eine Kalkung bewirkte in den Waldböden beider Standorte lediglich eine Aktivitätssteigerung der CO₂-Freisetzung und der Dehydrogenase; Xylanase und Urease blieben nahezu unverändert; die Phosphatase wurde gehemmt.

The Influence of Simulated Acid Rain and Liming on the Biological Activities of a Polluted Forest Soil

The influence of simulated acid rain (pH 3,2) and liming on microbial activities of heavy-metal and SO₂ polluted forest soil was investigated.

Compared with a less influenced soil (control soil) respira-

tion and enzyme activities were inhibited significantly. Application of " acid rain " on the polluted soil showed no significant impact on microbial activities and no change of pH value, whereas the same treatment of control soil was faintly influencing microbial activities.

Liming led to higher CO_2 -evolution and activity of dehydrogenase, but had no influence on the activities of urease and xylanase. The phosphatase was inhibited.

6. Literatur

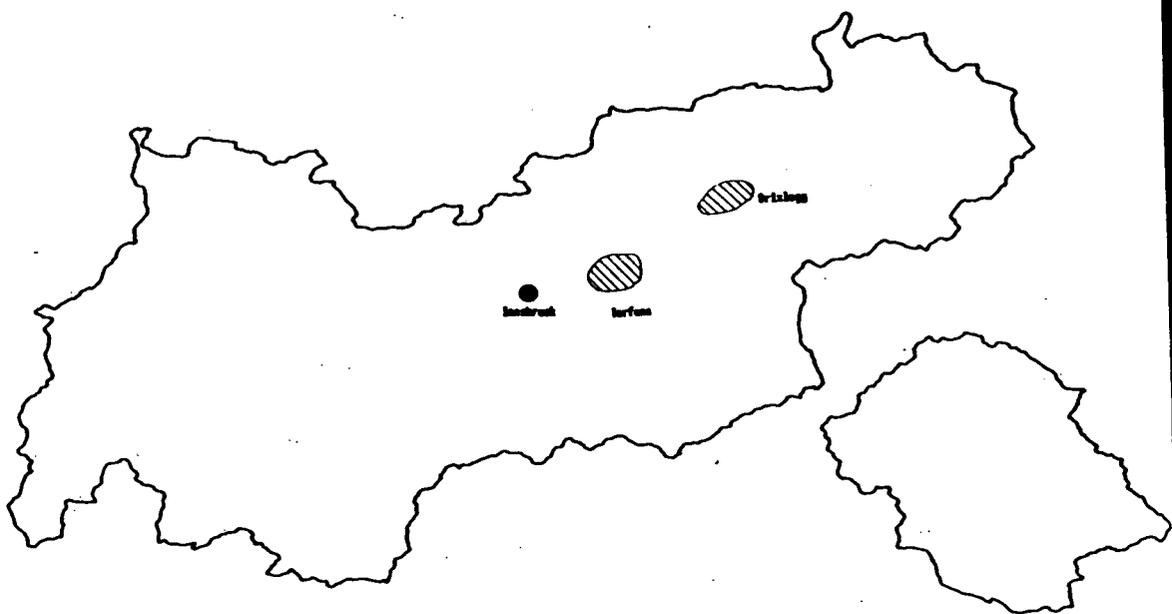
- ABRAHAMSEN, G., 1980. Acid precipitation, plant nutrient and forest growth. p.58-63. In Drabløs and Tollmann (ed.) Impact of acid precipitation. Pro. Int. Conf., Sandefjord, Norway.
- ALEXANDER, M., 1980. Effects of acid precipitation on biochemical activities in soil. p.47-51. In Drabløs and Tollmann (ed.) Ecological impact of acid precipitation. Pro. Int. Conf., Sandefjord, Norway.
- BAYER, H., MITTERER, M., SCHINNER, F., 1982. Der Einfluß von Insektiziden auf mikrobiogene Prozesse in A_h -Materialien eines landwirtschaftlich genutzten Bodens. Pedobiologie 23, 311-319.
- BAUMGARTEN, A. und KINZEL, H., 1985. Biologie des Wurzelraumes geschädigter Bäume. Forschungsauftrag des Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung Zl. 36.024/1-23/85
- BEWLEY, R.J.F., STOTZKY, G., 1983. Anionic constituents of acid rain and microbial activity in soil. Soil.Biol. Biochem. 15, 431-437.
- BEWLEY, R.J.F., STOTZKY, G., 1983. Simulated acid rain (H_2SO_4) and microbial activity in soil. Soil.Biol. Biochem. 15, 425-429.
- BRUNNER, I., SCHINNER, F., 1983. Einfluß von Blei und Cadmium auf die mikrobielle Aktivität eines Bodens. Die Bodenkultur 34, 1-12.
- EBREGT, A., BOLDEWIJN, J.M.A.M., 1977. Influence of heavy metals in spruce forest soil on amylase activity, CO_2 evolution from starch and soil respiration.

- Plant and Soil 47, 137-148.
- FINKERNAGEL, R., 1984. Einfluß von " sauren Regen " und Kalkung auf die mikrobielle Aktivität des Bodens.
- FRANCIS, A.J., 1982. Effects of acidic precipitation and acidity on soil microbial processes. Water, Air and Soil Pollution 18, 375-394.
- HAINES, B., STEFANI, M., HENDRIX, F. 1980. Threshold of leaf damage in eight plant species from a southern appalachian forest succession. Water, Air and Soil Pollution 14, 403-407.
- ISERMEYER, H., 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. Z. Pflanzenernährung, Düngung, Bodenk. 56, 26-38.
- KILLHAM, K., FIRESTONE, M.K., MC COLL, J.G., 1983. Acid rain and soil microbial activity: effects and their Mechanism. J. Environ. Qual. 12, 133-137.
- MALMER, N., 1976. Acid precipitation: chemical changes in the soil. Ambio 5, 231-234.
- MC FEE, W.W., KELLY, J.M., BECK, R.H., 1977. Acid precipitation effects on soil pH and base saturation of exchange sites. Water, Air and Soil Pollution 7, 401-408.
- MITTERER, M., 1980. Der Einfluß von Fungiziden auf die mikrobielle Aktivität im Boden. Hausarbeit Univ. Innsbruck.
- NORTON, S.A., 1977. Changes in chemical processes in soil caused by acid precipitation. Water, Air and Soil Pollution 7, 389-400.
- ODON, S., 1976. The acidity problem an outline of concepts. Water, Air and Soil Pollution 6, 137-166.
- ÖSTERREICHISCHES BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT UND UMWELTSCHUTZ, 1980. Kasperowski, E., (ed.) Umweltsituation Teil 5 Boden.
- RAINER, J., 1983. Der Einfluß von Bioziden auf bodenmikrobiologische Aktivitäten, Dissertation, Universität Innsbruck.
- REUSS, J., 1977. Chemical and biological relationships relevant to the effect of acid rainfall on the soil-plant system. Water, Air and Soil Pollution 7, 461-478.

- ROSENQUIST, T., JØRGENSEN, P., RUESLATTEN, H., 1980. The importance of neutral H^+ production for acidity in soil and water. In Drabløs and Tollmann (ed.) Ecological Impact of acid precipitation Proc. Int. Conf. Sandfjord, Norway.
- SCHINNER, F., HOFMANN, J., 1978. Zellulose-Xylanase- und Pectinaseaktivitätsmessungen in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. In: Cernusca, A., 1978: Ökologische Analysen von Almflächen im Gasteiner Tal. Veröffentlichung des österr. Ma B Hochgebirgsprogrammes Hohe Tauern. Bd. 2., Universitätsverlag Wagner, Innsbruck.
- SCHINNER, F., BAYER, H., MITTERER, M., 1983. The influence of herbicides on microbial activity in soil materials. Die Bodenkultur 34 (1), 22-30.
- STRAYER, R.F., ALEXANDER, M., 1981. Effects of simulated acid rain on glucose mineralisation and some physicochemical properties of forest soils. J. Environ. Qual. 10, 460-465.
- TABATABEI, M.A., BREMNER, J.M., 1969. Use of p-Nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil. Biol. Biochem. 1, 301-307.
- TABATABEI, M.A., BREMNER, J.M., 1972. Assay of urease activity in soils. Soil Biol. Biochem. 4, 479-487.
- TAMM, C.O., 1976. Biological effects in soil and on forest vegetation. Ambio 5, 321-234.
- TAMM, C.O., 1977. Acid precipitation and forest soils. Water, Air and Soil Pollution 7, 367-369.
- TYLER, G., 1974. Heavy metals pollution and soil enzymatic activity. Plant and Soil 41, 303-311.
- ULRICH, B., MATZNER, E., 1983. Abiotische Folgewirkungen der weiträumigen Ausbreitung von Luftverunreinigungen. Umweltforschungsplan des Bundesministeriums des Inneren (BRD).

Anschrift: Mag. Regina Finkernagel
Institut für Mikrobiologie
Technikerstr. 25
6020 Innsbruck/Österreich

Abb.1 Probenentnahmeplätze in Tirol



Immissionsmengen in ppm

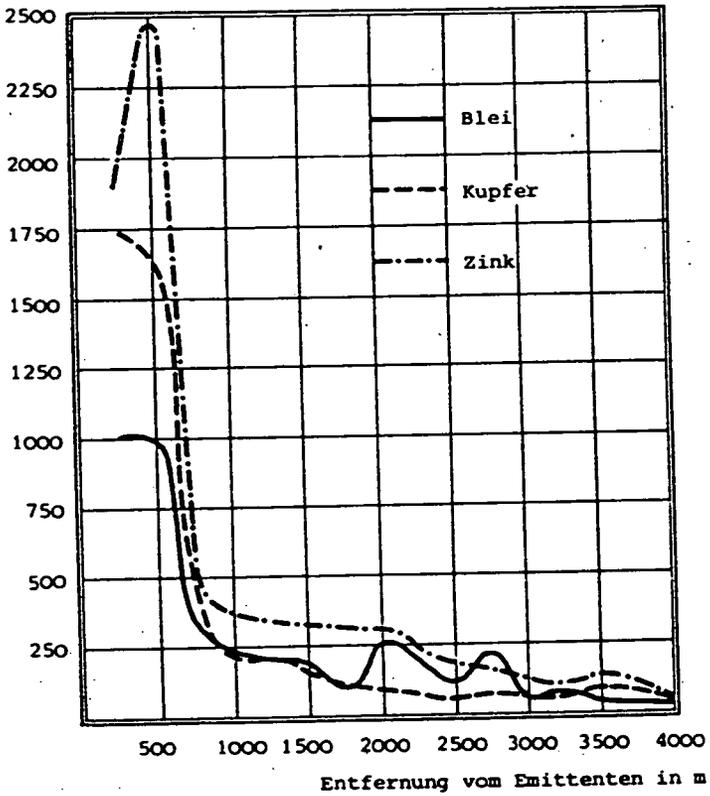


Abb.2: Blei-, Kupfer- und Zinkimmissionsmengen in Böden nach ihrer Distanz vom Emittenten Montanwerk Brixlegg/Tirol. (Aus Umweltsituation Boden 1981.)

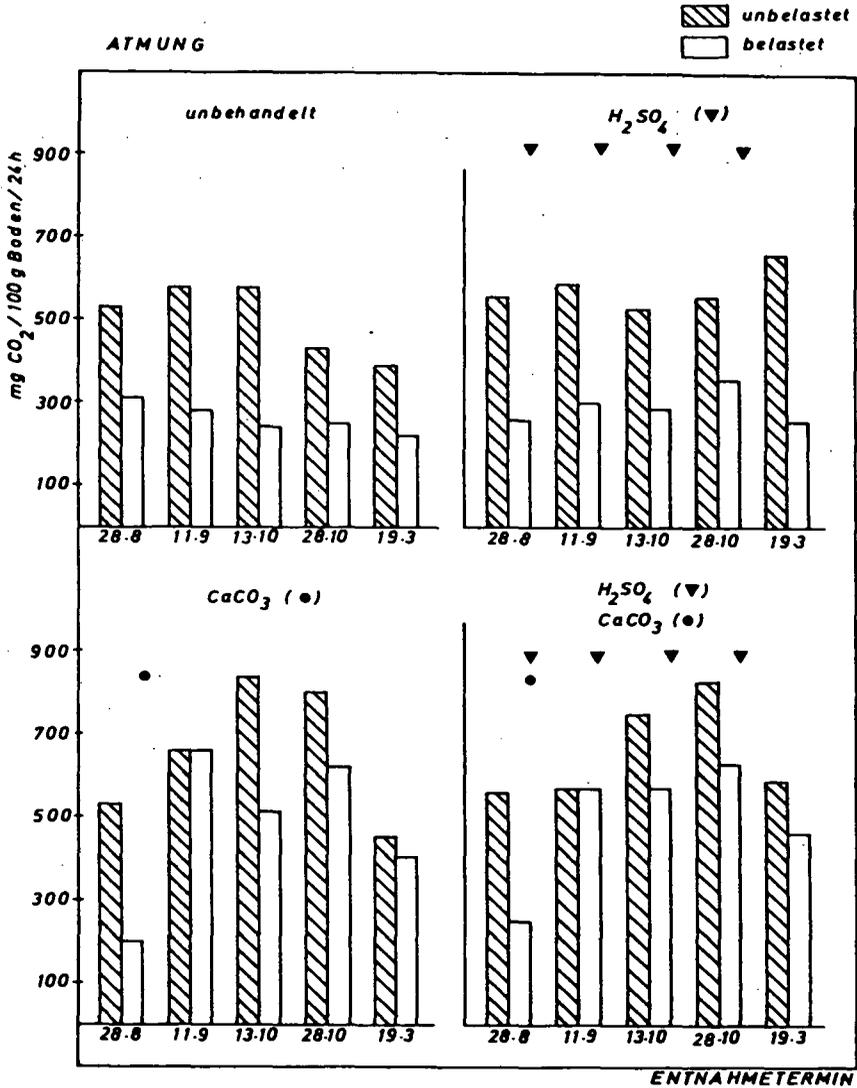


Abb. 3: Einfluß von schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) und Düngekalk auf die CO₂-Freisetzung eines unbelasteten und belasteten Waldstandortes in Abhängigkeit vom Kalk- und Säureapplikationszeitpunkt sowie dem Probenentnahmeterrnin.

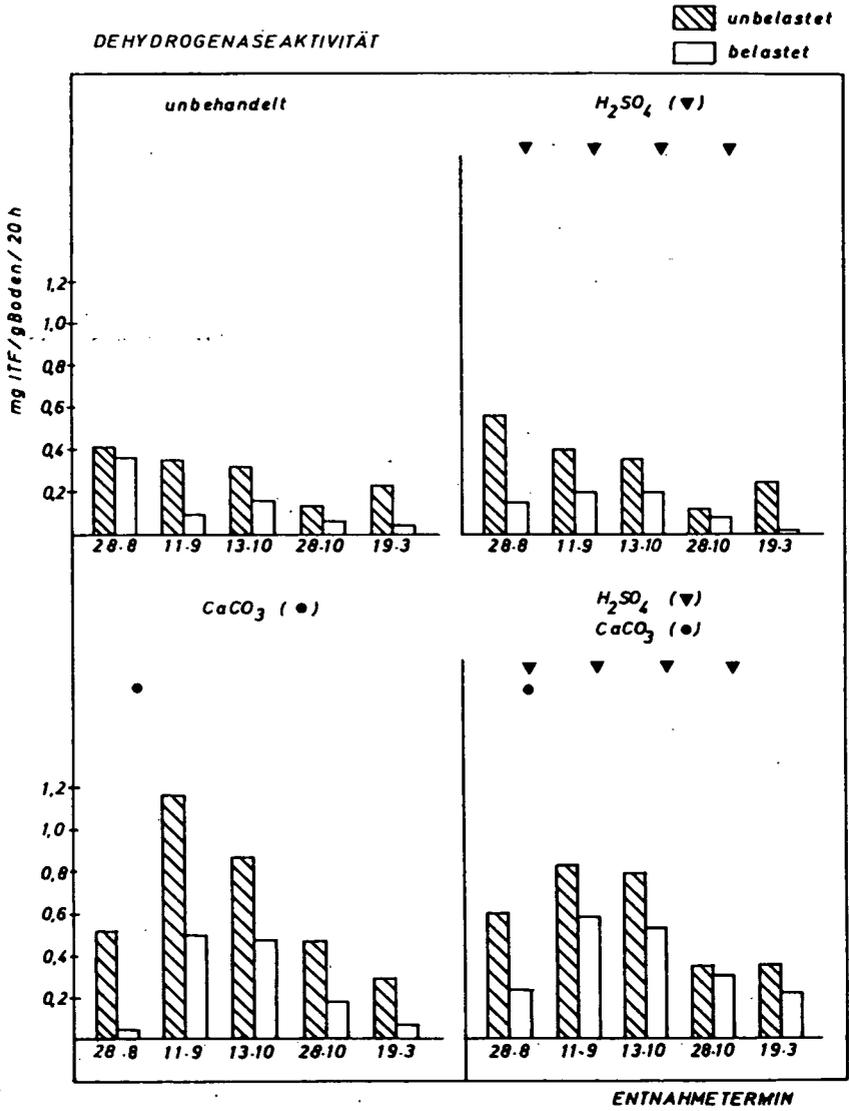


Abb. 4: Einfluß von schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) und Düngekalk auf die Dehydrogenaseaktivität eines unbelasteten und belasteten Waldstandortes in Abhängigkeit vom Kalk- und Säureapplikationszeitpunkt sowie dem Probenentnahmeterrnin.

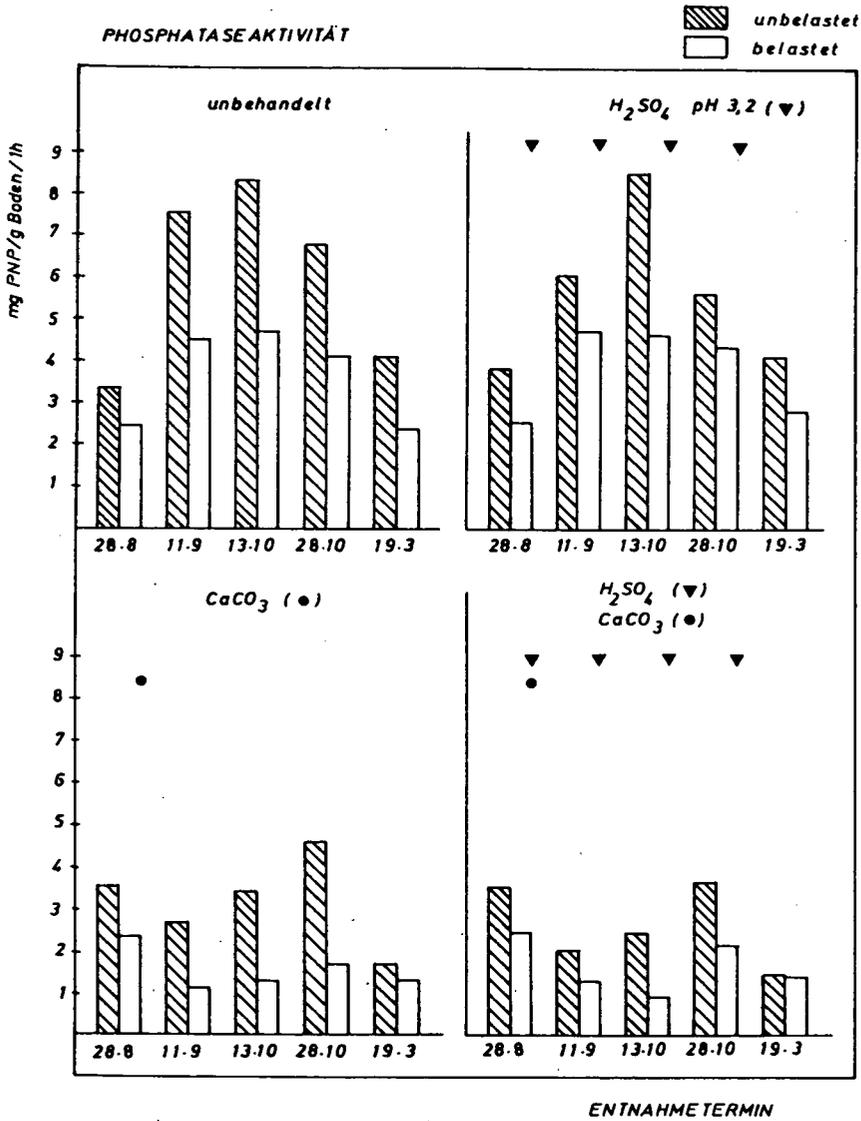


Abb. 5: Einfluß von schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) und Düngkalk auf die Phosphataseaktivität eines unbelasteten und belasteten Waldstandortes in Abhängigkeit vom Kalk- und Säureapplikationszeitpunkt sowie dem Probenentnahmeterrmin.

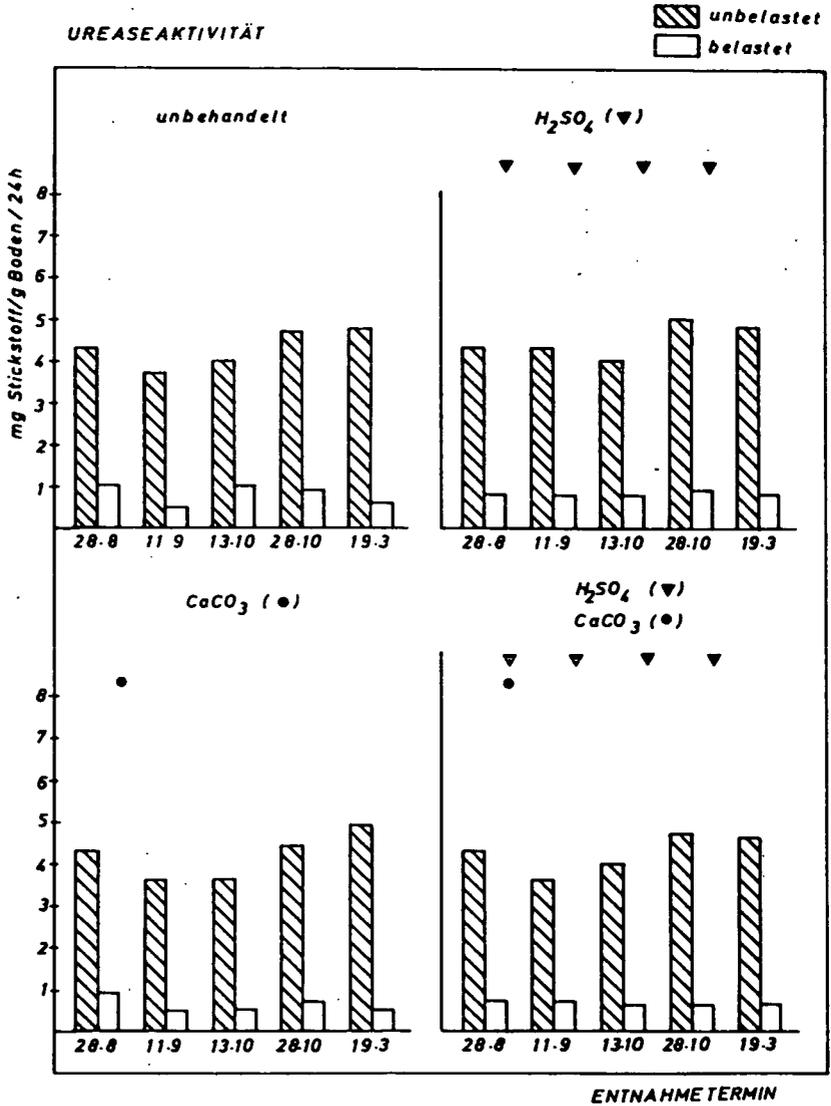


Abb.6: Einfluß von schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) und Düngekalk auf die Ureaseaktivität eines unbelasteten und belasteten Waldstandortes in Abhängigkeit vom Kalk- und Säureapplikationszeitpunkt sowie dem Probenentnahmeterrnin.

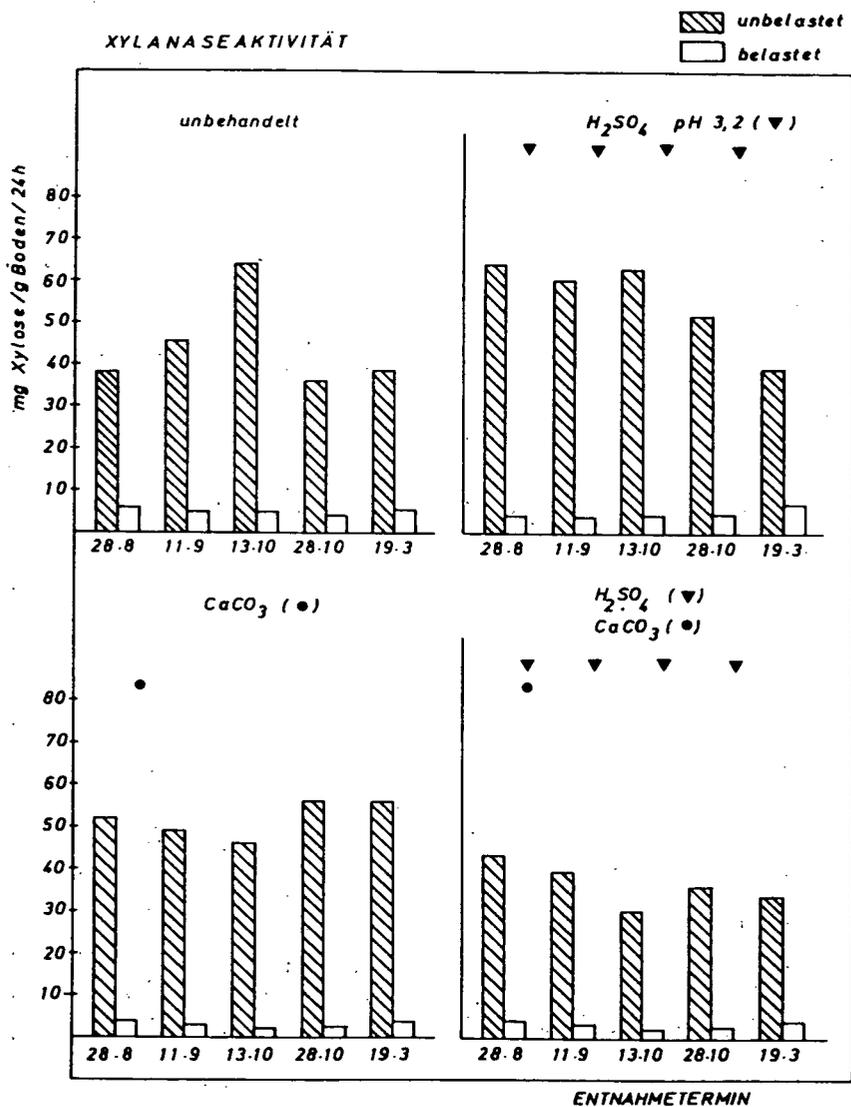


Abb.7: Einfluß von schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) und Düngekalk auf die Xylanaseaktivität eines unbelasteten und belasteten Waldstandortes in Abhängigkeit vom Kalk- und Säureapplikationszeitpunkt sowie dem Probenentnahmeterrain.

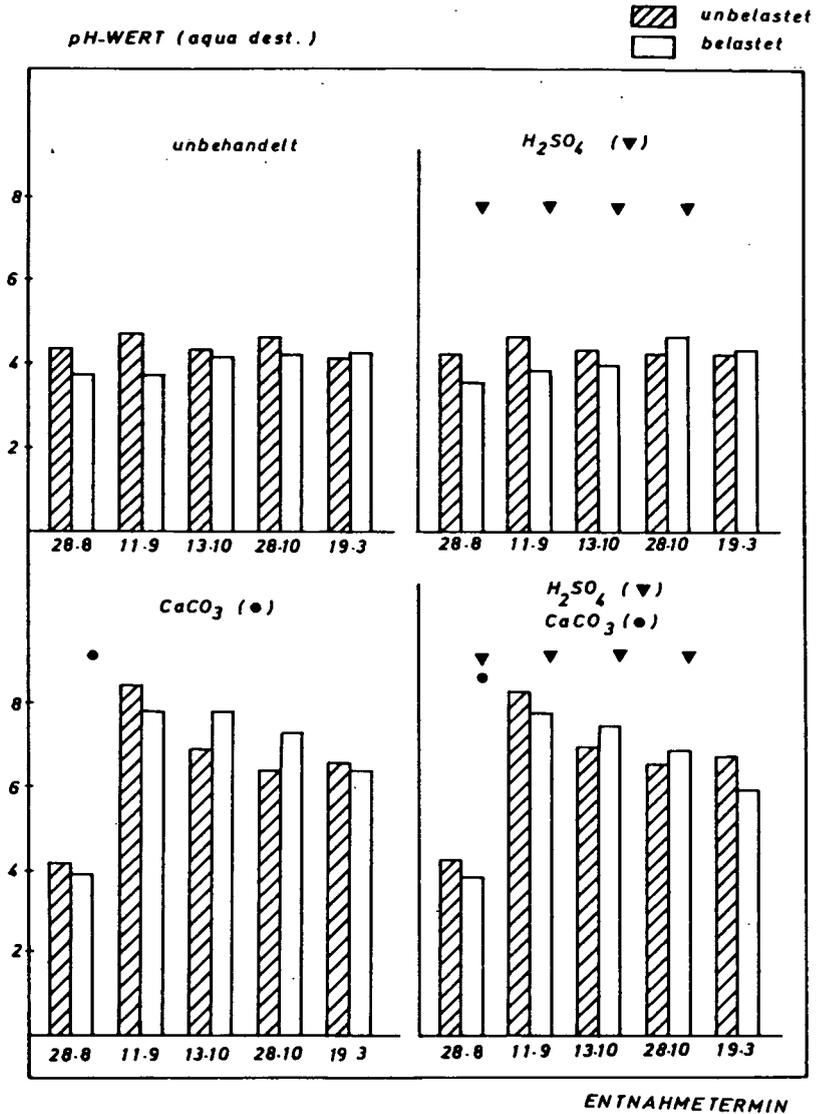


Abb.8: Einfluß von schwefelsaurem Wasser (pH 3,2) und Düngekalk auf den pH-Wert eines unbelasteten und belasteten Waldstandortes in Abhängigkeit vom Kalk- und Säureapplikationszeitpunkt sowie dem Probenentnahmeterrin.

Untersuchungen mikrobiologischer Parameter auf "konventionell"
und "biologisch" bewirtschafteten Flächen unterschiedlicher
Nutzung

von P. G e h l e n und D. S c h r ö d e r

1. Einleitung

Die "konventionelle" Bewirtschaftung unterscheidet sich von der "biologischen" durch ein ganzes Bündel von Maßnahmen. Darstellung 1 zeigt die wichtigsten Eigenschaften "biologischer" Bewirtschaftung. Oft wird die Auffassung geäußert, die "biologisch" bewirtschafteten Böden seien tätige, aktive Böden. Dagegen wird der konventionellen Bewirtschaftung häufig vorgeworfen, sie würde die Böden durch enge Fruchtfolgen, hohen Einsatz an chemischen Pflanzenbehandlungsmitteln und mineralischen Düngern nachhaltig schädigen. In einem Systemvergleich auf benachbarten "konventionell" und langjährig "biologisch" bewirtschafteten Flächen wurde die Frage untersucht, ob die mikrobielle Komponente der Bodenfruchtbarkeit bei heutiger intensiver Nutzung der Böden in Gefahr ist. Um eine möglichst breite Aussage treffen zu können, wurde der Vergleich auf Flächen im Acker-, Gemüse-, Obst- und Weinbau durchgeführt.

Darstellung 1 Wesentliche Merkmale des biologischen Landbaus

- Vielseitige Fruchtfolgen mit besonderer Betonung im Haupt- und Zwischenfruchtanbau zur biologischen Stickstoffbindung und zur Verbesserung der Bodenstruktur
- Verwendung organischer Dünger bei meist völliger Ablehnung synthetischer leichtlöslicher Mineraldünger, insbesondere mineralischer Stickstoffdünger
- Weitgehender Verzicht auf chemisch-synthetische Pflanzenbehandlungsmittel durch Nutzung aller Möglichkeiten vorbeugender Pflanzehygiene u. mechanisch-biologischer Unkrautbekämpfung
- Schonende, das Bodenleben wenig störende Bodenbearbeitung nach dem Prinzip: flach wenden-tief lockern.

(nach Brugger, 1982, abgewandelt)

Tabelle 1: Versuchsanordnung, Bodennutzung und Bodeneigenschaften

Parzellen	Bewirt- schaftung	Bodentyp/ Ausgangs- material	1)		Parzellen	Bewirt- schaftung	Bodentyp/ Ausgangs- material	1)	
			pH	C _t in% 2)				pH	C _t in% 2)
Ackerbau	1	Parabraun- erde/Löß	5,8	0,92	9.	kon	Pararend- zina/Löß	7,4	0,90
	2	Parabraun- erde/Löß	5,8	0,85	10	bio	Pseudovergleyte6,1	6,8	1,07
	3	Parabraun- erde/Löß	5,7	0,82	11	kon	Pararendzina	6,2	0,91
	4	Parabraun- erde/Löß	5,9	0,94	12	bio	Parabraunerde	6,4	1,25
	5	Pseudover- gleyte	6,2	0,97	13	kon	aus	6,8	1,83
	6	Pseudover- gleyte	7,7	1,11	14	bio	Hochflutlehm	6,5	1,14
	7	Parabraun- erde/Löß	5,7	0,92	15	kon			
	8	Parabraun- erde/Löß	7,2	1,14	16	bio			
Obstbau	17	Braunerde/ Pseudogley	6,7	2,66	25	kon	Pararendzina	7,7	0,79
	18	Braunerde/ Pseudogley	6,7	2,66	26	bio	Rigosol/Löß	7,8	1,24
	19	Pseudogley	7,1	2,34	27	kon	Alloctoner	7,5	1,69
	20	Pseudogley	6,6	2,94	28	bio	Auenboden	7,5	1,68
	21	Parabraun- erde aus	6,9	1,12	29	kon	Ranker-	6,0	2,06
	22	Parabraun- erde aus	6,9	1,54	30	bio	Rigosol	5,8	3,75
	23	Hochflut- lehm	6,6	1,11	31	kon	Pseudogley/	4,7	1,39
	24	Hochflut- lehm	6,6	1,26	32	bio	Hochflutlehm	6,8	1,61

1) Frühjahr 1984
2) Mittel aus 4 Terminen

2. Material und Methoden

Die Probenahme erfolgte in der ersten April- bzw. Oktoberhälfte der Jahre 1984 und 1985 auf den in Tabelle 1 abgebildeten Flächen. Pro Untersuchungsfläche wurde aus der Tiefe 0-15 cm eine Mischprobe aus über 100 Einstichen (Fläche ca. 1000m²) genommen, bodenfeucht auf 2mm gesiebt und bis zur Untersuchung im Kühlschrank aufbewahrt (Biomasseproben in der Tiefkühltruhe). Es kamen folgende Methoden zur Anwendung:

- Mikrobielle Biomasse n. Anderson u. Domsch (1978): 4stündige Bebrütung von 100g Boden nach Glukosezusatz bei 22°C. Auffangen des freigesetzten CO₂ in NaOH mit anschließender Titration
- Dehydrogenase nach Thalman(1967): Ansatz 5g Boden 24h bei 27°C
- Alkalische Phosphatase n. Hoffmann(1967): 5g Boden 5h bei 37°C
- Katalase nach Beck(1971)

Die aufgeführten Ergebnisse (Abb.1-4 u.Tab. 2) stellen Mittelwerte aus 2 Jahren und jeweils 2 Untersuchungsterminen dar.

Die chemischen Bodenanalysen (Tab.1) wurden anhand luftgetrockneter und auf 2mm gesiebter Proben durchgeführt.

- pH Wert elektrometrisch in 0,01 mCaCl₂
- C_t Gehalt nach Lichterfelde (Schlichting/Blume:1966)

Versuchsordnung, Bodennutzung und Bodeneigenschaften gehen aus Tab. 1 hervor.

3. Ergebnisse

Tabelle 2: Korrelationsmatrix

	Alkal. Phosphatase	Katalase	Dehydrogenase	C _t
Mikrobielle Biomasse	1) 2) 0,68/0,85	0,95/0,92	0,89/0,87	0,72/0,69
Alk. Phosphatase		0,74/0,89	0,74/0,82	0,18/0,75
Katalase			0,88/0,82	0,69/0,80
Dehydrogenase				0,56/0,87

1) Korrelation aller untersuchter Böden; n=32 Signifikanzschwelle $\alpha=0,1$ $r \geq 0,45$

2) Korrelation der Böden mit pH 6,8; n=14 Signifikanzschwelle $\alpha=0,1$; $r \geq 0,66$

Die "biologisch" bewirtschafteten Flächen haben gegenüber den "konventionell" bewirtschafteten Flächen durchweg höhere Humusgehalte, gemessen am C_t -Gehalt (Tab.1).

Die "biologisch" bewirtschafteten Flächen weisen bei allen untersuchten mikrobiologischen Parametern höhere Aktivitätswerte auf als die "konventionellen" (Abb.1-4).

Die obst- und teilweise auch die weinbaulich genutzten Böden haben ein höheres Aktivitätsniveau als die acker- und gemüsebaulich genutzten Böden. Diese Unterschiede zwischen den Kulturen lassen sich durch die unterschiedliche Versorgung der Böden mit organischer Substanz erklären (Siehe Bezug auf 1% C_t).

Beim Bezug auf ein einheitliches C_t -Niveau von 1% findet eine Abschwächung der Unterschiede zwischen den "konventionell" und "biologisch" bewirtschafteten Vergleichspaaren statt (Abb.1-4). Zum Teil lassen sich diese Unterschiede voll durch den unterschiedlichen C_t -Gehalt erklären (z.B. im Obstbau bei Katalase u. Mikrobieller Biomasse), meistens bleiben die Unterschiede aber weiter bestehen. Neben der möglichen Beeinflussung durch unterschiedliche pH-Werte zwischen einigen Vergleichsflächen (Tab.1, Vergleichspaare 5-6,7-8,17-18,31-32) sind die Unterschiede nur als Folge der unterschiedlichen Bewirtschaftung zu deuten.

Es bestehen enge Korrelationen zwischen den Parametern Mikrobielle Biomasse, Katalase- und Dehydrogenaseaktivität (Tab.2). Die enge Beziehung der Alkalischen Phosphatase zu den übrigen Parametern wird bei Berücksichtigung der Böden mit einem pH von größer als 6,8 deutlich. Weiterhin sind alle mikrobiologischen Parameter eng mit dem C_t -Gehalt korreliert, wobei die Aktivität von Katalase, Dehydrogenase und vor allem der Alkalischen Phosphatase eine deutliche pH- Abhängigkeit zeigen.

4. Zusammenfassung - Summary

Im Acker-, Gemüse-, Obst- und Weinbau wurden "konventionell" und "biologisch" bewirtschaftete Flächen vergleichend auf mikrobiologische Eigenschaften untersucht. Dabei wurden im Mittel von 4 Untersuchungsterminen höhere Werte an Mikrobieller Biomasse, Dehydrogenase-, Katalase- und Alk. Phosphataseaktivitäten bei den "biologischen" Varianten gemessen.

Aufgrund des höheren Humusgehaltes war das mikrobielle Niveau im Obst- und teilweise im Weinbau höher als im Acker und Gemüsebau. Als mögliche Ursachen für die Unterschiede zwischen den "konventionellen" und "biologischen" Vergleichspaaren wird neben dem Humusgehalt und pH-Wert die unterschiedliche Bewirtschaftung als Einflußgröße auf die Höhe der mikrobiellen Aktivität angenommen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft wird für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit gedankt.

Investigations on Some Soil Microbiological Parameters of Areas with Different Agricultural Systems and Cropping

From areas of agriculture, horticulture, fruit - culture and viticulture, comparatively managed according the norms of "conventional" and "biological" farming, soil samples were drawn to investigate some microbiological properties. Microbial biomass and the activities of dehydrogenase, catalase and alkaline phosphatase were enhanced more through "biological" farming (mean of 4 sampling dates). Due to a higher content of humus microbiological activities of fruit -culture and viticulture were more intensive than the soil microbial activities of agriculture and horticulture. Together with humus and pH the agricultural system was suggested to be of main influence on the height of soil microbiological activity.

5. Literatur

ANDERSON, J.P.E. u. DOMSCH, K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biology Biochemistry 10, 215-221

BRUGGER, D. (1982): Landbau- alternativ und konventionell , AID Heft, Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Bonn

BECK, TH. (1971): Die Messung der Katalaseaktivität von Böden. Zeitschr. Pflanzenern., Düngung und Bodenkunde 130, 68-81

HOFFMANN, G. (1967): Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Phosphataseaktivität in Böden.. Z.Pflanzenern. Düng. u. Bodenk. 118 , 161-172

SCHLICHTING, E. u. BLUME, H.P. (1966): Bodenkundliches Praktikum. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg

THALMANN, A. (1967): Ober die mikrobielle Aktivität...Dissertation, Gießen

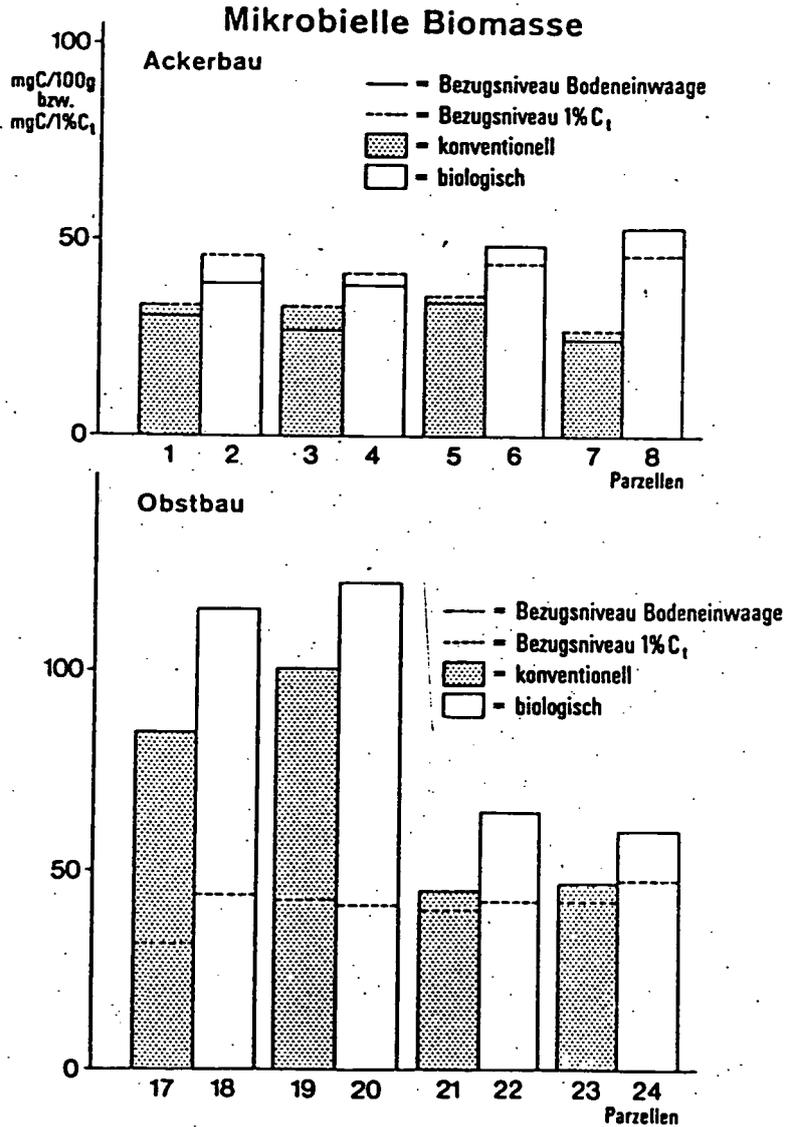


Abbildung I: Mikrobielle Biomasse (mg C/100 g Boden) in 32 "konventionell" u. "biologisch" genutzten Flächen

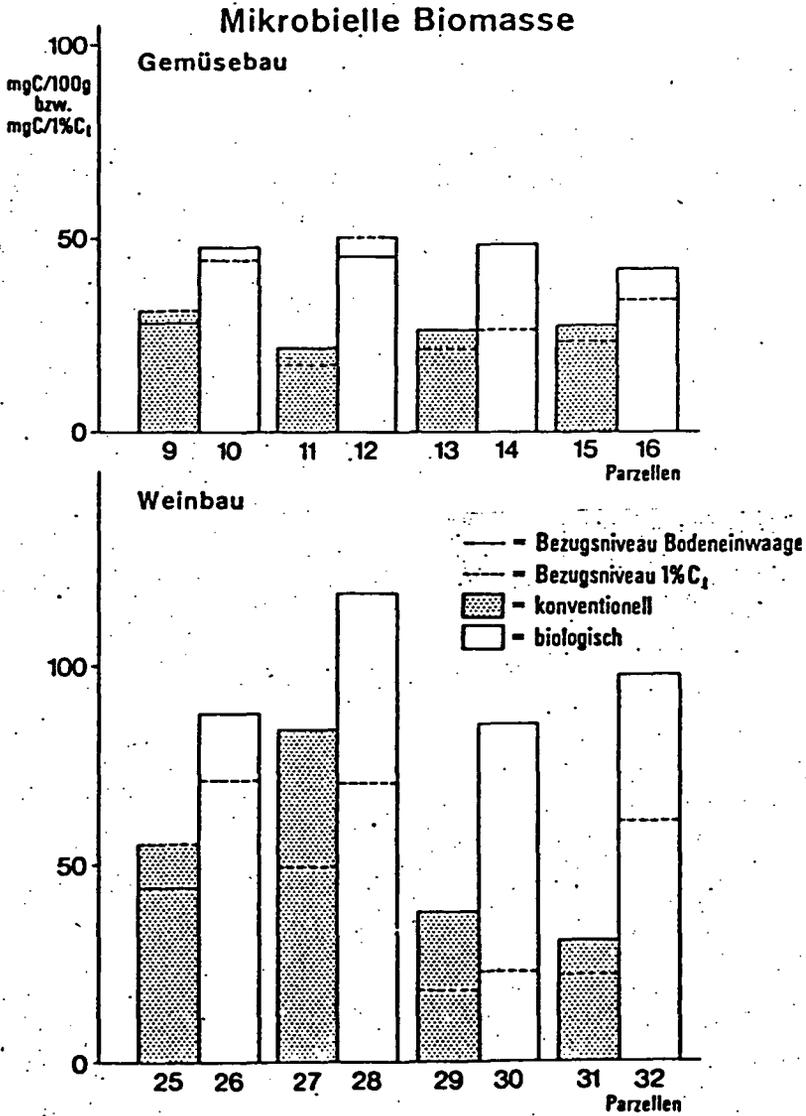


Abb. 1 (Fortsetzung)

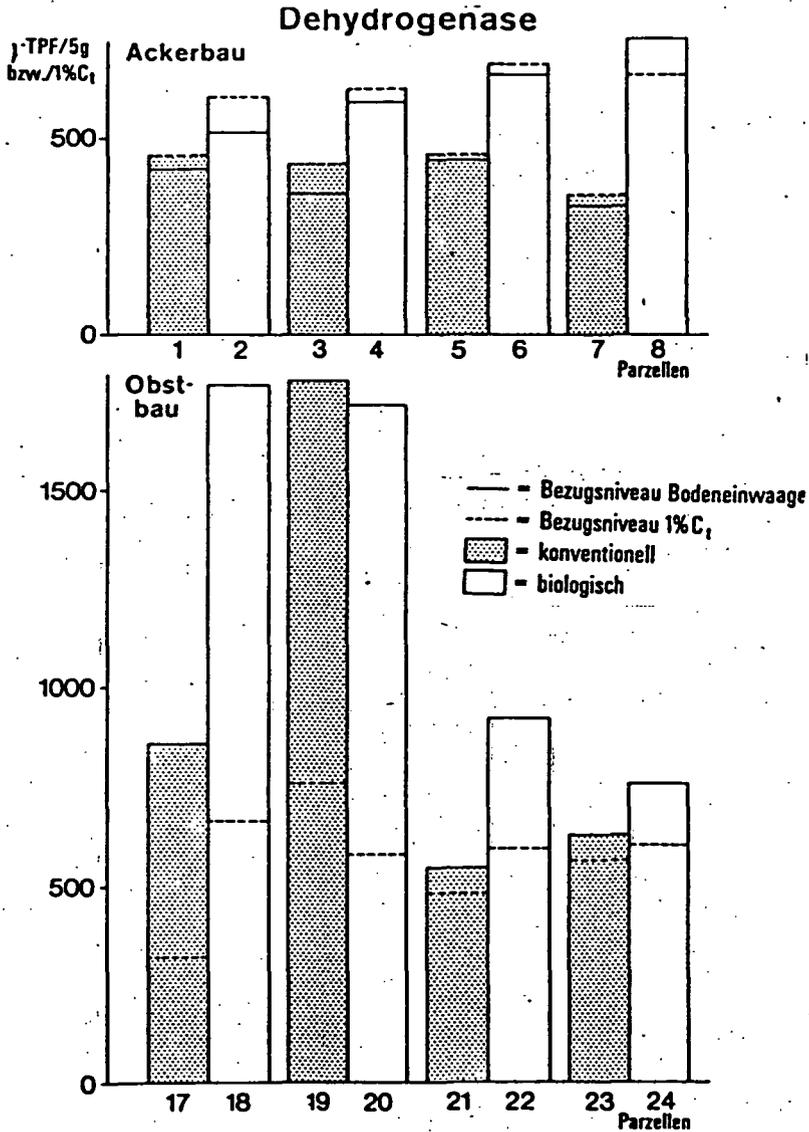


Abb. 2: Dehydrogenaseaktivität in 32 "konventionell" u. "biologisch" genutzten Flächen

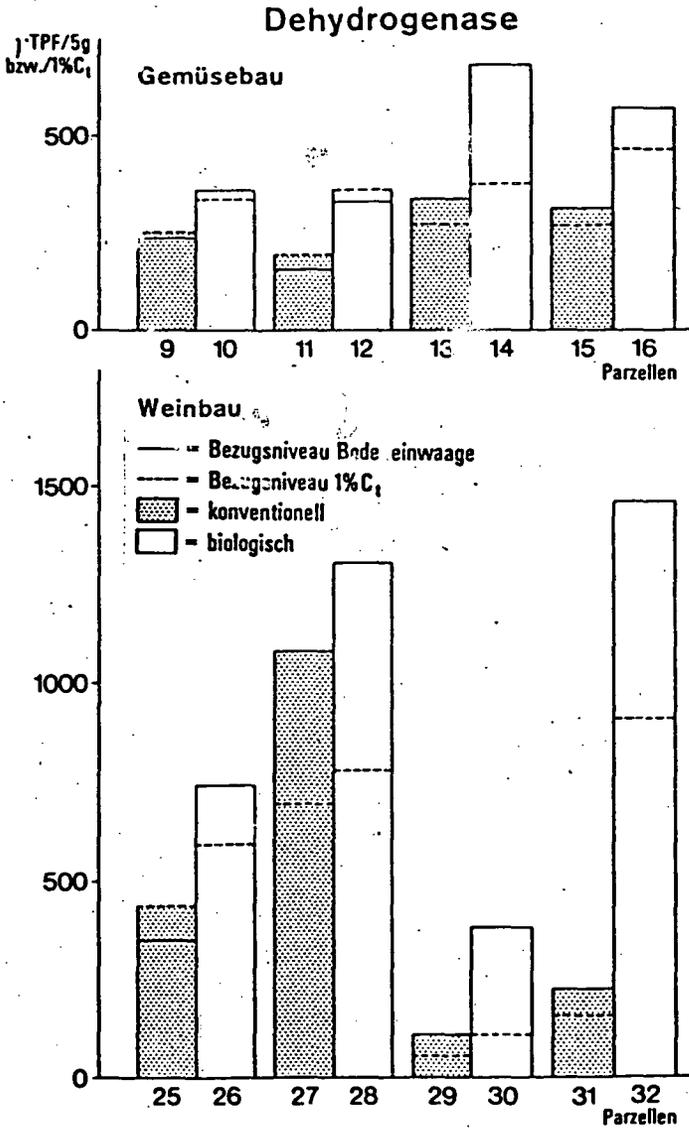


Abb. 2: (Fortsetzung)

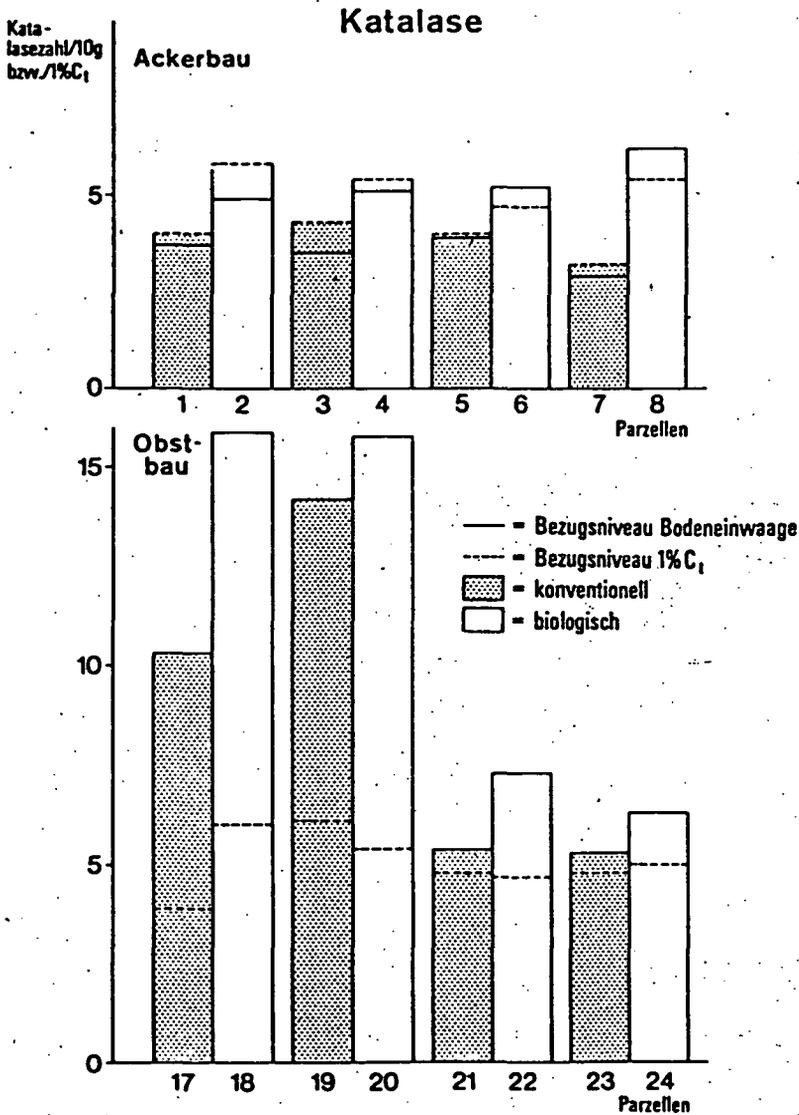


Abb.3: Katalaseaktivität in 32 "konventionell" u. "biologisch" genutzten Flächen

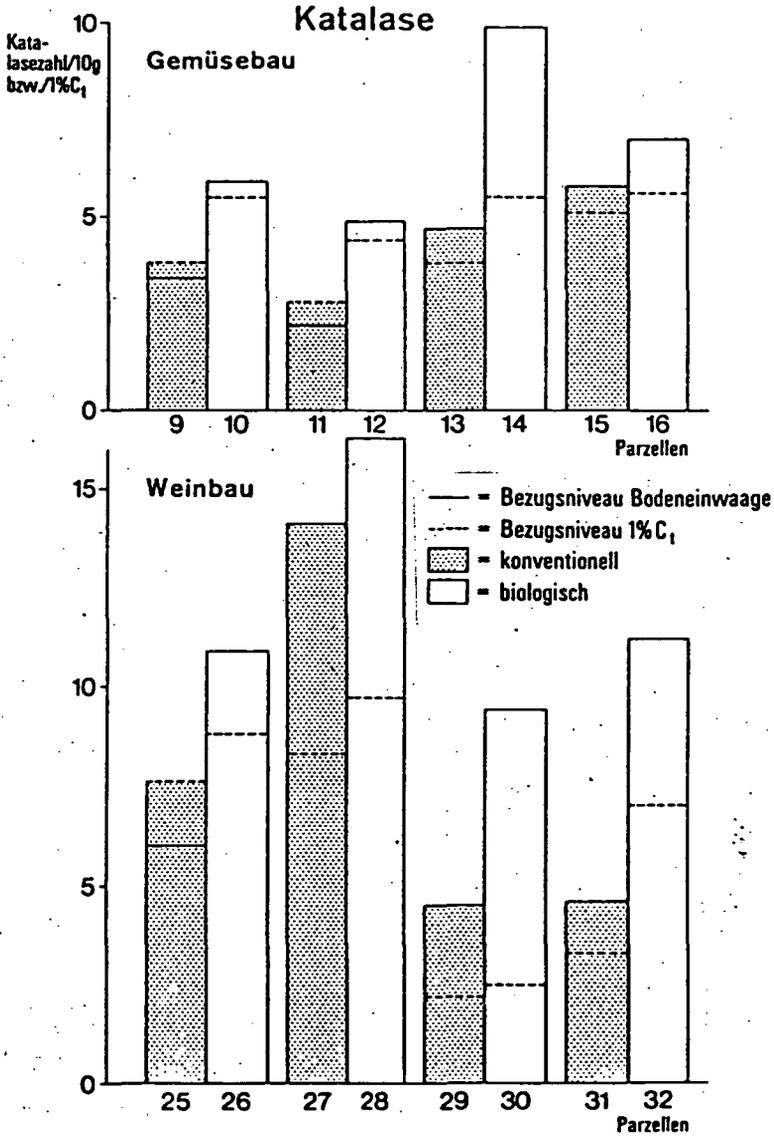


Abb. 3: (Fortsetzung)

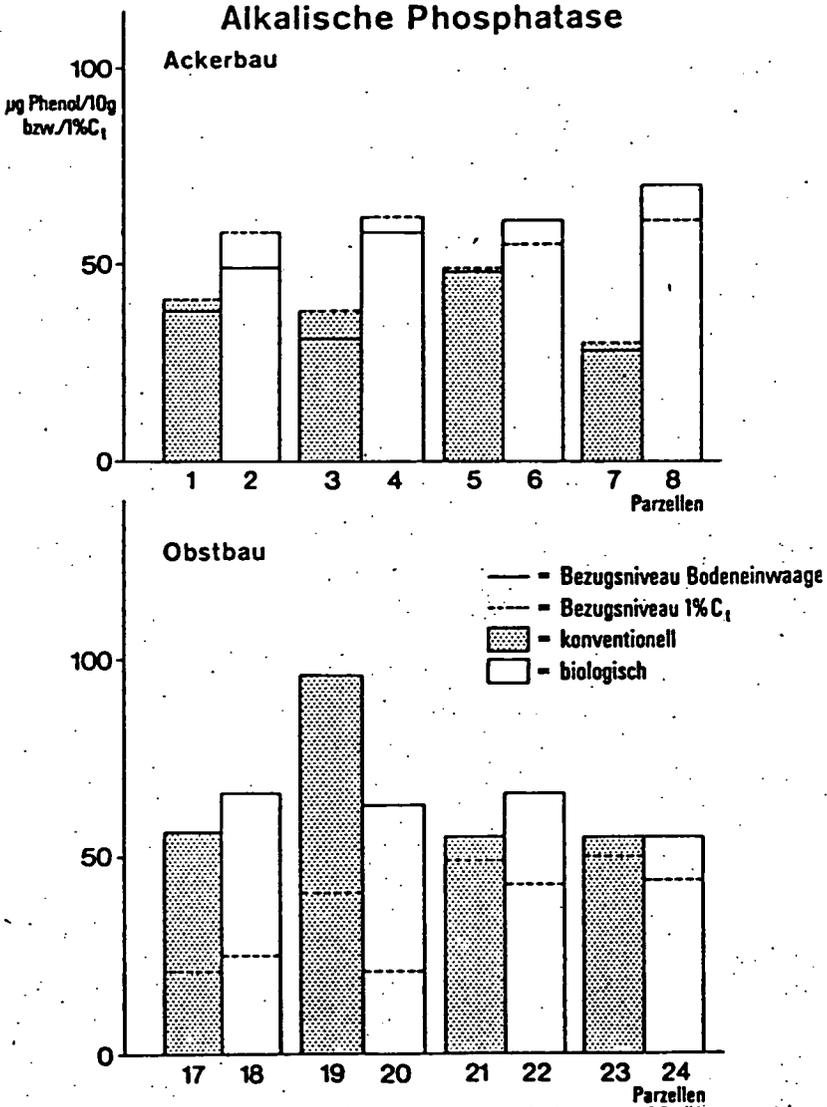


Abb. 4: Alkalische Phosphataseaktivität in 32 "konventionell" u. "biologisch" genutzten Flächen

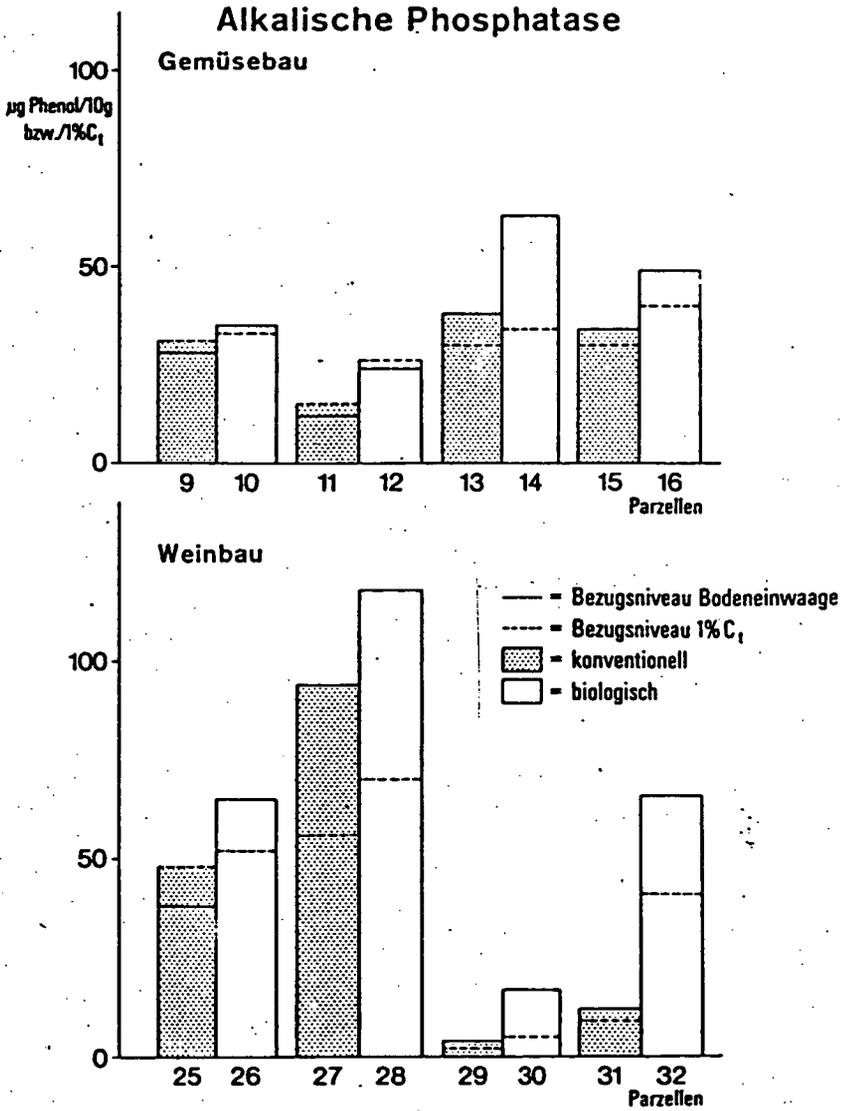


Abb. 4: (Fortsetzung)

Adenosintriphosphat (ATP) - ein Maß für den Belebtheitsgrad von
Böden

von R. M a r g e s i n und F. S c h i n n e r

1. Einleitung

Adenosintriphosphat (ATP) ist der universelle Energieträger aller lebenden Zellen und damit Indikator für Leben.

ATP kommt in allen lebenden Zellen vor, wird aber in toten Zellen und in extrazellulärer Form schnell hydrolysiert, wodurch eine Bindung von ATP an tote organische Substanz verhindert wird (HOLM-HANSEN und BOOTH, 1966; CONKLIN und MACGREGOR, 1972). Diese Eigenschaften erlauben es, einen Zusammenhang zwischen ATP und Biomasse zu sehen.

Die quantitative Bestimmung von ATP erfolgt mittels der Luziferin-Luziferase-Reaktion der Leuchtkeferbiolumineszenz (MCELROY, 1947; STREHLER und TOTTER, 1952; SELIGER und MCELROY, 1960).

Das Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von drei ausgewählten ATP-Extraktionsmethoden an acht verschiedenen Bodentypen. Der ATP-Nachweis erfolgte mit zwei unterschiedlichen Enzymsystemen. Die Korrelation mit bodenchemischen Messungen der untersuchten Böden wurde geprüft.

2. Material und Methoden

2.1. Bodenmaterialien

Die acht Bodentypen (chemisch-physikalische Analyse: Tab.1) wurden bis zur Verarbeitung bei 4°C in geschlossenen Plastikbeuteln gelagert und 20 h vor der Extraktion auf 2 mm gesiebt und im geschlossenen Plastikbeutel bei Raumtemperatur inkubiert.

2.2. ATP-Extraktionsmethoden

Extraktion nach MARTENS (1985):

5 g TG (2 g TG für Boden 3) wurden mit 15 ml Chloroform und 50 ml Extraktionslösung (0,25M NaHCO₃/0,10M K₂HPO₄/16mM Adenosin, pH 8,0) 2 min im Eisbad bei 150 Watt mit einer 19 mm-Titansonde beschallt (Labsonic 1510). Nach einer Filtration über Faltenfilter wurde in der Extraktionslösung gelöstes Chloroform mittels Rotationsverdampfung bei 40°C Wasserbadtemperatur entfernt.

Boden Nr.	WHC %	pH _{CaCl2}	CaCO ₃ %	Humus %	org. Subst. %	N %	mg/100g			ppm			% Korngrößenfraktion			Bodenart		
							K ₂ O	P ₂ O ₅	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	<2µm	2-20µm		20-60µm	>60µm
1	59,5	5,2	0	2,0	3,0	0,16	14	11	8	300	290	3	3	12,0	13,2	14,3	60,5	lehmiger Sand
2	49,7	5,3	0	4,8	5,8	0,30	11	7	16	390	320	4	5	7,5	12,6	19,0	60,9	lehmiger Sand
3	61,0	5,4	0	25,0	31,9	1,12	9	8	22	2600	160	7	20	11,7	13,3	44,9	30,1	sandiger Schluff
4	48,3	5,6	0	1,6	2,2	0,10	23	13	13	160	80	5	21	8,3	7,4	9,0	75,3	lehmiger Sand
5	65,5	4,8	0	3,4	4,4	0,20	26	17	27	750	320	6	6	30,4	31,1	33,5	5,0	schluffiger Lehm
6	63,1	7,1	17,2	8,6	12,1	0,60	33	6	10	200	40	-8	10	13,6	26,6	52,3	7,5	Schluff
7	69,0	7,1	0	2,7	4,2	0,19	30	25	16	400	370	9	7	15,8	33,5	47,5	3,2	Schluff
8	74,5	6,8	6,1	5,3	6,3	0,25	6	27	10	650	150	18	27	7,1	25,5	23,6	43,8	schluffiger Sand

Tab.1: Chemisch-physikalische Analyse der Versuchsböden
(Analyse: Landwirtschaftlich-chemische Bundesanstalt Linz).

Extraktion nach BANCROFT et al. (1976):

1 g TG (0,2 g TG für Boden 3) wurde mit 50 ml kochender 0,1M NaHCO_3 , pH 8,5, 1 min stark gemixt (Vortex). 10 ml der Mischung wurden 10 min bei 19.000 g und 2°C zentrifugiert.

Extraktion nach JENKINSON und OADES (1979):

2,5 g TG (1 g TG für die Böden 3 und 6) wurden mit 25 ml 0,5M TCA/0,25M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ /0,1M Paraquat-Dichlorid 2 min lang bei 150 Watt im Eisbad beschallt. Nach einer Kühlung der Reaktion für 5 min im Eisbad erfolgte die Extraktreinigung durch Filtration über Faltenfilter.

Zur Bestimmung der Extraktionseffizienz wurde eine 10^{-4} M ATP-Dinatriumsalzlösung in 20mM Tris/2mM EDTA, pH 7,75, in der Extraktionslösung gelöst zugegeben.

Von jedem Boden wurden pro Extraktion 5 unabhängige Extraktionen mit und ohne internen Standard der Extraktion durchgeführt.

2.3. ATP-Nachweis

Jeder Extrakt wurde mit der gereinigten Luziferin-Luziferase-Mischung von LKB (ATP-Monitoring-Reagent) und mit dem ungereinigten, mit $3,3 \cdot 10^{-4}$ M D-Luziferin supplementierten FLE-50 von Sigma (MARGESIN, 1986) nach der standard-addition-technique (LUNDIN und THORE, 1975; THORE, 1979) gemessen (Abb.1 und 2).

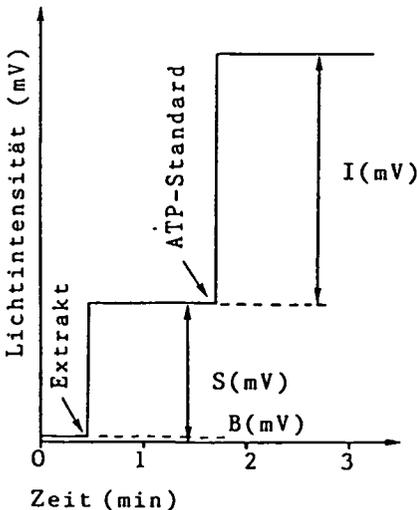


Abb.1: Messung der ATP-Konzentration mit ATP-Monitoring-Reagent (LKB) nach der standard-addition-technique.

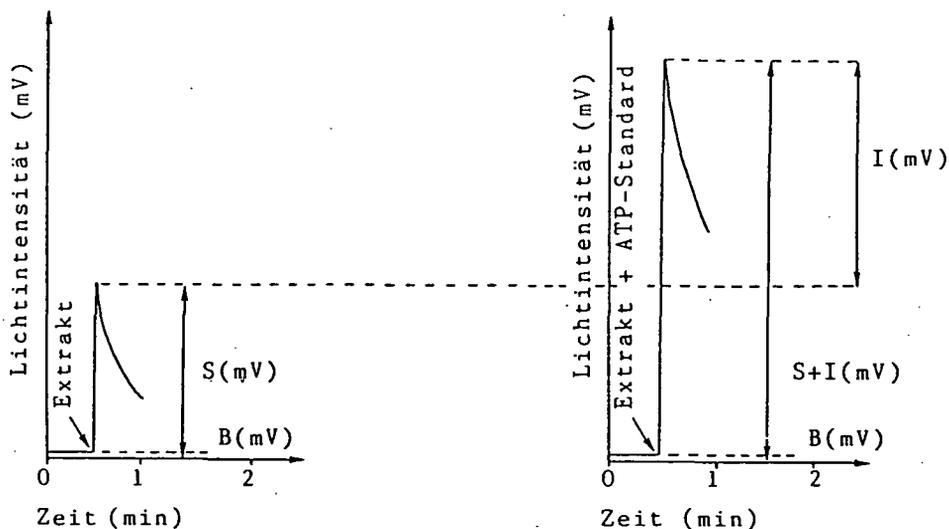


Abb.2: Messung der ATP-Konzentration mit FLE-50 (Sigma), supplementiert mit D-Luziferin, nach der standard-addition-technique.

Für den internen Standard der Messung wurde eine 10^{-4} M ATP-Dinatriumsalzlösung in 20mM Tris/2mM EDTA, pH 7,75, hergestellt und verdünnt.

Der Meßpuffer setzte sich aus 20mM Tris/2mM EDTA/10mM Magnesiumacetat, pH 7,75, zusammen, für die Extrakte nach JENKINSON und OADES (1979) wurde die Triskonzentration auf 0,1M erhöht.

Das Reaktionsvolumen in der Meßküvette (LKB) betrug 500 μ l für die Extrakte nach MARTENS (1985) und nach BANCROFT et al. (1976) und 1000 μ l für die Extrakte nach JENKINSON und OADES (1979). Die Enzymkonzentration betrug für das ATP-Monitoring-Reagent von LKB 1/5 des Reaktionsvolumens, für FLE-50/D-Luziferin 1/17 - 1/20. Es wurden je nach Inhibition der Biolumineszenz 2,5-20 μ l Extrakt vermessen.

Die Messungen erfolgten in einem Luminometer (Luminometer 1250, LKB-Wallac; Auswertegerät TP 84-01).

3. Ergebnisse

3.1. ATP-Extraktion

Extraktion nach MARTENS (1985):

Bei einem ATP-Nachweis mit dem Enzym von LKB streuten die ATP-Werte der Böden von 438,9-3528,7 ng/g TG. Die Extraktions-

effizienz der Methode lag mit Ausnahme des Bodens 6 zwischen 69,5 und 105,8%, die geringste Effizienz wiesen die Schluffböden auf,

Der ATP-Nachweis mit FLE-50/D-Luziferin war für die Böden 3,5 und 8 aufgrund zu hoher Meßwertschwankungen nicht möglich. Die Werte für den ATP-Gehalt der übrigen Böden lagen mit Ausnahme des Bodens 6 um 10-15% höher, für die Extraktionseffizienz teils niedriger, teils höher als bei einem ATP-nachweis mit ATP-Monitoring-Reagent (Tab.2).

Extraktion nach BANCROFT et al. (1976):

Mit dem Enzym von LKB konnten trotz hoher Verdünnungen nur die Böden 1-4 analysiert werden. Bei einer Extraktionseffizienz von 76,2-104,2% wiesen diese 546,2-2989 ng ATP/g TG auf.

Der ATP-Nachweis mit FLE-50/D-Luziferin war nur für die Böden ohne Schluffanteil (1,2,4) möglich (Tab.3).

Extraktion nach JENKINSON und OADES (1979):

Der ATP-Gehalt der Böden lag bei einem ATP-Nachweis mit LKB zwischen 1089,1 und 13.890,7 ng/g TG; die geringste Extraktionseffizienz wurde bei Boden 5 (60%), die höchste mit 79,7% bei Boden 6 erreicht.

Der ATP-Nachweis mit FLE-50/D-Luziferin lieferte um bis zu 30% erhöhte ATP-Werte (Tab.4).

Im Vergleich mit der ATP-Extraktion nach MARTENS (1985) konnten mit dieser Methode 2-4mal so hohe ATP-Werte gemessen werden.

3.2. Korrelationsbeziehungen

Der ATP-Gehalt korrelierte mit Humus, organischer Substanz und Bodenstickstoff, nicht aber mit dem Kalium-, Phosphat- und Magnesiumgehalt der Böden. Zwischen Extraktionseffizienz und Korngrößenfraktion der Böden bestand kein korrelativer Zusammenhang (Tab.5).

4. Diskussion

Die Analyse von acht Bodentypen mit drei Extraktionsmethoden zeigte, daß die Bodenzusammensetzung großen Einfluß auf Extraktion und Nachweis von ATP ausübt. Die stärkste Beeinflußbarkeit zeigte die Extraktion nach BANCROFT et al.

Tab.2: ATP-Extraktion aus 8 verschiedenen Bodentypen nach MARTENS (1985)
 ATP-Nachweis mit : - ATP-Monitoring-Reagent (LKB)
 - FLE-50 (Sigma), supplementiert mit D-Luziferin

Boden	Bodenart	LKB		FLE-50/D-L	
		Extraktions- effizienz (%)	ng ATP/g TG	Extraktions- effizienz (%)	ng ATP/g TG
1	lehmiger Sand	105,8	438,9	70,7	843,1
2	lehmiger Sand	94,4	1295,1	107,7	1300,7
3	sandiger Schluff	103,7	3528,7	n.b.	n.b.
4	lehmiger Sand	99,6	609,7	75,4	803,9
5	schluffiger Lehm	79,9	774,4	n.b.	n.b.
6	Schluff	44,5	1267,1	67,2	954,6
7	Schluff	73,7	500,3	67,0	590,2
8	schluffiger Sand	69,5	1519,0	n.b.	n.b.

n.b. = nicht bestimmbar

Tab.3: ATP-Extraktion aus 8 verschiedenen Bodentypen nach BANCROFT et al. (1976)
 ATP-Nachweis mit : - ATP-Monitoring-Reagent (LKB)
 - FLE-50 (Sigma), supplementiert mit D-Luziferin

Boden	Bodenart	LKB		FLE-50/D-L	
		Extraktions- effizienz (%)	ng ATP/g TG	Extraktions- effizienz (%)	ng ATP/g TG
1	lehmiger Sand	94,5	546,2	84,2	593,6
2	lehmiger Sand	104,2	2271,2	94,7	1884,5
3	sandiger Schluff	78,3	2989,6	n.b.	n.b.
4	lehmiger Sand	76,2	799,0	88,6	505,1
5	schluffiger Lehm	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
6	Schluff	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
7	Schluff	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
8	schluffiger Sand	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

n.b. = nicht bestimmbar

Tab.4:ATP-Extraktion aus 8 verschiedenen Bodentypen nach JENKINSON und OADES (1979)

ATP-Nachweis mit : - ATP-Monitoring-Reagent (LKB)

- FLE-50 (Sigma), supplementiert mit D-Luziferin

Boden	Bodenart	LKB		FLE-50/D-L	
		Extraktions- effizienz (%)	ng ATP/8 TG	Extraktions- effizienz (%)	ng ATP/8 TG
1	lehmiger Sand	78,6	1089,1	61,7	1317,6
2	lehmiger Sand	63,5	5298,5	70,8	4172,9
3	sandiger Schluff	62,9	13890,9	67,0	13869,9
4	lehmiger Sand	74,3	1267,9	60,2	1499,2
5	schluffiger Lehm	60,0	2188,4	43,8	3115,9
6	Schluff	79,7	4021,9	71,1	4671,5
7	Schluff	67,3	1826,2	56,8	2393,9
8	schluffiger Sand	66,3	5136,7	n.b.	n.b.

n.b. = nicht bestimmbar

Tab. 5: Korrelationskoeffizienten zwischen reellem ATP-Gehalt, Extraktionseffizienz und chemisch-physikal. Bodenparametern

chemisch-physikal. Bodenparameter	ATP-Extraktion nach											
	MARTENS (1985)				BANCROFT et al. (1976)				JENKINSON und OADES (1979)			
	Nachweisz enzym				Nachweisz enzym				Nachweisz enzym			
	LKB	FLE-50/D-L	LKB	FLE-50/D-L	LKB	FLE-50/D-L	LKB	FLE-50/D-L	LKB	FLE-50/D-L	LKB	FLE-50/D-L
ATP ▽	Extr.eff. ▲	ATP ▲	Extr.eff. ▽	ATP ▲	Extr.eff. ▽	ATP ▽	Extr.eff. ▲	ATP ▽	Extr.eff. ▲	ATP ▲	Extr.eff. ▽	
Humus	0,97***		0,44		0,84		0,99 ⁿ		0,96***		0,99***	
org. Subst.	0,96***		0,33		0,82		0,99		0,95***		0,98***	
Boden-N	0,93***		0,38		0,85		0,97		0,92**		0,97***	
Boden-pH	-0,08		-0,48		-0,02		-0,33		-0,09		-0,14	
Boden-K ₂ O	-0,50		-0,59		-0,75		-0,74		-0,52		-0,50	
Boden-P ₂ O ₅	-0,30		-0,81		-0,85		-0,96		-0,30		-0,47	
Boden-Mg	0,33		0,10		0,94		0,75		0,34		0,42	
Korngrößen:												
<2 µm		-0,19		-0,77		-0,26		-0,90		-0,34		-0,84*
2-20 µm		-0,74*		-0,49		0,52		0,00		-0,23		-0,48
20-60 µm		-0,61		-0,44		-0,26		0,55		-0,12		0,07
>60 µm		0,66		0,50		0,17		-0,07		0,24		0,33

▽ n = 8 (Böden 1-8) ▲ n = 5 (Böden 1,2,4,5,7) ▲ n = 3 (Böden 1,2,4)
 ○ n = 7 (Böden 1-7) ▲ n = 4 (Böden 1-4)

(1976), diese Methode ist nur für Böden mit geringem oder ohne Ton-, Schluff-, Phosphat- und Kalkanteil geeignet, wenn auch diese Vermutungen sich nicht korrelativ bestätigen lassen. Kochende Extraktionslösungen haben sich als nicht effizient für eine ATP-Extraktion aus Böden erwiesen (LEE et al., 1971; AUSMUS, 1973; EILAND, 1979), sie vermögen hitzestabile ATPasen nicht zu inaktivieren (KARL und CRAVEN, 1980) und bringen eine Verarmung an Sauerstoff und damit eine Hemmung der Nachweisreaktion mit sich (STREHLER, 1974). Die Extraktionen nach MARTENS (1985) und nach JENKINSON und OADES (1979) zeigten eine größere Unabhängigkeit von der Bodenzusammensetzung. Mit der Extraktion nach JENKINSON und OADES wurden durchschnittlich dreifach höhere Werte erzielt als mit jener nach MARTENS. Die Extraktion nach MARTENS wies höhere Extraktionseffizienzen auf, Schluffböden beeinflussten die Extraktion stärker als sandige Böden. Der Einfluß von Ton hat sich als limitierender Faktor für die ATP-Extraktion aus Böden erwiesen (AUSMUS, 1973; JENKINSON und OADES, 1979). Für Na-Montmorillonit konnte eine 100% Adsorption und Dephosphorilierung zu ADP festgestellt werden (GRAF und LAGALY, 1980). Auch Kalk, organisches Material und besonders Fulvinsäuren beeinflussen die Extrahierbarkeit von ATP (CUNNINGHAM und WETZEL, 1978). Da alle Extrakte mit einem gereinigten und einem ungereinigten Enzym gemessen wurden, war der Einfluß der Luziferase auf die ATP-Bestimmung ersichtlich: ungereinigte Enzyme liefern um 5-35% erhöhte ATP-Werte. FLE-50 (Sigma) weist hohe Adenylatkinase- und Pyrophosphataseaktivität auf und ist nicht ATP-spezifisch (WEBSTER et al., 1979). Ein erhöhter Meßaufwand (THORE, 1979), hohe Streuungen zwischen Parallelmessungen und erhöhte Sensitivität gegenüber der Probenzusammensetzung sprechen gegen dessen Einsatz. ATP-Monitoring-Reagent von LKB ist an Luziferin gesättigt, weist kaum Fremdenzymaktivität auf (WEBSTER et al., 1979) und liefert unabhängig von der Probe ein stabiles Lichtsignal.

5. Zusammenfassung - Summary

Drei ausgewählte Extraktionsmethoden wurden zur Quantifizierung von ATP aus acht Bodentypen aus Oberösterreich und Tirol verwendet. Es zeigte sich, daß die ATP-Extraktion aus Böden von der Bodenzusammensetzung, Extraktionslösung und Zellyse beeinflußt wird. Anhand der Bestimmung der Extraktionseffizienz konnte auf den im Boden adsorbierten oder hydrolysierten ATP-Anteil geschlossen werden, dieser variierte je nach Ton-, Schluff- und Kalkgehalt des Bodens und je nach Extraktionsmethode. Die Extraktion mit 0,5M TCA/0,25M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ /0,1M Paraquat-Dichlorid in Verbindung mit Ultraschall bei 4°C ergab die höchsten ATP-Werte. Der ATP-Nachweis erfolgte mit einem gereinigten und einem ungereinigten Leuchtkeferluziferaseprodukt. Ungereinigte Luziferasen täuschen einen erhöhten ATP-Gehalt vor. Zwischen ATP-Gehalt, organischer Substanz, Humus- und Stickstoffgehalt der Böden bestanden signifikante Korrelationen, nicht aber zwischen ATP-Gehalt und Kalium-, Phosphat- und Magnesiumgehalt der Böden und zwischen ATP-Extraktionseffizienz und Korngrößenfraktion der Böden.

Adenosine triphosphate (ATP) - a measure for animation of soils

Three extraction methods were chosen to quantify ATP from eight soils from Upper Austria and the Tirol.

It was noted that the ATP extraction from soils depends on the components of the soil, the solution of the extraction and the cellyse. From the measured extraction efficiency the ATP percentage adsorbed or hydrolysed in the soil could be inferred, this varied according to the clay, silt and loam content of the soil and according to the extraction method. The extraction with 0,5M TCA/0,25M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ /0,1M paraquat dichloride in connection with sonification at 4°C showed the highest ATP levels.

The measurement of ATP was done with a purified and with an unpurified firefly luciferase. Unpurified luciferases simulate an increased ATP content.

There were significant correlations between ATP content, organic matter, humus and nitrogen content of the soils, but

not between the ATP content and the calcium, phosphate and magnesium percentage and between the ATP extraction efficiency and the particle type of the soils.

6. Literatur

AUSMUS, B.S. (1973): The use of the ATP assay in terrestrial decomposition studies. *Bull. Ecol. Res. Comm.* 17, 223-234

BANCROFT, K., PAUL, E.A., WIEBE, W.J. (1976): The extraction and measurement of adenosine triphosphate from marine sediments. *Limnol. Oceanogr.* 21, 473-480

CONKLIN, A.R., MACGREGOR, A.N. (1972): Soil adenosine triphosphate: Extraction, recovery and half-life. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 7, 296-300

CUNNINGHAM, H.W., WETZEL, R.G. (1978): Fulvic acid interferences on ATP determinations in sediments. *Limnol. Oceanogr.* 23, 166-173

EILAND, F. (1979): An improved method for determination of adenosine triphosphate (ATP) in soil. *Soil Biol. Biochem.* 11, 31-35

GRAF, G., LAGALY, G. (1980): Interaction of clay minerals with adenosine-5-phosphates. *Clay and Clay Minerals* 28, 12-18

HOLM-HANSEN, O., BOOTH, C.R. (1966): The measurement of adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significance. *Limnol. Oceanogr.* 11, 510-519

JENKINSON, D.S., OADES, J.M. (1979): A method for measuring adenosine triphosphate in soil. *Soil Biol. Biochem.* 11, 193-199

KARL, D.M., CRAVEN, D.B. (1980): Effects of alkaline phosphatase activity on nucleotide measurements in aquatic microbial communities. *Appl. Environm. Microbiol.* 40, 549-561

LEE, C.C., HARRIS, R.F., WILLIAMS, J.D.H., ARMSTRONG, D.E., SYERS, J.K. (1971): Adenosine triphosphate in lake sediments: I. Determination. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 35, 82-86

LUNDIN, A., THORE, A. (1975): Analytical information obtainable by evaluation of the time course of firefly bio-

luminescence in the assay of ATP. Anal. Biochem. 66, 47-63

MARGESIN, R. (1986): Die Bestimmung von Adenosintri-phosphat in Bodenmaterialien. Diplomarbeit Universität Innsbruck.

MARTENS, R. (1985): Estimation of the adenylate energy charge in unamended and amended agricultural soils. Soil Biol. Biochem. 17, 765-772

MCELROY, W.D. (1947): The energy source for bioluminescence in an isolated system. Proc. Natl. Acad. Sci. 33, 342-345

SELIGER, H.H., MCELROY, W.D. (1960): Spectral emission and quantum yield of firefly bioluminescence. Arch. Biochem. Biophys. 88, 136-141

STREHLER, B.L. (1974): Adenosin-5'-triphosphat und Creatinphosphat. In: Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2 (BERGMEYER, H.U., Ed.), 2163-2172

STREHLER, B.L., TOTTER, J.R. (1952): Firefly luminescence in the study of energy transfer mechanisms. I. Substrate and enzyme determination. Arch. Biochem. Biophys. 40, 28-41

THORE, A. (1979): Bioluminescence assay: Extraction of ATP from biological specimens. LKB-Wallac.

WEBSTER, J.J., CHANG, J.C., HOWARD, J.L., LEACH, F.R. (1979): Some characteristics of commercially available firefly luciferase preparations. J. Appl. Biochem. 1, 471-478

Anschrift: Rosa Margesin
Institut für Mikrobiologie
Technikerstraße 25
6020 Innsbruck

Enzymaktivitäten in landwirtschaftlich genutzten und naturnahen
Böden im Marchfeld und im südlichen Weinviertel

von M. M ü l l e b n e r und H. K i n z e l (unter Mit-
arbeit von O. L i n h e r)

1. Einleitung.

Wenn sich neuerdings die Erkenntnis durchgesetzt hat, daß zur Charakterisierung eines Bodens neben den Nährstoffgehalten und den physikalischen Eigenschaften auch bodenbiologische und biochemische Parameter herangezogen werden sollten, dann stand dabei zunächst das Bestreben nach einer Erweiterung und Vertiefung der Aussagen zur Möglichkeit landwirtschaftlicher Nutzung im Vordergrund. Über diesen mehr quantitativen Aspekt hinaus kann aber das jeweilige Muster bodenbiologischer Parameter dazu dienen, einen Ausdruck für die vom ökologischen Standpunkt aus wichtige qualitative Charakterisierung eines Bodens zu finden, um seine Eigenart innerhalb der Mannigfaltigkeit der vorfindlichen Bodenarten und -typen immer besser zu erfassen, auch im Hinblick auf die so notwendige Betrachtung des Bodens als belebtes Ökosystem. Ein nützliches Hilfsmittel dazu ist ein Verfahren der graphischen Darstellung einer Auswahl von Parametern, welches die jeweils vorliegende Kombination derselben als ganzheitlich faßbare Gestalt erkennbar macht. Wir verwenden dazu die auf einem nebenstehenden Poster erläuterten Stern diagramme.

Ein besonderes Anliegen innerhalb der vorliegenden Untersuchung war es auch, nicht nur landwirtschaftlich genutzte Böden zu analysieren, sondern auch Böden, die nicht oder nicht ständig genutzt werden, in die Untersuchungen einzubeziehen. Durch Vergleich der bodenbiologischen Verhältnisse unter einem relativ naturnahen Ökosystem mit den entsprechenden Verhältnissen in einem möglichst eng benachbarten landwirtschaftlich genutzten Boden kann abgeschätzt werden, welchen Einfluß die landwirtschaftlichen Kulturmethoden unter bestimmten klimatischen und edaphischen Bedingungen auf den Bodenzustand haben.

In diesem Zusammenhang besteht jedoch, beim gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse, nicht die Absicht, Wertungen auszusprechen, also eine bestimmte Kombination bodenbiologischer Parameter als "gut", eine andere als "schlecht" zu definieren. Wenn auch ein hoher Grad von Belebtheit im allgemeinen für einen landwirtschaftlichen Boden ein günstiges Symptom ist, so kann es sich bei den hier vorgelegten Ergebnissen doch nur um eine vorläufige Sammlung von Daten handeln,

welche aber, sobald ein größerer Erfahrungsschatz erarbeitet sein wird, sehr wohl auch diagnostischen Wert bekommen werden.

2. Methoden.

Zur Bestimmung der Enzymaktivitäten dienten die folgenden Methoden: Dehydrogenase nach THALMANN (1968), modifiziert von MÜLLEBNER (1984). Zunächst wurde in Vorversuchen diejenige Konzentration an TTC ermittelt, welche mit dem jeweiligen Boden die maximalen Werte ergab. Diese TTC-Konzentration steht im Zusammenhang mit der Fähigkeit des Bodens, TTC zu adsorbieren und damit der Reaktion zu entziehen. Sie wurde in das Sterndiagramm aufgenommen. Phosphatase nach HOFFMANN (1968), modifiziert von MÜLLEBNER (1984). Alkalische Phosphatase ist in Mikroorganismen enthalten bzw. wird von diesen ausgeschieden. Für die tatsächliche Fähigkeit des Bodens, organische Phosphatester zu hydrolysieren, ist jedoch die Phosphatase-Aktivität beim jeweiligen pH-Wert des Bodens ein besseres Maß. Die Phosphatase-Aktivität wurde daher sowohl in einer auf pH 10.2 gepufferten als auch in einer ungepufferten Bodensuspension gemessen. Beide Werte wurden in die Sterndiagramme eingetragen. Proteinase nach LADD und BUTLER (1972). pH-Werte wurden in einer Bodensuspension (Boden:Lösung = 1 : 2.5) in 0.01 m CaCl_2 -Lösung mit einer Glaselektrode gemessen. Zur Bestimmung von Gesamt-Kohlenstoff und Gesamt-Stickstoff diente ein CHN-Automat der Firma Heraeus. Die bei dieser trockenen Verbrennung erhaltenen Stickstoff-Werte umfassen auch den in Humus festgelegten, nicht pflanzenverfügbaren Stickstoff. Die Messung der Redoxpotentiale (rH-Werte) erfolgte mit dem Gerät "Bio-Ionostat" der Firma Lautenschläger, Geretsried.

3. Ergebnisse und Diskussion.

In einem Weinbaugebiet zwischen Großschweinbart und Hohenruppersdorf (Weinviertel) wurde eine Stelle aufgesucht, an der ein relativ kleinräumiges Mosaik von landwirtschaftlich genutzten und naturnahen Böden besteht. Gezeigt werden die Ergebnisse aus dem Boden eines Weingartens (12), eines unmittelbar benachbarten Eichenmischwaldes (11) und einer in etwa 200 m Entfernung gelegenen ungenutzten Fläche, auf der sich aus spontanem Samenanflug eine von Gräsern dominierte Misch-

vegetation eingestellt hat (15, als "Wiese" bezeichnet). Die Bodenformen sind weitgehend ähnlich.

Ein Vergleich zwischen 11 und 12 zeigt für den Waldboden eine ziemlich ausgeglichene Verteilung von Enzymaktivitäten und einen relativ hohen Gehalt an Kohlenstoff und Stickstoff. Der Boden im Weingarten (12) hat, bei gleichem pH-Wert, einen erheblich geringeren Gehalt an Kohlenstoff und Stickstoff, vor allem aber drastisch verminderte Gehalte an den vier gemessenen Enzymaktivitäten, vor allem auch an der als allgemeiner Maßstab für das Bodenleben geltenden Dehydrogenase-Aktivität. Boden 15 ("Wiese") liegt hinsichtlich des Gehaltes an C und N etwa auf dem Niveau des Weingarten-Bodens, zeigt aber wesentlich höhere Enzymaktivitäten, vor allem hinsichtlich der alkalischen Phosphatase und der Dehydrogenase.

In diesem Gebiet wurden auch einige Messungen von Redoxpotentialen durchgeführt, wozu die Bodenproben mit einem zylindrischen Bodenbohrer (Fabrikat Eijkelkamp) in kompakter Form entnommen, in verschlossenen Dosen ins Labor gebracht und in sauerstofffreiem dest. Wasser suspendiert wurden. Die Messungen ergaben, daß der Waldboden etwas schlechter durchlüftet war ($rH = 27.2$ im Unterboden und 29.3 im Oberboden) als ein nahegelegener, offensichtlich frisch gepflügter Weingartenboden ($rH = 32.1$ unten und oben).

Bei den meisten Analysen wurden je zwei Werte angegeben, einer für eine Aufsammlung im Frühjahr oder Sommer, einer für Herbst. Naturgemäß differieren die Werte etwas, doch nicht so stark, daß darüber das für den jeweiligen Boden charakteristische Muster der Parameter, erkennbar an der Gestalt des "Sternes", völlig verändert würde. Nur für den Gesamtstickstoff ist lediglich der Frühjahrs- oder Sommerwert angegeben.

Der Boden 9, in der Nähe von Markgrafneusiedl, im Zentrum des Weizenanbaugebietes des Marchfeldes gelegen, kann als typischer Vertreter eines fruchtbaren Ackerbodens betrachtet werden. Bei ausreichend hohem Gehalt an Kohlenstoff und Stickstoff sind die Enzymaktivitäten mäßig gut und ziemlich gleichmäßig ausgebildet.

Die Böden 19 und 20 liegen in der Nähe von Lasse (mittleres Marchfeld) und tragen sämtlich Maiskulturen. Es handelt sich um eine Ausnahmesituation insofern als das Gebiet einen anmoorigen Charakter hat und vermutlich erst vor nicht allzu langer Zeit in Kultur genommen worden ist. Unterhalb der Ackerkrume befinden sich sehr wasserundurchlässige Schichten aus einem dichten graublauen Ton, was dazu führt, daß nach starken Regenfällen das Wasser stellenweise über längere Zeiträume hin stehen bleibt. An diesen Stellen ist dann das Wachstum der

Maispflanzen stark behindert. Vermutlich im Zusammenhang mit dieser Neigung zu Staunässe (die aber bis jetzt nicht zu einer sichtbaren Vergleyung geführt hat) haben diese Böden offenbar einen beträchtlichen Anteil an nicht mineralisierten Humusbestandteilen und dadurch einen sehr hohen, bei Boden 19 einen extrem hohen Kohlenstoff-Gehalt. Auch der Gehalt an Gesamtstickstoff ist hoch. Davon ist aber sehr wahrscheinlich ein größerer Teil humus-gebunden, nicht mineralisiert und daher auch nicht pflanzenverfügbar. Die Enzymaktivitäten sind mäßig hoch.

Im östlichen Teil des Marchfeldes befindet sich die sog. "Weikendorfer Remise", ein größeres bewaldetes Gebiet. Die Wälder sind sicher nicht naturbelassen, sondern immer wieder genutzt und aufgeforstet, z.T. vielleicht auch der natürlichen Verjüngung überlassen worden. Die Böden unter ihnen sind aber jedenfalls als wesentlich naturnäher zu betrachten als die Böden der umliegenden Landwirtschaftsgebiete. Ein Vergleich zwischen einem Boden aus einer Waldlichtung (24) mit einer etwa 150 Meter davon entfernten Ackerfläche, die zum Zeitpunkt der Probenahme eine Zwiebelkultur trug (23), zeigt denn auch erhebliche Unterschiede. Während im Boden 24 nur der Stickstoffgehalt etwas niedrig war, der Kohlenstoffgehalt und die Enzymaktivitäten aber sehr gute Werte zeigten, erwies sich der Ackerboden (23) bei gleichem pH-Wert als extrem verarmt. Der Kohlenstoffgehalt liegt mit etwa 1.4% in einer gerade noch akzeptablen Höhe, der Stickstoffgehalt ist extrem niedrig und die sehr geringen Enzymaktivitäten zeigen an, daß das Bodenleben nahezu völlig zusammengebrochen ist. Obwohl, wie im einleitenden Abschnitt gesagt wurde, allgemeine Wertungen nicht ausgesprochen werden sollen, so entsteht in diesem Falle doch der unmittelbare Eindruck eines durch die landwirtschaftliche Nutzung überbeanspruchten, mangelhaft gepflegten Bodens, dem nicht mehr der Charakter eines belebten Ökosystems, sondern nur noch der eines toten Substrates zukommt. Wenn hier weiterhin ohne bodenpflegende Maßnahmen gewirtschaftet wird, könnte die Erhaltung der Bodenfruchtbarkeit ernstlich gefährdet sein.

Das Marchfeld grenzt im Osten an die Auegebiete der March. Zwischen den landwirtschaftlich genutzten Flächen und dem von den Hochwässern der March beeinflussten Auegebiet ist ein Schutzdamm errichtet. Aus Getreide-Äckern, welche (südlich von Marchegg) hart an diesem Hochwasserdamm liegen, wurden die Bodenproben 31 und 32 entnommen, welchen laut Bodenkarte der Charakter einer entkalkten Feuchtschwarzerde zukommt. Dem entsprechen die etwas niedrigeren pH-Werte (zwischen 5 und 6). Der Kohlenstoffgehalt kann als mäßig gut, der Gehalt an Gesamt-

stickstoff als gut bis reichlich (bei 32) bezeichnet werden. Die Enzymaktivitäten sind etwas ungleichmäßig. So fällt eine niedrige Aktivität an Proteinase bei relativ hoher Aktivität an Phosphatase beim bodeneigenen pH, doch niedrigerer Aktivität an alkalischer Phosphatase auf. Wie ein Vergleich mit den Böden 9, 19 und 20 zeigt, gibt es auch andersartige Verhältnisse dieser Aktivitäten. Eine lohnende Aufgabe für die Boden-Mikrobiologie wäre es, diese Muster an Enzymaktivitäten zu den Populationen an Boden-Mikroorganismen in Relation zu setzen. Die Annahme liegt ja doch nahe, daß in den Enzymaktivitäts-Mustern sich irgendwie die Mikroorganismen-Population widerspiegelt. Die Dehydrogenase-Aktivität ist mäßig gut ausgebildet. Das hohe TTC-Optimum bei 32 zeigt an, daß der Gehalt an Feinbestandteilen, welche TTC zu adsorbieren vermögen, relativ hoch sein muß.

Der Boden 33 ist jenseits des Hochwasserdammes aus einer Auwiese entnommen. In diesem sicher naturnahen Boden sind bemerkenswert hohe Gehalte an C und N sowie auch hohe Enzymaktivitäten festzustellen. Wenn auch die Ackerböden 31 und 32 sicher nicht als extrem verarmt zu bezeichnen sind, so fallen doch die quantitativ viel höheren Werte aller Parameter im Boden der Auwiese auf. Auch hier ist übrigens das Verhältnis zwischen den Enzymaktivitäten (wenig Proteinase, viel Phosphatase bei bodeneigenem pH und wenig alkalische Phosphatase) zu erkennen. Die Relationen zwischen den Enzymaktivitäten sind vermutlich durch die qualitative Zusammensetzung der Mikroorganismen-Populationen bedingt, während die absolute Höhe der Enzymaktivitäten mit der quantitativen Ausbildung dieser Populationen zusammenhängt.

4. Zusammenfassung - Summary.

34 verschiedene Böden aus dem Marchfeld und dem südlichen Weinviertel wurden auf 8 Parameter hin untersucht, hauptsächlich auf einige Enzymaktivitäten und damit zusammenhängende Werte, auf Gesamt-Kohlenstoff und -Stickstoff, pH und die TTC-Konzentration, welche die maximalen Dehydrogenase-Aktivitäten ergab. Einige ausgewählte Ergebnisse werden in Form von Sterndiagrammen gezeigt, welche das Muster dieser Parameter für je einen der Böden veranschaulichen. Die Diagramme werden diskutiert, vorwiegend im Hinblick auf die Unterschiede zwischen landwirtschaftlich genutzten und naturnahen Böden des gleichen Gebietes.

Enzyme activities in agricultural and quasi-natural soils in the districts "Marchfeld" and "Weinviertel" (lower Austria).

34 different soils from Marchfeld and southern Weinviertel were investigated for 8 parameters, mostly enzyme activities and related analytical values, total C and N content, pH and the TTC concentration which revealed the maximal value of dehydrogenase activity. Some selected results are presented as star plots, each of which shows the pattern of the above-mentioned parameters for one of the soils. These plots are discussed mainly with respect to the differences between agricultural and quasi-natural soils in the same region.

6. Literatur.

HOFFMANN, G. (1968): Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität im Boden. Z.Pflanzenern.u.Bodenk. 118,153 - 160.

LADD, J.N., BUTLER, J.H.A. (1972): Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and peptide derivatives as substrates. Soil Biol.Biochem. 4, 19 - 30.

MÜLLEBNER, M. (1984): Enzymaktivitätsuntersuchungen im Wurzelbereich von Böden unter einigen Vegetationseinheiten mit verschiedenartiger Nutzung. Dissertation Universität Wien.

THALMANN, A. (1968): Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität im Boden mittels TTC. Landwirtsch.Forsch. 21, 249 - 258.

Wir danken dem Verein der Freunde der Österreichischen Akademie der Wissenschaften für die finanzielle Unterstützung der Untersuchungen.

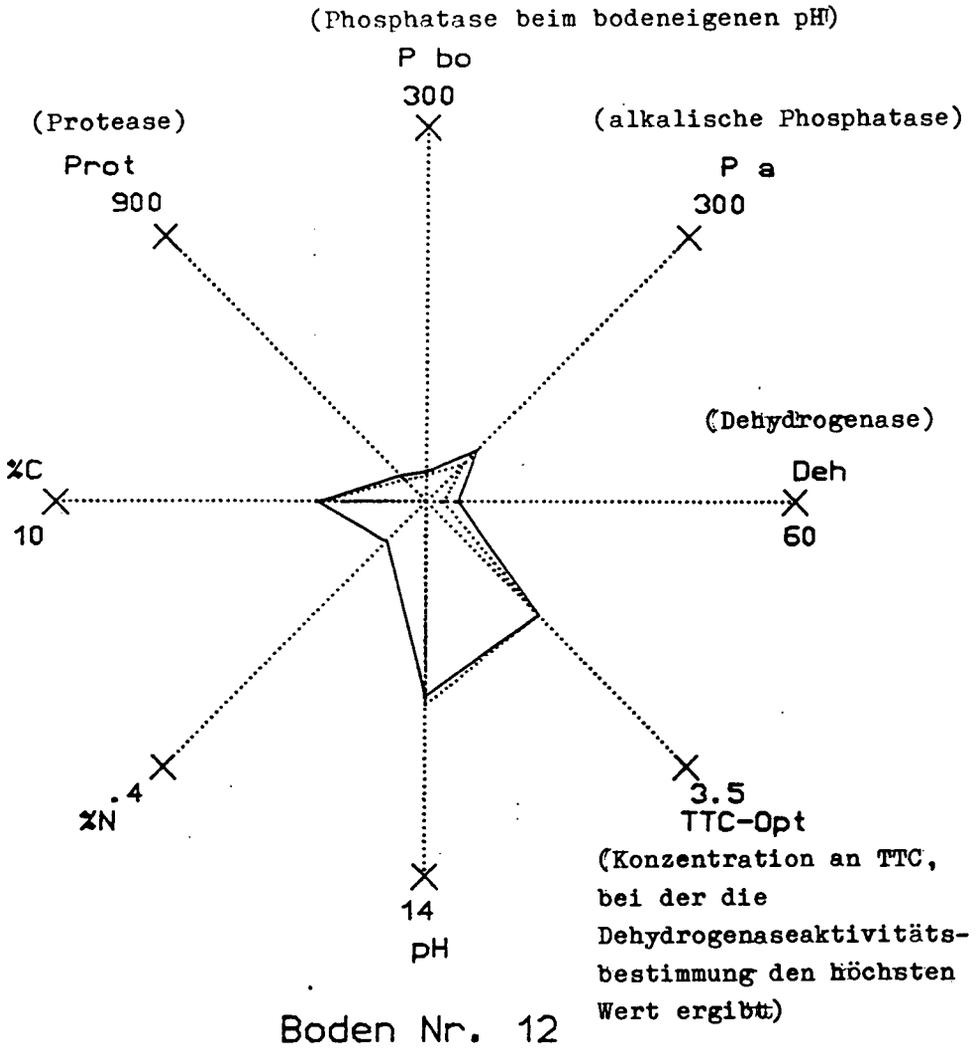
Anschrift: Prof.Dr.Helmut Kinzel

Institut für Pflanzenphysiologie

der Universität Wien

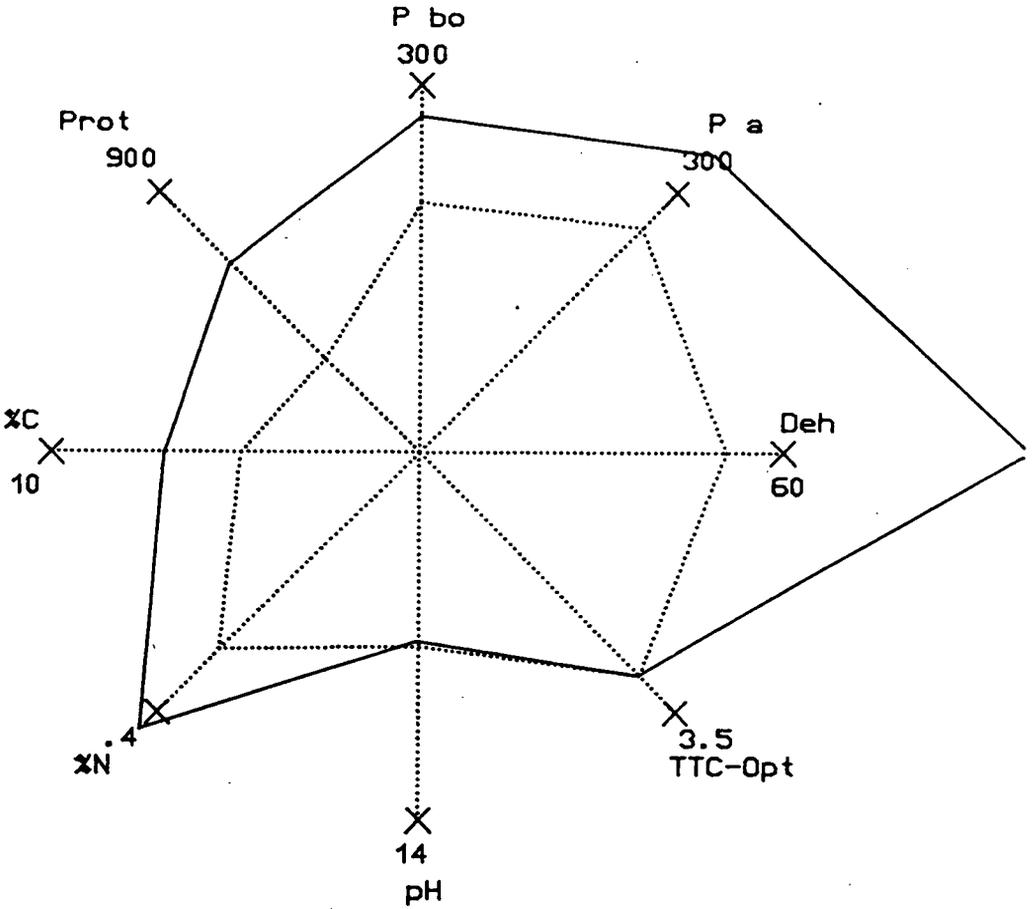
Postfach 285

A-1091 W i e n



————— 11.7.1985
..... 12.9.1985

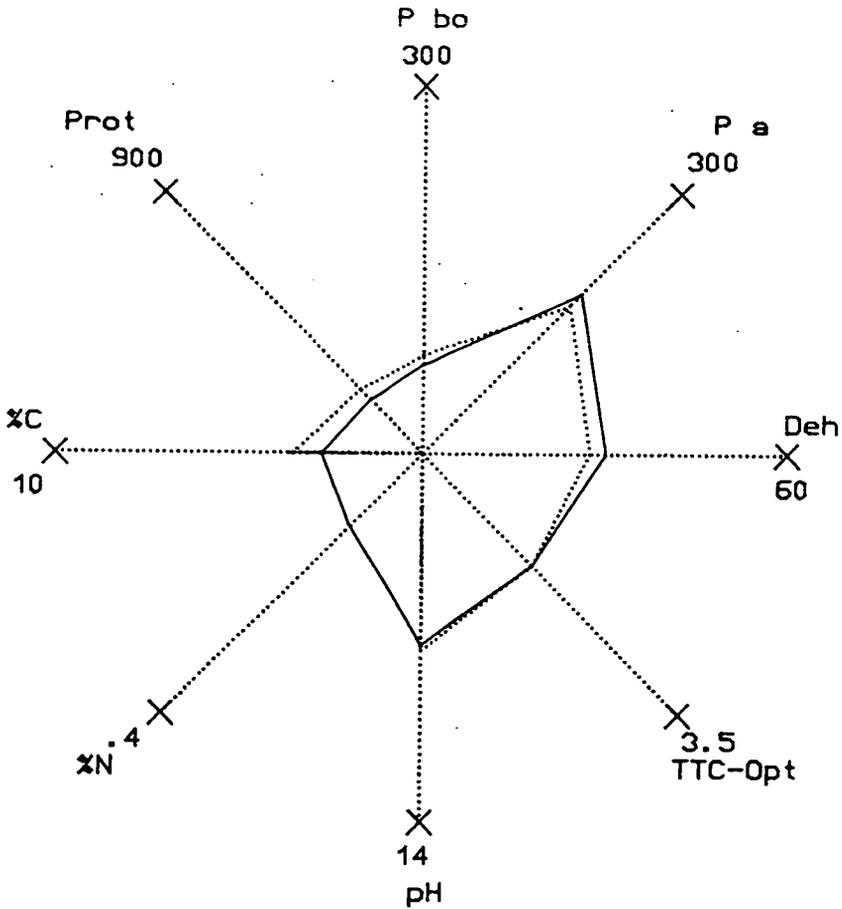
kalkhaltiger Kulturröhboden aus Loess
unter Weingarten



Boden Nr. 11

- 11.7.1985
- 12.9.1985

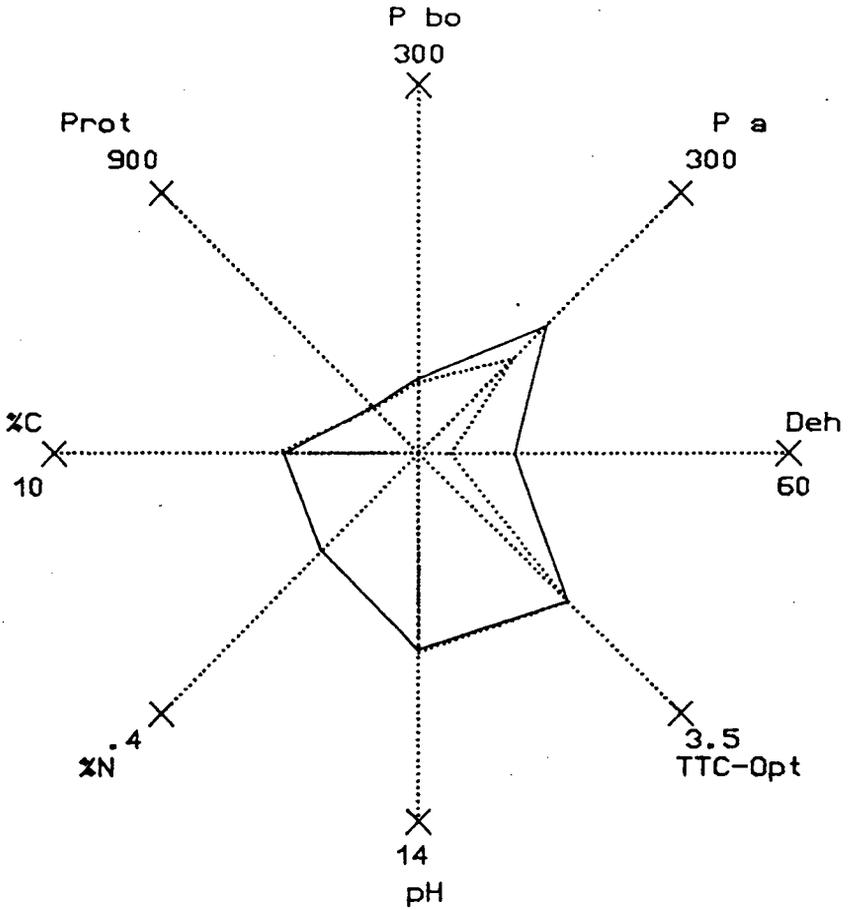
kalkhaltiger Kulturrohboden aus Loess
unter Eichenmischwald



Boden Nr. 15

— 11.7.1985
..... 12.9.1985

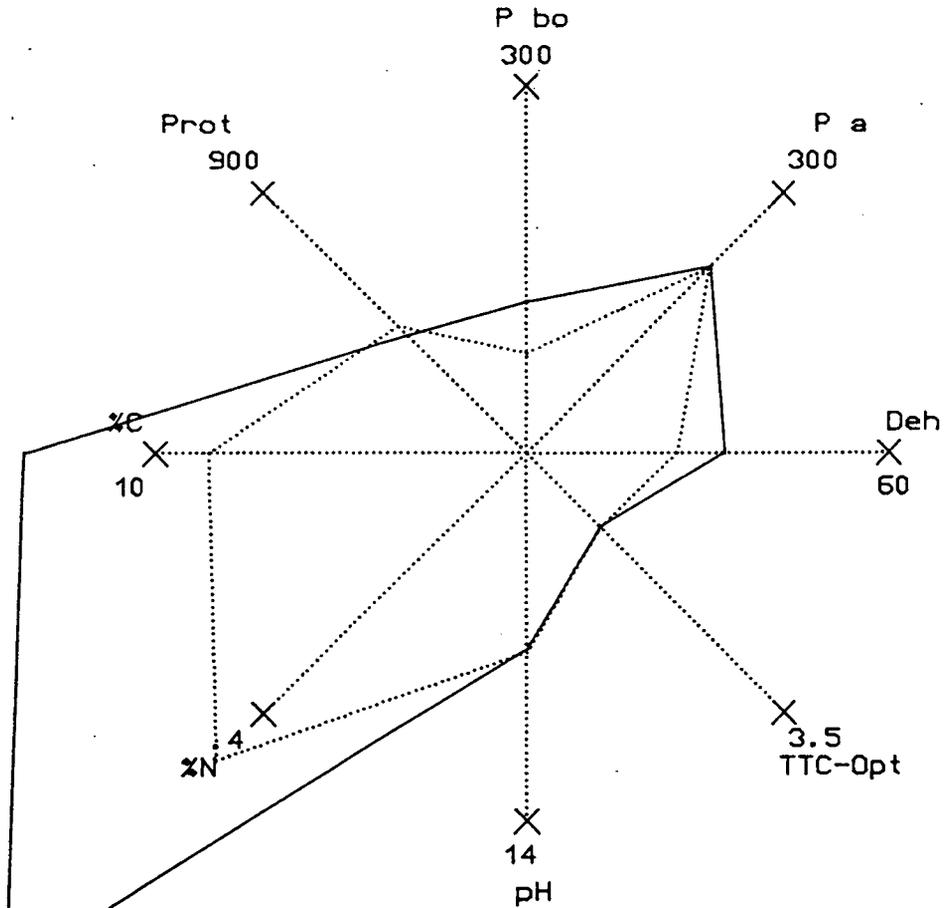
kalkhaltiger Kulturohoboden aus Tertiarfeinmaterial
unter "Wiese"



Boden Nr. 9

————— 11.7.1985
..... 12.9.1985

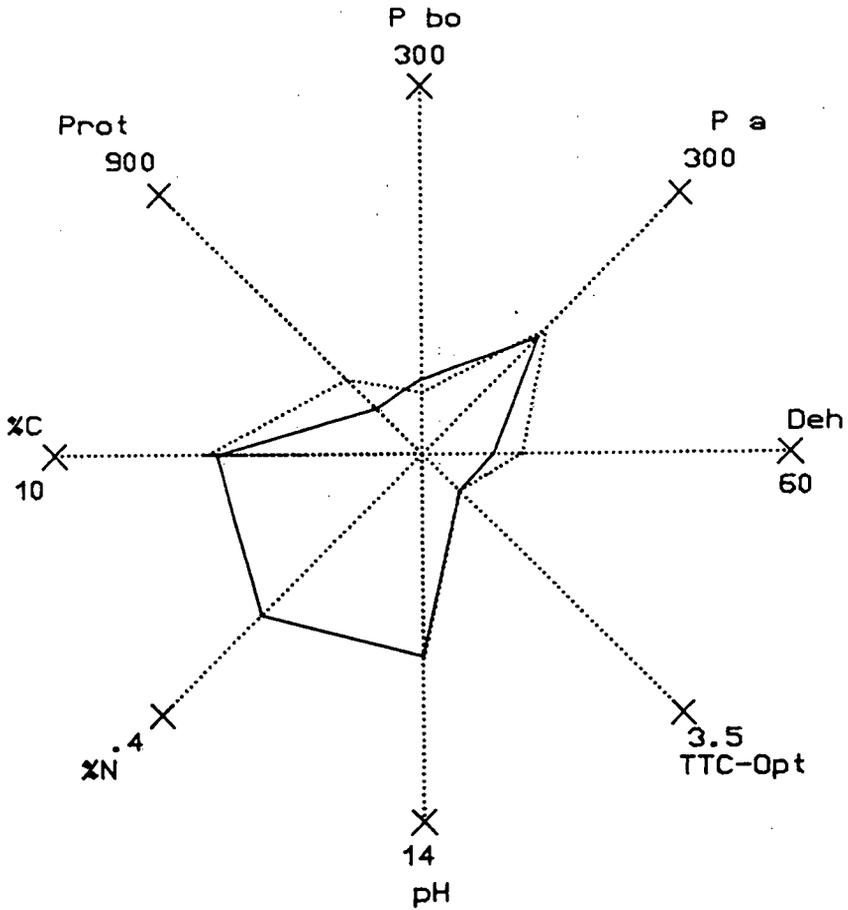
Tschernosem aus kalkhaltigen Feinsedimenten
unter Getreideacker



Boden Nr. 19

— 30.5.1985
..... 12.9.1985

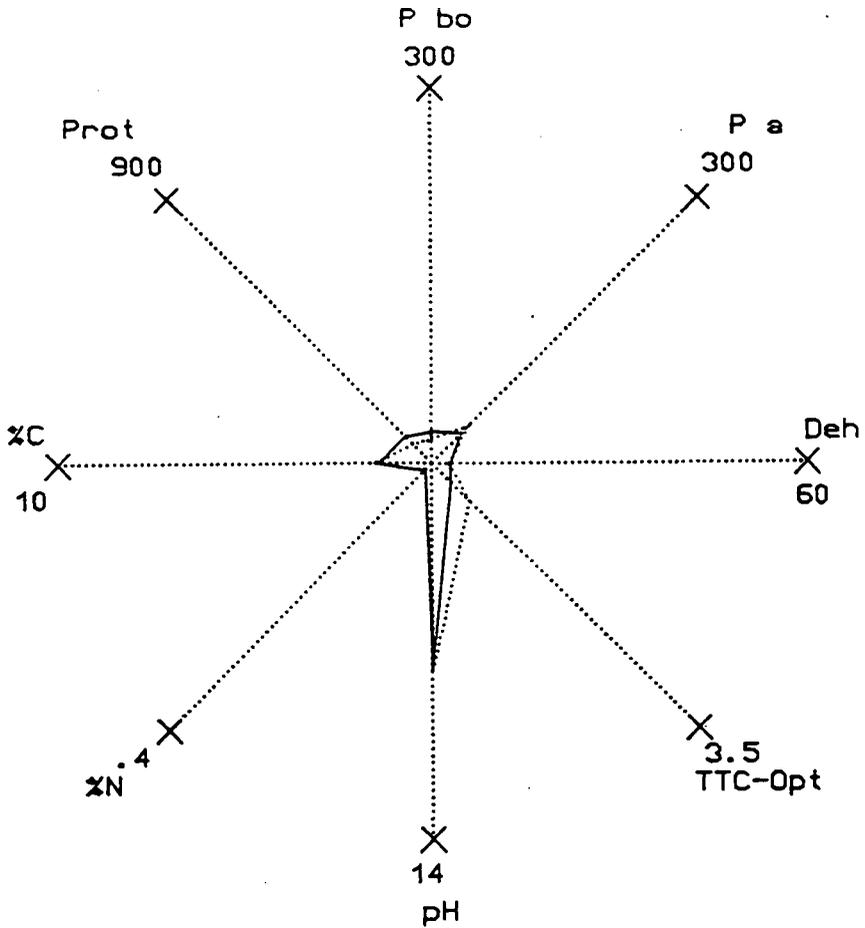
kalkhaltiges Anmoor aus Feinsedimenten
unter Maisacker



Boden Nr. 20

————— 30.5.1985
..... 12.9.1985

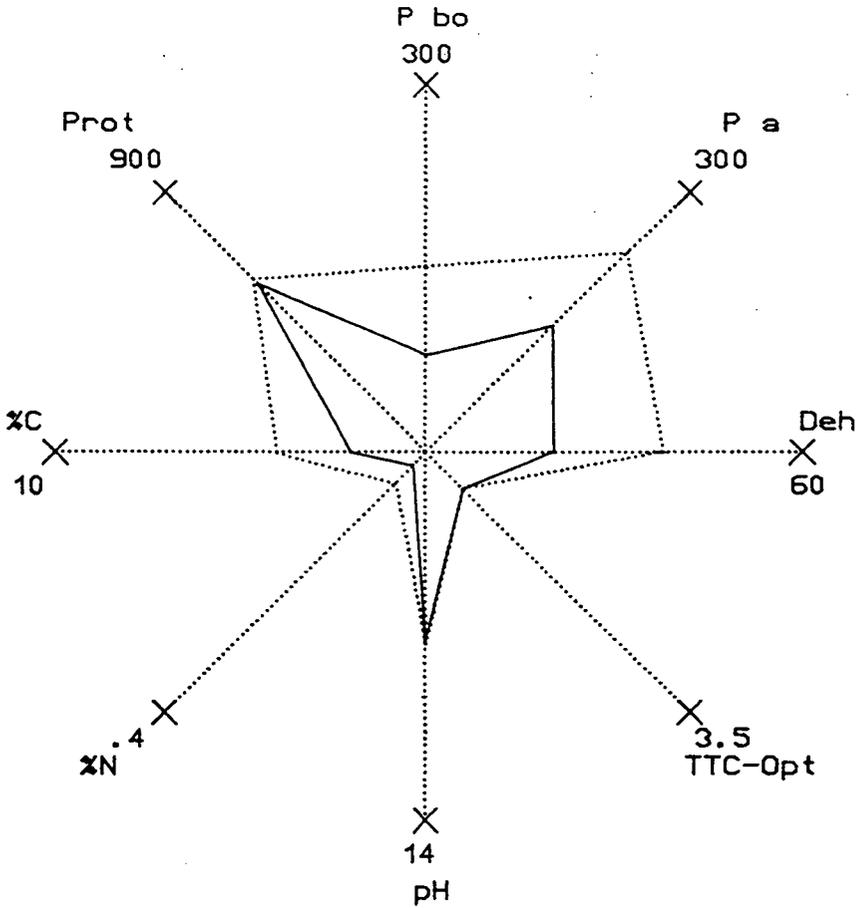
kalkhaltige Feuchtschwarzerde
unter Maisacker



Boden Nr. 23

————— 7.6.1985
..... 23.9.1985

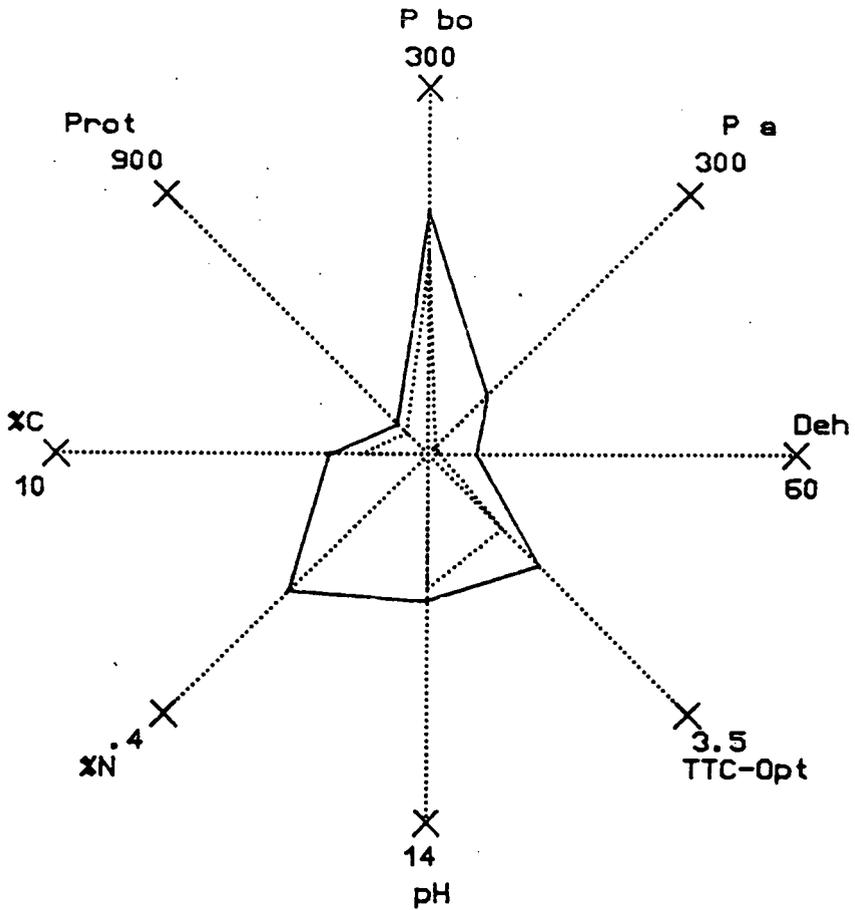
Tschernosem aus kalkhaltigem sandigem Feinsediment
unter Zwiebelacker



Boden Nr. 24

————— 7.6.1985
..... 23.9.1985

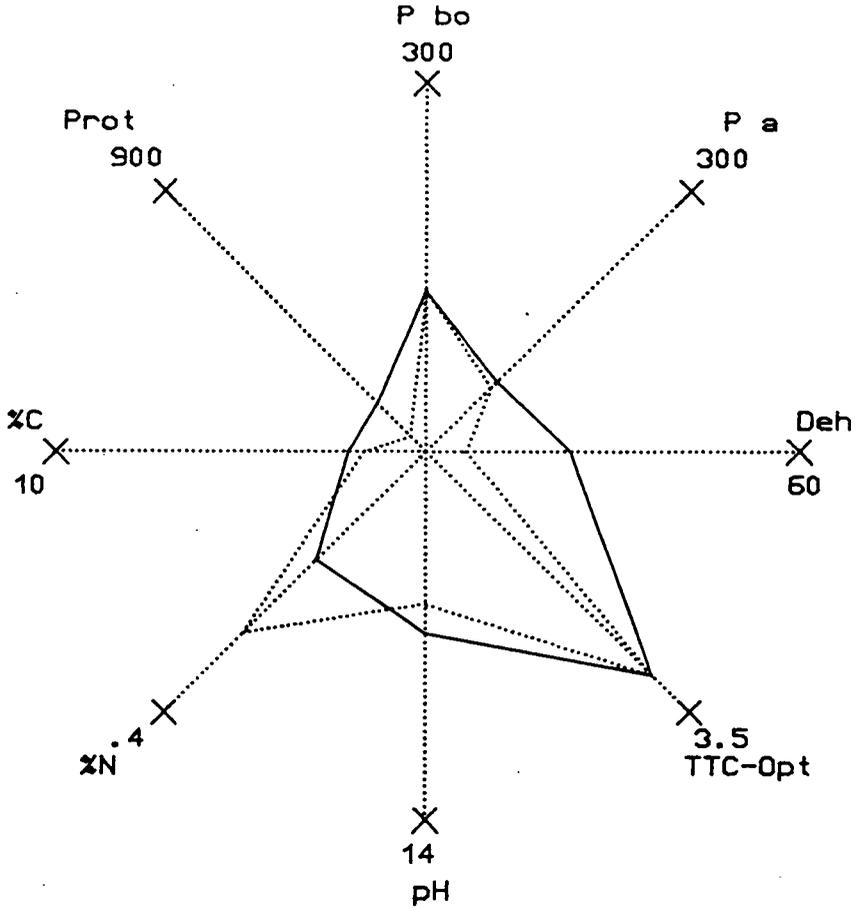
Tschernosem aus kalkhaltigem sandigem Feinsediment
unter Waldlichtung



Boden Nr. 31

————— 7.6.1985
..... 23.9.1985

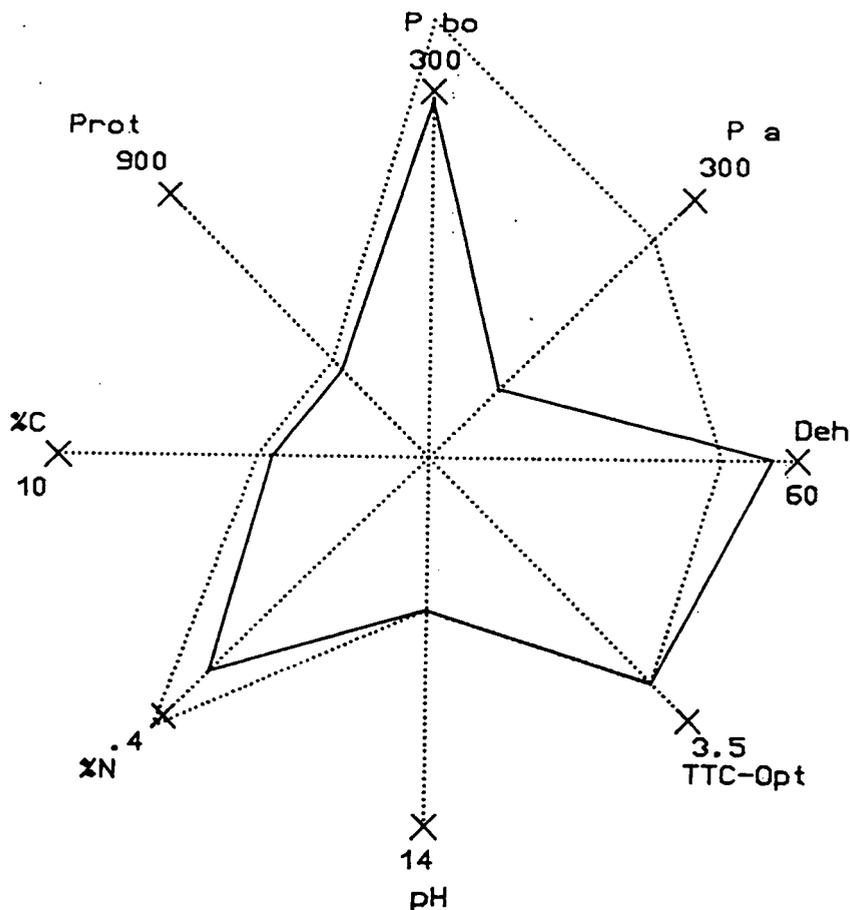
entkalkte Feuchtschwarzerde aus feinem Schwemmaterial
unter Getreideacker



Boden Nr. 32

————— 7.6.1985
..... 23.9.1985

entkalkte Feuchtschwarzerde aus feinem Schwemmaterial
unter Getreideacker



Boden Nr. 33

—— 7.6.1985
..... 23.9.1985

vergleyter grauer Auboden aus feinem Schwemmaterial
unter Auwiese

Bodenprobenahme für Enzymaktivitätsbestimmungen

von R. Ö h l i n g e r, A. E i b e l h u b e r und J.
F i s c h e r l e h n e r

1. Einleitung

Für eine hinreichend genaue chemisch-physikalische Bodenanalyse werden allgemein 30 Einstiche pro ha landwirtschaftlicher Nutzfläche verlangt (EBING, 1975). Auf Grund der Natur dieser chemischen Parameter ist es nicht möglich diese Forderung auch auf biologische Prüfgrößen zu übertragen. Während dort z.B. Konzentrationen von bestimmten chemischen Komponenten bestimmt werden, werden hier biochemische Stoffumsätze bezogen auf eine Zeitdauer gemessen.

Es lagen bei diesem Versuch folgende Fragen vor:

- Wie verteilen sich auf einer bodenkundlich einheitlichen landwirtschaftlichen Nutzfläche (Acker- und Grünland) Bodenenzymaktivitäten ?
- Welchen Einfluß bewirken verschiedene Behandlungsarten der Böden (Siebung, naturfeuchter Boden oder luftgetrockneter Boden) auf Enzymaktivitäten ?
- Wieviele Einstiche pro ha landwirtschaftliche Nutzfläche lassen sich für eine bodenenzymatische Analyse empfehlen?
- Wieviele Wiederholungsmessungen sind nötig ?

2. Material und Methode

Es wurde ein Versuch im Ackerland und im Grünland durchgeführt. Eine bodenkundlich einheitliche Fläche von 1 ha wurde ausgemessen und diese in folgende Einheiten systematisch unterteilt (Vgl. AICHBERGER, 1986):

- 100 Flächen (je 100 m²) = Serie A
- 50 Flächen (je 200 m²) = Serie B
- 25 Flächen (je 400 m²) = Serie C
- 16 Flächen (je 625 m²) = Serie D
- 9 Flächen (je 3333 m²) = Serie E

Aus der 1ha großen Versuchsfläche wurden zusätzlich eine 1 m² (Serie G) und eine 100 m² (Serie F) große Fläche willkürlich ausgewählt und diese wiederum 50 (Serie G) bzw. 25 (Serie F) mal beprobt. Aus allen 275 Flächen wurde immer aus der Mitte die Bodenprobe entnommen. Die Einstichtiefe betrug

im Grünland 0 bis 10 cm und im Ackerland 0 bis 25 cm. Die Bodenproben wurden gesiebt (Ackerland: auf 5 mm, Grünland auf 2 mm) und darauf teils luftgetrocknet (für Phosphatase) und teils bei 4 °C gelagert (für Protease). Als enzymatische Parameter kamen die Phosphatasebestimmung nach HOFFMANN, 1968 und die Proteasebestimmung nach LADD und BUTLER, 1972 zur Anwendung (3fache Wiederholung). Um etwaige Aktivitätsveränderungen durch Lagerung abschätzen und berichtigen zu können, wurde über den gesamten Analysenzeitraum ein interner Standard (Mischprobe aus allen 100 Proben der Serie A = MA) mitgeführt.

Ergänzend wurden noch die Verteilungen von pH-Werten und des Humusgehaltes (Naßveraschung) untersucht.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse auf Mittelwert (\bar{X}), Gesamtstandardabweichung (s_G), Analysenstandardabweichung (s_A) und Feldstandardabweichung (s_F) (=Feldheterogenität) erfolgte mit Hilfe eines Computers. Folgende Auswerteformeln kamen zur Anwendung:

(a) $s_G = \sqrt{s_F^2 + s_A^2/n_2}$ $n_2 =$ Zahl der Wiederholungsanalysen

(b) Streubereich $T = s_G \cdot t$ $t =$ Student-Faktor ≈ 2 für $P = 95 \%$

(c) Vertrauensbereich $V = \sqrt{s_F^2/n_1 + s_A^2/n_2} \cdot t$ $n_1 =$ Probenzahl (Einstiche)

(d) $n_1 = t^2 \cdot s_F^2 / (G^2 - t^2 \cdot s_A^2 / n_2)$ $G =$ vorgegebene und gewünschte Präzision

Daraus wurden Einstich- und Analysenzahlen hinsichtlich ihrer Gesamtstreuung verglichen bzw. durch Vorgabe einer gewünschten Präzision (mit $P=95 \%$) die notwendigen Einstich- und Analysenzahlen abgeschätzt. Bei dieser Abschätzung wurde die kostengünstigste Form berücksichtigt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Ackerland

3.1.1. Protease

Die Bestimmung der Proteaseaktivität erfolgte aus dem naturfeuchten Ackerboden. Aus dem über die gesamte Analysendauer mitgeführten internen Standard MA konnte

auf keine zeitabhängige Veränderung der Proteaseaktivität durch Lagerung geschlossen werden. (Abb.1). Eine Berichtigung der Werte (vgl. Phosphatase) war daher nicht möglich bzw. notwendig. Die statistische Auswertung für die Probe MA (28 x in dreifacher Wiederholung) ergab:

$$\bar{x}_{MA} = 1,43 \text{ mg Tyrosin-Äqu./g TS}$$

$$s_G = 0,19 \text{ mg Tyrosin-Äqu./g TS}$$

$$s_F \text{ ("Lagerungsstreuung")} = 0,18 \text{ mg Tyrosin-Äqu./g TS}$$

$$s_A = 0,09 \text{ mg Tyrosin-Äqu./g TS}$$

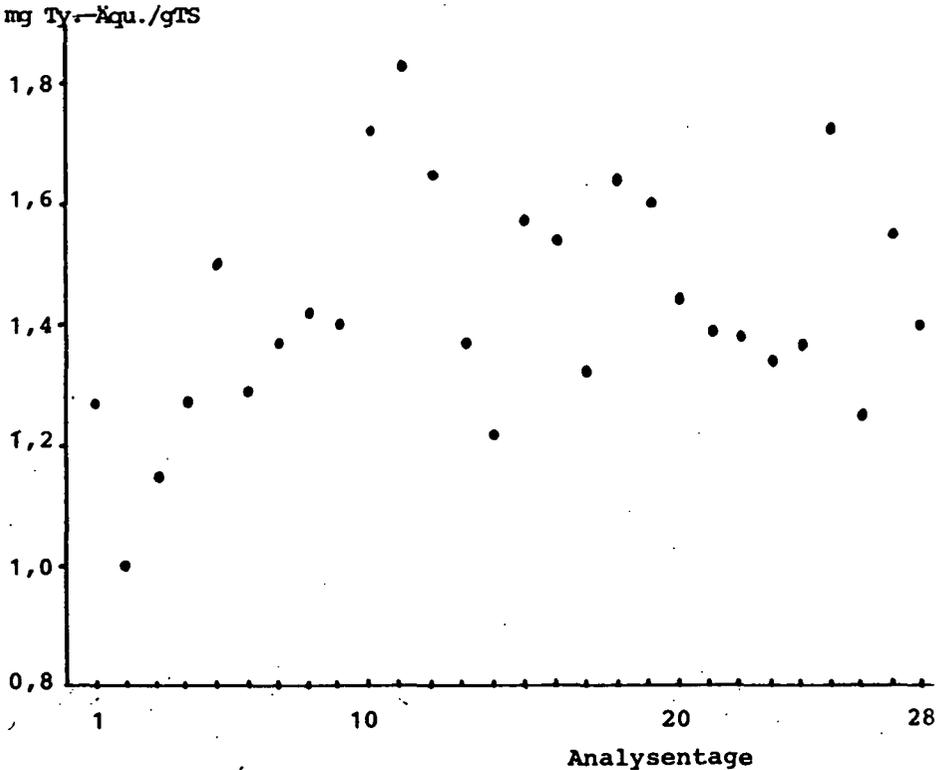


Abb.1: Streuung der Proteaseaktivität (Ackerland) bei der Probe MA während des Analysenzeitraumes von ca. 1 1/2 Monate.

Die Lagerungsstreuung der Probe MA war doppelt so hoch wie die Analysenstreuung und war annähernd identisch mit der Gesamtstreuung der Probe MA. Der Anteil der Lagerungsstreuung war daher an den Feld- bzw. Gesamt-

standardabweichungen der Serien A-E relativ groß (im Durchschnitt rund 65 %).

In der nachfolgenden Tabelle (Tab.1) sind s_G , s_A und s_F aller Serien zusammengefaßt.

Serie (n)	\bar{X}	s Gesamt	s Analyse	s Feld
A-E (200)	1,395	0,27	0,15	0,26
A (100)	1,38	0,31	0,16	0,30
B (50)	1,41	0,22	0,13	0,21
C (25)	1,36	0,23	0,14	0,22
D (16)	1,44	0,23	0,14	0,22
E (9)	1,47	0,36	0,17	0,35
F (25)	1,33	0,18	0,15	0,54
G (50)	1,33	0,25	0,13	0,24
MA (28)	1,43	0,19	0,09	0,18

Tab.1: Protease (Ackerland): \bar{X} , s_A , s_G und s_F der Serien.
(mg Ty.-Äqu./g TS)

Die Werte gehorchten einer Normalverteilung. Als Beispiel seien hier sämtliche Werte der Serien A bis E angeführt (Abb.2)

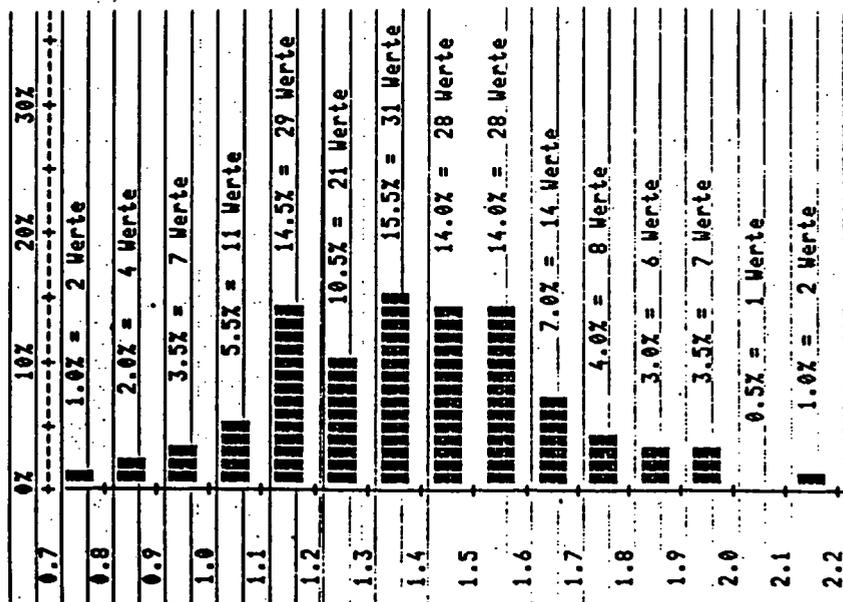


Abb.2: Protease (Ackerland): Histogramm der Werte der Serien A-E.

Das Meßergebnis der Proteaseaktivität des Ackerlandes war in Standardform ($\bar{x} \pm T$ (\bar{s}_G ; P %; n)) ausgedrückt folgendes:

$$\text{Protease (Ackerland)} = 1,395 \pm 0,54 \text{ mg Ty.-Äqu./g TS} \\ (\pm 0,27; 95 \%; 200)$$

Der entsprechende Vertrauensbereich (=Streubereich des Mittelwertes) betrug $\pm 0,185$ mg Ty.-Äqu./g TS (P = 95 %). Das Toleranzintervall für die Schätzmittelwerte der Serien A-G lag zwischen 1,22 und 1,58 mg Ty.-Äqu./g TS. In Abb.3 sind die Schätzmittelwerte mit ihren Vertrauensbereichen und das Toleranzintervall aufgezeichnet. Mit abnehmender Probenzahl n nahm der jeweilige Vertrauensbereich deutlich zu.

mg Ty.-Äqu./g TS

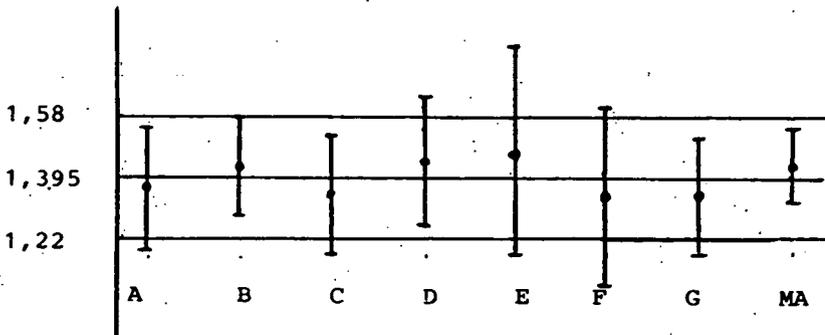


Abb.3: Protease (Ackerland): Toleranzintervall für Mittelwertschätzungen der Serien A-G mit den einzelnen Vertrauensbereichen.

Tab.2 zeigt die Standardabweichungen des Mittelwertes bei vorgegebener Anzahl von Analysen und Probeneinstiche. (Tab.2)

Um daraus das kostengünstigste Verhältnis zwischen Einstich- und Analysenzahl abzuschätzen, wurde Tab.3 erstellt. Letztere zeigte, daß die Verringerung der Standardabweichung um ca. 50 % mehr über die Probeneinstiche als über eine Erhöhung der Wiederholungsanalysen zu erfolgen hat. Um eine Standardabweichung von ca. $\mp 0,14$ mg Ty.-Äqu./g TS (= 51% von s_G) zu erreichen, wären demnach zwei Analysen und sechs Einstiche ausreichend

Standardabw.	Prozent	Analysenzahl	Probenzahl	Kosten
.2915476	100 %	1	1	1.035
.2332381	80 %	1	2	1.07
.1865905	64 %	1	6	1.21
.1486893	51 %	2	6	2.21
.1195345	41 %	2	21	2.735
9.621071E-02	33 %	3	36	4.26
7.580237E-02	26 %	5	51	6.785
.061225	21 %	8	67	10.345
.0495631	17 %	12	108	15.78
4.081667E-02	14 %	18	151	23.285
3.207024E-02	11 %	29	248	37.68
2.623928E-02	9 %	43	379	56.265
2.040833E-02	7 %	71	628	92.97999

Tab.3: Protease (Ackerland): Berechnung der minimalen Kosten:
 Analysenkosten = 1, Probenahmekosten = 0,035

Anzahl d. Proben	Anzahl der Analysen									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.29	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.25
2	0.23	0.21	0.20	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18
3	0.21	0.18	0.17	0.16	0.16	0.16	0.16	0.15	0.15	0.15
4	0.20	0.16	0.15	0.15	0.14	0.14	0.14	0.14	0.13	0.13
5	0.19	0.15	0.14	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	0.12
6	0.18	0.15	0.13	0.13	0.12	0.12	0.12	0.12	0.11	0.11
7	0.18	0.14	0.13	0.12	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
8	0.17	0.14	0.12	0.12	0.11	0.11	0.11	0.10	0.10	0.10
9	0.17	0.13	0.12	0.11	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
10	0.17	0.13	0.12	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09	0.09
20	0.16	0.12	0.10	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08	0.07
30	0.16	0.12	0.10	0.09	0.08	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07
40	0.16	0.11	0.10	0.08	0.08	0.07	0.07	0.07	0.06	0.06
50	0.15	0.11	0.09	0.08	0.08	0.07	0.07	0.06	0.06	0.06
100	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06
200	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05
300	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05
400	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05
500	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05
1000	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05

Tab.2: Protease (Ackerland): Standardabweichung des Mittelwertes bei einer vorgegebenen Anzahl von Analysen und Proben. (Analysenstandardabweichung = 0,15, Feldstandardabweichung = 0,25)

3.1.2. Alkalische Phosphatase

Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase wurde aus dem lufttrockenen Boden durchgeführt. Im Gegensatz zum internen Standard (MA) der Protease, war bei der lufttrockenen Mischprobe MA über den Analysenzeitraum deutlich eine Abnahme der Phosphataseaktivität zu bemerken (Abb.4). An Hand der eingezeichneten Geraden wurden die Werte der einzelnen Analysentage korregiert, um Aktivitätsveränderungen durch Lagerung zu minimieren. Die statistische Auswertung der lufttrockenen Probe MA ergab folgendes:

$$\bar{x}_{MA} = 309,3 \text{ } \mu\text{g Phenol/g}$$

$$s_G = 14,54 \text{ - " -}$$

$$s_A = 10,75 \text{ - " -}$$

$$s_F \text{ ("Tagesstreuung")} = 13,14 \text{ } \mu\text{g Phenol/g}$$

s_A und s ("Tagesstreuung") waren hier ähnlich. Durch das Korregieren war der Anteil der Lagerungsstreuung an den übrigen s_F der einzelnen Serien deutlich verringert worden. Er betrug im Durchschnitt rund 20 % (siehe Tab. 4). Analog der Protease wurden in der nachfolgenden Tabelle die Ergebnisse der einzelnen Serien zusammengefaßt (Tab.4)

Serie (n)	\bar{x}	s Gesamt	s Analyse	s Feld
A-E (200)	302,3	73,61	17,54	72,91
A (100)	312	73,09	16,46	72,47
B (50)	305,6	74,56	20,47	73,62
C (25)	302,3	69,04	15,6	68,45
D (16)	262,5	58,18	19,17	57,12
E (9)	246,6	70,81	12,56	70,44
F (25)	314,9	38,71	14,98	37,73
G (50)	311,4	24,19	19,12	21,53
MA (29)	309,3	14,54	10,75	13,14

Tab.4: Alk.Phosphatase (Ackerland): \bar{x} , s_G , s_A und s_F der Serien ($\mu\text{g Phenol/g}$)

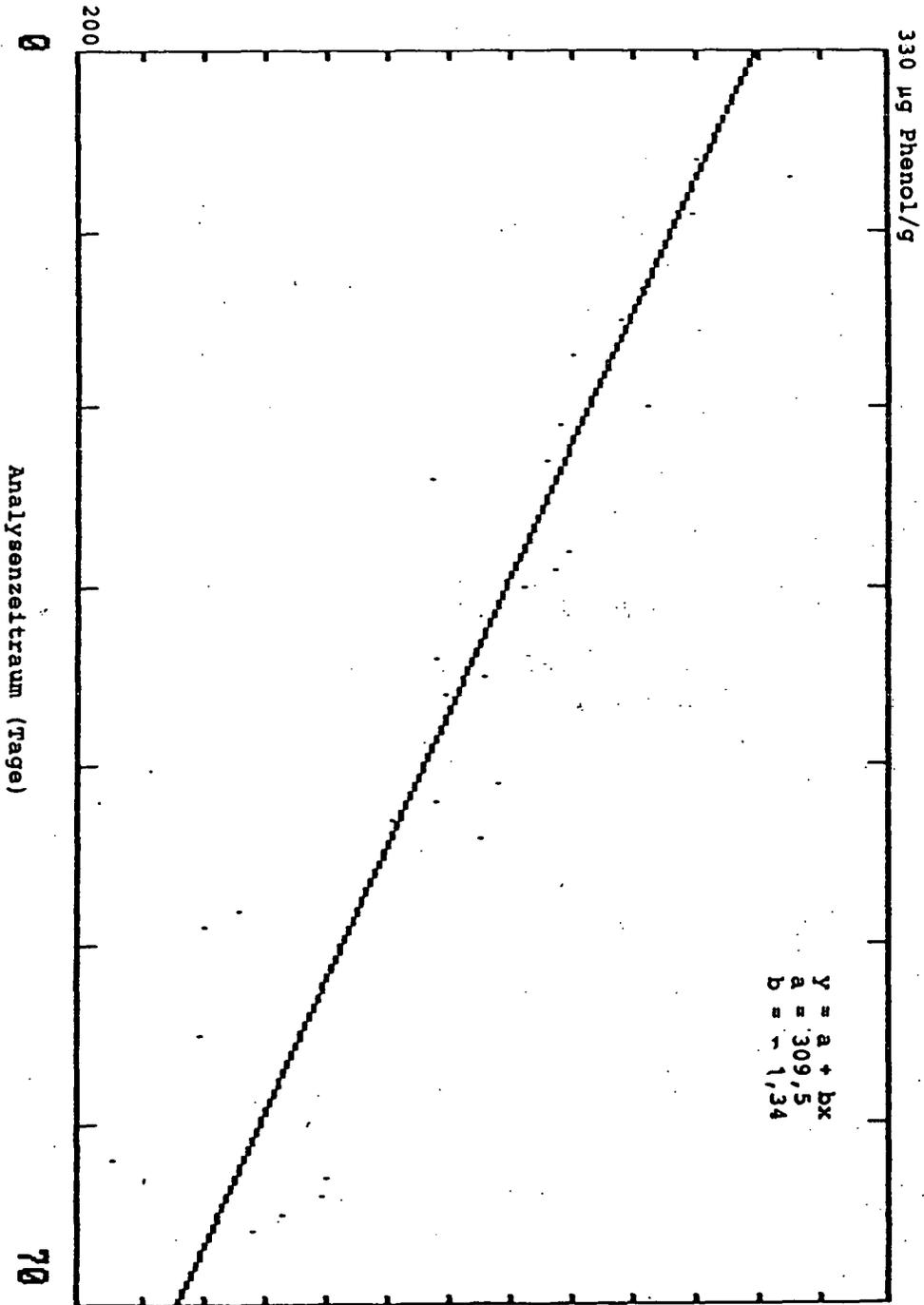


Abb.4: Streuung der Phosphataseaktivität (Ackerland) bei der Probe MA während des Analysezeitraumes.

Ebenso waren die Werte der Serien A-E normal verteilt (Abb.5)

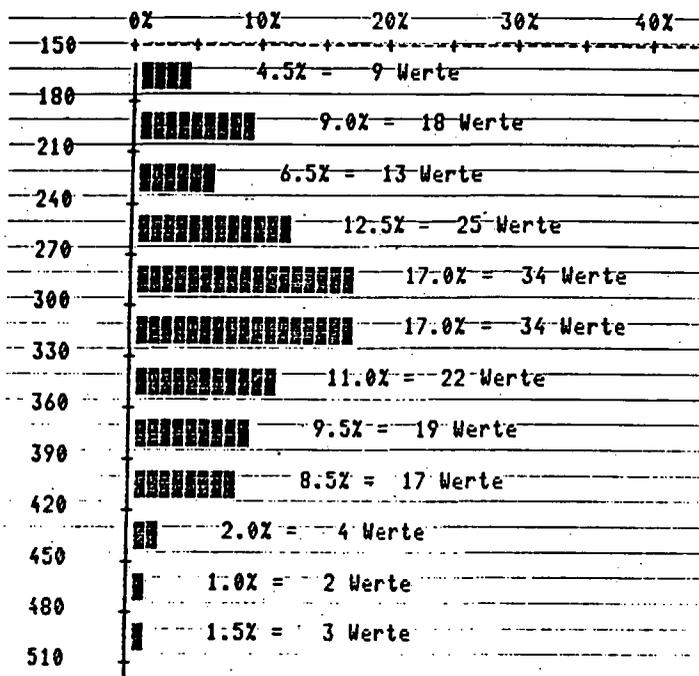


Abb.5: Alk.Phosphatase (Ackerland):Histogramm der Werte der Serien A-E

Das Meßergebnis der alk.Phosphatase für das Ackerland in Standardform ergab:

$$\text{Alk.Phosphatase} = 302,3 \pm 145 \mu\text{g Phenol/g} \\ (\bar{x} 73,6; 95 \%; 200)$$

Der entsprechende Vertrauensbereich lag $\pm 22,7 \mu\text{g Phenol/g}$ um den Mittelwert ($P = 95 \%$).

In Abb.6 wurde das Toleranzintervall für die Mittelwertschätzungen der Serien und die Vertrauensbereiche aufgezeichnet.

In der nachfolgenden Tab.5 wurden wiederum bei vorgegebenen Analysen- und Einstichzahlen die entsprechenden Standardabweichungen angegeben. Daraus wurde bei vorge-

$\mu\text{g Phenol/g}$

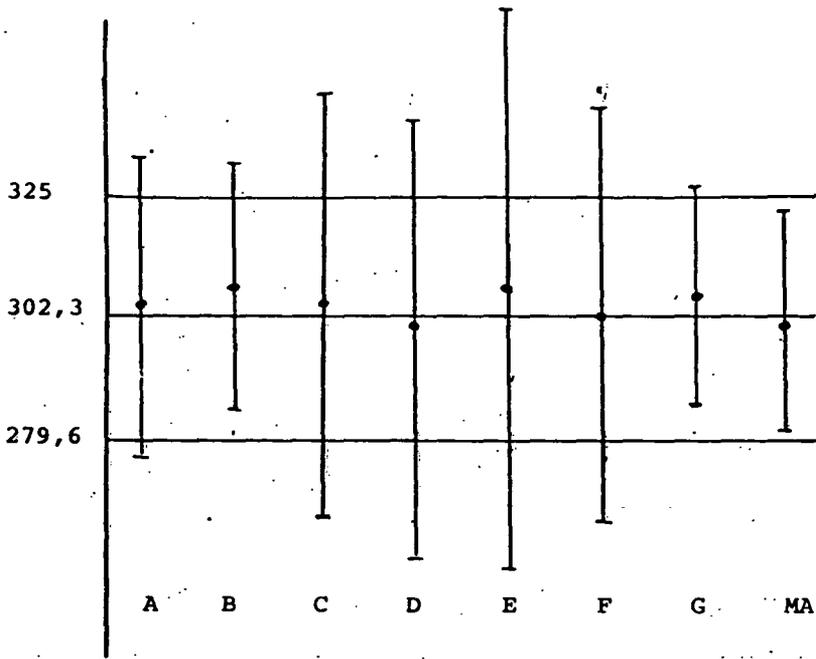


Abb.6: Alk.Phosphatase (Ackerland): Toleranzintervall für Mittelwertschätzungen der Serien A-F mit den einzelnen Vertrauensbereichen.

gebenem Kostenverhältnis zwischen Analyse und Probenahme die günstigste Kombination von Analysen- und Einstichzahl bei entsprechender Streuung ausgewählt (Tab.6).

Standardabw.	Prozent	Analysenzahl	Probenzahl	Kosten
75,07	100	1	1	1,035
60,05	80	1	2	1,07
48,04	64	1	3	1,105
38,30	51	1	5	1,175
30,78	41	1	9	1,315
24,77	33	1	18	1,63
19,50	26	2	24	2,84
15,76	21	2	56	3,96
12,76	17	3	88	6,08
10,51	14	5	109	8,815
8,26	11	8	179	14,265
6,76	9	12	265	21,275
5,25	7	20	434	35,19

Tab.6: Alk.Phosphatase (Ackerland): Berechnung der minimalen Kosten: Analysenkosten = 1, Probenahmekosten = 0,035

Danach wäre für eine 51 %ige Reduzierung von s_G nur eine Analyse und eine Mischprobe von 5 Einstichen/ha am günstigsten.

3.1.3. Einstich- und Analysenzahlen für das Ackerland (Zusammenfassung)

Für das bodenkundlich einheitliche Ackerland waren sich Einstich- und Analysenzahlen für die Bestimmung der Proteaseaktivität (aus naturfeuchtem Boden) und der alk. Phosphataseaktivität (aus lufttrockenem Boden) bei einer Präzision von $\pm 20\%$ vom Mittelwert ähnlich. Auf Grund der feineren Siebung (2 mm) des lufttrockenen Bodens und der möglichen Korrektur der Lagerungsstreuung könnte die vorgesezte Präzision noch um 50 % verbessert werden (siehe Tab.7 und 8). Dies ist natürlich mit einem größerem Aufwand an Proben und Analysen verbunden.

Tab.7 und 8 machen es deutlich, daß für beide Parameter eine Mischprobe von rund 10 Einstichen/ha Ackerland mit zwei Wiederholungsanalysen genügen würden um die jeweilige bodenenzymatische Aktivität auf $\pm 20\%$ genau vom idealen Mittelwert zu erfassen (P = 95 %). Jede weitere Verbesserung der Genauigkeit wäre schon mit einem größerem Aufwand verbunden, der hingegen nur mehr einen geringen Genauigkeitsgewinn bringen würde.

Präzision %	Analysezahl		
	1	2	3
± 30	3	3	3
± 20	9	7	7
± 10	-	71	42
Probenzahl bei 4522	4522	4522	4522
bestmöglicher Präzision	($\pm 11,6\%$)	($\pm 8,2\%$)	($\pm 6,7\%$)

Tab.7: Alk.Phosphatase (Ackerland): Einstichzahl bei vorgegebener Analysezahl und Präzision (P = 95 %)

Präzision %	Analysezahl		
	1	2	3
± 30	3	2	2
± 20	-	8	6
± 10	-	-	-
Probenzahl bei	54	54	54
bestmöglicher Präzision	(22,1%)	(16%)	(13,4%)

Tab.8: Protease (Ackerland): Einstichzahl bei vorgegebener Präzision (P = 95 %) und Analysezahl.

Anzahl d. Proben	Anzahl der Analysen									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	75.07	74.04	73.70	73.52	73.42	73.35	73.30	73.26	73.21	73.21
2	54.50	53.08	52.60	52.36	52.21	52.11	52.04	51.99	51.95	51.91
3	45.44	43.93	43.34	43.05	42.87	42.75	42.66	42.60	42.55	42.51
4	40.48	38.54	37.87	37.53	37.33	37.19	37.09	37.02	36.96	36.92
5	37.04	34.91	34.17	33.80	33.57	33.42	33.31	33.23	33.16	33.11
6	34.56	32.27	31.42	31.06	30.81	30.65	30.53	30.44	30.37	30.31
7	32.67	30.24	29.38	28.95	28.68	28.50	28.37	28.28	28.20	28.14
8	31.18	28.42	27.72	27.25	26.97	26.78	26.64	26.54	26.46	26.40
9	29.97	27.30	26.35	25.86	25.56	25.36	25.22	25.11	25.02	24.95
10	28.97	24.19	25.20	24.69	24.38	24.16	24.01	23.90	23.81	23.74
20	23.93	20.48	19.20	18.52	18.10	17.82	17.61	17.46	17.33	17.24
30	22.001	18.19	16.72	15.94	15.46	15.12	14.88	14.69	14.55	14.43
40	20.92	16.92	15.74	14.68	13.95	13.57	13.30	13.10	12.93	12.80
50	20.32	14.12	14.45	13.57	12.95	12.55	12.26	12.04	11.84	11.71
100	18.92	14.37	12.46	11.60	10.70	10.21	9.85	9.57	9.34	9.14
200	18.25	13.41	11.35	10.14	9.38	8.81	8.39	8.06	7.79	7.57
300	18.00	13.07	10.95	9.71	8.89	8.29	7.84	7.49	7.20	6.94
400	17.88	12.90	10.74	9.48	8.64	8.02	7.55	7.18	6.88	6.63
500	17.80	12.80	10.62	9.34	8.48	7.85	7.38	7.00	6.68	6.43
1000	17.65	12.59	10.36	9.05	8.14	7.51	7.01	6.60	6.27	6.00

Tab. 5: Alk. Phosphatase (Ackerland): Standardabweichung des Mittelwertes bei einer vorgegebenen Anzahl von Analysen und Proben (Analysenstandardabweichung = 17,5, Feldstandardabweichung = 73)

3.2. Grünland

3.2.1. Protease

Die Bestimmung der Proteaseaktivität erfolgte wie beim Ackerboden aus dem naturfeuchten Boden. Dieser wurde hingegen auf 2 mm gesiebt. Auf Grund der deutlich erkennbaren Abnahme der Proteaseaktivität über den Analysenzeitraum, wurde wie bei der alk.Phosphatase (Ackerland) eine Korrektur der Werte entsprechend der Kurve vorgenommen (Abb.6).

Die statistische Auswertung der korregierten MA-Werte ergab:

$$\bar{x}_{MA} = 2,67 \text{ mg Ty.-Äqu./g TS}$$

$$s_G = 0,20 \quad - \quad -$$

$$s_A = 0,09 \quad - \quad -$$

$$s_F (\text{"Tagesstreuung"}) = 0,19 \text{ mg Ty.-Äqu./g TS}$$

Das Verhältnis von $s_G:s_A:s_F$ war hier ähnlich dem der nicht aufgerechneten Werte der Protease beim Ackerland. Das würde bedeuten, daß naturfeuchte Grünlandböden einer noch stärkeren "Lagerungsveränderung" hinsichtlich Proteaseaktivität unterworfen sind, als naturfeuchte Ackerböden. Neben der anteilmäßig hohen Tagesstreuung konnte zudem noch eine Abnahme der Proteaseaktivität beobachtet werden. Beim Ackerboden war weder auf eine Abnahme noch auf eine Zunahme der Aktivität während des Analysenzeitraumes zu schließen. Der prozentuelle Anteil von s_A am idealen Mittelwert war für das Grünland hingegen um ca. 50 % geringer als beim Ackerland, was auf die feinere Siebung (2 mm) des Grünlandbodens zurückzuführen ist.

Als Zusammenfassung der statistischen Auswertung aller Serien ist nachstehende Tabelle (Tab.9) angeführt.

Ebenso wie in den anderen Beispielen gehorchten auch hier die Werte einer Normalverteilung (Abb.7).

Das Meßergebnis der Protease für das Grünland ergab (in Standardform):

$$\text{Protease (Grünland)} = 2,83 \pm 0,93 \text{ mg Ty.-Äqu./g TS} \\ (\pm 0,465; 95 \%; 200)$$

Für den entsprechenden Vertrauensbereich (P = 95 %) ergab sich ein Wert von $\pm 0,13 \text{ mg Ty.-Äqu./g TS}$.

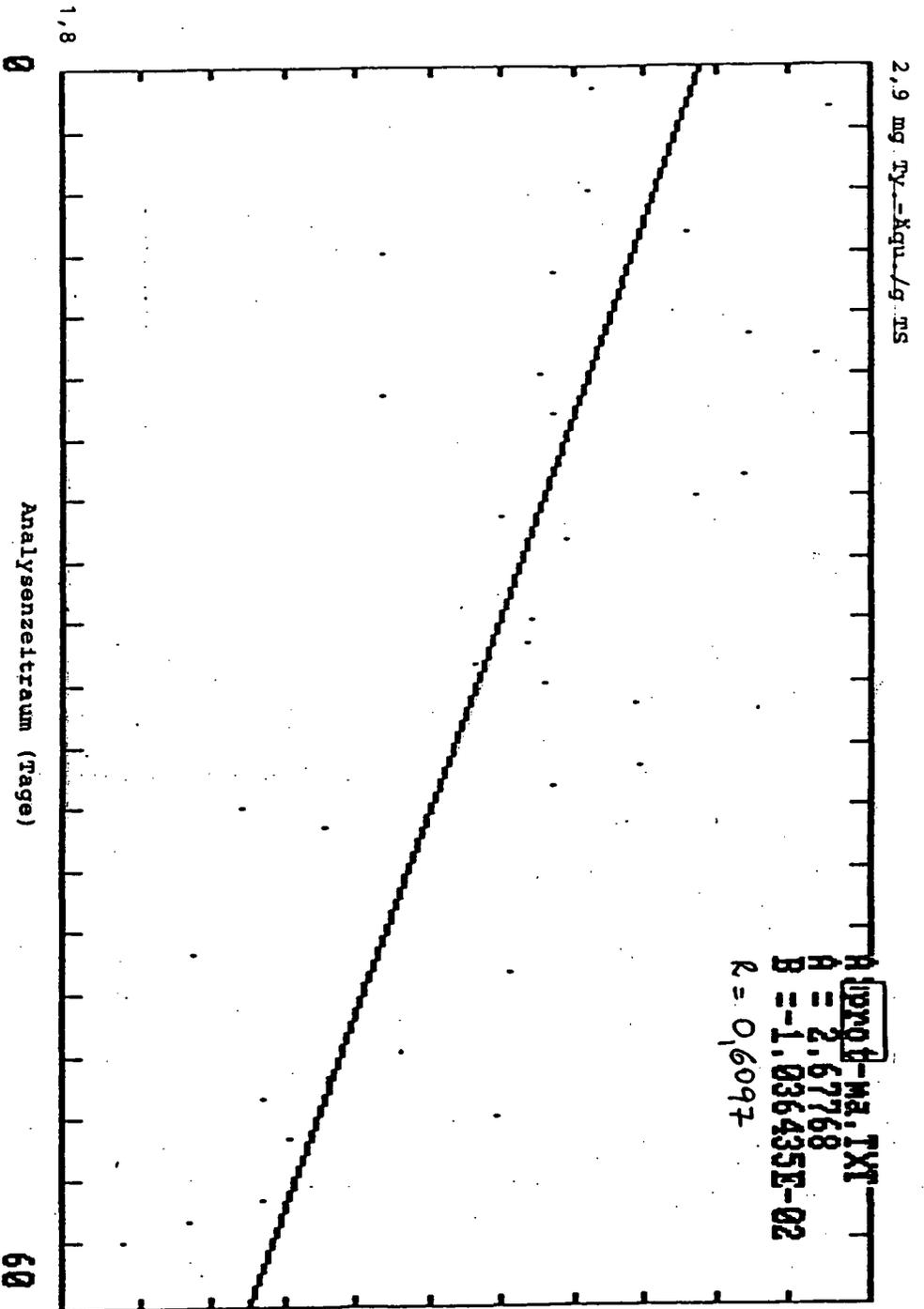


Abb.6: Streuung der Proteaseaktivität (Grünland): Bei der Probe MA während des Analysezeitraumes.

Serie (n)	\bar{x}	s Gesamt	s Analyse	s Feld
A-E (200)	2,83	0,465	0,1	0,46
A (100)	2,78	0,49	0,11	0,49
B (50)	2,89	0,41	0,07	0,40
C (25)	2,79	0,48	0,11	0,48
D (16)	2,87	0,46	0,09	0,46
E (9)	3,04	0,45	0,07	0,44
F (25)	2,27	0,47	0,1	0,46
G (50)	2,35	0,26	0,08	0,25
MA (33)	2,67	0,20	0,09	0,19

Tab.9: Protease (Grünland): \bar{x} , s_G , s_A , s_F der Serien.
(mg Ty.-Äqu./g TS)

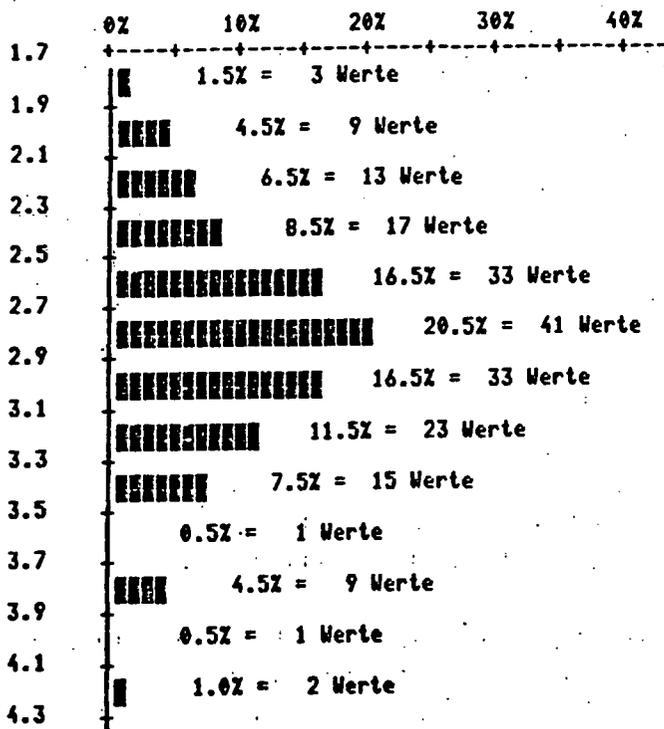


Abb.7: Protease (Grünland): Histogramm der Werte der Serien A-E.

In Abb.8 wurden wiederum die Schätzmittelwerte der Serien im Toleranzintervall des gegebenen Mittelwertes von 2,83 mg Ty.-Äqu./g TS mit dem Vertrauensbereich aufgezeichnet (P=95%).

mg Ty.-Äqu./g TS

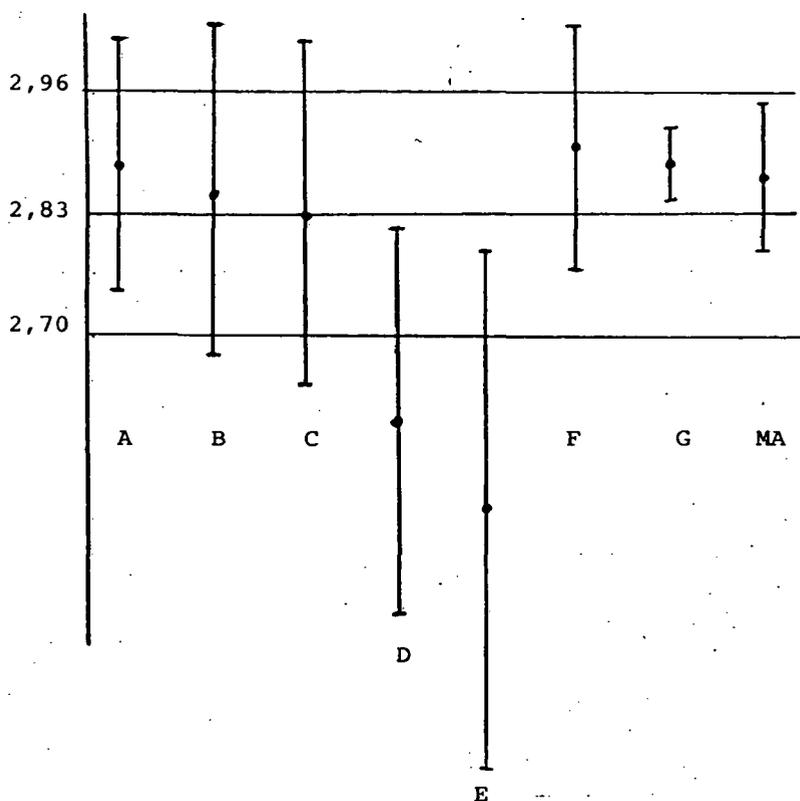


Abb.8: Protease (Grünland): Toleranzintervall für Mittelwertschätzungen der Serien A-F mit den einzelnen Vertrauensbereichen.

Die Standardabweichung bei gegebener Analysen- und Einstichzahl wurde in Tab.10 ausgefolgt. Die kostengünstigste Analysen-Einstiche-Kombination zeigt daraus Tab.11.

Im Gegensatz zur "Ackerland-Protease" war hier eine Streuungsverbesserung bis ca. $\pm 30\%$ der Gesamtstreuung ohne besonders großen Aufwand möglich. Der Grund ist das weitere Verhältnis zwischen Analysenkosten und Probenahmekosten (1:0,02), das auf Grund einer günstigeren Probenahmetechnik

gegeben war. Dafür wären rund 30 Einstiche mit 1-2 Wiederholungsanalysen ausreichend.

Standardabw.	Prozent	Analysenzahl	Probenzahl	Kosten
.4697074	100 %	1	1	1.02
.3757659	80 %	1	2	1.04
.3006127	64 %	1	3	1.06
.2395508	51 %	1	5	1.1
.19258	41 %	1	8	1.16
.1550034	33 %	1	15	1.3
.1221239	26 %	1	36	1.72
9.863854E-02	21 %	2	41	2.82
7.985026E-02	17 %	3	63	4.26
6.575903E-02	14 %	4	103	6.06
5.166781E-02	11 %	6	182	9.639999
4.227367E-02	9 %	9	270	14.4
3.287952E-02	7 %	14	485	23.7

Tab.11: Protease (Grünland): Berechnung der minimalen Kosten: Analysenkosten = 1, Probenahmekosten = 0,02

Anzahl d. I Proben	Anzahl der Analysen									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.47	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
2	0.34	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33
3	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
4	0.25	0.24	0.24	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
5	0.23	0.22	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
6	0.21	0.20	0.20	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
7	0.20	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
8	0.19	0.18	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
9	0.19	0.17	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
10	0.17	0.16	0.16	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
20	0.14	0.12	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
30	0.13	0.11	0.10	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
40	0.12	0.10	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
50	0.12	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07
100	0.11	0.08	0.07	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
200	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
300	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04
400	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04
500	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
1000	0.10	0.07	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03

Tab.10: Protease (Grünland) : Standardabweichung des Mittelwertes bei einer vorgegebenen Anzahl von Analysen und Proben (Analysenstandardabweichung = 0,095, Feldstandardabweichung = 0,46)

3.2.2. Phosphatase

Die Phosphataseaktivitätsbestimmung wurde wie beim Ackerland aus dem lufttrockenen Boden durchgeführt. Die Probe MA zeigte wiederum eine Abnahme in der Aktivität während des Analysenzeitraumes, sodaß die Werte ebenfalls korrigiert wurden (Abb.9).

Die statistische Auswertung der Probe MA ergab(korr.Werte):

$$\bar{x}_{MA} = 0,80 \text{ mg Phenol/g}$$

$$s_G = 0,06 \quad - \quad -$$

$$s_A = 0,04 \quad - \quad -$$

$$s_F \text{ ("Tagesstreuung")} = 0,05 \text{ mg Phenol/g}$$

Das Verhältnis $s_G:s_A:s_F$ war hier ebenfalls ähnlich dem der Phosphatase des Ackerlandes.

Ebenso war der s_F -Anteil an den übrigen s_F der Serien hier um rund 50 % geringer als vorher bei der Protease (Grünland). Das bestätigt, daß lufttrockenes Bodenmaterial im Gegensatz zu naturfeuchtem einer schwächeren Tagesschwankung auch im Grünland unterworfen ist.

Die statistischen Ergebnisse aller Serien sind in Tab.12 zusammengefaßt.

Serien (n)	\bar{x}	s Gesamt	s Analyse	s Feld
A-E (200)	0,72	0,25	0,05	0,25
A (100)	0,74	0,26	0,02	0,26
B (50)	0,68	0,23	0,04	0,23
C (25)	0,69	0,26	0,05	0,26
D (16)	0,72	0,24	0,14	0,22
E (9)	0,79	0,29	0,03	0,29
F (25)	0,89	0,12	0,06	0,12
G (50)	0,86	0,16	0,04	0,16
MA (33)	0,80	0,06	0,04	0,05

Tab.12: Phosphatase (Grünland): \bar{x} , s_G , s_A , s_F der Serien
(in mg Phenol/g)

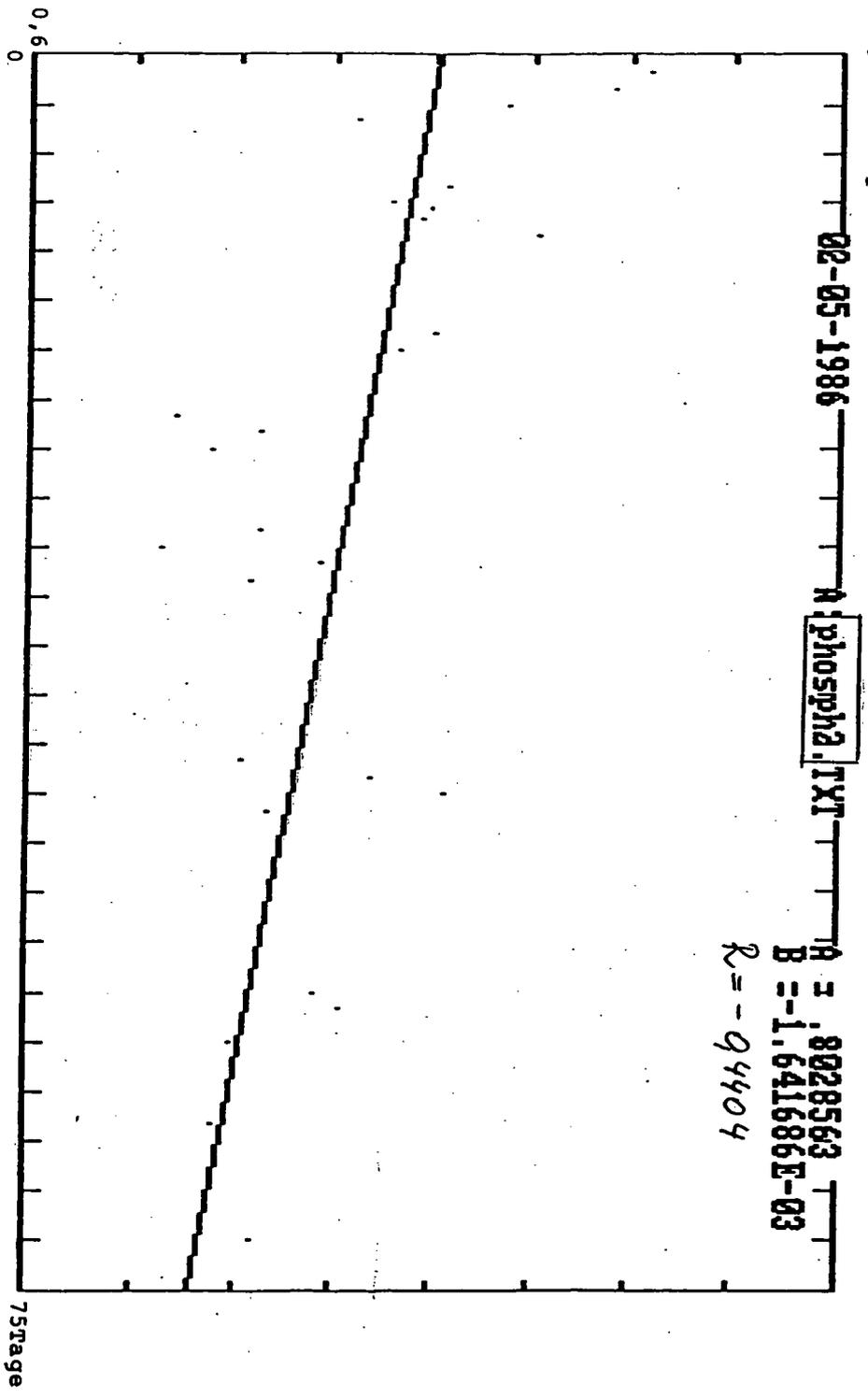


Abb.9: Streuung der Phosphataseaktivität (Grünland) bei der Probe MA während des Analysezeitraumes

Das Ergebnis in Standardform ausgedrückt ergab:

$$\text{Phosphatase (Grünland)} = 0,72 \bar{\pm} 0,51 \text{ mg Phenol/g}$$

$$(\bar{\pm} 0,25; 95 \%; 200)$$

Im entsprechenden Toleranzintervall von $\bar{\pm} 0,07$ mg Phenol/g wurden in Abb.10 wiederum die einzelnen Vertrauensbereiche entsprechend der Serien eingezeichnet.

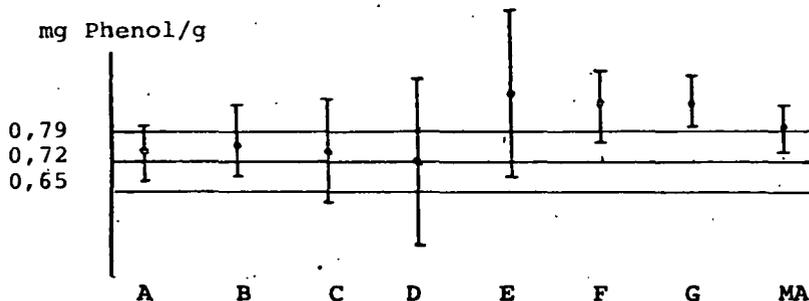


Abb.10: Phosphatase (Grünland): Toleranzintervall für Mittelwertschätzungen der Serien A-F mit den einzelnen Vertrauensbereichen.

Tab.13 gibt die Standardabweichung bei vorgegebener Einstich- und Analysenzahl an. Daraus wurde wieder die kostengünstigste Kombination abgeschätzt (Tab.14).

Standardabw.	Prozent	Analysenzahl	Probenzahl	Kosten
.254951	100 %	1	1	1.02
.2039608	80 %	1	2	1.04
.1631686	64 %	1	3	1.06
.130025	51 %	1	5	1.1
.1045299	41 %	1	8	1.16
8.413382E-02	33 %	1	14	1.28
6.620725E-02	26 %	1	33	1.66
5.353971E-02	21 %	2	39	2.78
4.334167E-02	17 %	2	100	4
3.569314E-02	14 %	3	142	5.84
2.804461E-02	11 %	5	219	9.38
2.294559E-02	9 %	8	293	13.86
1.784657E-02	7 %	13	496	22.92

Tab.14: Phosphatase (Grünland): Berechnung der minimalen Kosten. Analysenkosten=1, Probenahmekosten=0,02

Anzahl d. I. Proben	Anzahl der Analysen									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I 1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
I 2	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
I 3	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
I 4	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
I 5	0.12	0.12	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
I 6	0.11	0.11	0.11	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
I 7	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
I 8	0.10	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
I 9	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08
I 10	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
I 20	0.08	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
I 30	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
I 40	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
I 50	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
I 100	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
I 200	0.05	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02
I 300	0.05	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02
I 400	0.05	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
I 500	0.05	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
I 1000	0.05	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

Tab.13: Phosphatase (Grünland): Standardabweichung des Mittelwertes bei einer vorgegebenen Anzahl von Analysen und Proben (Analysenstandardabweichung = 0,05, Feldstandardabweichung = 0,25).

Wie auch bei der Protease (Grünland) wäre auch bei der Phosphatase ohne größeren Kostenaufwand eine starke Senkung der Standardabweichung möglich. Bemerkenswert war ein großer Anteil der Streuung am Mittelwert im Grünland (um ca. 10 % mehr als im Ackerland). Dieser Unterschied kam zwischen beiden Proteasen (Acker-Grünland) nicht deutlich zum Vorschein. Folgernd hätte eine Lufttrocknung von Grünlandböden eine größere Streuung vom Mittelwert zur Folge als vom Ackerland und soll daher vermieden werden. Für Ackerböden hatte die Lufttrocknung keinen so deutlich negativen Einfluß auf die Standardabweichung.

3.2.3. Einstich- und Analysenzahlen für das Grünland (Zusammenfassung)

Nach Tab.15 wäre es für die Proteasebestimmung für eine entsprechend genaue Analyse egal, ob man einmal oder mehrfach die Analysen wiederholt. Für die Phosphataseaktivität waren nach Tab.16 hingegen (dies auch im Gegensatz zum Ackerland) für einen Genauigkeitserfolg von weniger als ± 30 % vom Mittelwert 15-25 Einstiche mit den jeweiligen Wiederholungsanalysen notwendig. Dieser Nachteil wurde auf die Lufttrocknung des humusreicheren Grünlandbodens und der damit verbundenen stärker wechselhaften Veränderungen in den Enzymaktivitäten in Beziehung gebracht. Dies wäre durch eine Analyse der Phosphatase aus dem naturfeuchten Bodenmaterial zu vermeiden gewesen. Somit sind nach Tab.15 und 16 für das bodenkundlich einheitliche Grünland für Enzymaktivitätsbestimmungen aus naturfeuchten Böden drei Einstiche mit 1-2 Wiederholungsanalysen und für Analysen aus dem lufttrockenen Bodenmaterial rund 20 Einstiche mit 2 Wiederholungsanalysen zu empfehlen. Eine bessere Genauigkeit wäre mit großen Kosten verbunden, der Genauigkeitserfolg ist aber im Vergleich dazu gering.

Im Vergleich zum Ackerland war bei Protease (und wahrscheinlich auch für Phosphatase, wenn naturfeuchtes Bodenmaterial analysiert wird) eine höhere Genauigkeit erzielbar ($< \pm 10$ %). Für das Ackerland war ± 20 % vom Mittelwert für beide Enzymaktivitäten eine realistische Forderung.

Präzision %	Analysezahl		
	1	2	3
$\bar{+}$ 30	1	1	1
$\bar{+}$ 20	3	3	3
$\bar{+}$ 10	3	3	3
Probenzahl bei bestmöglicher Präzision	85 ($\bar{+}$ 5%)	85 ($\bar{+}$ 4%)	85 ($\bar{+}$ 4 %)

Tab.15: Protease (Grünland): Einstichzahl bei vorgegebener Präzision (P = 95 %) und Analysezahl.

Präzision %	Analysezahl		
	1	2	3
$\bar{+}$ 30	6	6	5
$\bar{+}$ 20	25	17	15
$\bar{+}$ 10	-	-	125
Probenzahl bei bestmöglicher Präzision	250 ($\bar{+}$ 15%)	250 ($\bar{+}$ 11%)	250 ($\bar{+}$ 9%)

Tab.16: Phosphatase (Grünland): Einstichzahl bei vorgegebener Präzision (P = 95 %) und Analysezahl:

4. Zusammenfassung - Summary

In einem bodenkundlich einheitlichen Acker- und Grünland wurde eine 1 ha große Fläche ausgesteckt und der Oberboden systematisch nach vorgelegten Mustern beprobt. Die Bodenproben wurden nach ihrer Protease (aus naturfeuchtem Boden) - und Phosphataseaktivität (aus lufttrockenem Boden) untersucht. Aus den statistisch ausgewerteten Ergebnissen auf Gesamt-, Analysen- und Feldstandardabweichung ließ sich fol-

gendes feststellen:

- Eine feinere Siebung der Böden erniedrigte erwartungsgemäß die Analysenstreuung.
- Eine Verwendung von naturfeuchtem Bodenmaterial für Enzymaktivitätsbestimmungen empfahl sich besonders für das Grünland.
- Um Lagerungsveränderungen in Enzymaktivitäten bei längerer Analysendauer zu begegnen, ist eine Mitführung eines internen Standards notwendig. Bei Phosphatase (Ackerland + Grünland) und Protease (nur Grünland) konnten Aktivitätsabnahmen während des Analysenzeitraumes festgestellt werden.
- Für das bodenkundlich einheitliche Ackerland war nach vorliegenden Resultaten eine Mischprobe von ca. 10 Einstichen/ha mit 2 Wiederholungsanalysen sinnvoll. Diese Forderung schloß eine Genauigkeit von ca. $\pm 20\%$ vom idealen Mittelwert ein ($P = 95\%$).
- Im bodenkundlich einheitlichen Grünland waren für die Analyse (Protease) aus naturfeuchtem Bodenmaterial rund 5 Einstiche und 1-2 Wiederholungsanalysen notwendig (Präzision ist $< \pm 10\%$ vom idealen Mittelwert, $P = 95\%$). Der luftgetrocknete Grünlandboden verlangte hingegen eine Mischprobe aus ca. 25 Einstichen mit 2 Wiederholungsanalysen für eine Genauigkeit von $\pm 20\%$ vom idealen Mittelwert ($P = 95\%$). Eine Erhöhung der empfohlenen Analysen- bzw. Einstichzahlen brachte nur mehr einen geringen Genauigkeitsgewinn. Dieser war mit einem größeren Aufwand verbunden.

Soil Sampling for Enzyme Analysis and its Statistical Evaluation

On 1 ha of an arable land and of a grassland (each containing one soil type) soil samples were systematically drawn from surface (0-25 cm arable land, 0-10 cm grassland) according to different sampling plans (units of 100, 200, 400, 625 and 3333 m²). After sieving soils were analyzed for their protease activity (from fresh soil, stored at + 4°C) and their phosphatase activity (from air dried soil). Means, variances and standard deviations were estimated by applying conventional statistical methods which assume a given para-

meter to be normally distributed. The number of observations needed to obtain a mean value of a given parameter with a given precision and confidence level was calculated. Following results were made for soil enzymatic analysis:

- As expected a finer sieving lowered the measurement error.
- Especially for grassland fresh soils should be used for enzyme analysis.
- Changes of soil enzymatic activities were observed through storage at + 4°C and at room temperature. Therefore an internal standard should be carried along long periods of analysis. There were decreases in protease activity (grassland) and in phosphatase activity (arable land + grassland).
- To estimate soil enzymatic activities (protease and phosphatase) of arable land 10 soil samples were enough according to our results. The analysis should be repeated 2 times (P = 95 %, allowable error was \pm 20 % of the true mean).
- For measurement of protease activity of a grassland soil only 3 samples were needed with 2 repetitions of analysis (P = 95 %, allowable error was $< \pm$ 10 % of the true mean). In contrast the determination of phosphatase activity (from air dried soil) demanded about 25 soil samples with 2 repetitions of analysis to make an allowable error of \pm 20 % of the true mean (P = 95 %).

For both, arable land and grassland the expense of soil samples and analysis was clearly increasing to get a better precision. In relation to the expense the gained amount of better precision was small.

5. Literatur

- AICHBERGER, K., EIBELHUBER, A. und HOFER, G. (1986): Soil Sampling for Trace Element Analysis and its Statistical Evaluation. In Druck.
- EBING, W. und HOFFMANN, G. (1975): Richtlinie zur Probenahme von Böden, die auf Spuren org. oder anorg. Fremdstoffe von Umwelt-Schutzinteresse untersucht werden sollen. Z.Anal.Chem.275, 11-13.

HOFFMANN, G. (1968): Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität im Boden. Z.Pflanzen-ern.Düng. und Bodenkd. 118, 161-172.

LADD, J.N. und BUTLER, J.H.A., (1972): Short term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptides. Soil Biol.Biochem. 4, 19-30.

Anschrift: Dipl.Ing.Richard Öhlinger
Landwirtschaftlich-chemische Bundesanstalt
Georg-Wieningerstraße 8
A-4025 Linz

Die Wirkung von Düngekalk, Dolomit und Gesteinsmehl auf biologische Aktivitäten eines Waldbodens

von R. Schifferegger und F. Schinner

1. Einleitung

Zur Gesunderhaltung forstlicher Bestände wurde in den vergangenen Jahren zunehmend die Bodenkalkung angewandt. Das Augenmerk vorliegender Arbeit wurde auf den Streuabbau und dessen Reaktion nach einer einmaligen Behandlung mit CaCO_3 , Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl gerichtet. Zu diesem Zweck wurden Bodenmaterialien eines naturnahen Waldstandortes mit CaCO_3 , Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl behandelt und die Entwicklung der Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivität über einen Zeitraum von 18 Wochen untersucht. Parallel dazu erfolgte auch die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse und der Bodenatmung.

2. Material und Methoden

Bodenmaterial

$O_f - O_h$ Horizont eines Fichtenforstes nahe Innsbruck
Muttergestein Quarzphyllit.

Bodenbehandlung

In die Versuchsböden wurden 0,8 % CaCO_3 , 0,8 % Dolomit und 1,4 % Gesteinsmehl eingearbeitet. Versuchsdauer 18 Wochen.

Probenvorbereitung

Je nach Methoden wurden naturfeuchte (für Bodenatmung und mikrobielle Biomasse) und luftgetrocknete (für Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivität) Bodenmaterialien verwendet.

Analysenmethoden

Cellulase, Xylanase und Pectinase nach Schinner und Hofmann, (1978).

Bodenatmung nach Isermeyer (1952), verändert nach Jäggi.

Mikrobielle Biomasse nach Anderson und Domsch (1978), verändert nach Beck (1984).

3. Ergebnisse und Diskussion

Im Gegensatz zu landwirtschaftlichen Böden sinken beim Waldboden die mikrobielle Biomasse und die Bodenatmung nach Anwendung von Kalk, Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl verhältnismäßig rasch ab (Abb. 1 und 2). Dieses Phänomen wird auf das Überwiegen der pilzlichen Biomasse und die damit verbundene intensive Säureproduktion zurückgeführt.

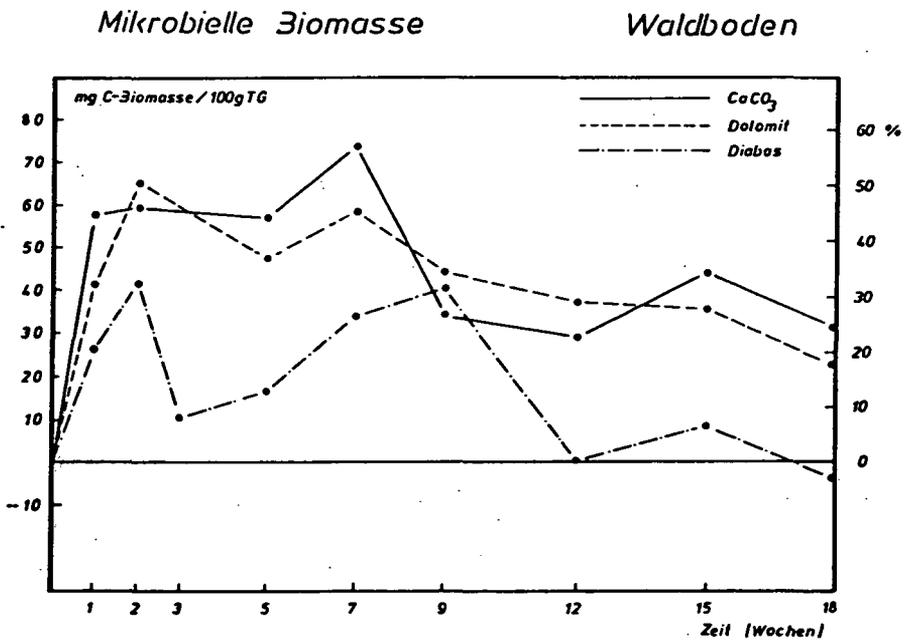


Abb. 1: Mikrobielle Biomasse von Bodenmaterialien eines Waldstandortes nach einmaliger Applikation von 0,8 % CaCO₃ und Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Bodens dar.

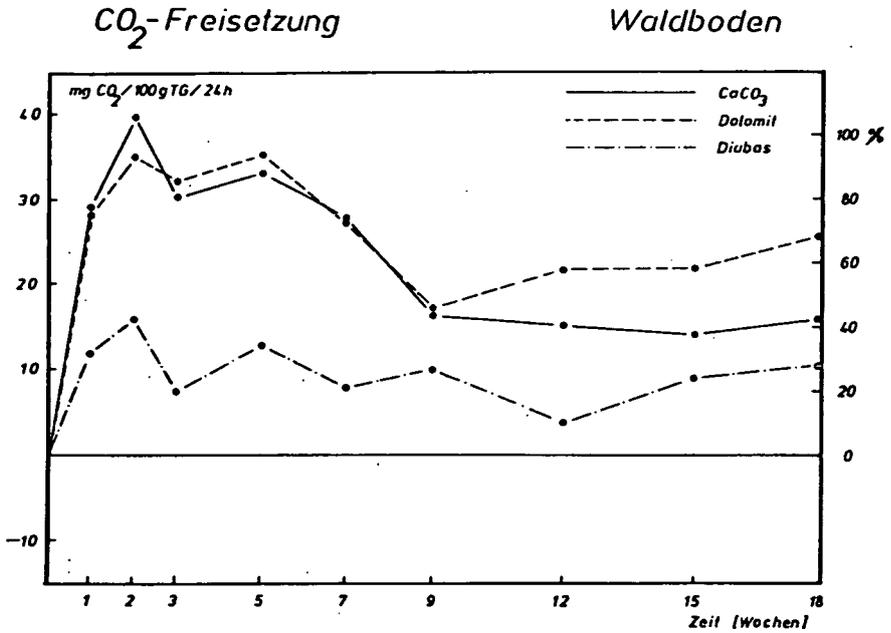


Abb. 2: Bodenatmung von Bodenmaterialien eines Waldstandortes nach einmaliger Applikation von 0,8 % CaCO₃ und Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Bodens dar.

Die Enzyme des mikrobiellen Streuabbaus, Cellulase, Xylanase und Pectinase, wurden durch die gewählten Behandlungsmethoden jeweils in unterschiedlicher Weise beeinflusst (Abb. 3, 4 und 5).

Besonders bemerkenswert war der förderliche Einfluß von 0,8 % Dolomit auf die Cellulase- und Xylanaseaktivität (Abb. 3 und 4). Nach einem anfänglichen streßbedingten Anstieg von 80 % über den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens betrug die Aktivitätssteigerung ab der 3. Woche bis zum Versuchsende (18 Wochen) noch 30 - 40 %. Bei 0,8 %iger CaCO₃-Anwendung reagierten diese Enzyme nicht in derselben Weise. Sie blieben im gesamten eher wenig beeinflusst, es wurden sogar Hemmungen nachgewiesen.

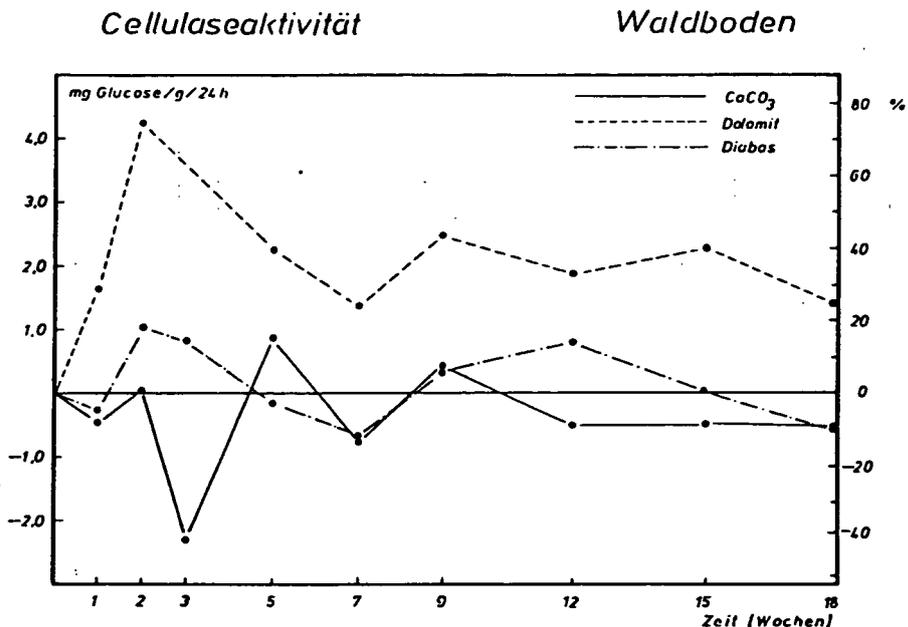


Abb. 3: Cellulaseaktivität von Bodenmaterialien eines Waldstandortes nach einmaliger Applikation von 0,8 % CaCO₃ und Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Die unterschiedliche Reaktion dieser Enzyme ist damit zu erklären, daß die gewählte Dolomitkonzentration gerade jene Pufferkapazität aufwies, um den Boden mindestens bis zur 12. Woche auf einem pH um 5,2 zu halten. Da dieser Wert im Bereich des Enzymoptimums der Xylanase liegt, aber auch Pilze bei diesem pH-Wert gut gedeihen, ist der Anstieg sämtlicher untersuchter biologischer Parameter verständlich. Bei der Behandlung mit 0,8 % Kalk und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl wurde dieser günstige pH-Wert nicht getroffen; infolgedessen wurden vor allem α - und β -Glucosidasen gehemmt.

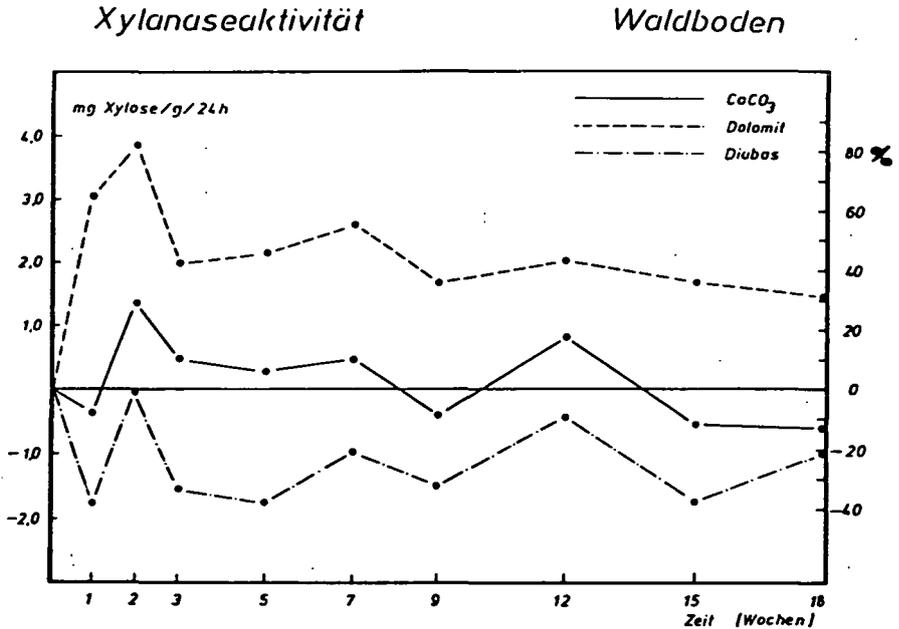


Abb. 4: Xylanaseaktivität von Bodenmaterialien eines Waldstandortes nach einmaliger Applikation von 0,8 % CaCO_3 und Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Die Pectinaseaktivität (Abb. 5) wurde bis auf eine anfängliche (2. Woche), durch Dolomit um 90 % gesteigerte, Enzymausschüttung während der gesamten Versuchsdauer nur geringfügig beeinflusst. Dolomit bewirkte vorübergehend Aktivitätssteigerungen bis 20 %, und Kalk Aktivitätsverminderungen bis 30 %.

Hervorzuheben ist das Ergebnis mit Diabas-Gesteinsmehl, welches die Xylanaseaktivität des Waldbodens (Abb. 4) nahezu während der gesamten Versuchsdauer von 5 Monaten zwischen 20 und 40 % hemmte. Bei sämtlichen Aktivitätsbestimmungen lagen die Enzymaktivitäten unter den Werten des nichtbehandelten Vergleichsbodens.

Pectinaseaktivität

Waldboden

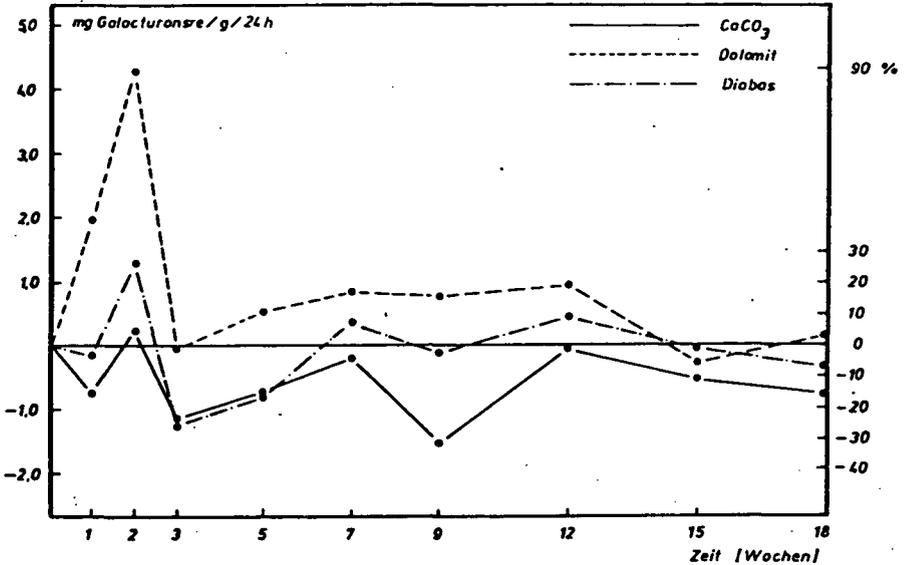


Abb. 5: Pectinaseaktivität von Bodenmaterialien eines Waldstandortes nach einmaliger Applikation von 0,8 % CaCO₃ und Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Die Ergebnisse zeigten auf, daß die Behandlung von Waldböden mit Kalk oder Dolomit oder Diabas-Gesteinsmehl einen merklichen Einfluß auf die Biologie des Bodens hatte. Die mikrobielle Biomasse, wie auch die Bodenatmung, erfuhren erwartungsgemäß Steigerungen. Diese vordergründig positive Reaktion wird auf eine bessere Verfügbarkeit der Nährstoffe durch die Anhebung des Boden-pH zurückgeführt. Da die α - und β -Glucosidasen, mit Ausnahme bei der Dolomitbehandlung, nicht diese Steigerung erfuhren, zum Teil sogar gehemmt wurden, ist anzunehmen, daß beim Einsatz von Kalk, Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl bei allzu hoher Dosierung lediglich leicht verfügbare Nährstoffreservoirs mobilisiert werden. Wenngleich diese Aussage nur auf den untersuchten Boden zu beziehen ist, sollte diesem Sachverhalt in Zukunft mehr Augenmerk geschenkt werden.

Eine hemmende Wirkung der Enzyme wäre sicher deutlicher hervorgetreten, wenn die durch die Wirkstoffe eingestellten pH-Werte über pH 6 angestiegen wären.

Bei Anwendung von pH-erhöhenden Wirkstoffen auf Waldböden muß darauf geachtet werden, daß die pH-Werte möglichst nicht über pH 5,5 ansteigen. Höhere Werte würden den Streuabbau durch Cellulase, Xylanase und Pectinase hemmen und in der Folge zu einer verzögerten Nährstoffnachlieferung und Anreicherung von Rohhumus führen.

4. Zusammenfassung - Summary

An Bodenmaterialien eines sauren Waldbodens (pH 3,9) wurden der Einfluß von Kalk, Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl auf die Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivität, die mikrobielle Biomasse und die Bodenatmung untersucht. Die Anhebung des pH-Wertes im Waldboden führte bei allen drei Wirkstoffen zu einer Zunahme der mikrobiellen Biomasse, aber auch der Bodenatmung. Die Glucosidasen wurden im vorliegenden Versuch lediglich durch Dolomitbehandlung gefördert, da mit der gewählten Konzentration günstige Bedingungen für die Enzymproduzenten, aber auch für die Enzyme erreicht wurden. Bei Kalk wurden die Mengen offensichtlich zu hoch gewählt, sodaß es vereinzelt zu Enzymhemmungen kam. Es wird festgestellt, daß bei der Anwendung von pH-erhöhenden Wirkstoffen bei Waldböden größtmögliche Umsicht geboten ist, da ein pH-Wert über 5,5 den Streuabbau und damit die Nährstoffnachlieferung hemmen würden.

The Influence of Lime, Dolomite and Diabas-Stone Meal on the Biological Activities of a Forest Soil

The influence of lime, dolomite and diabas-stone-meal on the activities of cellulase, xylanase and pectinase and on the microbial biomass and the CO₂-evolution was investigated on with acid soil from a forest (pH 3,9). With all three fertilizers used the increase of the pH-value of this soil led to an increase not only of the microbial biomass, but also of the CO₂-evolution. In this experiment glucosidases were promoted only with the treatment with dolomite, as

favourable conditions for the enzyme-producers, and also for the enzymes were established with the chosen conditions. Obviously the amount of lime was applied slightly too high, so that enzyme inhibition occurred occasionally. It is noted that particular care is necessary when pH-increasing substances are applied to forest soil, as a pH more than 5,5 would inhibit the litter decomposition and with it the supply of nutrients.

5. Literatur

- ANDERSON, J.P.E. und DOMSCH, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. *Soil. Biol. Biochem.* 10, 215-221.
- BECK, TH., 1984. Mikrobiologische und biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden. Die Ermittlung einer bodenmikrobiologischen Kennzahl. *Z. Pflanzenernährung Bodenkd.* 147, 456-467.
- ISERMEYER, H., 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate zur Pflanzenernährung. *Bodenkd.* 56, 26-38.
- SCHINNER, F. und HOFMANN, J., 1978. Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivitätsmessungen in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. In: Cernusca, A., 1978. Ökologische Analysen von Almflächen im Gasteiner Tal. Veröffentlichung des österr. MaB Hochgebirgsprogramms Hohe Tauern, Bd. 2, Universitätsverlag Wagner, Innsbruck.

Anschrift: Robert Schifferegger
Institut für Mikrobiologie
Technikerstr. 25
6020 Innsbruck/Österreich

Die Auswirkungen eines Pflanzenschutzsystems auf bodenmikrobiologische Parameter im Getreidebau

von E. S c h u s t e r und D. S c h r ö d e r

1. Einleitung

Chemischer Pflanzenschutz, d.h. der Einsatz von Herbiziden Fungiziden und Insektiziden stellt einen wichtigen Aspekt unserer heutigen intensiven, auf höchste Erträge abzielenden Agrarproduktion dar. Bei nahezu allen Pflanzenschutzmaßnahmen wird, gewollt oder ungewollt, auch der Boden kontaminiert. Nach DOMSCH (1972) gelangen mehr als 50 % der aufgebrachten Wirkstoffe auf den Boden und können dort unerwünschte Nebenwirkungen verursachen. Eine davon ist die Beeinträchtigung der Bodenmikroflora oder ihrer Leistungen. Ein besonderes Problem stellt in diesem Zusammenhang das Auftreten von Kombinationseffekten dar. Diese resultieren zum einen aus der inzwischen weit verbreiteten Anwendung von Tankmischungen, zum anderen aber daraus, daß im intensiven Getreidebau ganze Spritzfolgen, d.h. Applikation verschiedener Wirkstoffe in relativ kurzen zeitlichen Abständen, zur Anwendung kommen. Neben den rein physikalisch-chemischen Wechselwirkungen wie z.B. einem veränderten Adsorptionsverhalten (NEARPASS 1971, BEST et al. 1972) oder einer direkten chemischen Reaktion der Wirkstoffe oder ihrer Metaboliten untereinander (BROWN et al. 1977) können sich Pflanzenschutzmittel auch in ihren Auswirkungen auf die Mikroflora des Bodens gegenseitig beeinflussen. Dabei können sie sich in ihrer Wirkung addieren, potenzieren oder abschwächen, wobei Kombinationseffekte grundsätzlich von denen der einzelnen Mischungspartner abweichen können. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung, ob ein Pflanzenschutzsystem den mikrobiellen Teil der Bodenfruchtbarkeit beeinträchtigen kann.

2. Material und Methoden

Die Versuchsfläche liegt ca. 25 km von Trier entfernt. Es handelt sich um eine pseudovergleyte Parabraunerde aus Löß, die schon langjährig unter Ackernutzung steht. Eine Profil-

beschreibung mit den wichtigsten bodenphysikalischen und -chemischen Kennwerten ist Tab. 1 zu entnehmen.

Horzt.	Tiefe (cm)	Korngrößenvert.			Bo.art	d_B (g/cm ³)	GPV (%)
		S	U	T (%)			
Ap	0-30	17	67	16	tU	1.4	48.3
SvAl	31-45	14	64	22	uL	1.6	44.4
SdBt	46-90	9	60	31	utL	1.6	44.2
BvSd	91	10	61	29	uL	1.6	45.1

	pH	% org.C	‰ N	C/N
Ap	5.7	1.7	2.2	8

Tab.1 Bodenphysikalische und -chemische Eigenschaften des Versuchsbodens.

Die Versuchsanlage beinhaltet die beiden Varianten Nullkontrolle und mit einer Spritzfolge belasteten Variante jeweils in vierfacher Wiederholung. Jede einzelne Parzelle mißt 20 m². Die Proben wurden aus der obersten Bodenzone von 0-5 cm entnommen, wobei jeweils 40 Einstiche pro Fläche zu einer Mischprobe vereinigt wurden.

Die Probenahme erfolgte jeweils einen Tag vor einer Pflanzenbehandlungsmaßnahme (weiße Säulen) und 3 Tage danach (schwarze Säulen). Das untersuchte Pflanzenschutzsystem ist typisch für den intensiv betriebenen Winterweizenbau (Tab. 2).

Termin		Handelsname	Wirkstoffname	Menge
8.3.1985	H1	Arelon + Aretit	Isoproturon + Dinosebacetat	2.5 + 3.0 l/ha
23.4.1985	H2/W	2.4-DP + Cycocel	Dichlorprop + Chlormequat	4.0 + 0.5 l/ha
3.5.1985	F1	Sportak Alpha	Prochloraz + Carbendazim	1.5 l/ha
23.5.1985	F2	Corbel	Fenpropimorph	1.0 l/ha
12.6.1985	F3	Bayleton DF	Triadimefon	4.0 kg/ha
27.6.1985	I1	Pririmor	Pirimicarb	0.3 kg/ha
2.8.1985	H3	Roundup	Glyphosat	4.0 l/ha

H : Herbizid
F : Fungizid
I : Insektizid

Tab.2: Wirkstoffe und Applikationstermine des untersuchten Pflanzenschutzsystems.

Methoden

- Bestimmung der mikrobiellen Biomasse nach ANDERSON & DOMSCH (1978)
- Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität nach THALMANN (1968)
- Bestimmung des Zelluloseabbaus nach KOZOVA (1966)

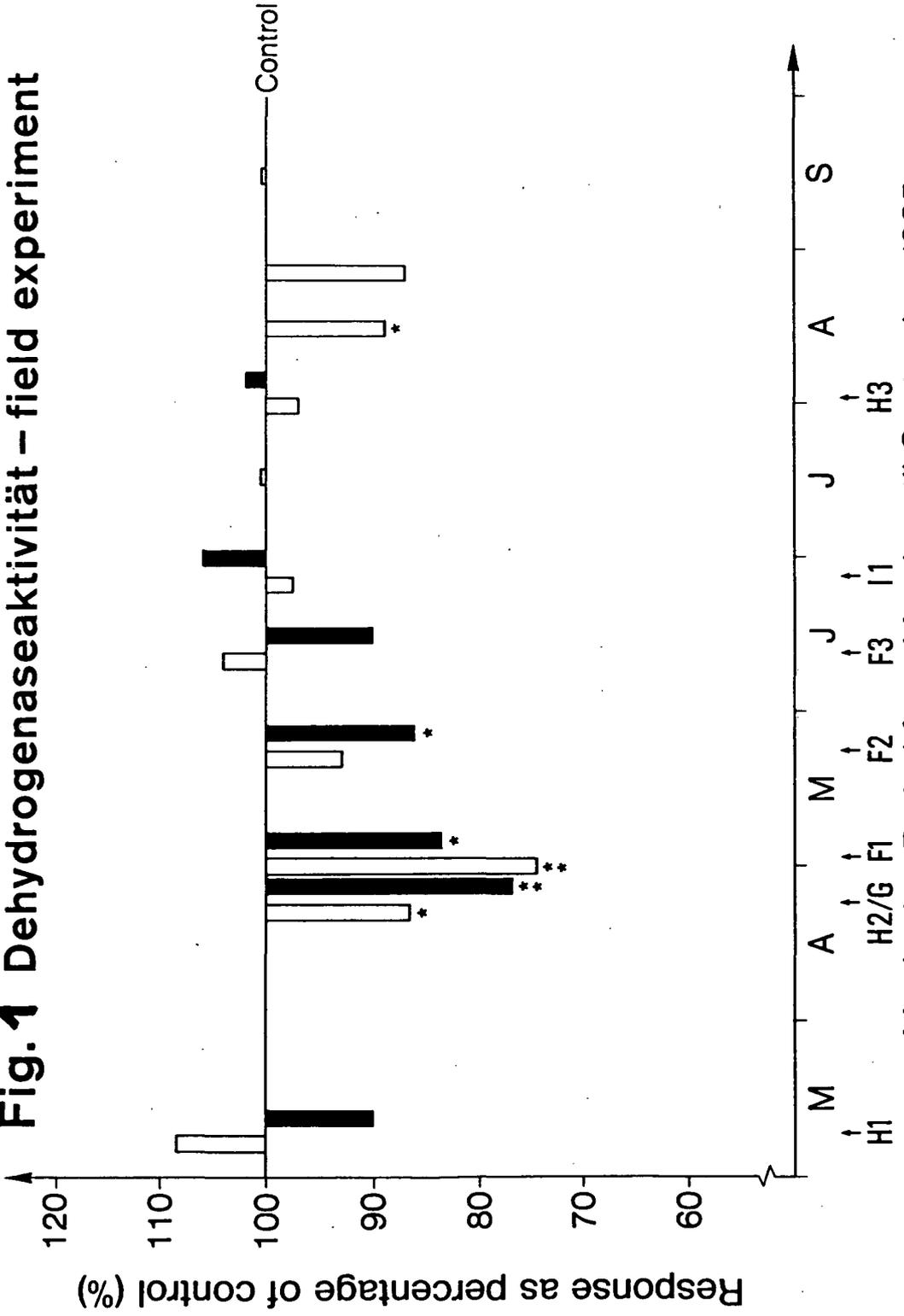
Die Signifikanz der ermittelten Unterschiede zwischen den beiden Varianten wurde mit dem t-Test (SACHS, 1979) überprüft. Dabei bedeutet * signifikant auf dem 95 %-Niveau
** signifikant auf dem 99 %-Niveau

3. Ergebnisse und Diskussion

a) Dehydrogenaseaktivität

Man erkennt deutlich, daß alle Herbizid- und Fungizidspritzungen zu einem Abfall der Dehydrogenaseaktivität (DHA) geführt haben (Abb.1). Die Insektizidspritzung mit Pirimor

Fig. 1 Dehydrogenaseaktivität – field experiment



Monitoring Period from March until September 1985

zeigt keine Wirkung. Wichtig ist, daß zwischen den einzelnen Applikationsterminen von Anfang März bis Ende Mai keine völlige Wiedererholung eintritt. Auch nach der erstmaligen Erholung vor dem Ausbringen des dritten Fungizids tritt nochmals eine Depression ein; erst danach kann sich die DHA für einen längeren Zeitraum normalisieren, bevor die letzte Spritzung ein abermaliges Abfallen bewirkt. Etwa 40 Tage nach der letzten Spritzung haben die behandelten Flächen wieder das Niveau der Kontrollflächen erreicht.

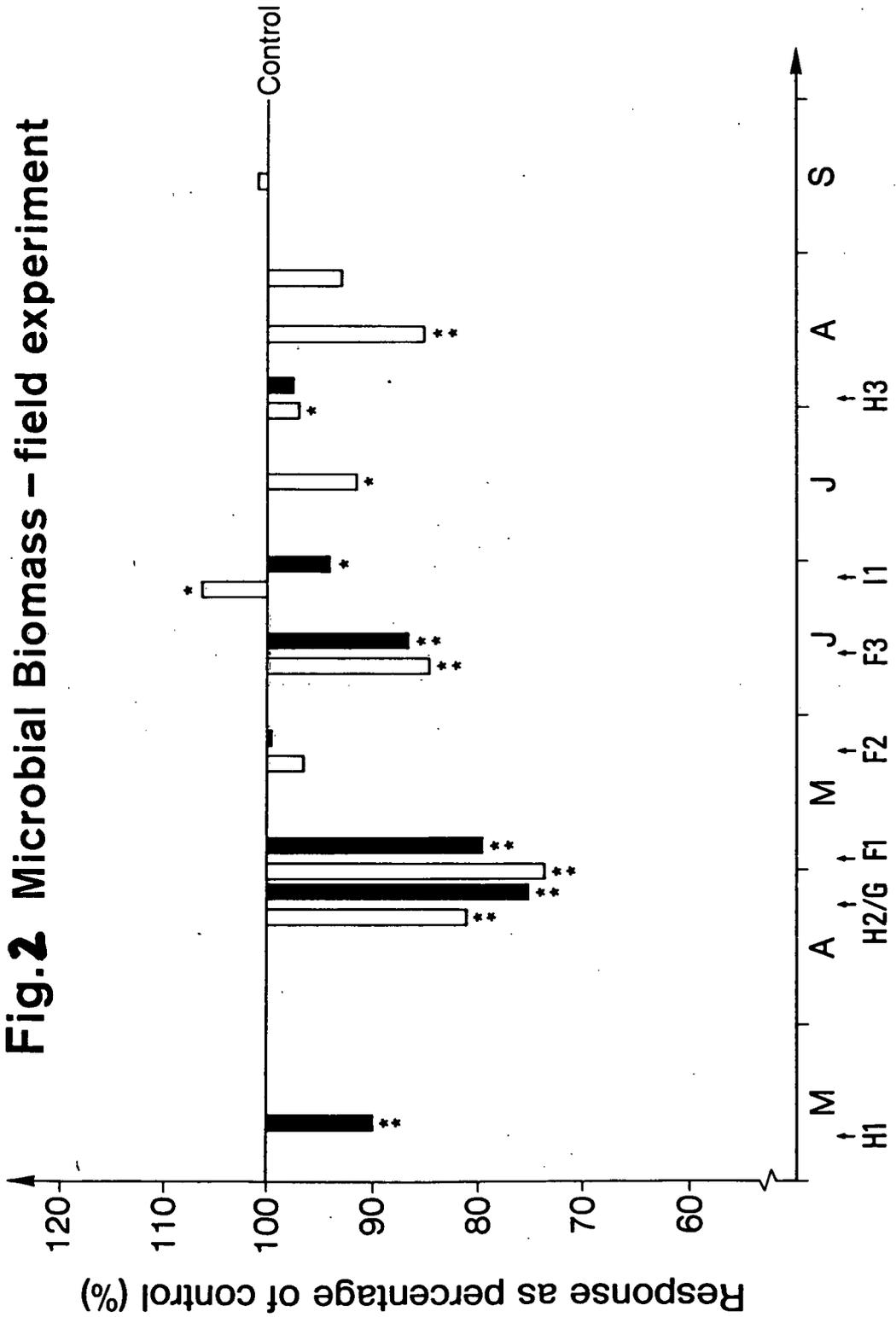
b) Mikrobielle Biomasse

Die Ergebnisse der Bestimmung der mikrobiellen Biomasse zeigen im großen und ganzen den gleichen Verlauf wie die der Dehydrogenaseaktivität (Abb.2). Auch hier zeigt sich als Nebenwirkung der Pflanzenbehandlungsmaßnahmen eine Abnahme im Gehalt an metabolisch aktiven Mikroorganismen im Boden. Auch der relative Schädigungsgrad stimmt gut mit den DHA-Werten überein. So ergibt sich eine statistisch absicherbare Korrelation zwischen diesen beiden Parametern, wie sie ja auch schon von anderen Autoren festgestellt wurde.

c) Zelluloseabbau

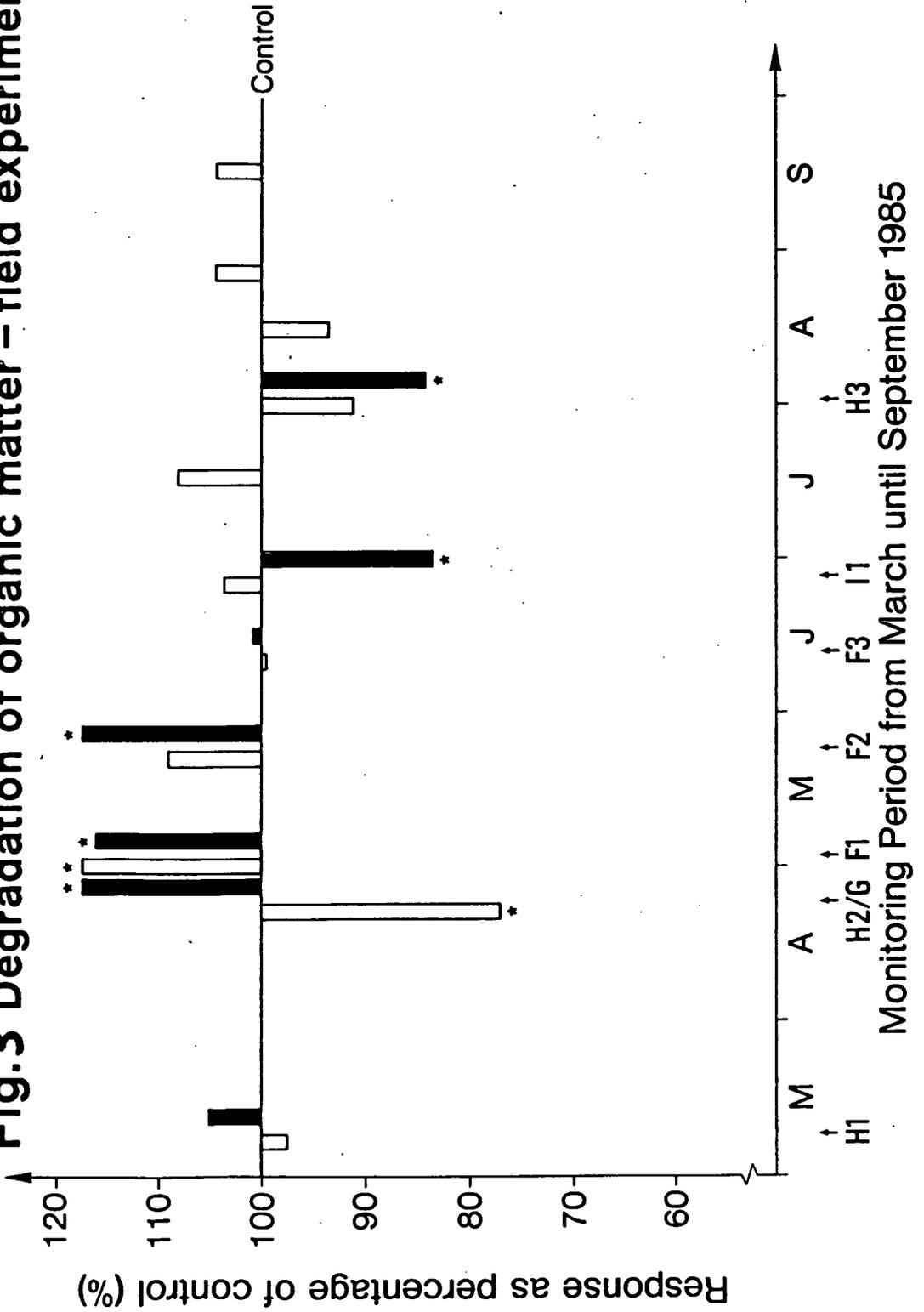
Ein etwas anderes Bild zeigt die Untersuchung des Zelluloseabbaus (Abb.3). Wo DHA und mikrobielle Biomasse mit deutlichen Depressionen reagieren, wird der Zelluloseabbau im Boden gefördert oder gar nicht beeinflußt. Die letzte Herbizid- sowie die Insektizidspritzung bewirken im Gegensatz dazu eine Hemmung des Zelluloseabbaus. Dieses oft gegensätzliche Verhalten von Biomasse und DHA einerseits und zellulolytisch aktiven Organismen andererseits läßt sich wohl dadurch erklären, daß die zellulosezersetzende Spezialflora direkt einen Konkurrenzvorteil wahrnehmen kann, der dadurch entstanden ist, daß ein Teil der Mikroflora durch die Pflanzenschutzmittel geschädigt worden ist und diese abgestorbene Biomasse jetzt als leicht verfügbare Nährstoffquelle genutzt werden kann. Die hier auftretenden relativ abrupten Schwankungen zwischen Depression und Stimulation lassen vermuten, daß es sich bei den zelluloseabbauenden Organismen im Boden um eine zwar sensible Flora handelt, die äußerst schnell auf

Fig.2 Microbial Biomass – field experiment



Monitoring Period from March until September 1985

Fig.3 Degradation of organic matter - field experiment



eine Veränderung der Umwelt reagiert und somit einen guten Indikatorwert bzgl. der Ökotoxizität von Umweltgiften besitzt, die aber andererseits auch über ein ganz erstaunliches Wiedererholungsvermögen verfügt und nicht unbedingt zu nachhaltiger Schädigung neigt.

d) Bewertung der Ergebnisse

Entscheidend für die Bewertung der Ergebnisse ist die ökologische Signifikanz und Relevanz der ermittelten Unterschiede zwischen behandelter und unbehandelter Parzelle. Dafür ist es notwendig, sowohl Ausmaß als auch die Dauer von Effekten zu betrachten. Das momentan einzige, entsprechende Bewertungsschema zur Beurteilung der Ökotoxizität von Pflanzenschutzmitteln zeigt Abb.4. Es geht daraus hervor, daß sowohl positive als auch negative Abweichungen vom Normalzustand (Stimulationen und Depressionen) als kritisch zu betrachten sind. Alle irreversiblen Effekte werden als "nicht tolerierbar" eingestuft.

Werden die vorgestellten Resultate nach diesem Schema bewertet, so wird deutlich, daß alle Einzeleffekte mindestens "tolerierbar", zum größten Teil sogar "vernachlässigbar" sind. Allerdings muß die hier vorgenommene Abgrenzung der Zonen "kritische", "tolerierbare" und "vernachlässigbare" Effekte nach Meinung des Autors noch einmal kritisch überdacht werden.

Für die Bewertung der summarischen Effekte wie sie im hier vorliegenden Fall einer Pflanzenschutzmittel-Spritzfolge auftreten, existiert derzeit kein entsprechendes Bewertungsschema.

Ein solches zu erarbeiten ist eine wichtige Aufgabe für die nahe Zukunft.

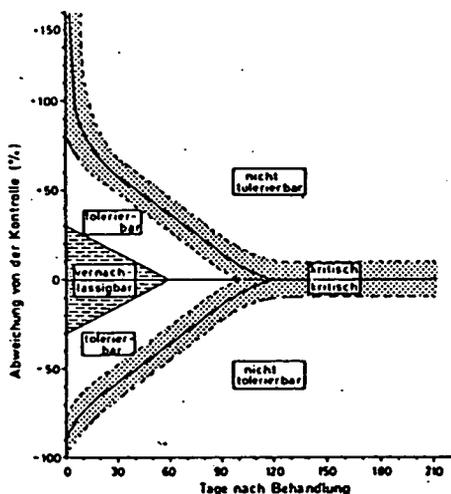


Abb.4: Modell zur Bewertung ökotoxikologischer Wirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Bodenmikroorganismen (Quelle: DOMSCH, K.H. et al., 1983)

4. Zusammenfassung-Summary

Es wurden die Nebeneffekte einer Pflanzenschutzmittel-Spritzfolge auf bodenbiologische Eigenschaften untersucht. Dabei ergaben sich sowohl bei der Dehydrogenaseaktivität als auch bei der mikrobiellen Biomasse Depressionen, die allerdings in den meisten Fällen nur kurzfristig waren. 40 Tage nach der letzten Pflanzenschutzmittelapplikation wurde das Niveau der Kontrollflächen wieder erreicht. Die zelluloseabbauenden Mikroorganismen zeigen ein gegenüber der beiden erstgenannten Parameter eigenständiges Verhalten, wobei Stimulationen und Depressionen sich sehr spontan abwechseln. Auch hier wird das Kontrollflächenniveau wieder erreicht und keine längerfristigen oder bleibenden Schäden festgestellt. Die Effekte geben keinen Grund zu großer Beunruhigung

The Effects of a Plant Protection System on some Soil Microbiological Parameters in Cereal Cropping

Sideeffects of a plant protection product-spraying sequence on some soil microbiological properties were investigated. Mostly there were short-dated depressions in the activities of dehydrogenase and the microbiological biomass. 40 days after the last application of plant protection products the activities have been come up to the level of control. The cellulose-decomposing microorganisms showed stimulations and depressions, alternating spontaneously. Just as before the activity level of control has been reached again and so no permanent damages were stated. These effects are no reason for disturbance.

5.Literatur

- ANDERSON, J.P.E. and DOMSCH, K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol.Biochem. 10, 215-221
- BEST, J.A. et al.(1972): Competitive adsorption of diquat, paraquat and Ca^{2+} on organic matter and exchange resins. Soil Sci. 114, 444-450
- BROWN, C.B. et al. (1977): Chemical detoxification of atrazine by dexton. Soil Sci.Soc.Amer.J. 41, 141-143
- DOMSCH, K.H. et al. (1983): An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. Res.Rev.86, 66-105
- DOMSCH, K.H. (1972): Einfluß von Pestiziden auf mikrobielle Prozesse und ökologische Beziehungen im Boden. Ber.Landw.50, 392-403
- KOZOVA, J. (1963): Mikrobiologische Cellulosezersetzung unter natürlichen Bodenverhältnissen. Zbl.Bakter.II, 116, 459-468
- NEARPASS, D.C. (1971): Adsorption interactions in soil between amitrole and s-triazines. Soil Sci.Soc.Amer.Proc. 35, 64-68
- SACHS, L. (1979): Statistische Methoden, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

THALMANN, A. (1967): Über die mikrobielle Aktivität und ihre Beziehung zu Fruchtbarkeitsmerkmalen einiger Böden unter besonderer Berücksichtigung der Dehydrogenaseaktivität. Dissertation Univ. Göttingen

Anschrift: DiplGeoökologe Evi Schuster
Universität Trier
Abt. Bodenkunde
Postfach 3825
D-5500 Trier

Bodenmikrobiologische Aktivitätsuntersuchungen in unterschiedlich bewirtschafteten Böden um Salzburg

von C. Siegenthaler

1. Einleitung

Durch landwirtschaftliche Bewirtschaftungsmassnahmen werden die Lebensbedingungen der Bodenmikroorganismen verändert, was sich auf die biologische Aktivität der Böden auswirkt (MÜLLER 1965, DOMSCH 1963). Während eines Jahres wurden an fünf verschiedenen bewirtschafteten Böden um Salzburg ausgewählte mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt. Zur besseren Vergleichbarkeit der Standorte wurden auch chemische und physikalische Kenndaten erfasst.

2. Material und Methoden

Die Proben stammten aus einem Laubmischwald (feuchter Eschen-Hainbuchenwald, Wa), einer organisch-biologisch bewirtschafteten Wiese (Kohldistel-Glatthaferwiese, Wi), einem organisch-biologisch bewirtschafteten Acker (AB), einem konventionell bewirtschafteten Acker (AK) und einem Gewächshaus (G). Sie wurden von Nov. 84 bis Okt. 85 zu Beginn jeden Monats aus den Oberböden (1 - 5 cm tief) gezogen. Die Eigenschaften der Böden sind in Tabelle 1 aufgezeigt.

Standort	Bodentyp	S	U	T	C _t	C/N	AOS	CaCO ₃	pH	PV	WK
		%	%	%	%		%	%		%	%
Wald	Braunerde	27	54	19	8,69	15,4	7,05	0,0	6,0	67	81
Wiese	Gley	30	58	12	8,75	14,0	7,90	20,6	7,0	69	95
Acker biol.	Gley	38	56	6	5,64	11,4	5,46	41,0	7,2	59	66
Acker konv.	Braunerde	24	61	15	6,43	13,3	5,78	7,9	7,1	59	58
Gewächshaus	Hortisol	30	52	18	9,70	14,6	8,66	2,9	7,0	67	52

S=Sand; U=Schluff; T=Ton; C_t aus Glühverlust; AOS=Humus aus nasser Oxidation; CaCO₃, Scheibler; pH 0,01 M-CaCl₂; PV= Porenvolumen; WK=Wasserkapazität bezogen auf Trockensubstanz

Tabelle 1: Eigenschaften der untersuchten Böden.

Bestimmt wurden die mikrobielle Biomasse (nach ANDERSON und DOMSCH 1978, verändert) und die CO₂-Entwicklung (nach ISERMEYER 1952, verändert). Die CO₂-Messung für die Biomasse erfolgte aus technischen Gründen mit der ISERMEYER-Methode. Nach den Ergebnissen aus der Mitarbeit in mehreren Enqueten (z.B. VDLUFA) ist diese Abänderung zulässig.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Biomasse

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 1 und 2 dargestellt.

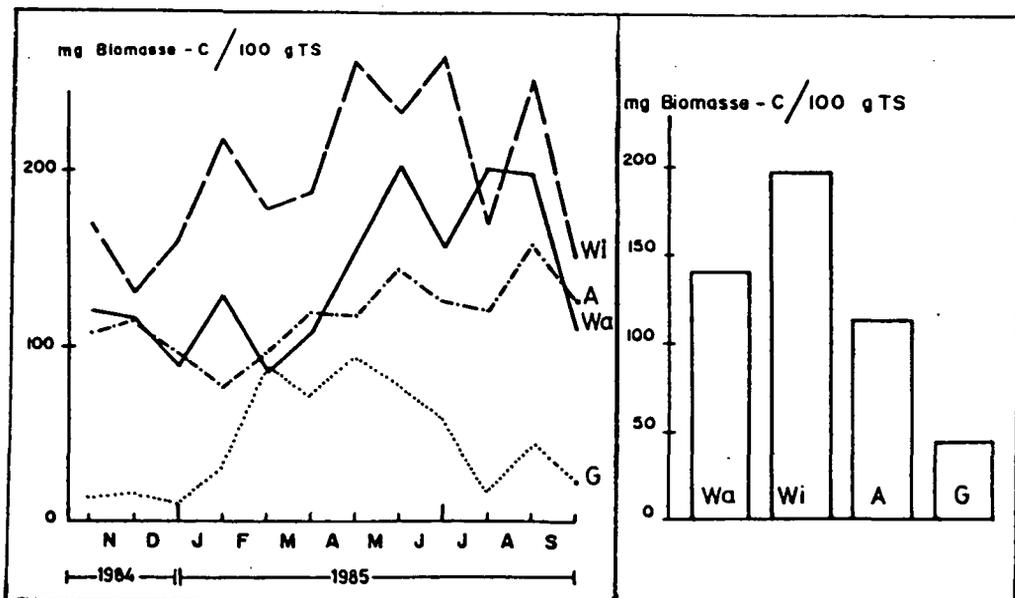


Abb. 1: Ergebnisse der Biomasseuntersuchung (A steht für den Mittelwert von AB und AK)

Abb. 2: Jahresmittelwerte der Biomasse

Die Biomassegehalte sind im Boden der Wiese am höchsten, es folgen Wald-, Acker- und Gewächshausboden. Ausser den Unterschieden zwischen Wald und Acker ist diese Reihenfolge statistisch gesichert (U-Test, $P < 1\%$, KÖHLER 1984). JENKINSON und POWLSON (1975) erhielten die gleiche Reihung, benutzten allerdings die Fumigationsmethode zur Biomassebestimmung. Die Unterschiede werden vor allem durch die Dichte des Wurzelsystems sowie durch die Menge und Qualität der anfallenden Pflanzenrückstände bestimmt.

Die Biomassewerte sind im Sommer am höchsten, da die Böden unter dem Einfluss des humiden Salzburger Klimas kaum austrocknen. Die jahreszeitlichen Schwankungen fallen jedoch nicht in allen Böden gleich aus. Die weitesten Amplituden besitzen der Wald und die Wiese, während die Äcker

relativ geringe Unterschiede aufweisen. Diese Reihenfolge ist wahrscheinlich ebenfalls von der unterschiedlichen Menge der Pflanzenrückstände geprägt.

3.2. CO₂-Entwicklung, 'Bodenatmung'

Wie die Abbildungen 3 und 4 zeigen, nehmen die CO₂-Entwicklungswerte gegenüber der Biomasse eine veränderte Reihenfolge ein, und zwar: Wiese > Acker > Wald. Das Gewächshaus kann nicht eingeordnet werden.

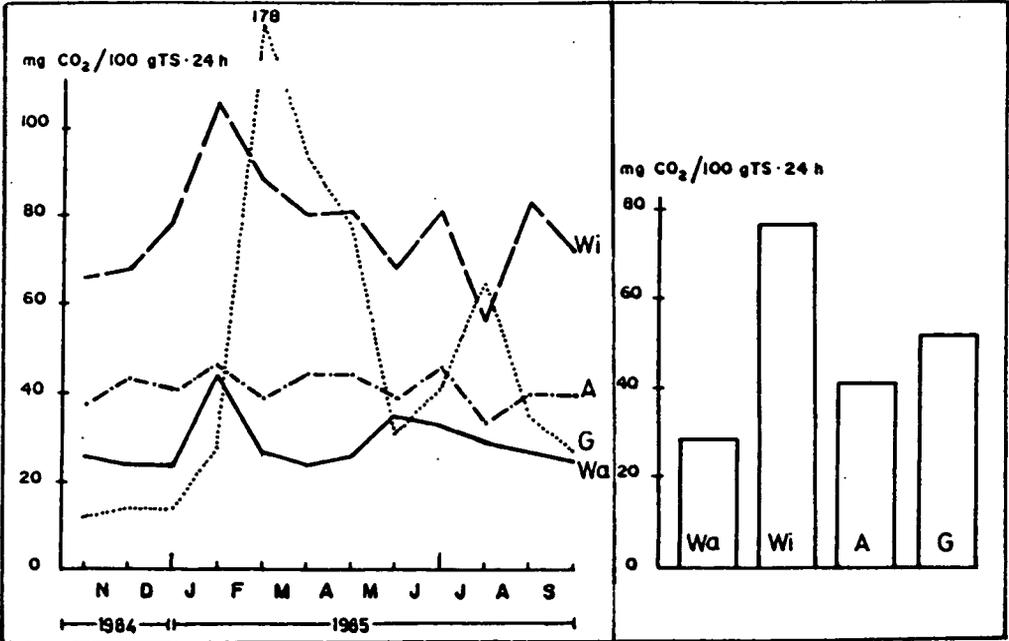


Abb. 3: Ergebnisse der CO₂-Entwicklung (A steht für den Mittelwert von AB und AK)

Abb. 4: Jahresmittelwerte der CO₂-Entwicklung

Die Stellung des Waldes am Schluss resultiert wahrscheinlich daraus, dass in den karbonathaltigen Böden von Wiese und Acker abiotisch freigesetztes CO₂ mitgemessen wird, während dies im karbonatfreien Waldboden entfällt (vgl. AHRENS und THALMANN 1971). Dafür spricht auch eine signifikante Korrelation zwischen der 'Bodenatmung' und dem Karbonatgehalt der Böden (siehe Tab. 2). Auf Grund dieser Tatsache sind die CO₂-Entwicklungswerte beim Vergleich von Böden mit verschiedenem Karbonatgehalt nur wenig aussagekräftig.

Bei der CO₂-Entwicklung tritt kein charakteristischer Jahresverlauf auf, was wahrscheinlich auf die im Vergleich zur Biomasseuntersuchung längere Inkubationszeit zurückzuführen ist. Die längere Versuchsdauer erlaubt eine bessere Anpassung der Mikroorganismen an die günstigen

Temperaturbedingungen während der Inkubation.

3.3. Gewächshaus

Der Gewächshausboden lässt sich nicht mit den Freilandböden vergleichen, da er eine weitgehend witterungsunabhängige Dynamik besitzt. Trotz eines sehr hohen Gehaltes an organischer Substanz, treten durchschnittlich niedrigere Aktivitätswerte auf als in den Ackerböden. Als Ursachen dafür kommen die für die Mikroorganismen ungünstigen Wasserbedingungen (Tropfbewässerung, wobei ein grosser Teil des Bodens austrocknet) und der regelmässige Biozideinsatz in Frage.

3.4. Vergleich zwischen biologisch- und konventionell bewirtschaftetem Acker

Die Ergebnisse zeigt Abbildung 5.

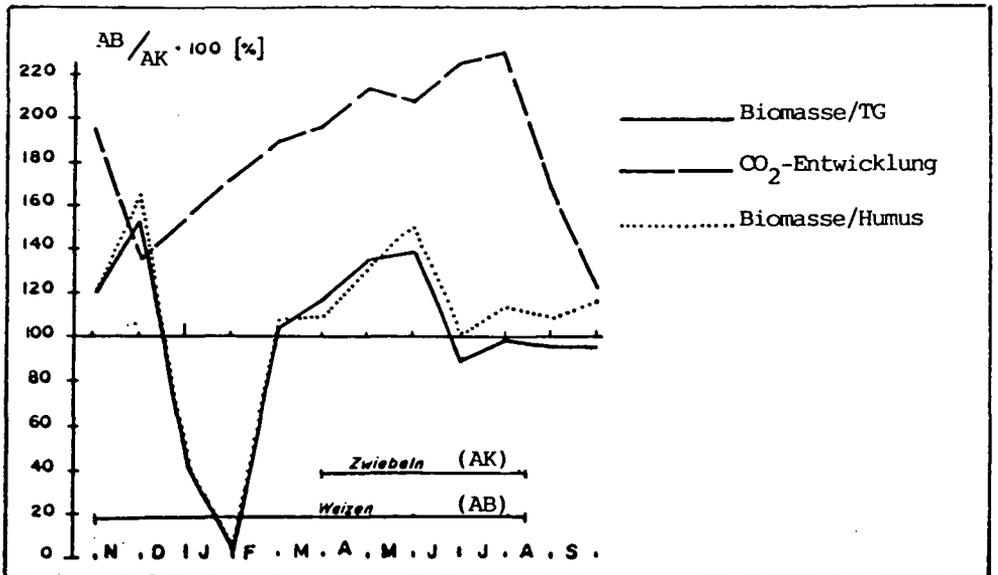


Abb. 5: Jahresverlauf des Quotienten $\frac{\text{biologisch bewirtschaft. Acker (AB)}}{\text{konventionell bew. Acker (AK)}}$ umgerechnet in Prozent. Werte über hundert Prozent entsprechen einer höheren Aktivität des biologisch bebauten Bodens. Die Werte von Januar und Februar des Versuchsjahres sind im Vergleich nicht berücksichtigt, da die extrem hohen Wassergehalte (150 % der Wasserkapazität) im biologischen Acker nicht von der Bewirtschaftung herrühren. Damit sind die Proben in diesem Zeitraum nicht vergleichbar.

Die organisch-biologisch bewirtschaftete Ackerfläche weist gegenüber der konventionell bewirtschafteten eine durchschnittlich 10 - 20 % höhere Biomasse auf. Statistisch gesicherte Unterschiede gibt es für die Biomasse bezogen auf Humus (AOS), nicht jedoch für die Biomasse

bezogen auf Trockensubstanz. Bei den CO₂-Entwicklungswerten treten noch deutlichere Unterschiede auf; sie machen im Mittel bis zu 80 % aus. Wegen der methodischen Schwäche (abiotische CO₂-Freisetzung sind diese Ergebnisse jedoch nicht so aussagekräftig wie die der Biomasse.

Die Biomasse ist im biologisch bebauten Acker vor allem während des Weizenanbaus höher; in der Zeit der Brache sind kaum Unterschiede festzustellen. Die höhere Aktivität im biologischen Boden wird durch die unterschiedliche Frucht, die bessere Bodenbedeckung und die höhere Durchwurzelung verursacht. Neben den verschiedenen Bewirtschaftungsweisen spielen eventuell auch Standortsunterschiede eine Rolle. Die gemessenen Unterschiede in der biologischen Aktivität entsprechen in ihrer Grössenordnung den Ergebnissen von DIETZ et al. (1985).

3.5. Korrelationen zu den chemisch-physikalischen Bodeneigenschaften

Die Biomasse und die 'Bodenatmung' zeigen signifikante Korrelationen zum Humusgehalt, zur Lagerungsdichte (= Raumbgewicht) und zum Wassergehalt (Tabelle 2):

		Biomasse/TG	CO ₂ -Entwicklung
n = 46	Gehalt an organischer Substanz	0,714	0,477
n = 46	Wassergehalt	0,672	0,724
n = 27	Lagerungsdichte	-0,694	-0,312 (n. s.)
n = 38	Bodentemperatur	0,417	n. s.
n = 18	CaCO ₃ -Gehalt	n. s.	0,485
n = 46: Proben W _a , W _i , AB, AK,	12 Probenahmen*	r ≥ 0,372; P < 1 %	
n = 27: Proben W _a , W _i , AB, AK, G und Unterbodenproben (ohne G)	3 Probenahmen	r ≥ 0,486; P < 1 %	
n = 38: Proben W _a , W _i , AB, AK	10 Probenahmen*	r ≥ 0,408; P < 1 %	
n = 18: Proben wie für n = 27	2 Probenahmen	r ≥ 0,468; P < 5 %	
* Probe AB im Jan. und Febr. wegen nicht vergleichbaren Verhältnissen weggelassen			

Tab. 2: Korrelationen zu den chemisch-physikalischen Bodeneigenschaften

Eine weitere Korrelation zwischen Biomasse und Bodentemperatur bei der Probenahme spricht dafür, dass mit der Biomasseuntersuchung die aktuellen Verhältnisse gut wiedergegeben werden. Die CO₂-Entwicklung ist von der Bodentemperatur unabhängig (wahrscheinlich wegen der längeren Inkubationszeit, vgl. Kap. 3.2.) und ergibt einen eher potentiellen Wert der biologischen Aktivität.

Die angeführten Korrelationen widerspiegeln die gegenseitige Beeinflussung der Mikroorganismen und der chemisch-physikalischen Bodeneigenschaften. Da die biologische Aktivität und die abiotischen Faktoren einen massgebenden Einfluss auf die Fruchtbarkeit des Bodens und somit auch eine Bedeutung für die Landwirtschaft haben, scheint es empfehlenswert, biologische Aktivitätsmessungen zur Indikation des Allgemeinzustandes eines Bodens heranzuziehen (vgl. BECK 1984).

4. Zusammenfassung - Summary

Ein Jahr lang wurden in fünf unterschiedlich bewirtschafteten Böden um Salzburg mikrobielle Biomasse- und 'Bodenatmungs'bestimmungen durchgeführt. Je nach Vegetation und Bewirtschaftung ergaben sich deutliche Unterschiede; so konnte für die Biomasse die Reihenfolge Wiese > Wald > Acker > (Gewächshaus) festgestellt werden. Die CO₂-Ergebnisse waren wegen eines methodischen Fehlers (abiotische CO₂-Freisetzung) weniger vertrauenswürdig. Im Vergleich zwischen einem organisch-biologisch- und einem konventionell bewirtschafteten Acker zeigte der biologisch bebaute eine leicht höhere mikrobielle Aktivität. Durch verschiedene Korrelationsberechnungen wurde deutlich, dass die Biomasse ein sehr aktuelles Bild der bodenmikrobiologischen Verhältnisse gibt. Die CO₂-Entwicklung widerspiegelt dagegen eher die potentiellen Verhältnisse eines Bodens.

Measurements of Soil Microbial Activity in Differently Cultivated Soils around Salzburg

During one year microbial biomass and CO₂-evolution were measured in soil samples from five different sites. According to different vegetation and management the following order was found for biomass contents: meadow > deciduous forest > field > (greenhouse). The results of the CO₂-evolution were less confident because of the possibility of abiotic CO₂-release. The comparison between an organic and a conventional farmed field showed a slightly higher microbial activity in the organic farmed plot. Several correlations made clear that biomass measurements correspond well to the present day conditions, while CO₂-evolution rather tends to reproduce a potential of the biological activity.

5. Literatur

- AHRENS, E., THALMANN, A. (1971): Zur Frage der abiotischen CO₂-Abspaltung aus karbonathaltigen Böden. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 127, 143-157
- ANDERSON, J.P.E., DOMSCH, K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol. Biochem. 10, 215-221
- BECK, Th. (1984): Mikrobiologische und biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden. I. Die Ermittlung der Bodenmikrobiologischen Kennzahl. II. Beziehungen zum Humusgehalt. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 147, 456-475
- DIETZ, Th., BORCHERT, H., BECK, Th. (1985): Bodenphysikalische, -chemische und -biologische Vergleichsuntersuchungen auf konventionell und alternativ bewirtschafteten Betriebsschlägen. VDLUFA-Schriftenreihe. 14, 58-59
- DOMSCH, K.H. (1963): Bodenatmung, Sammelbericht über Methoden und Ergebnisse. Zbl. Bakt. Abt. II. 116, 33-78
- ISERMEYER, H. (1952): Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 56, 26-38
- JENKINSON, D.S., POWLSON, D.S. (1976): The effects of biocidical treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. Soil Biol. Biochem. 8, 209-213
- KÖHLER, W., SCHACHTEL, G., VOLESKE, P. (1984): Biometrie, Einführung in die Statistik für Biologen und Agrarwissenschaftler. Springer Berlin Heidelberg New York Tokio, pp 255
- MÜLLER, G. (1965): Bodenbiologie. G. Fischer, Jena, pp 889

Anschrift: Mag. Christoph Siegenthaler
Institut für Botanik
Freisaalweg 16
5020 Salzburg

Use of Nitrate Reductase as a Simple and Sensitive Nitrate Determination Assay

von K. V l a s s a k and L. M. J. V e r s t r a e t e n

1. Introduction

A number of chemical methods for determination of nitrate have been described in the literature. None of these have been very satisfactory for accurate determination of nitrate in water, soil and plant extracts because of the large amounts of interfering substances these extracts may contain. Recently there has been a tremendous increase in investigations which require accurate measurements of nitrate in plant material and animal feed.

In this study it has been shown that nitrate reductase from a *E. coli* strain can be easily used for accurate determination of nitrate.

2. Method (Kücke and Przemeck, 1984)

Solutions : The *E. coli* strain is stored on nutrient agar slants. The culture procedure is carried out according to the modified medium from Lester and DeMoss (1971). The following ingredients are used per litre : 40 ml of solution 1, 1 mol $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ and 189 mmol $(NH_4)_2SO_4$; 40 ml of solution 2, 10.2 mmol $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 34 mmol Tri-Na-citrate $\cdot 2H_2O$ and 64 μ mol $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$; 10 ml of solution 3, 10^{-3} mol $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 0.1 ml of solution 4, 10^{-3} mol Na_2SeO_3 ; 150 ml of solution 5, 10 % KNO_3 ; 100 ml of solution 6, 0.65 g of casein hydrolysate in 100 ml H_2O and 2.7 g of nutrient broth (Difco) in 100 ml H_2O ; and solution 7, 66 ml/l of 30 % d-glucose. One litre phosphate buffer is prepared from 0.1 mol pH 7.2 from 0.1 mol K_2HPO_4 and 0.1 mol KH_2PO_4 . Formiate is prepared 1.0 mol in phosphate buffer (pH 7.2) and 0.1 mol in phosphate buffer. An oxygen absorption for N_2 gas is provided according to Strauss and Nickerson (1961).

Bacterial culture : 200 ml of 0.8 % nutrient-broth solution is autoclaved and inoculated with the E. coli strain grown on nutrient agar slants and incubated for 16 h at 37 °C. A 5 litre flask is used as culture recipient and is autoclaved with the mentioned amounts of solution 1 to 6 after addition of antifoam. Solution 7 is autoclaved separately. Four litre of the nutrient solution is treated with N₂ gas at least 30 minutes before inoculation. The nitrate reductase activity of the culture is measured 16 h after inoculation and incubation at 30 °C.

Preparation of stock solution : The bacterial culture is cooled in ice water and centrifuged during 5 minutes at 10000 g at 0 °C. The cells are washed at least two times with cooled 0.1 M phosphate buffer. The cells are brought in a stock flask and during 10 minutes treated with N₂ gas. The solution is adjusted until a 0.1 M formiate solution with 1 M formiate. The flask is closed and stored at 6 °C.

Analytical system : A Chemlab auto-analyser is used to determine nitrate concentrations. The flow diagram for nitrate is given in Fig. 1.

Sample preparation : The sample preparation is the same as for any other automatic system. No purification is necessary because of the use of a dialysis unit.

3. Results and discussions

The method is adaptable to a wide range of nitrate concentrations by modifying slightly the auto-analyser system. The relationship between nitrate concentration in standard solutions and the absorbance recorded is linear over a wide range of nitrate concentrations.

Results of analysis of lettuce and soil samples by means of distillation (Bremner and Keeney (1965)) demonstrate a very good correlation between both methods for a wide range of samples (Fig. 2). Also comparisons between the enzymatic method and the Cu-Cd-reduction method and the HPLC method

for lettuce samples indicate a very good correlation as shown in Table 1. The average value of deviation percent is less than 5 % in both the methods X vs Y (3.94) and X vs Z (3.33).

Experiments with addition of nitrate to extracts of plant samples show that the recovery of nitrate is excellent as given in Table 2.

The reproducibility of replicate samples is tested and the results are given in Table 3. Very low variation coefficients are obtained indicating that the method is very good reproducible. Because of its specificity and quantitative conversion of nitrates to nitrite, no side-effects of other reducing compounds in the extracts have been observed.

4. Summary

A large number of samples has been investigated for NO_3 concentration determinations using an enzymatic method and compared with other methods. The results are discussed. The method is rapid, very sensitive (0.01 μg), accurate and specific. The method is adaptable to very wide ranges of nitrate concentrations. No purification of plant or soil extracts is necessary.

The method mentioned allows accurate determination of nitrate in water, plant and soil extracts. The reduction of nitrate to nitrite by the enzyme is specific, quantitative and extremely rapid. The method is simple and easy to handle.

5. Acknowledgement

This study is supported by IWONL (Instituut voor Aanmoediging van Wetenschappelijk Onderzoek in Nijverheid en Landbouw), grant 4198A.

The authors are gratefull to Dr. H. Beernaert from I.H.E. Brussels, for his help and advise and for the use of the Cu-Cd and HPLC equipment.

6. Literature

McNAMARA, A.L., MEEKER, G.B., SHAW, P.D. and HAGEMAN, R.H. (1971) : J. Agr. Food Chem. 19, 2, 229

KUCKE, M., PRZEMECK, E. (1984) : VDLUFA 19.04.84

LESTER, R.L., DEMOSS, J.A. (1971) : J. Bacterial. 105, 1006

STRAUSS, G., NICKERSON, W.J. (1961) : J. Am. Chem. Soc. 83, 3187-3191

BREMNER, J.M., KEENEY, D.R. (1965) : Anal. Chim. Acta 32, 485.

Address: K.Vlassak and L.M.J. Verstraeten
Laboratory of Soil Fertility and Soil Biology
K.U.Leuven, Kard.Mercierlaan 92
B-3030 Leuven, Belgium

TABLE 1 : The enzymatic method (X) vs Cu-Cd reduction method (Y) and the HPLC method (Z) for NO₃ measurements in lettuce. NO₃ in mg kg⁻¹.

X	Y	Z	Deviation in %	
			X vs Y	X vs Z
3681	3807	4075	3,42	10,7
4326	4383	4666	1,32	7,86
4179	4204	4489	0,6	7,42
4287	4245	4440	0,97	3,57
4351	4195	4362	-3,58	0,25
4178	4066	4272	-2,67	2,25
4230	4121	4312	-2,57	1,94
4253	3961	4164	-6,86	-2,08
4672	4458	4566	-4,57	-2,26
4338	4102	4030	-5,43	-7,09
3796	3647	3676	-3,92	-3,15
3975	3727	3847	-6,23	-3,21
4244	4056	4131	-4,42	-2,65
4278	4221	4287	-1,32	0,21
4000	3917	4018	-2,07	0,45
4034	3880	4080	-3,81	1,14
3381	3142	3472	-7,06	2,69
4733	4433	4664	-6,33	-1,45
4166	3926	4050	-5,75	-2,77
4380	4114	4225	-6,06	-3,53

Mean value of 3 replicates.

TABLE 2 : Recovery of nitrate after addition to extract of lettuce

Added NO ₃ mg/l	Recovery lettuce extract + NO ₃ mg NO ₃ l ⁻¹	%
100	103,11	103
1000	1018,8	102
5000	5361,9	107

TABLE 3 : Reproducibility of 10 replicate samples (lettuce)

Sample	NO ₃ mg kg ⁻¹										Mean	CV
1	3681	3695	3723	3695	3681	3695	3653	3681	3681	3667	3685 ± 19	0,52
2	3707	3693	3734	3734	3693	3734	3693	3720	3720	3693	3712 ± 18	0,48
3	3662	3648	3662	3607	3675	3662	3703	3662	3648	3607	3654 ± 29	0.70
4	3754	3767	3742	3767	3767	3754	3754	3779	3804	3817	3771 ± 24	0.64

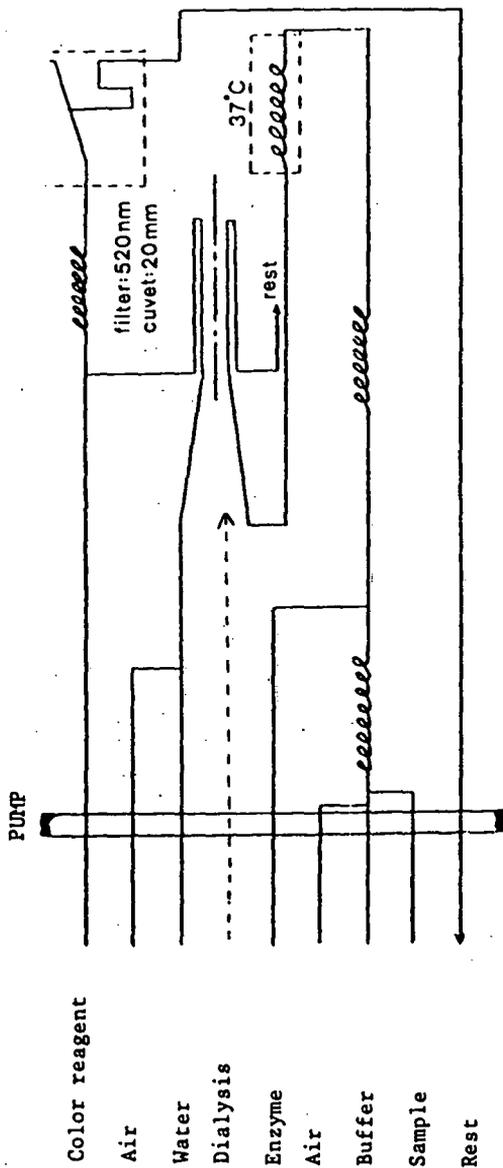


FIG. 1 : The flow diagram for automatic nitrate measurements

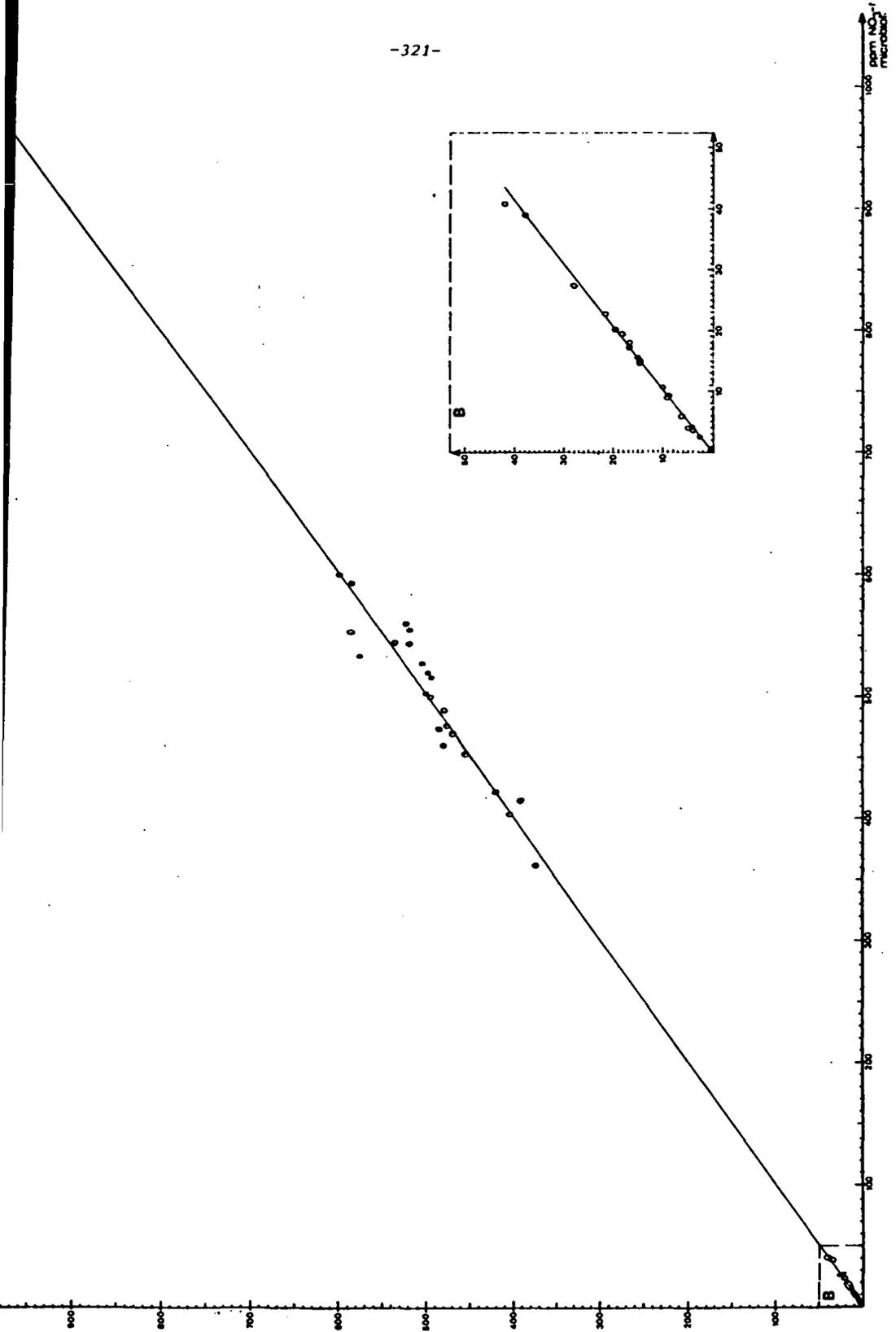


FIG. 2A : Relation between enzymatic measurement and the distillation for different $\text{NO}_3\text{-N}$ concentrations.

FIG. 2B : Enlargement for $\text{NO}_3\text{-N}$ concentrations below 50 ppm $\text{NO}_3\text{-N}$.

Thermophile Actinomyceten bei der Kompostierung von Hausmüll
von K. v o n d e r E m d e

1. Einleitung

Der intensive Abbau organischen Materials führt bei einer im Vergleich zum Wärmeverlust höheren Wärmeproduktion zu einer Erwärmung des Substrats. Unter aeroben sowie geeigneten Nährstoffverhältnissen können Temperaturen von 80°C (teilweise sogar Selbstentzündung) auftreten. Die beteiligte Mikroflora ergibt sich dabei aus dem Wechselspiel von Temperatur, Nährstoffangebot und Interaktion.

Das Auftreten der langsam wachsenden thermophilen Actinomyceten wurde in vielen Substraten erst mit zunehmender Dauer der Thermophase festgestellt. Sie sind als Abbau-spezialisten hauptsächlich am Abbau schwer verwertbarer Substrate, wie z.B. Zellulose, beteiligt.

Eine bereits bei vielen selbsterhitzten Substraten festgestellte charakteristische Actinomycetenflora wurde jedoch bei der Kompostierung von Hausmüll bis jetzt noch nicht genauer untersucht.

Folgende Faktoren wurden in der folgenden Untersuchung variiert, um ihren Einfluß sichtbar zu machen:

-) Herkunft des Rohmülls
-) Rottedauer
-) Temperatur

2. Methoden

Zur Isolierung der thermophilen Actinomyceten wurde $1/2$ conc. Trypticase Soy Agar (BBL) + 50mg/l Actidion bei 3% Agargehalt verwendet. Bebrütet wurde 3 Tage bei 55°C.

Die Labormiete bestand aus isolierten 220 l Müllbehältern (ÖNORM S 2014), gefüllt mit ca. 80 kg auf 50% H₂O befeuchteten Rohmüll. Zur Einhaltung der Maximaltemperaturen wurden 3 Kühlschlangen in die Behälter hineingestellt. Eine Druckbelüftung diente zur Wahrung aerober Verhältnisse.

Bei den Glasversuchen wurden 350g Rohmüll (50% H₂O) in Netze gegeben und in 2 l Bechergläser hineingestellt. In feuchter Atmosphäre, abgedeckt mit Watte, wurde sie bei der entsprechenden Temperatur 3 Tage lang bebrütet.

3. Material

Das des Rotteversuches in der Labormiete war Sommerroh-
müll (>8mm, <50mm) aus der Kompostierungsanlage
Allerheiligen/Stmk.

Die Glasversuche wurden mit Winterroh-
müll der Deponie Graz (<35mm) durchgeführt.

4. Ergebnisse

Abb.1 zeigt die Entwicklung thermophiler Actinomyceten bei zwei verschiedenen Maximaltemperaturen im Rotteverlauf. Der Einfluß der Temperatur wird bereits am 9. Tag stark sichtbar. Da die Wachstumsgrenze thermophiler Actinomyceten (max. 64°C) bei B in 70% der Zeit überschritten war (Abb.3), kommt es zu einer Verzögerung gegenüber A. Mit abnehmender Temperatur zwischen dem 9.-15.Tag wird eine starke Vermehrung sichtbar. Die Grenze der Thermo- und Mesophase (zw. 45-50°C) wird bei B zwischen dem 22.-36.Tag unterschritten, was eine deutliche Abnahme der Werte zur Folge hat. Ähnliche Zusammenhänge lassen sich auch bei A erkennen. Da die Temperatur bereits in den 1.9 Tagen um 50°C liegt (Abb.2), ist eine sofortige Zunahme möglich.

Abb.1 Anzahl und Zusammensetzung der thermophilen Actinomyceten während des Rottevorganges (Temperaturverlauf Abb.2,3)

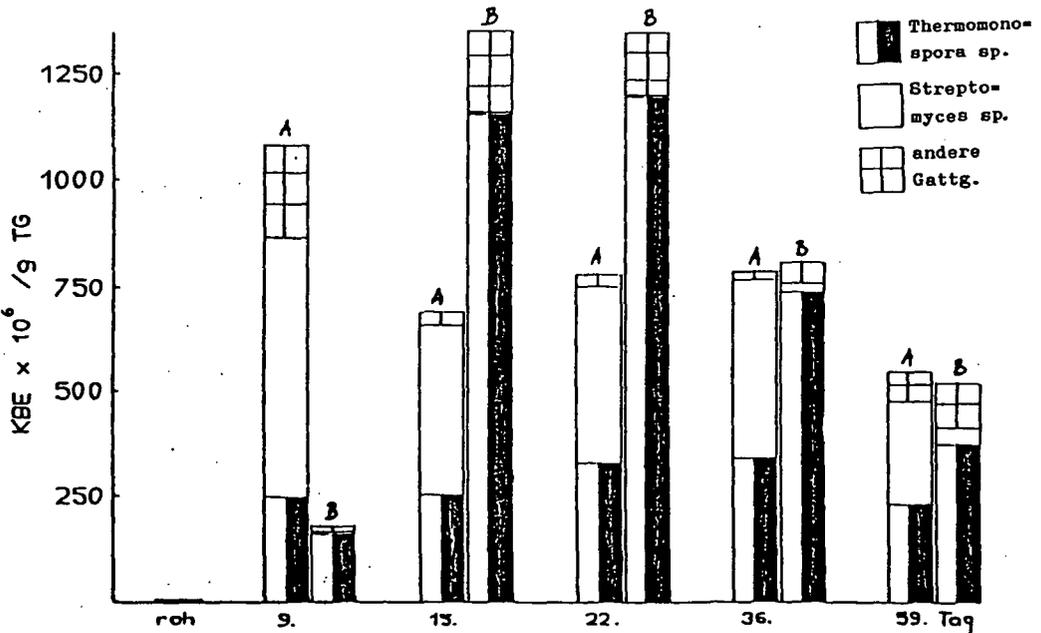


Abb.2 Temperaturverlauf A

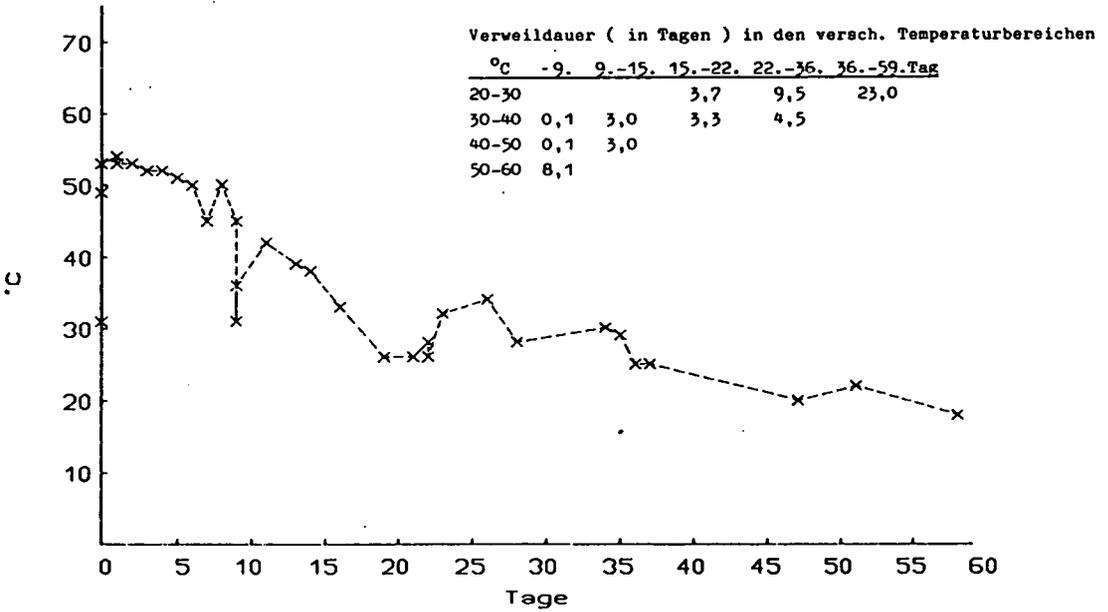
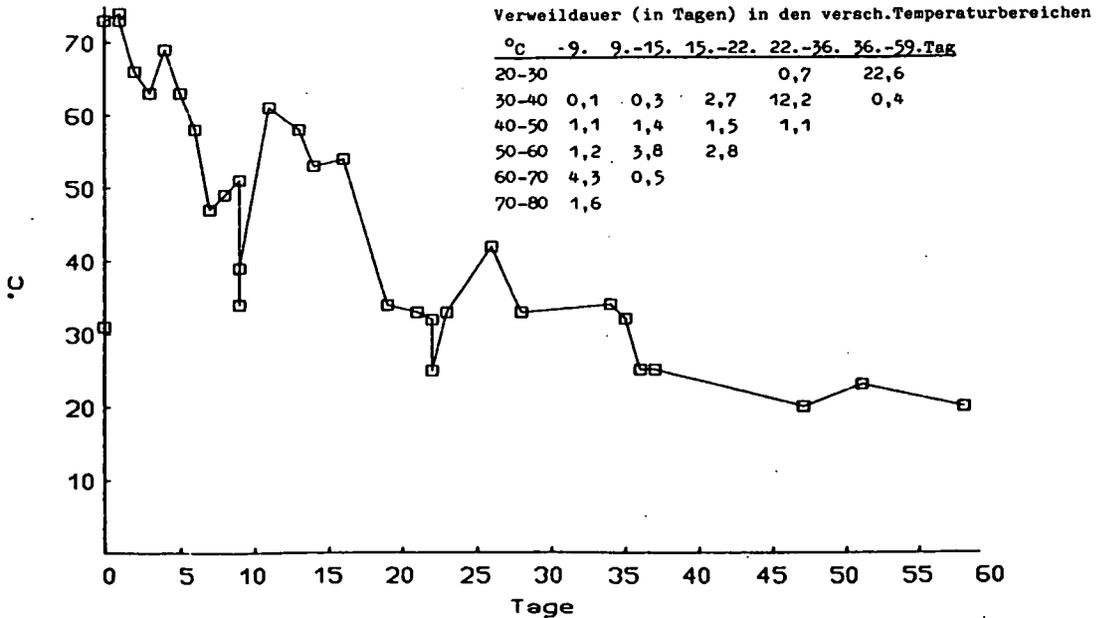
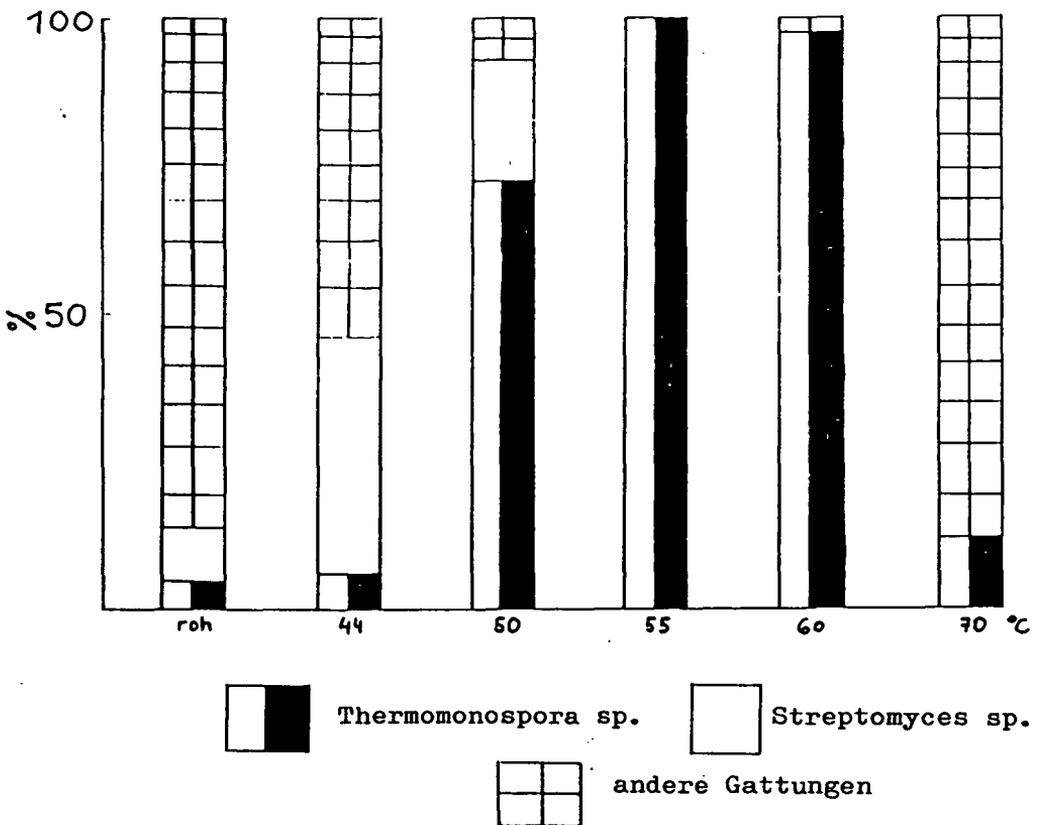


Abb.3 Temperaturverlauf B



Zur isolierten Erfassung des Einflußfaktors Temperatur sowie um einen Vergleich mit einem anderen Rohmaterial zu erhalten, wurden die in Abb.4 angegebenen Glasversuche durchgeführt. Hier wird eine ähnliche Gattungsverteilung sichtbar, die sich auch mit zunehmender Temperatur verändert. Die Änderung vollzieht sich dabei hauptsächlich im Bereich zwischen 50-55°C. Der in manchen Proben hohe Anteil von anderen Gattungen soll im folgenden nicht näher besprochen werden, da sie u.a. auch methodisch bedingt sind.

Abb.4 Prozentuelle Verteilung der Gattungen nach 3 tägiger Bebrütung im Brutschrank bei den angegebenen Temperaturen



5. Diskussion

A) Einfluß des Ausgangsmaterials

In den beiden verwendeten Materialien konnte trotz unterschiedlicher Herkunft und Jahreszeit kein prinzipieller Unterschied in der Zusammensetzung festgestellt werden. Es tritt zwar im Glasversuch ein höherer Anteil von *Thermomonospora sp.* ^{auf}, dabei muß jedoch der Einfluß unterschiedlicher Bebrütungszeit und Versuchsbedingung in Betracht gezogen werden. Die beim Rottedurchgang B und in den 55-60°C Proben dominierenden *Thermomonospora sp.* (hauptsächlich *Thermomonospora fusca*) sind nach STUTZENBERGER et al. (1970) für den Zelluloseabbau verantwortlich. Eine Dominanz von *Thermomonospora sp.* konnte nach verschiedenen Literaturangaben sonst nur bei Pferdemit (der, um als Pilzsubstrat verwendet zu werden, kompostiert wurde) festgestellt werden (LACEY, 1973). Welche Faktoren jedoch die Entwicklung einer solch spezifischen Actinomycetenflora beeinflussen, wurde jedoch noch kaum für ein Substrat untersucht. Da auch thermophile *Streptomyces sp.* zellolytische Fähigkeiten besitzen (STANEK, 1972), kann möglicherweise der Zellulosegehalt von 35-50% beim Hausmüll (deBERTOLDI et al., 1983) diese mitbeeinflussen.

B) Veränderungen während des Rotteverlaufes

Im Verlauf der Rotte treten kaum größere Änderungen in der Zusammensetzung auf. Da sich Kolonie Bildende Einheiten (KBE) aus Sporen sowie Myzelfragmenten ergeben, kann die Frage der Aktivität nur sehr schwer beantwortet werden. Anzunehmen ist, daß die starke Zunahme bei A(1.-9.T.) und B(9.-15.T.) mit der Sporulierung des Myzels zusammenhängt. Da auch im Substrat inaktive Sporen auf den Isolierungsplatten KBE bilden, kann ein Ende der aktiven Phase bei Vergleichswerten nur durch ein Absinken der Werte bedingt durch das Absterben des Myzels vermutet werden.

C) Temperatureinfluß

Deutliche Änderungen des Anteils verschiedener Gattungen ergeben sich hingegen bei den verschiedenen Temperaturen. Bei den Glasversuchen ist der kritische Bereich zwischen 50-55°C, der zu einer starken Reduktion des *Streptomyces sp.*

Anteils führt. Ein ähnlicher Temperaturbereich läßt sich auch auf den Rotteversuch übertragen. Bei A ist mit Temperaturen von 53-50°C (1.-9.T.) Streptomyces sp. stark vertreten, während in B mit Temperaturen zwischen 55-60°C (9.-15.T.) überwiegend Thermomonospora sp. auftritt. Diese sichtbare Änderung der Zusammensetzung ergibt sich möglicherweise aus unterschiedlichen Temperaturoptima. Für thermophile Streptomyces sp. (ihr systematischer Stand ist noch ungeklärt) wird ein Temperaturbereich von 30-55°C angegeben (TENDLER et al., 1961). Die dominierenden Thermomonospora fusca wachsen hingegen zwischen 35-60°C (McCARTHY et al., 1984). Bei einem Vergleich der Absolutwerte muß jedoch beachtet werden, daß Streptomyces sp. mit seinen Sporenketten gegenüber den Einzelsporenbildenden Thermomonospora mehr KBE bilden kann ohne im vergleichbaren Ausmaß aktiv sein zu müssen. Diese erhöhte Sporenbildung bietet jedoch auch eine Erklärungsmöglichkeit, warum Streptomyces sp. in Bereichen, in denen beide Organismen wachsen können, vermehrt auftreten. Neben der niedrigeren Temperaturgrenze bietet sich ihnen so die Möglichkeit, innerhalb kurzer Zeit das Substrat mit einer Vielzahl von KBE zu bedecken.

Aber auch der Zusammenhang Temperatur - max. Werte der KBE wird deutlich. Bei den Glasversuchen konnten die höchsten Werte nach 3 tägiger Bebrütung bei 55°C festgestellt werden. Die Übertragung dieses Wertes als Erklärung für die zwischen A und B auftretenden Differenzen bei den Maximalwerten ist möglich.

6. Zusammenfassung - Summary

Innerhalb der vom Substrat vorgegebenen Grenzen erscheint der Faktor Temperatur als Regelgröße sowohl der Abundanz als auch der Gattungsverteilung von thermophilen Actinomyceten. Bei Maximaltemperaturen unter 53°C konnte bei der Rotte ein erhöhter Anteil Streptomyces sp. festgestellt werden. Bei Maximaltemperaturen größer 55°C dominierten Thermomonospora sp. Differenzen in der Zusammensetzung der Gattungen zwischen den beiden Materialien konnten nicht festgestellt werden

Thermophilic actinomycetes in composting of municipal refuse

The temperature regulates within the possibilities given by the substrate the abundance as well as the distribution of thermophilic actinomycetes genera. The pile with maximum temperature $< 53^{\circ}\text{C}$ had a higher degree of *Streptomyces* sp.. The pile with maximum temperature $> 55^{\circ}\text{C}$ possessed mainly *Thermomonospora fusca*. The comparison of two different raw materials showed no differences in the distribution of genera.

7. Literatur

- de BERTOLDI, M., VALLINI, G., PERA, A. (1983): The biology of composting. *Waste Management and Research* 1, 157-176
- LACEY, J. (1973): Actinomycetes in soils, composts and fodders. in: *Actinomycetales*, eds. SYKES, G., SKINNER, F., A., p 231-251
- McCARTHY, A., J., CROSS, T. (1984): A taxonomic study on *Thermomonospora*. *J. gen. Microb.* 130, 5-25
- STANEK, M. (1972): Microorganisms inhabiting mushroom compost during fermentation. *Mushroom Science* 8, 797-811
- STUTZENBERGER, F., KAUFMAN, A., J., LOSSIN, R., D. (1970): Cellolytic activity in municipal solid waste composting. *Can. J. Microb.* 16, 553-560
- TENDLER, M., D., BURKHOLDER, P., R. (1961): Studies on the thermophilic actinomycetes. *Appl. Microb.* 9, 394-399

Anschrift: Karin von der Emde
Bennogasse 8/19
1080 Wien

Cellulase-Xylanase- und Saccharaseaktivitäten einiger agrarischer
Böden

von W. von M e r s i und F. S c h i n n e r

1. Einleitung

In den vergangenen Jahren erlangten bodenbiologische Untersuchungsmethoden zunehmende Bedeutung. Grundsätzlich stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung: die Qualifizierung und Quantifizierung der Bodenorganismen und/oder die Messung derer Stoffwechselleistungen (Bodenatmung und Enzymaktivitäten).

Im Kohlenstoffkreislauf von Ökosystemen spielen β -Glucosidasen zum Abbau der komplexen Polymere Zellulose und Xylan eine besondere Rolle. Die Bestimmung dieser Enzymaktivitäten war das Ziel verschiedener Untersuchungen an landwirtschaftlichen, forstlichen und alpinen Böden. (Schinner und Hofmann, 1978, Schinner et al., 1980, Mitterer et al., 1981, Schinner, 1982).

In vorliegender Arbeit wurden Cellulase, Xylanase- und Saccharaseaktivitäten an unterschiedlichen Bodentypen untersucht. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die Durchführung eines Lagerungsversuches bei 20°C, 4°C und - 28°C.

2. Material und Methode

Probenvorbereitung

Sämtliche Bodenproben wurden im Oktober 1985 als Mischprobe entnommen und bis zur Bearbeitung im Kühlschrank bei + 4°C gelagert. Kurz vor den enzymatischen Untersuchungen wurden die Proben bei 20°C luftgetrocknet und auf 1 mm gesiebt. Der Lagerungsversuch wurde zusätzlich mit naturfeuchtem Boden ausgeführt.

Analysemethode

Bestimmung der Cellulase, Xylanase und Saccharase (v.Mersi, 1986).

3. Ergebnisse und Diskussion

In vorliegender Arbeit wurden die Auswirkungen der Lagerung auf die Cellulase-Aktivität von zwei Bodenarten untersucht. Um dies festzustellen, wurde während eines Monats alle 6 Tage die Aktivität gemessen.

Das zweite Ziel dieser Arbeit war die Beurteilung der Wechselbeziehung zwischen Cellulase-, Xylanase- und Saccharase-Aktivitäten mit einigen Eigenschaften und Bestandteilen von Böden.

Für den Lagerungsversuch wurde eine reife Komposterde aus Gartenabfällen und ein kalkreicher Ackerboden (Gley) herangezogen.

Trockene Kompost- und Ackerproben veränderten ihre Aktivität während einer Lagerung über 31 Tage unwesentlich. In reifer Komposterde kommt es bei + 20°C zu einem Anstieg um 5 %. Bei + 4°C sinkt die Aktivität in reifer Komposterde nur unmerklich (5,7 %). Bei - 28°C steigt sie geringfügig (9,7 %), (Abb. 1).

Ähnlich geringe Aktivitätsunterschiede ergaben sich bei der Messung der Ackerproben, während der 31 Tage. Um 1,6 % stiegen die Werte bei + 20°C, um 7,6 % bei + 4°C und um 2 % bei - 28°C (Abb. 2). Eine Lagerung bei + 20°C erwies sich am sinnvollsten, da die Aktivität vom Ausgangswert nur maximal 5 % ansteigt.

Die Lagerbarkeit der Proben deutet auf eine gute Immobilisierung der Enzyme an Bodenkolloiden hin.

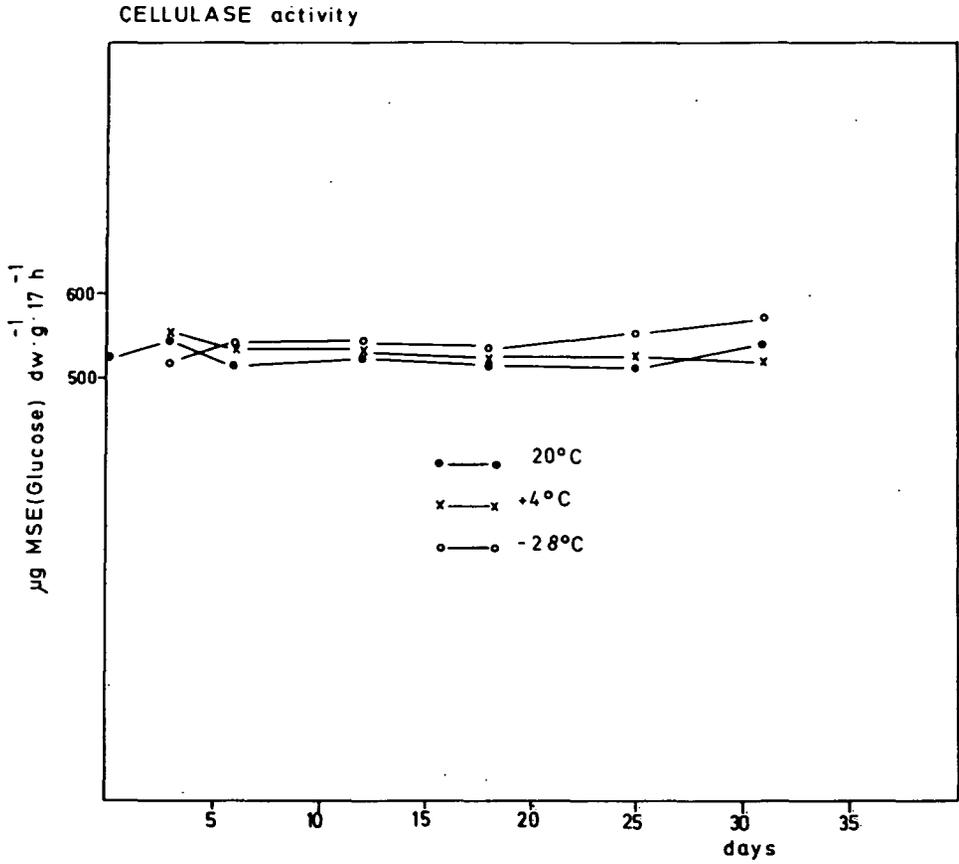


Abb. 1: Cellulaseaktivität einer luftgetrockneten Kompost-
erde während der Lagerung bei + 20°C, + 4°C und
bei - 28°C über 31 Tage.

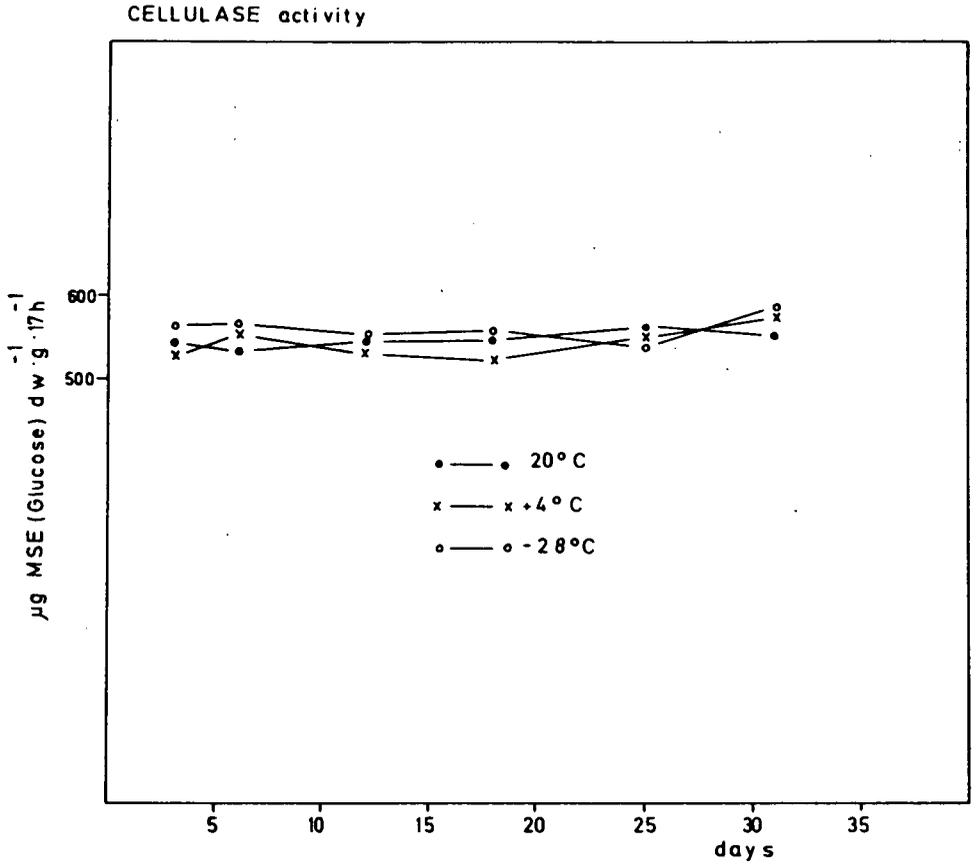
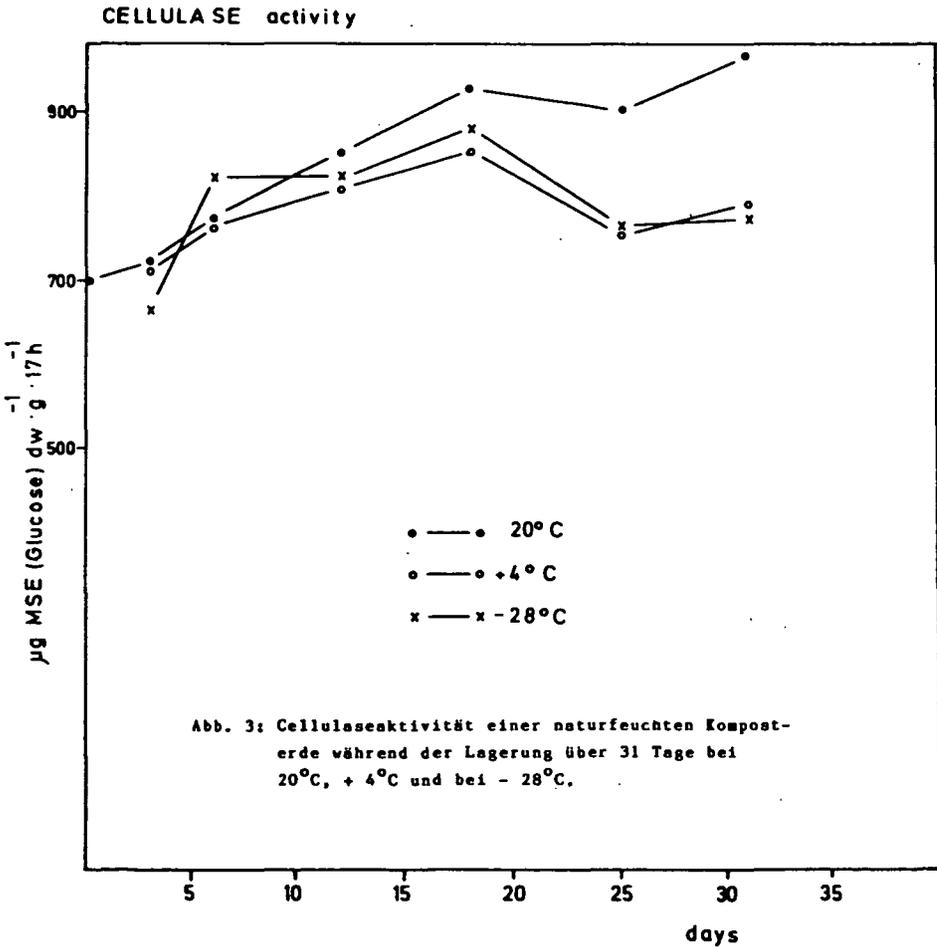


Abb. 2: Cellulaseaktivität eines luftgetrockneten Ackerbodenmaterials während der Lagerung über 31 Tage bei + 20°C, + 4°C und bei - 28°C.

Wurden Böden in naturfeuchtem Zustand gelagert, so stieg die Cellulase-Aktivität in den ersten 18 Tagen der Lagerung bei + 20°C, + 4°C und - 28°C unterschiedlich stark an. Dies bedeutet in reifer Komposterde bei + 20°C und + 4°C einen Anstieg um 25 %, bei - 28°C um 16 % (Abb. 3). Nach dieser Zeit war ein deutliches Absinken feststellbar.



Beim naturfeuchten Ackerboden war ebenfalls bis zu 18 Tagen eine Tendenz der Zunahme der Aktivität zu erkennen, die sich nach 31 Tagen verringerte (Abb. 4). Die prozentual stärkste Zunahme ergab sich bei + 20°C (19 %), die geringste bei + 4°C (5 %).

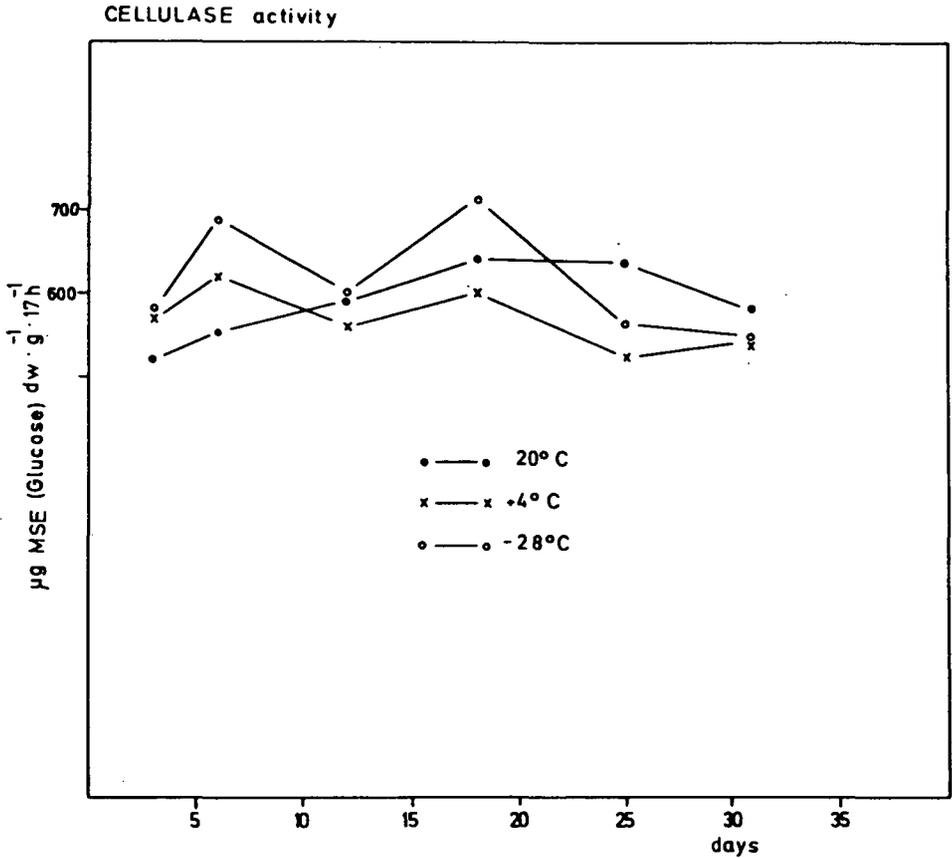


Abb. 4: Cellulaseaktivität eines naturfeuchten Ackerbodens während der Lagerung über 31 Tage bei + 20°C, + 4°C und bei - 28°C.

Dies deutet bei beiden Bodenarten auf eine verstärkte Vermehrung der Mikroorganismenflora während der Aufbewahrung hin. Eine Lagerung im naturfeuchten Zustand hat demnach aktivitätssteigernde Wirkung.

Durch die Trocknung der Bodenproben kam es zu einer Reduktion der Enzymaktivität, die von der Bodenart abhängig ist. Die gemessenen Werte der feuchten Bodenproben sind bei der Komposterde um 25 % höher, beim Ackerboden um 10 %.

Die Cellulase-Aktivität folgt damit dem Verhalten anderer Mikrobiologischer Merkmale, insbesondere dem der Keimzahlen. Für die Messung der aktuellen Enzymaktivität soll für exakte Untersuchungen naturfeuchtes Bodenmaterial verwendet werden. Für Routineuntersuchungen kann mit luftgetrocknetem Material gearbeitet werden. Die für die Korrelationsberechnungen verwendeten Böden sind in Tab. 1 angegeben.

Tab. 1: Die Bodenproben

Boden 1: Kalkfreie Lockersediment-Braunerde auf
Atzbacher Sanden.
Ackerland

Boden 2: Kalkfreie Lockersediment-Braunerde auf
Atzbacher Sanden.
Grünland

Boden 3: Entwässertes Niedermoor.
Grünland

Boden 4: Kalkfreier Kulturrohboden, leicht verbraunt,
sehr sandig.
Ackerland

Boden 5: Kulturrohboden auf tonigem Schlier
Ackerland

Boden 6: Kalkreicher entwässerter Gley
Ackerland

Boden 7: Parabraunerde auf Hochterrasse
Ackerland

Die bodenchemischen Analysen wurden von der Landwirtschaftlichen-Chemischen Bundesanstalt Linz durchgeführt. Tab. 2

Boden Nr.	pH _{CaCl2}	CaCO ₃ %	Humus %	org. Subst. %	N %	mg/100g			ppm			% Korngrößenfraktion			Bodenart		
						K ₂ O	P ₂ O ₅	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	<2µm	2-20µm		20-60µm	>60µm
1	5,2	0	2,0	3,0	0,16	14	11	8	300	290	3	3	12,0	13,2	14,3	60,5	Lehmiger Sand
2	5,3	0	4,8	5,8	0,30	11	7	16	390	320	4	5	7,5	12,6	19,0	60,9	Lehmiger Sand
3	5,4	0	25,0	31,9	1,12	9	8	22	2600	160	7	20	11,7	13,3	44,9	30,1	sandiger Schluff
4	5,6	0	1,6	2,2	0,10	23	13	13	160	80	5	21	8,3	7,4	9,0	75,3	Lehmiger Sand
5	4,8	0	3,4	4,4	0,20	26	17	27	750	320	6	6	30,4	31,1	33,5	5,0	schluffiger Lehm
6	7,1	17,2	8,6	12,1	0,60	33	6	10	200	40	-8	10	13,6	26,6	52,3	7,5	Schluff
7	7,1	0	2,7	4,2	0,19	30	25	16	400	370	9	7	15,8	33,5	47,5	3,2	Schluff

Tab.2: Chemisch-physikalische Analyse der Versuchsböden

Ein hoher Gehalt an Humus und organischer Substanz bedeutet für Cellulase, Xylanase und Saccharase hohe Aktivitäten, Böden 2, 3 und 6 (Abb. 5 - 7). Saccharase zeigt bei allen Böden die höchsten Aktivitäten (Abb. 7).

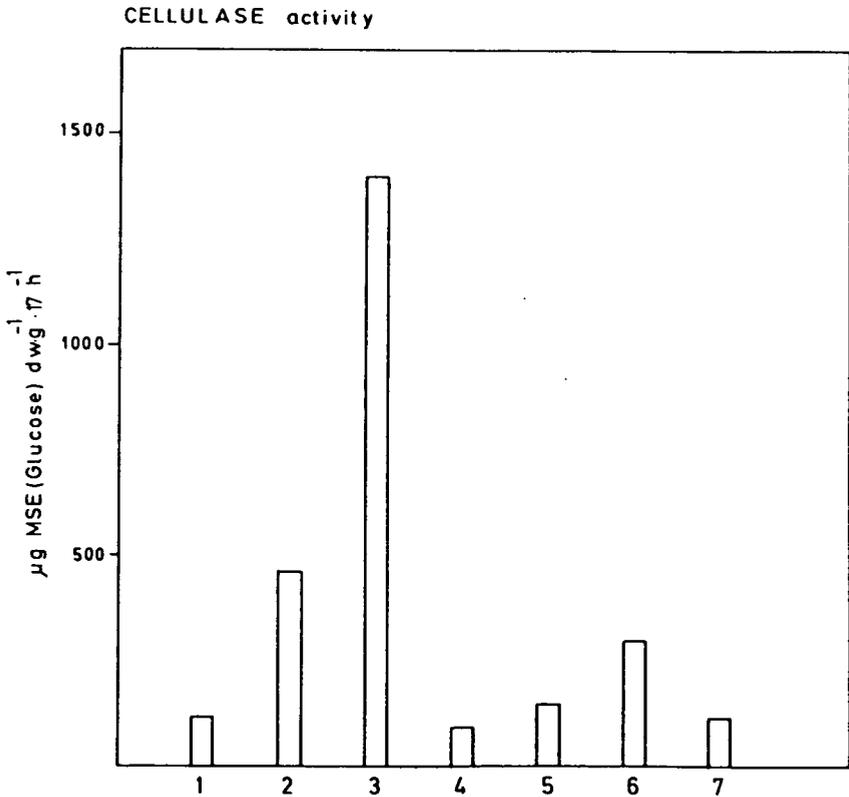


Abb. 5: Cellulaseaktivität verschiedener Bodenmaterialien Böden 1 - 7, Tabelle 1.

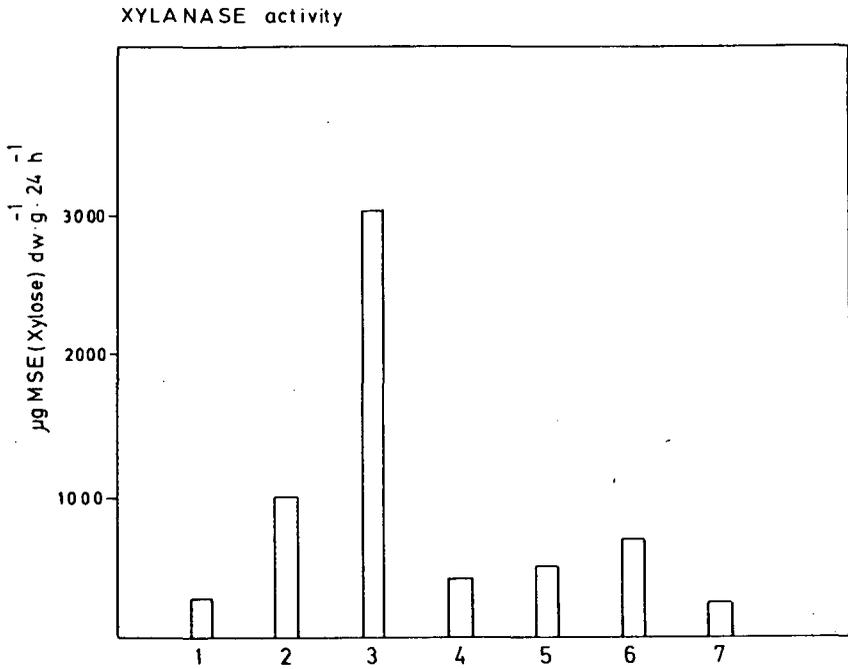


Abb. 6: Xylanaseaktivität verschiedener Bodenmaterialien Böden 1 - 7, Tabelle 1.

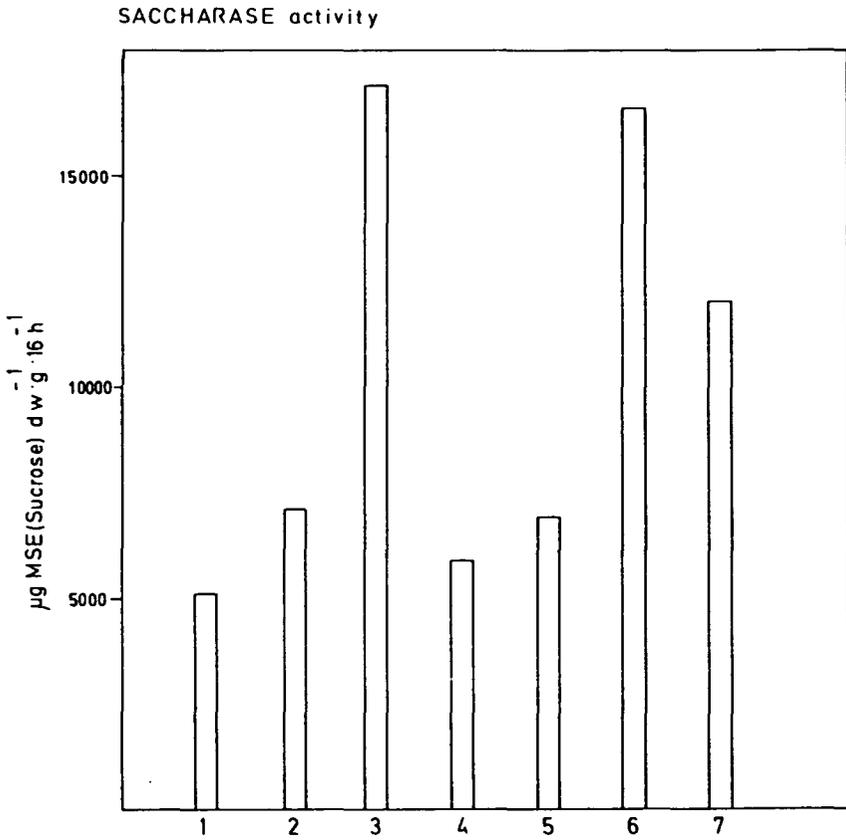


Abb. 7: Saccharaseaktivität verschiedener Bodenmaterialien Böden 1 - 7, Tabelle 1.

Zwischen diesen Eigenschaften und anderen Bestandteilen des Bodens, sowie den biologischen Aktivitäten wurden Korrelationen ermittelt. Die errechneten Korrelationskoeffizienten für die in Beziehung gesetzten Größen sind in Tab. 3 angegeben (Stichprobenumfang, $n = 7$). Eine hochsignifikante positive Korrelation besteht zwischen Cellulase, Xylanase, organischer Substanz und Humusgehalt. Auch Hofmann und Hoffmann (1955), Gomah und Gomaa (1980), Hofmann und Pfitscher (1982) und Beck (1984) zeigten eine Abhängigkeit der Cellulase-Aktivität von der organischen Substanz auf. Eine geringere Beziehung besteht zwischen N, organischer Substanz, Humusgehalt und der Saccharase-Aktivität (5 % Irrtumswahrscheinlichkeit), obwohl auch hier humusreiche Böden hohe Aktivitäten aufweisen (Abb. 7). Untersuchungen von Dutzler-Franz (1977) und Möller (1981) zeigten, daß zwischen Humus und Saccharase-Aktivität eine noch geringere Korrelation besteht.

Eine Korrelationsberechnung zwischen den Enzymen und den Korngrößenfraktionen ergab fast durchwegs negative Korrelationen. Lediglich beim Schluff (20 - 60 μ) ergaben sich bei allen drei Enzymen positive Korrelationen, die höchste bei Saccharase (1 % Irrtumswahrscheinlichkeit). Dies kann durch die starke Adsorptionsfähigkeit der Enzyme an die Schlufffraktion erklärt werden.

Derartige Beobachtungen über Adsorption der Enzyme an den Fraktionen wurde auch von Hoffmann (1958) aufgezeigt. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen von Burrichter (1953) zeigten höchste Kolonienzahl von Bakterien im Schluff, und hier wiederum an solchen Teilchen, die von einer Humushaut umhüllt sind, Rohton ist von ihnen praktisch unbewohnt. Die negativen Korrelationen für Ton (< 2 μ), Lehm (2 - 20 μ) und Sand (> 60 μ) wurden in Tab. 3 nicht berücksichtigt.

Tab. 3: Korrelationstabelle (n = 7)

	N	ORG. SUBST.	K20	P205	Mg
	xx	xxx			
CELLULASE	0,931	0,961	- 0,606	- 0,451	0,376
	xx	xxx			
XYLANASE	0,932	0,963	- 0,586	0,474	0,391
	x	x			
SACCHARASE	0,840	0,789	0,169	- 0,208	0,102
	HUMUS	Fe	Mn	Cu	Zn
	xxx	xx			
CELLULASE	0,972	0,934	- 0,215	0,158	0,501
	xxx	xx			
XYLANASE	0,974	0,934	0,281	0,151	0,559
	x			x	
SACCHARASE	0,764	0,553	- 0,419	0,765	0,364
	CELLULASE		XYLANASE		SACCHARASE
			xxx		
CELLULASE	-		0,996		0,636
	xxx				
XYLANASE	0,996		-		0,628
			SCHLUFF 20 - 60 μ		
CELLULASE		0,349			
XYLANASE		0,324			
		xx			
SACCHARASE		0,877			

Eine Reihe von Autoren haben bereits über den Einfluß verschiedener Tone auf die Aktivität der Bodenzyme berichtet. Untersuchungen über die Wirkung von Tonen auf die Saccharase wurden von Kiss (1958), von Hofmann und Seegerer (1951), sowie von Dutzler-Franz (1977) durchgeführt. Die Autoren stellten fest, daß die Tone - Proteine, Nukleinsäuren und andere organische P-Verbindungen sowie Kohlenhydrate in unterschiedlichem Maße adsorbieren. Diese Substrate können im adsorbierten Zustand von den Enzymen weniger rasch abgebaut werden.

Eine enge Beziehung besteht zwischen Cellulase und Xylanase (0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit).

4. Zusammenfassung - Summary

Luftgetrocknete Kompost- und Ackerproben veränderten ihre Cellulase-Aktivität während der Lagerung bei + 20°C, + 4°C und bei - 28°C innerhalb von 31 Tagen nicht wesentlich.

Naturfeuchte Böden ließen während 18 Tagen der Lagerung einen bis zu 28 %igen Anstieg der Aktivitäten erkennen. Nach dieser Zeit war ein deutliches Absinken feststellbar. Die Ergebnisse zeigten weiters, daß die gemessenen Aktivitäten in feuchten Bodenproben deutlich höher lagen, als in luftgetrockneten. Ein hoher Humusanteil bedingte bei Cellulase, Xylanase und Saccharase hohe Aktivitäten. Aktivitätsbestimmungen an verschiedenen Bodenproben zeigten eine höchst signifikante Korrelation zwischen Humus, organischer Substanz und den gemessenen Cellulase- und Xylanaseaktivitäten.

Cellulase-, Xylanase- and Saccharaseactivities of arable land soils

Air dried samples of compost and arable land soil showed no significant change of cellulose activity during storage at + 20°C, + 4°C and at - 28°C within 31 days.

With naturally moist soils an increase of up to 28 % of the

activities was noticeable during the first 18 days of storage. After that period a considerable decrease was noted. The results further showed that the measured activities were considerably higher with moist samples of soils than with air-dried ones. High activities with Cellulase, Xylanase and Saccharase dependet on a high percentage of humus. The measuring of the activities of various soil samples showed a highly significant correlation between humus, organic matter and the measured Cellulase- and Xylanaseactivities.

5. Literatur

- BECK, Th. (1984): Mikrobiologische und biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden.II. Mitteilung. Beziehung zum Humusgehalt. Z. Pflanzener-nähr. Bodenkd. 147, 467-475.
- DUTZLER-FRANZ, G. (1977): Der Einfluß einiger chemischer und physikalischer Bodenmerkmale auf die Enzymaktivität verschiedener Bodentypen. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.140, 329-350.
- GOMAH, A.M., GOMAA, M.A. (1980): CM-Cellulase Activity in soil as affected by Addition of Organic Materials, Temperature, Storage and drying and wetting Cycles. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 143, 349-356.
- HOFFMANN, G. (1958): Verteilung und Herkunft einiger Enzyme im Boden. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 85, 97-104.
- HOFMANN, E., HOFFMANN, G. (1955). Über Herkunft, Be-stimmung und Bedeutung der Enzyme im Boden. Z. Pflanzener-nähr. Bodenkd. 70, 9 - 16.
- HOFMANN, E., SEEGERER, A. (1951): Über das Enzymsystem unserer Kulturböden I. Saccharase. Biochem.Z. 322, 174-179.
- HOFMANN, I., PFITSCHER, A. (1982): Korrelationen von Enzymaktivitäten in Böden. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 145, 36-41.
- KISS, J. (1958): Invertase activity in clay mineral-soil mixtures. Nature 182, 203-204.

- MERSI v., W. (1986): Eine neue Methode zur Bestimmung von Cellulase-, Xylanase- und Saccharaseaktivitäten in Böden. Diplomarbeit Universität Innsbruck.
- MITTERER, M., BAYER, H., SCHINNER, F. (1981): Der Einfluß von Fungiziden auf die mikrobielle Aktivität eines Bodens. Z. Pflanzenern., Bodenkd. 144, Seiten 463-471.
- MÖLLER; H. (1981): Beziehungen zwischen Enzymaktivität und Humusqualität in Böden des Luzulo-Fagetum und seiner Fichten-Ersatzgesellschaft im Deister. Zur Indikatorfunktion von Enzymen für die biologische Aktivität des Bodens. Acta Oecologica, Oecologia Generalis 2, 313-325.
- SCHINNER, F., HOFMANN, H. (1978): Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivitätsmessungen in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. In: A. Cernusca (ed). Ökologische Anlaysen von Almflächen im Gasteiner Tal. Universitätsverlag Wagner, Innsbruck).
- SCHINNER, F., NIEDERBACHER, R., NEUWINGER, I. (1980): Influence of compound fertilizer and cupric sulfate on soil enzymes and CO₂-evolution. Plant and Soil 57, 85-93.
- SCHINNER, F. (1982): Soil microbial activities and litter decomposition related to altitude. Plant and Soil 65, 87-94.

Anschrift: Wilfried von Mersi
Institut für Mikrobiologie
Technikerstr. 25
6020 Innsbruck/Österreich

Die Wirkung von Düngekalk, Dolomit und Gesteinsmehl auf biologische Aktivitäten eines Ackerbodens

von A. X a n d e r und F. S c h i n n e r

1. Einleitung

Die Kalkung landwirtschaftlicher Böden ist seit langem üblich und wird zur besseren Nährstoffverfügbarkeit und damit zur Verbesserung der Pflanzenproduktion angewandt. Trotz des breiten Einsatzes wurde bisher den Auswirkungen der Kalkung auf die Bodenmikroflora und deren Stoffwechsel kaum ein Augenmerk geschenkt.

Die Zielsetzung vorliegender Untersuchung war die Beurteilung des Einflusses von CaCO_3 , Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl auf bodenenzymatische Aktivitäten des Streuabbaus, sowie mikrobielle Biomasse und Bodenatmung. Als Bodenmaterial wurde ein Ackerboden gewählt.

2. Material und Methoden

Bodenmaterial

Ackerland - Ranker, Tulfes.

Bodenbehandlung

In die Versuchsböden wurden 0,4 % CaCO_3 , 0,8 % Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl eingearbeitet. Versuchsdauer: 18 Wochen.

Probenvorbereitung

Je nach Methode wurden naturfeuchte (für Bodenatmung und mikrobielle Biomasse) und luftgetrocknete (für Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivität) Bodenmaterialien verwendet.

Analysenmethoden

Cellulase, Xylanase und Pectinase nach Schinner und Hofmann (1978).

Bodenatmung nach Isermeyer (1952), verändert nach Jäggi.

Mikrobielle Biomasse nach Anderson und Domsch (1978), verändert nach Beck (1984).

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Anwendung von Kalk in einem Ackerboden führte zu einem erwartungsgemäßen Anstieg (50 %) der mikrobiellen Biomasse im Boden (Abb. 1). Der Einsatz von Dolomit bewirkte nur einen eher kurzzeitigen und lediglich 14 %igen Anstieg derselben. Der Einsatz von Diabas-Gesteinsmehl hingegen zeigte zumindest während der ersten 12 Wochen eine hemmende Wirkung.

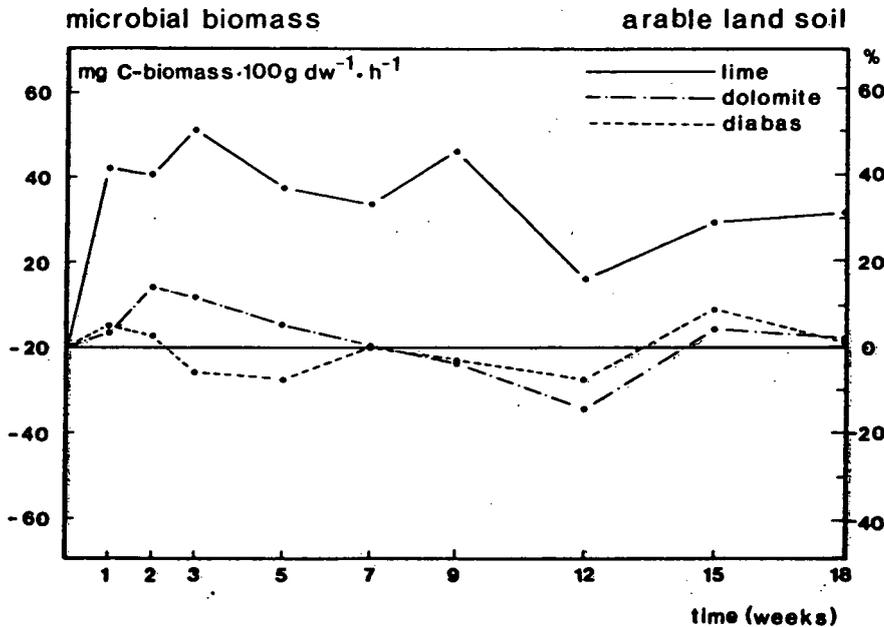


Abb. 1: Mikrobielle Biomasse eines Ackerbodens nach einer einmaligen Behandlung mit 0,4 % CaCO_3 , 0,8 % Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Die Atmungsaktivität (Abb. 2) wurde beim Einsatz von Düngekalk um das dreifache, beim Einsatz von Dolomit um das eineinhalbfache gesteigert; Gesteinsmehl bewirkte keinen Anstieg der Bodenatmung.

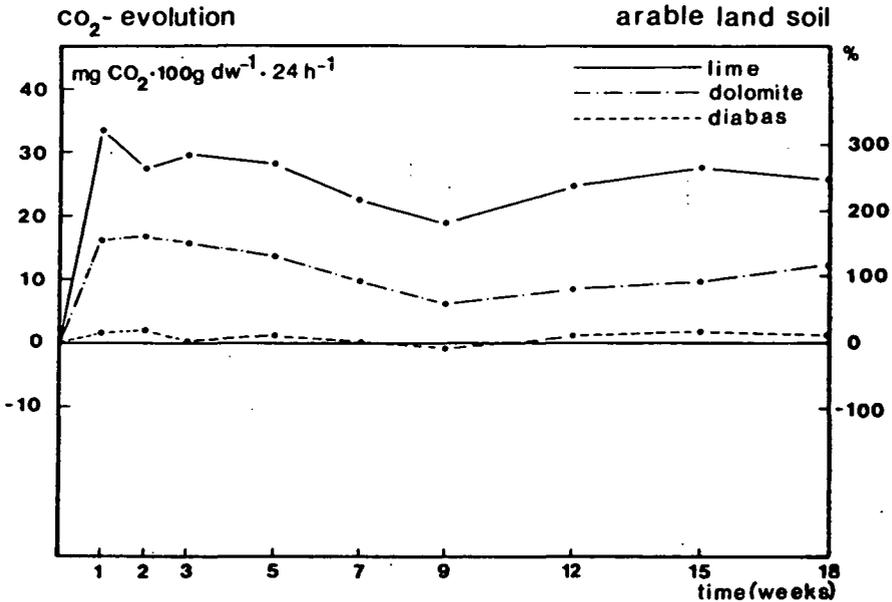


Abb. 2: Bodenatmung eines Ackerbodens nach einer einmaligen Behandlung mit 0,4 % CaCO₃, 0,8 % Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Diese Ergebnisse zeigen auf, daß durch Anheben des pH (vor allem bei CaCO₃) primär die physiologischen Optima verbessert werden und erst sekundär, aber in einem viel geringeren Umfang, zu einem Anstieg der Biomasse führen.

Dies heißt, daß durch die Anhebung des pH-Wertes einseitig die Mineralisation, und nur in einem beschränkten Umfang, die Mobilisierung von Nährstoffen fördert.

Die aktivitätssteigernde Wirkung von Basen in sauren Böden trifft nur für einen Teil der Stoffwechselreaktionen zu.

Die Enzyme des primären Streuabbaus, Cellulase, Xylanase und Pectinase, unterliegen nach dieser Behandlung gegenüber der Bodenatmung einer andersartigen Regulation.

Im Ackerboden erfolgt nach CaCO₃- oder Dolomitanwendung ein kurzzeitiger Anstieg der Cellulase- und Xylanaseaktivität (Abb. 3 und 4), der aber nach ca. drei Wochen

wieder den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens erreicht und in der Folge diesen bis zu mehreren Wochen sogar unterschreitet.

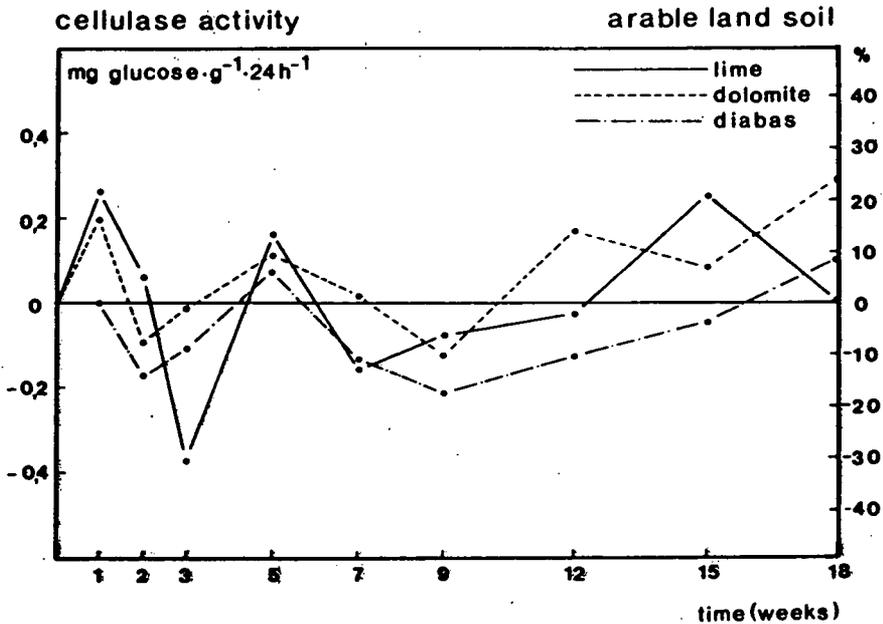


Abb. 3: Cellulaseaktivität eines Ackerbodens nach einer einmaligen Behandlung mit 0,4 % CaCO₃, 0,8 % Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Die Pectinaseaktivität (Abb. 5) wird durch die gewählten Behandlungsmethoden eindeutig bis zu 50 % nahezu über den gesamten Versuchszeitraum von 18 Wochen gehemmt.

Der anfängliche Aktivitätsanstieg der Cellulase und Xylanase des Ackerbodens wird als Streßreaktion interpretiert, die sich in einer, durch diesen Einfluß vermehrten Enzymausschüttung erklärt.

Die Hemmung der Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivitäten infolge Anwendung von Kalk, Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl ist auf zwei Ursachen zurückzuführen. Die Hauptproduzenten dieser Enzyme sind der pilzlichen Bodenmikroflora zuzuordnen.

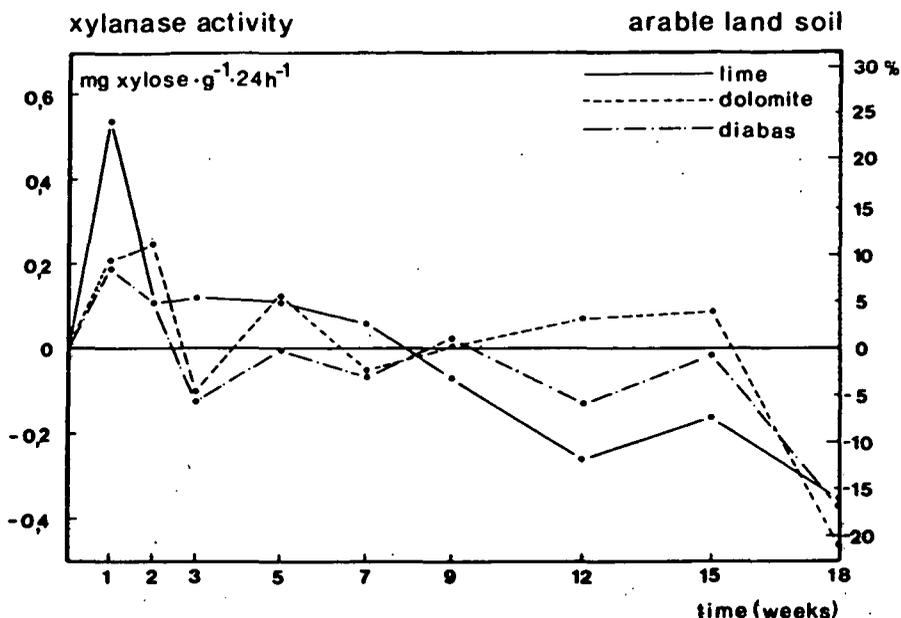


Abb. 4: Xylanaseaktivität eines Ackerbodens nach einer einmaligen Behandlung mit 0,4 % CaCO₃, 0,8 % Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Bakterien haben gegenüber diesen Produzenten die Überhand, wodurch die Menge der ausgeschiedenen Enzyme sinkt. Neben dieser quantitativen Abnahme der β - und α -Glucosidasen wird infolge des pH-Anstieges gegen 7 auch eine qualitative Beeinträchtigung der Enzymaktivität eintreten. Grund dafür ist die Tatsache, daß diese Enzyme des primären Streuabbaus ihr Aktivitätsoptimum bei pH 5,2 und nicht um den Neutralpunkt aufweisen. Die Hemmung der Pectinase ist weniger auf die Hemmung der Pilzflora, als auf die Unterschreitung des Enzymwirkoptimums zurückzuführen, da auch zahlreiche Bodenbakterien Pectinase produzieren.

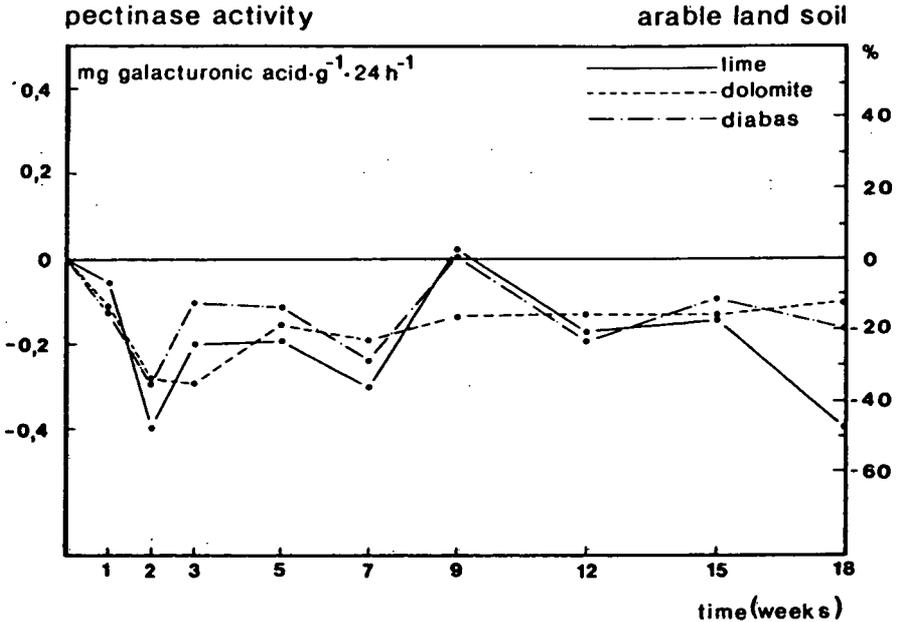


Abb. 5: Pectinaseaktivität eines Ackerbodens nach einer einmaligen Behandlung mit 0,4 % CaCO_3 , 0,8 % Dolomit und 1,4 % Diabas-Gesteinsmehl. Die Grundlinie (0 %) stellt den Wert des unbehandelten Vergleichsbodens dar.

Die Fluktuationen der Enzymaktivitäten während des Versuchszeitraumes von 18 Wochen sind auf mehrere Ursachen zurückzuführen. Während in einem natürlichen, durch Wirkstoffe nicht beeinflussten System, Aktivitätsschwankungen auf klimatische (Feuchte, Temperatur) Schwankungen und auf dem zunehmenden Streueintrag gegen den Herbst beruhen, werden durch Bodenbearbeitungs-, Bodenbehandlungs- und Erntemaßnahmen gravierende Eingriffe gegenüber der Bodenmikroflora und -fauna gesetzt.

Der Einsatz eines Wirkstoffes (Kalk, Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl) führt im Boden zu einer einseitigen Förderung oder Hemmung bestimmter Organismengruppen, direkt oder indirekt über Veränderungen des Bodennährstoffgehaltes, der

gesamten physikalischen und chemischen Voraussetzungen. Die oben erwähnten Fluktuationen stellen somit einen meist länger andauernden Prozeß der Gleichgewichtsfindung der Bodenmikroflora dar, der sich zusätzlich durch das Nachlassen des Wirkstoffes gegen den ursprünglichen bestehenden Zustand des Bodens einpendelt.

Es ist bemerkenswert, daß bei dem in dieser Arbeit untersuchten Ackerboden (pH 5,9) zumindest die Xylanase- und Pectinaseaktivität eine nach 18 Wochen weiterhin fallende Tendenz aufzeigen. Diese Tatsache bestärkt die Vermutung, daß eine Bodenkalkung lediglich die Mobilisierung von Nährstoffen aus leicht mineralisierbaren Depots beschleunigt, hingegen der Abbau komplexer C-Polymere verzögert.

4. Zusammenfassung - Summary

In einem Laborversuch wurde mit Bodenmaterialien eines Ackerbodens (Mullranker, pH 5,9) der Einfluß von Kalk, Dolomit und Diabas-Gesteinsmehl auf die Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivität, die mikrobielle Biomasse und die Bodenatmung während 18 Wochen untersucht.

Die Ergebnisse zeigten, daß der Eintrag aufwandsüblicher Mengen dieser Wirkstoffe einen, mit Ausnahme des Gesteinsmehls, Anstieg der mikrobiellen Biomasse und der Bodenatmung bewirkte. Die Enzyme des Streuabbaus erfuhren während der gesamten Versuchsdauer meist nur eine kurzfristige Aktivierung zu Versuchsbeginn, blieben jedoch zumindest während zwei Monaten (Pectinase vier Monate) unter den Werten des nicht behandelten Vergleichsbodens. Die Hemmung der Cellulase, Xylanase und Pectinase wird auf eine Verringerung der Bodenpilze zulasten der Bodenbakterien, aber auch auf die Anhebung des pH über das Wirkoptimum dieser Enzyme (5,2) zurückgeführt.

The Influence of Lime, Dolomite and Diabas-Stone-Meal on Biological Activities on a Arable Land Soil

In a laboratory experiment the influence of lime, dolomite and diabas-stone-meal on the activities of cellulase, xylanase, pectinase, microbial biomass and CO₂-evolution was

investigated on with arable land soil over a period of 18 weeks.

The results showed that the commonly applied amounts of these fertilizers, with the exception of stone-meal, caused the increase of microbial biomass and CO₂-evolution. Over the whole period of the experiment the enzymes of the litter decomposition showed a short term increase of activity only at the beginning of the experiment and remained at least for two months (pectinase four months) below the levels of the untreated soil. The inhibition of the activities of cellulase, xylanase and pectinase is believed to be caused not only by a decrease of soil-funghi on the cost of soil-bacteria, but also on an increase of the pH above the maximal effect of these enzymes (5,2).

5. Literatur

- ANDERSON, J.P.E. und DOMSCH, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement at microbial biomass in soil. Soil.Biol. Biochem. 10, 215-221.
- BECK, TH., 1984. Mikrobiologische und biochemische Charakterisierung landwirtschaftlich genutzter Böden. Die Ermittlung einer bodenmikrobiologischen Kennzahl. Z. Pflanzenernährung Bodenkd. 147, 456-467.
- ISERMEYER, H., 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate zur Pflanzenernährung. Bodenkd. 56, 26-38.
- SCHINNER, F. und HOFMANN, J., 1978. Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivitätsmessungen in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. In: Cernusca, A., 1978, Ökologische Analysen von Almflächen im Gasteiner Tal. Veröffentlichung des österr. MaB Hochgebirgsprogrammes Hohe Tauern, Bd. 2, Universitätsverlag Wagner, Innsbruck.

Adresse: Andrea Xander
Franz Schinner

Institut für Mikrobiologie
Universität Innsbruck
Technikerstr. 25
6020 Innsbruck/Österreich

DISKUSSION

- Nestroy: Herr Schinner, Sie haben die Beziehung Humus-Enzyme oftmals erwähnt. Ist die Beziehung jetzt stärker gegeben zur Humusmenge, also zur Quantität allein, d.h. Prozente, Gewichtsprozente, Naßveraschung oder trockene Verbrennung im Sauerstoffstrom, oder ist was ich vermute, enger die Beziehung zur Humusform, ganz grob gesprochen, ob Mull, Moder oder Rohhumus vorliegt.
- Schinner: Die Untersuchungen, die von HOFMANN und PFITSCHER gemacht wurden, nahmen darauf Bezug, daß entweder Humus oder C_t bestimmt wurde und die Korrelationen waren beidemal eng. Zwischen den Humusformen, Moder, Mull oder Rohhumus hatten wir dabei nicht getrennt.
- Mutsch: Es wurde gesagt, daß enge positive Korrelationen zwischen Aktivität und organischer Substanz bestehen. In Ihrem Vortrag Herr Schinner wurde hingegen erwähnt, daß besonders bei Waldböden, die ansich sehr humusreich sind, nur sehr geringe Aktivitäten festgestellt werden. Das scheint mir ein Widerspruch zu sein.
- Schinner: Es gibt hier keinen Widerspruch, denn man muß sich die Bezugsgröße vor Augen führen. Meist wurde das Gewicht in Gramm angegeben und ein Gramm Waldboden nimmt eben ein größeres Volumen ein als ein Gramm Ackerboden. Aus diesem Grund muß man immer die Bezugsgröße beachten. Nimmt man die organische Substanz als Bezugsgröße, sieht man, daß die Enzymaktivitäten in Waldböden gering sind. Normalerweise wird heute auf pro Gramm Boden bezogen, also auf Gewicht. Wenn man aber so unterschiedliche Bodentypen wie Waldboden, Ackerboden, Grünlandboden vergleicht, sollte man besser die organische Substanz als Vergleichsgröße verwenden.
- Schmoigl: Mich würde es interessieren, ob es Meßmethoden gibt, die auf die Krümelstabilität, die Erosionsneigung bzw. die Verschlammungsneigung eingehen. Wir haben derzeit durch verschiedene Fruchtfolgen und durch verschiedene Ursachen große Schäden in dieser Richtung. Gibt es hier enzymatische Methoden, die schon früher auf Fehlentwicklungen hinweisen können und somit größere Katastrophen auf diesem Gebiet verhindern helfen.
- Schinner: Wenn man diese Frage mit bodenmikrobiologischen Methoden angehen soll, würde man sich das so vorstellen, daß man jene Parameter bevorzugt analysiert, die auf die Abnahme der organischen Substanz Bezug nehmen, beispielsweise auf den Streuabbau: wenn der nachläßt, kann man schließen, daß es langsam zu einer Verminderung der organischen Substanz kommt, oder wenn man die Zellulaseaktivität bestimmt und eine Abnahme feststellt, kann man annehmen, daß

weniger Streu eingetragen wird, daß also mehr organisches Material veratmet wird und sie dadurch abnimmt. Ich könnte mir schon vorstellen, ich wüßte jetzt nicht, wer damit gearbeitet hat, daß man mit bodenbiologischen Parametern die Richtung eines Bodenzustandes im Sinne Ihrer Frage beurteilen könnte.

Th.Beck: Gerade zu dieser Frage der Erosionsanfälligkeit könnte man sich vielleicht vorstellen, daß ja nun die Bodenbelebung deswegen eine große Rolle spielen kann, weil ja die Lebendverbauung, die Aggregatstabilität eine Intensivierung des Bodenlebens bewirkt. Es gibt recht interessante Hinweise, daß die Polysaccharidsynthese, verursacht durch die Lävasucrase, die ich einmal ganz kurz erwähnt habe, daß die in deutlicher Beziehung steht etwa zu der Erosionsanfälligkeit von Böden. Solche Untersuchungen sind am Balkan erst vor kurzer Zeit durchgeführt worden. Ich könnte mir vorstellen, wenn man gezielt dieses Verfahren daraufhin abstimmt, daß man damit diesen erwünschten Parameter für Erosionsanfälligkeit auf bodenmikrobiologischer Seite finden könnte.

Danneberg: Ich möchte auf die letzte Frage zurückkommen, nämlich auf die verschieden starke Aktivität des Waldbodens bezogen auf Humus. Hängt das nicht mit der deutlich verschiedenen Humusqualität des Waldbodens zusammen. Auf Deutsch gesagt, mit der geringen Abbaubarkeit der Waldstreu gegenüber den pflanzlichen Rückständen auf dem Ackerland.

Schinner: Die Qualität eines Waldhumus ist selbstverständlich verschieden, wie wir schon gehört haben, aber auch der pH-Wert. Allerdings muß man wissen, daß jene Enzyme die primär dieses Streu angreifen, ihr pH-Optimum sehr häufig im Bereich von 5 haben, also ohnehin schon im sauren Bereich. Waldböden aber haben schon auch pH-Werte, die unter 4 und 3 sinken und damit weit außerhalb des für Enzymaktivitäten optimalen Bereiches liegen.

Foissner: Da es oft schwierig ist Proben sofort aufzuarbeiten, möchte ich fragen, ob eine Lufttrocknung des Probenmaterials erstrebenswert ist oder nicht.

Th.Beck: Wir führen unsere Bodenvergleichsuntersuchungen seit 10 Jahren etwa durch und haben uns bei Beginn zunächst einmal angesehen, wie andere Leute das machen; die Amerikaner verwenden nach wie vor z.B. luftgetrocknete Böden auch für die enzymatischen Untersuchungen und dann haben wir beginnend mit unseren bodenenzymatischen Untersuchungen eine Serie gestartet, wo 6 oder 7 bodenartlich und bodentypologisch verschiedene Böden lufttrocken verschickt worden sind. Sie wurden befeuchtet und mehrere Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hier hat man nun festgestellt, daß bei manchen Böden ganz offensichtlich

die Lufttrocknung eine sehr starke Abnahme bewirkt, in anderen Fällen wieder nicht. Sehr stark heißt: 90 %ige Enzymaktivitätsabnahme nach Trocknung, in anderen Fällen, bei anderen Böden und gleichen Enzymen nur 10 %. Und da haben wir gesagt, wenn das so ist und sich die Böden so stark unterscheiden bleiben wir einheitlich bei unseren naturfeuchten, kühl aufbewahrten Böden. Sie haben es vielleicht aus den Tabellenwerten gesehen, der Abfall ist ja nicht allzu groß; was sind 10 % Abfall, es ist nahezu schon im Fehlerbereich der Messung.

Hoffmann: Wir sind bei unseren Untersuchungen von der feldfrischen Probe ausgegangen und haben versucht einmal festzustellen, welchen Einfluß die Trocknung auf die Bodenproben ausübt. Dazu stellten wir fest, daß bei der Untersuchung, und jetzt muß ich Ihnen insofern widersprechen als wir natürlich keine Oxidoreduktasen untersucht haben, sondern nur Hydrolasen, kein so großer Unterschied besteht, wenn man nur Hydrolasen bestimmt, d.h. man kann die lufttrockene Probe hier recht gut verwenden. Wenn man aber, wie es jetzt neuerdings angestrebt wird, eine Kennzahl, die eine Summe von verschiedenen Enzymen umfaßt, erstellen will, wird man aller Wahrscheinlichkeit nach besser mit der feldfrischen Probe arbeiten.

Alef: Es wurde am Anfang erwähnt, daß der größte Teil der Bodenenzyme aus Mikroorganismen stammt. Ich glaube aber, daß man nie in der Lage sein kann, zwischen Enzymen zu unterscheiden, die aus Mikroorganismen, Pflanzen oder Tieren stammen.

Schinner: Diese Kritik möchte ich gerne beantworten. Ich fange gleich mit Beispielen an: Tiere scheiden Zellulase aus. Woher kommt diese Zellulase? Ganz einfach von Mikroorganismen, die im Darm dieser Tiere leben. Diese Mikroorganismen, die sie mit der Nahrung aufgenommen haben, siedeln sich im Darm an und bleiben dort sehr lange bestehen. Ohne Zweifel man kann diese von mir sehr verallgemeinerte Aussage nicht auf alle Enzyme übertragen, aber doch auf einen sehr großen Teil.

Hoffmann: Vielleicht möchte man ganz einfach dazu sagen, da wir ja wissen, daß zellfreie Bodenenzyme in Zeiten, die für das Mikroorganismenleben im Boden sehr ungünstig sind, trotzdem am Stoffumsatz der Böden sich beteiligen. Die Biologie des Bodens hat gerade dadurch eine völlig neue Dimension bekommen und es ist im Grunde genommen ein Streit um den Bart von Barbarossa, woher die Enzymaktivität stammt. Sofern die Enzyme im Boden aktiv sind und an der Stoffumsetzung sich beteiligen, begrüßen wir jede Quelle.

Kinzel: Ich erlaube mir zu bemerken, Herr Holz, daß gerade diese Korrelationen in manchen Fällen etwas verschleiern. Sie werden diese guten Korrelationen dann nicht finden, wenn Sie von landwirtschaftlichen Böden auf andere Böden z.B. zu einen Waldboden, ein Hochmoor und dergleichen gehen. Dann werden Sie finden, daß die Relationen der einzelnen Aktivitäten zueinander ganz anders sein können, als auf einem Ackerboden. Aber auch hinsichtlich der Verteilung in den Profilen möchte ich bemerken, daß mir auf den Tabellen aufgefallen ist, daß in manchen Fällen die Aktivität in der Tiefe auf 10 % oder noch weniger dessen, was oben ist, sinkt, in manchen Fällen aber nur auf die Hälfte. Auf den gleichen Böden verhalten sich oft Enzyme verschieden und das scheint ja sehr bemerkenswert und das wird durch die statistische Auswertung beinahe verschleiert. Hier könnten sich sehr interessante Sachverhalte verbergen, irgendwelche Bodeneigenschaften, die auf verschiedenen Böden oder hinsichtlich verschiedener Enzyme auf dem gleichen Boden sich verschieden verhalten.

Holz: Ich danke für die Anregung, Das ist auch so geplant. Wie ich betonte, sollte zuerst die Methode entwickelt werden und da konnte man auf diese Dinge nicht eingehen.

Nestroy: Welche Bodentypen haben Sie verwendet ?

Holz: Die meisten sind aus dem Raum Dülmen und das ist Gley-podsol.

Nestroy: Also ziemlich schwere hydromorphe Böden.

Th.Beck: Vielleicht zurück zur Profilabhängigkeit. Die Tatsache, daß in manchen Profilen die Enzymaktivität sehr stark abnimmt und in anderen Fällen wieder weniger, erklärt man damit, daß es sich natürlich um unterschiedlich tiefgründige Böden handeln wird und wir haben doch bei 40 - 60 cm in manchen Fällen tatsächlich noch 0,3 - 0,5 % Humus. Wir haben festgestellt, daß eine sehr gute Korrelation der Enzymaktivitäten mit dem Humusgehalt besteht und da könnte ich mir sehr gut vorstellen, daß bei diesem Profil Nr. 1, das vergleichsweise wenig aufgenommen hat, daß hier der Humusgehalt auf 40 - 60 cm durchaus vergleichsweise hoch gewesen ist.

Hoffmann: Zunächst habe ich das auch etwas komisch gefunden. Aber jetzt wird mir das erklärlich. Da die Herkünfte der Enzyme aus den unterschiedlichsten Organismen stammen, haben Sie möglicherweise irgendwelche Anaerobier, die sich unten gut entwickeln und auch Aktivitäten zeigen, bestimmt, während die übrigen vielleicht zu Aerobiern gehören, die man dort unten nicht mehr antrifft. Daher müßte man eigentlich in dieser Hinsicht keine einfache Korrelation, sondern multiple Korrelationen rechnen,

in denen in etwa Parameter hineingenommen werden, die die einen oder anderen fördern. Ich sage das deshalb, weil ich bei meinen Phosphatasearbeiten auch multiple Korrelationen gerechnet habe, wo ich bis zu 15 Parameter verwendet habe. Das Programm hat mir aber 12 hinausgeworfen 3 sind jedoch verwertet worden. Dann hat man aber manche Aussagen bei Böden bestätigen können.

Schmoigl: Gibt es Erfahrungen hinsichtlich der Einflüsse von radioaktiver Strahlung auf mikrobielle Tätigkeiten bzw. Enzymaktivitäten ?

Danneberg: Ich würde sagen, daß man bei Mikroorganismen am allerwenigsten einen Effekt von Strahlung erwarten kann. Je höher organisiert ein Organismus ist, umso mehr können geringere Dosen biologische Effekte bewirken. Bei einem so einfach organisierten Organismus, wie der Mikroorganismen, braucht man bekanntermaßen bereits gewaltige Dosen, um biologische Effekte zu erreichen. Daher ist bei den Dosen, die hier in Frage kommen nichts zu erwarten.

Th.Beck: Man hat früher versucht, diese Enzymblockierung bei der enzymatischen Analyse nicht nur durch Chloroform oder durch Toluol zu erreichen, sondern auch durch die Bestrahlung und man hat festgestellt, daß Strahlendosen notwendig waren, um die Enzyme zu inaktivieren, die um den Faktor 20 - 50 höher waren, als die Unterbindung der Lebensfähigkeit der Mikroorganismen.

Angermayer: Herr Schinner, Sie haben vormittag gesagt, daß bei Anwendung von Herbiziden es zu einem streßbedingten Aktivitätsanstieg, dann zum Abfall und dann zum Gleichgewicht kommt bzw. zum Einpendeln, zum Ausgleich der biologischen Aktivität. Hat man solche Versuche auch bei Atrazinen gemacht? Wenn wir in der Praxis feststellen, daß bei Silo- maismonokultur und ständiger Anwendung von Atrazinen die Böden doch stark verschlämmen und verkrusten, dürfte wahrscheinlich mitspielen, daß jedes Jahr entsprechende Mengen an Atrazinen gespritzt werden.

Schinner: Wir haben verschiedene Herbizide geprüft und bei den Atrazinen gefunden, daß ein ähnlicher Mechanismus, wie bei fast allen Pestiziden, eintritt - eben bei geringen Dosen zuerst streßbedingte Förderung und bei zu hohen Dosen allerdings sofort Abfall und dann die Erholung. Ich möchte dazu vielleicht noch ausführen, daß es mit dem Einsatz von Pestiziden zu einer artenmäßigen Selektion der Bodenmikroflora kommt und daß diese Selektion allerdings in diese Richtung verläuft, daß resistente Arten dominieren und empfindliche fehlen werden. Insgesamt kann die Vielfalt der Arten da-

durch reduziert werden und folglich wird es auch zu einer Schwächung des Systems kommen, da es weniger Organismen gibt, die die Rolle eines geschädigten einnehmen können. Vielleicht kommt dieser Fall gerade bei Atrazinen ganz besonders zum Tragen. Über Atrazine haben wir aber keine weiteren Untersuchungen angestellt.

Angermayer: Sie haben angegeben, daß bis zu 100 kg N gebunden werden pro ha und Jahr. Um welche Bakterien handelt es sich hier, sind es kohlenstoffheterotrophe Bakterien, und wie sieht es aus mit der Effizienz? Weiters geben Sie eine Stickstofffixierung für Luzerne von 120 - 130 kg N pro ha und Jahr an. KAHNT gibt z.B. für Ackerbohne 490 kg an. Ist nun letzterer Wert zu hoch? In der Praxis findet man weiters, daß bei pH-Werten unter 6,0 die Umsetzung bzw. Mineralisation bei Strohdünger schlecht ist gerade auf Urgesteinsböden, auch wenn alle anderen Faktoren im Optimum sind. Wie ist das zu erklären?

Schinner: Sehr viele effiziente Stickstofffixierer sind autotrophe z.B. Azotobacter. Es werden aber zunehmend mehr heterotrophe entdeckt, die Stickstoff fixieren können. Allerdings sind sie nicht so effektiv, wie die in Symbiose lebenden. Man hat heute starke Bestrebungen, diese Stickstofffixierung biotechnisch zu nutzen, indem man versucht gentechnisch das Nitrogenaseenzym auf schnellwüchsige und leichtkultivierbare Organismen zu übertragen. Diese Genübertragung ist an und für sich problemlos vor allem für Prokaryonten. Man hat allerdings auch schon Erfolge bei Eukaryonten und man denkt auch an die Übertragung bei Pflanzen. Hauptprobleme dieser gentechnischen Vorgangsweise sind allerdings die Begleitfaktoren, wie z.B. daß das Schwefel-Eisen-Protein, das gleichzeitig anwesend sein muß, nicht so einfach übertragen werden kann. Weiters ist es eine unbedingte Voraussetzung, daß das Enzymnitrogenasesystem selbst unter Sauerstoffabschluß reagiert. Auch diese Nebenbedingung kann heute bei den gentechnischen Übertragungen nicht ausreichend gewährleistet werden.

Angermayer: In der Diskussion um den biologischen Landbau wird immer wieder angeführt, daß mit diesen freilebenden stickstoffbindenden Bakterien entsprechend genügend Stickstoff in den Boden kommt. Wir wissen natürlich, daß die kohlenstoffheterotrophen Bakterien das können, nur ist es eine Frage der Ökonomik. Man muß dafür viel organische Substanz zuführen, die unökonomisch wäre.

Hoffmann: Ich wollte nur etwas zur Menge sagen. Ich war über Ihre Angaben so und soviel kg bis 100 einigermaßen erstaunt, denn es gibt eine ganze Reihe Untersuchungen mit N 15 und die weisen nach, daß das

Optimum bei Azotobakter bei 6 - 8 kg und Jahr liegt.

Kandeler: Ich wollte zu Maismonokultur und Atrazineinsatz noch anführen, daß bei verstärktem Maisbau es zu einem anderen Vorgang kommt. In der Rhizosphäre leben Mikroorganismen, die Kohlenhydrate ausscheiden und diese Stoffe sind sehr stark für die Aggregatstabilität verantwortlich. Man hat inzwischen schon Versuche gemacht, in denen nachgewiesen worden ist, daß gerade Mais eine Pflanze ist, die in ihrer Rhizosphäre keine oder nur eine sehr geringe Anzahl solcher Mikroorganismen besitzt. Um vielleicht ein Gegenbeispiel zu nennen: Mit Hilfe von Luzernen kann man sehr stark die Aggregatstabilität fördern. Ich vermute also, daß das ein Grund für Ihre beobachteten Schäden war.

W.Beck: Wenn wir beim Maisanbau die Schwarzbrache haben, so setzen wir in günstigen Jahren so zwischen März und Mai 1000 kg Stickstoff mineralisiert frei d.h. wir bauen Stickstoff, der organisch gebunden war ab und setzen ihn dann wieder um. Das wird letzten Endes langfristig doch zu einem Stickstoffverlust im Boden und auch zu einem Verlust an organischer Substanz im Boden führen. Das überdeckt natürlich sehr viel diese Schädigung oder Beeinflussung durch Atrazin.

Schmoigl: Wir wissen z.B. daß bei stärkerem Kalkmangel, oder Reduktionszuständen im Boden der Ackerschachtelhalm auftritt. Interessanterweise tritt er ebenso bei Maismonokulturen oder übermäßigen Maisbau und stärkeren Atrazinbehandlungen auf. Ich glaube nicht, daß das nur eine selektive Wirkung des Herbizides ist, sondern die Wirkung einer verstärkten Kalkung, wenn die Aggregatstabilität angegriffen wird und des pH-Wertes.

Grall: Es wurde von den Vortragenden besonders von Herrn Beck die hohen Korrelationen der Enzymaktivitäten zur Biomasse und Aggregatstabilität hervorgehoben und ich hätte die Frage, welche Aussagemöglichkeiten für andere Bodenfruchtbarkeitsfaktoren sind durch die Messung von Enzymaktivitäten möglich z.B. Faktoren, die Wasser- und Lufthaushalt betreffen? Zweitens, ob diese Methoden, die Sie erwähnt haben, routinemäßig durchführbar sind d.h. in der landwirtschaftlichen Beratungspraxis usw. anwendbar sind.

Th.Beck: Die 2. Frage ist sicherlich sehr viel leichter zu beantworten. Die routinemäßige Durchführung der bodenenzymatischen Analysen, glaube ich, ist in jedem einigermaßen eingerichteten Labor nach einiger Einarbeitungszeit natürlich sehr leicht möglich. Dazu hat Herr Holz die Möglichkeit aufgezeigt, die Analysen auch halbautomatisch durchzuführen. Korrelationen von enzymatischen Aktivitätswerten zu anderen chemischen und physikalischen Eigenschaften sind auch in der Vergangenheit von einer ganzen Reihe von Leu-

ten ermittelt worden. So hat z.B. DUTZLER-FRANZ nun eine ganze Palette von chemischen und physikalischen Eigenschaften den enzymatischen Analysen gegenübergestellt und z.T. sehr schöne Korrelationen gefunden. Was uns für die Bodenfruchtbarkeit natürlich besonders interessiert, hängt noch immer mit dem Humusgehalt der Böden zusammen und nicht nur mit dem absoluten Gehalt, sondern wir sind an der Nachhaltigkeit bestimmter Maßnahmen interessiert, also mit Humuszehrung und Humusmehrung. Mit Hilfe dieser mikrobiologisch-bodenenzymatischen Analyse sind hier in letzter Zeit Hinweise möglich geworden. Diese Daten sind allerdings bisher vergleichsweise an wenigen Versuchen durchexerziert worden, es sind mehr oder weniger Theorien und Hypothesen, die erst untermauert und exakt bestätigt werden müssen.

Insam: Ich möchte bestätigen, daß die Stickstofffixierung durch freilebende Mikroorganismen relativ niedrig ist, vielleicht bei 5 kg pro ha. Die Bedeutung der freilebenden Stickstofffixierer wird aber eher darin liegen, daß sie verschiedene Wuchsstoffe bilden und über die Wuchsstoffwirkung Pflanzenwachstum fördern können. Es ist also durchaus nach wie vor erstrebenswert diese Stickstofffixierer zu fördern, weil sie eben auch andere positive Wirkungen als nur die Stickstoffzufuhr besitzen. Die Forschung über Stickstofffixierung ist in diesem Punkt etwas in die falsche Richtung in der letzten Zeit gegangen. Es wurde mit z.T. falschen Methoden zu hohe Fixierungsraten gemessen und man ist dann auf die positive Wirkung der Wuchsstoffe der Stickstofffixierer gekommen.

Hoffmann: Kurz zur vorhergehenden Frage noch: Wenn Sie einen Modellversuch haben, bei dem Sie eine kontinuierliche Reihe der Bodentextur herstellen können, finden Sie eine hervorragende Beziehung der Enzyme zum Besatz von ähnlich texturierten Böden, d.h. wenn die Wasser- und Luftverhältnisse sich bis in den mittleren Bereich verbessern, steigt die Aktivität, wenn der mittlere Bereich überschritten, daß also Luft ins Defizit kommt, weil zuviel Feinporen vorhanden sind, gehen auch die Enzyme zurück. Jede Skala braucht einen Nullpunkt und den finden Sie, wenn Sie beliebige Böden aus der Natur herausholen, natürlich nicht. Heute versucht man die Enzymwerte zusammenzufassen d.h. wo das eine Bein zu kurz ist, ist das andere eben länger. Dieser Weg ist zur Findung eines brauchbaren Wertes der bessere. Man muß also von der Betrachtung der einzelnen biologischen Komponente auch bei den Enzymen weg.

Walter: Wie weit ist ein starker Eintrag von Kupfer oder anderen Spurenelementen negativ oder positiv für die Bodenenzyme ?

- Hoffmann: Wir haben das Kupfer in einem Müllklär-
schlamm bzw. Müllkompostversuch bis auf 200 ppm
im Boden angereichert und kein einziges Enzym hat
an Aktivität verloren und auch die Mikroorganis-
men haben, weil wir gleichzeitig 7 % organische Sub-
stanz zugeführt hatten, auch zugenommen. Was nun
an einzelner Summe auf einzelne Gruppen erfolgt
ist, das kann man durch eine Globalbestimmung na-
türlich nicht erfassen.
- Schinner: Ich kann Ihre Meinung nicht ganz teilen, da es En-
zyme gibt, die sogar ganz besonders geeignet sind,
die Einwirkung von Schwermetallen festzustellen,
z.B. die Urease. Die Urease reagiert prompt. Der
Grund, weshalb sie das nicht nachweisen konnten
ist der, daß in dem Augenblick, wenn Schwermetalle
mit organischem Material zusammenkommen, sie biolo-
gisch inaktiviert werden. Erst beim Weichen eines
bestimmten Levels kommen diese Metalle wieder zur
Wirkung. Das ist eben das Besondere bei den Schwer-
metallen. Man merkt sie viele Jahre nicht, weder
biologisch noch sonst in irgend einer Weise; wenn
einmal die Wirkung kommt, dann ist es mit der Enzym-
aktivität vorbei.
- Danneberg: Ich wollte ziemlich genau dasselbe sagen, was Sie
eben gesagt haben, nämlich, daß die Schwermetall-
wirkung sehr unterschiedlich ist, ob man das in
einem Modellversuch jetzt in Form eines reinen
Salzes zugibt, also das Jon als solches wirksam
wird, oder ob man das in Form eines Müllkompostes,
wo die meisten Schwermetalle stark komplexiert sind,
appliziert.
- Schmoigl: Ich muß mich sehr dagegen verwehren, wenn Sie alle
Schwermetalle in einen Topf werfen. Wir wissen und
wir haben gerade vorhin gehört, von Ihnen glaube
ich, daß z.B. Molybdän in der Nitratreduktase eine
Bedeutung hat. Hier muß man klar unterscheiden
zwischen den Schwermetallen, die wirklich positiv
sind und den von vornherein negativ wirkenden Ele-
menten.
- Schinner: Alle Metalle, bis auf ganz wenige Ausnahmen, sind
für das Leben unbedingte Voraussetzung. Aber nur
in winzig kleinen Mengen. Im Augenblick, wenn
andere Komponenten dazukommen, z.B. durch Klärschlamm
oder Immissionen kann das System ab dem Zeitpunkt,
wenn die Speicherkapazität der Absorptionskomplexe
überfüllt ist, umkippen.
- Insam: Von Mikroorganismen und Schwermetallen wäre noch zu
sagen, daß meistens die Pflanzen empfindlicher auf
die Schwermetallkontaminationen reagieren und daher
wahrscheinlich mikrobiologische Parameter, die eine
Wirkung der Schwermetalle zeigen sollen, ohnehin zu
spät kommen. Also die Pflanzen gehen ein bevor die
Mikroorganismen reagieren können.

- Huber: Eine Frage über den Zusatz von Bakterienstämmen bzw. Zuchtstämmen, um die Kompostierung zu beschleunigen: Ist es möglich durch diese Zuchtstämmen, es werden oft Zahlen von 20 - 50 Zuchtstämmen genannt, die man hier zugeben soll, die Kompostierungsrate wirklich zu verdoppeln? Besteht auch die Möglichkeit, daß sich diese Stämme, wenn man im Freiland damit Böden impft, gegen die anderen Bodenlebewesen durchsetzen und damit eine bessere Umsetzungsrate der organischen Substanz bewirkt wird.
- Th.Beck: Ich habe im Verlauf der letzten 10 Jahre vielleicht 30-40 solcher Präparate, die meistens Phantasienamen tragen, untersucht und ich darf Ihnen sagen, daß wir in keinem einzigen Fall die behauptete Wirkung der Kompostbeschleunigung bestätigen konnten. Ich glaube es kann dies auch gar nicht sein, denn es gibt einen ökologischen Grundsatz der besagt: "Alles ist überall". D.h. wenn Organismen irgend ein Substrat besonders schnell abbauen, dann kommt es nur darauf an, daß man deren Lebensbedingungen und Entwicklungsmöglichkeiten fördert, Zusatz von Fremdorganismen ist, Impfung würde das bedeuten, nicht notwendig.
- Walter: Inwieweit sind Bodenherbizide für die Mikroorganismen schädlich?
- Th.Beck: Wir haben mittlerweile 3 große Herbizidversuche mit einer Laufzeit bis zu 14 Jahren ausgewertet. Dort wurden unterschiedlichste Herbizide getestet z.B. bei Hackfrüchte, Getreide, Mais usw. in einfacher und in doppelter Konzentration. Der letzte Versuch wurde vor einem 1/4 Jahr ausgewertet und die Unterschiede waren gegenüber der mechanischen Unkrautbekämpfung bei 2-3 % gelegen. 2-3 % Unterschiede kann man aber nicht mehr statistisch absichern. Also es waren praktisch keine Unterschiede, auch bei langfristiger normaler Anwendung erkennbar.
- Peer: Wie fest sind Enzyme an die einzelnen Bodenteilchen und Bodenkolloide bzw. Humuskolloide gebunden? Werden durch Bodenversauerung auch Enzyme ausgewaschen?
- Hoffmann: Wir haben tatsächlich in den 60iger Jahren versucht mit den nur erdenkbarsten Möglichkeiten, die die Enzymchemie kennt, irgendwelche Enzyme vom Boden abzulösen und es ist uns nur gelungen, daß wir die noch verbleibende Restaktivität um 3-4 % heruntersetzt haben, wahrscheinlich weil wir bei den Behandlungen dabei auch Ton beseitigt haben und nicht weil wir Enzyme davon abgelöst haben und das ist die Crux der Geschichte. Wenn Sie bestimmte Mengen an sorptionsfähigen Körpern haben, dann spielt sich offensichtlich ein Wert ein, der auf die jahreszeitlichen Schwankungen erheblich geringer reagiert, als die Mikroorganismen. Und ich nehme an, wenn ein Boden eine ge-

nügend hohe biologische Aktivität entwickelt hat, dann sind die Verluste nur dann eklatant, wenn man etwas mit dem Boden macht, das auf die Dauer die Biologie stört und damit gehen Ihnen auch die Enzyme verloren. Ansonsten ist das ein Wert der sich einspielt und erhalten bleibt.

Th.Beck: Es ist gerade der Vorteil der bodenenzymatischen Untersuchung, daß kurzfristige Schwankungen kaum Einfluß nehmen auf den Enzympegel, sondern erst langfristige Maßnahmen Veränderungen der Mikroflora und des Enzympegels nach oben oder nach unten bewirken.

Danneberg: Eine Frage an Herrn Schinner zu der Darstellung der verschiedenen Enzymmuster und verschiedenen Bodentypen. Sind diese Unterschiede soweit statistisch abgesichert, daß man sie wirklich einem Bodentyp zuordnen kann oder sind das mehr oder weniger Zufallstreffer von einem oder zwei Vertretern eines Bodens.

Öhlinger: Darf ich vielleicht die Frage beantworten. Wir haben damals 7 Bodentypen untersucht. Jeder Typ war durch mindestens 6 Vertreter repräsentiert. Nach den enzymatischen Analysen hat sich dabei bestätigt, daß nämlich rezentere Böden, wie Auböden, deutlich mehr aktiv waren als z.B. der schwere Schlierboden. Die Bodentypen konnten nur durch den spezifischen Versuchsansatz so charakterisiert werden. Eine enzymatische Charakterisierung irgend eines Bodentyps aber ist auf Grund der Relativität der Werte nicht möglich.

Kinzel: Ich würde auch nach den bisherigen Erfahrungen mir noch nicht getrauen ein bestimmtes Enzymmuster einem bestimmten Bodentyp im bodenkundlichen Sinne zuzuordnen. Auch wir haben die Erfahrung gemacht, daß an einem bestimmten Standort ein charakteristisches Muster da ist, das sich über die Jahreszeiten hin relativ gut erhält.

Schuster: Es gibt einen relativ konstanten Enzympegel, der für bestimmte Böden charakteristisch ist. Umgekehrt findet man z.B. direkte Auswirkungen von Chemikalien in Böden, die sich auch wiederum in Enzymaktivitäten widerspiegeln und zwar eben sehr kurzfristig. Das ist also ein gewisser Widerspruch. Oder ein anderes Beispiel, das uns alle interessieren würde, genau zu dem, was Sie vorhin gesagt haben. Ich finde gerade im Jahresverlauf relativ große Schwankungen in der Dehydrogenaseaktivität, untersucht von März bis September. Von März bis zum Monat September, finde ich eine Verdopplung der Werte, also 100% Unterschied auf einer unbehandelten Fläche. Deshalb frage ich mich jetzt, wenn wir Böden charakterisieren wollen, z.B. an Hand der bodenmikrobiologischen Kennzahl, ist es dann nicht sehr entscheidend, ob wir im März Proben ziehen sollen oder erst im April, oder noch später, - und

welcher Bodenfeuchtegrad gerade herrscht.

Th.Beck: Sie legen hier sicher den Finger in einige Wunden. Zunächst, haben Sie Zahlen auf einen einheitlichen Humusgehalt bzw. Trockensubstanz bezogen? Denn der Humusgehalt wird Schwankungen aufweisen, natürlich nicht jahreszeitlich, sondern vom Standort wegen der Mikrostandortsunterschiede. Sie müssen also auf einen Humusgehalt hin Ihre Werte ausrichten. Nur die Standortsunterschiede kommen bei der Probenahme heraus, es sei denn Sie haben, wie ich das anfangs erwähnt habe, einige 100 Einzelproben genommen und sich daraus Mischproben gezogen. Dann werden Sie natürlich einen einheitlichen Humusgehalt das ganze Jahr über haben auf einer Fläche. Wenn Sie aber nur vergleichsweise wenig Proben ziehen, kann Ihnen der Humusgehalt zunächst einmal sogar um 20 % schwanken.

Schuster: Ich habe auf einer Fläche von 20 m² 40 Einstiche gemacht und habe das 4 x jeweils untersucht und insgesamt 18 x in diesen 6 Monaten.

Th.Beck: Wir haben eine Publikation laufen, die vielleicht in 2 Monaten herauskommen wird und hier war der Enzymgehalt auf einer Grünlandfläche verfolgt worden, wo noch kein Eingriff von der Bodenbearbeitung her da war. Der Enzymgehalt war nahezu konstant über 5 Probenahmezeitpunkte bis zu 1 1/2 Jahren. Wir haben dasselbe gemacht auf einer Ackerfläche, auf einem Kartoffelstandort und zum anderen auf einem Getreidestandort und hier haben wir natürlich Schwankungen gefunden. Im Sommer waren Depressionen bemerkbar, im Winter erfolgte wieder ein Anstieg. Es muß ja auch so sein, denn überlegen Sie sich von der Rhizosphäre geht ein Einfluß auf die Mikroflora aus. Es werden also etwa im Herbst durch den Bestandesabfall sehr viel mehr Mikroorganismen vorhanden sein, die auch mehr Enzyme bilden. Daß es hier Schwankungen geben wird, die in Abhängigkeit vom C_t-Eintrag stehen, ist zu erwarten.

Schuster: Dann frage ich mich nach wie vor um so mehr nach dem Sinn einer mikrobiologischen Kennzahl, wenn Sie doch von so vielen Faktoren abhängig ist, die nicht standortsspezifisch sind, sondern die letztlich eben der natürlichen Schwankung an jedem Standort, wieder unterschiedlich vom Standort zu Standort, eben entspricht.

Th.Beck: Bei Stahdorten wie bei Mais, die über einen langen Zeitraum keine Vegetation haben bzw. die Vegetation relativ spät einsetzt, müssen Sie selbstverständlich auch mit Veränderungen der mikrobiologischen Eigenschaften auf diesem Standort rechnen und wenn Sie solche Felder untersuchen wollen, müssen Sie im Frühjahr und Sommer und im Herbst messen. Sie haben in jedem Fall eine Kontrolle dabei, sodaß

Sie die Ausschläge, die Sie irgendwie erwarten, auf die Kontrolle abstimmen müssen.

Hoffmann: Wenn Sie Oxydoreduktasen untersuchen, werden Sie im allgemeinen größere Ausschläge finden, als wenn Sie Hydrolasen untersuchen. Es fragt sich, wenn man ein System aufbaut, wie man die einzelnen Enzyme in dem System gewichtet. Wenn man also diejenigen, die sich stärker verändern, geringer wichtet, dann würde man einen besseren Mittelwert bekommen. Diese Frage muß man durch eine große Reihe von Untersuchungen klären.

Th.Beck: Wenn wir solche Felder untersuchen über langfristige Auswirkungen irgend einer Behandlungsweise, so gehen wir im zeitigen Frühjahr d.h. also in etwa im Februar hinaus und zwar bevor der Mineraldünger normalerweise auf den Feldern ausgebracht wird, weil bis zu diesem Zeitpunkt der Bestandesabfall schon weitgehend mineralisiert sein wird und der Einfluß etwa der Düngung und auch der Rhizosphäre in dem Zeitpunkt noch sehr gering ist. Wir prüfen also immer einheitlich im Februar und wenn es notwendig ist vielleicht auch nach der Ernte.

Foissner: Als Zoologe würde mich interessieren, wo sich auf einem Tonmineral die Enzyme befinden. Dies müßte man doch z.B. durch eine Antikörperbildungsreaktion nachweisen können. Ich erinnere doch daran, daß man in der Zellbiologie genau weiß, wo die Enzyme sitzen. Es ist ja auch interessant, wie sie auf einem Tonmineral verteilt sind.

Hoffmann: Sie sitzen tatsächlich überall dort, wo irgend ein mineralischer sorptionsfähiger Körper reichlich mit Humus vergesellschaftet ist und sie befinden sich tatsächlich in den feineren Schlufffraktion, die mit Humus umhüllt sind. Wir glauben, daß mit Ausnahme der Urease, wo McLAREN vor 20 Jahren nachgewiesen hat, daß jene entlang der Tonminerale wandern kann und sich dann anreichert, sie tatsächlich in den Schlufffraktionen und vorwiegend in den Teilen, die mit Wasser fraktioniert, obenauf schwimmen, sind. Mit einer normalen mikroskopischen Untersuchung bekommen Sie kein Enzym zu sehen.

Foissner: In der Zellbiologie wird z.B. mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie hier gearbeitet.

Hoffmann: Ja, allerdings da sehen Sie vorwiegend die Zellen selbst nicht aber die Enzyme, die in der Größenordnung von 10^{-6} oder 10^{-7} liegen und daher kaum als Individuen sichtbar werden können.

Angermayr: Wie hoch waren die N-Verluste durch Belüftung der Gülle.

Öhlinger: Laut BUCHGRABER brachte die Belüftung der Gülle und der Jauche einen Stickstoffverlust von 5,2 bzw. 13,2 %.

- Nestroy: Eine kurze Frage an Frau Kandeler. Sie haben erwähnt oder aufgezeigt die starke Zunahme von Zink, Kupfer und Blei und haben gesagt es sind häusliche Klärschlämme. Wie kann man sich diesen plötzlichen Anstieg erklären.
- Kandeler: Es sind Relativwerte. Die Standardparzelle besaß z.B. einen Zn-Gehalt von 58 ppm und die klärschlamm-behandelte Fläche einen Gehalt von 100 ppm Zn. Der Anstieg hier ist also 40 %. Zudem waren die Gaben an Klärschlamm relativ hoch.
- Danneberg: Darf ich vielleicht als Ergänzung dazu etwas erklären. Der Schlamm hatte einen Zinkgehalt von 2000 ppm wie in den allermeisten Fällen. Es gibt kaum Klärschlämme, deren Zinkgehalt wesentlich darunter liegt. Daher auch der deutlich meßbare Anstieg des Zinks. Die Kupfer und Bleigehalte sind mir jetzt nicht mehr erinnerlich, sie lagen aber unterhalb der tolerierbaren Grenzwerte für landwirtschaftlich verwendbare Schlämme. Es erfolgte bei diesem Versuch mit einer Ausnahme, nämlich nach Zuckerrübe, jährliche Applikationen von Klärschlamm. Das erklärt vielleicht diese Anreicherung. Ich meine auch, daß recht deutlich die Problematik der zeitlichen Schwankungen herausgekommen ist. Wir haben es in beiden Fällen mit Proben, die aus Feldversuchen stammen, zu tun und die infolgedessen in einem durch die Versuchsbehandlung gegebenen Rahmen eingepaßt sind. Wenn ich mir die Ergebnisse von Frau Kandeler in Erinnerung rufe, dann zeigt es sich, daß die Versuchsbehandlungen sich im wesentlichen an den Enzymmustern oder Enzymhöhen etwa herausholen lassen, allerdings auch mit starker Überlappung der organischen einzelnen Versuchsvarianten, sodaß eigentlich differenziert werden kann im Prinzip zwischen der Nullvariante, der Mineraldüngung und der organischen Düngung. Ich sehe beim derzeitigen Stand der Dinge eine sehr große Schwierigkeit für Proben, die nicht in einem solchen Bezugsrahmen stehen, sondern nach Art der konventionellen Bodenuntersuchung mehr oder weniger anonym und namenlos da sind, wo man also jetzt Enzyme allein nach der Höhe einer gefundenen Laboratoriumszahl einzustufen hätte. Ich würde beim derzeitigen Stand der Dinge eigentlich sagen, daß das vorläufig nicht geht.
- Th.Beck: Ich würde Ihnen auch beipflichten. Wenn Sie eine anonyme Probe haben, können Sie allein auf Grund des Absolutgehaltes eines Enzyms oder einer Biomasse kaum Aussagen machen. Sie können sich ein bißchen noch helfen wenn Sie auf den C_t -Gehalt Rücksicht nehmen. Der Wert solcher Untersuchungen aber liegt immer in einem Vergleich zu unbehandelten Kontrollen, wie bisher auch aufgezeigt wurde.

Schinner: Ich möchte nochmals den Stellenwert der Bodenbiologie hervorheben. Die Bodenbiologie erhebt keinesfalls den Anspruch eine Alternative zur konventionellen Bodenkunde zu sein, sondern sie ist lediglich als ergänzend zu betrachten für Dinge, die die Bodenkunde gegenwärtig nicht in der Lage ist zu beurteilen.

Nestroy: Mir scheintes aufgrund der Vorträge, aufgrund der Diskussion, daß sich unser Idealbild, die schönste Vorstellung, ein Konnex zwischen Bodentyp und Bodenform und Enzymaktivität sich mehr und mehr eigentlich entfernt. Wir haben von den Vorträgen gehört und ich werde sie dann kurz anführen, daß die Enzymaktivität vom Jahreszyklus d.h. von der Temperatur und von der Feuchtigkeit und von der gerade erfolgten Behandlung abhängig ist und somit mehr oder minder der Bodentyp so ins out gedrängt wird und daher dieser Konnex immer mehr und mehr schwindet.

Kinzel: Wir müssen natürlich bedenken, daß wir mit diesen bodenbiologischen Methoden dort sind, wo die heute konventionelle Methodik vor 50-60 Jahren gewesen ist. Wir haben natürlich auch zuerst getestet und dann hat sich im Laufe der Jahrzehnte ein ungeheurer Erfahrungsschatz gesammelt, auf Grund dessen sich nun die Situation konsolidiert hat und wir sind natürlich in der Bodenbiologie auch noch in der Phase des Tastens bezüglich der Faktoren, von denen die Enzymaktivitäten abhängen, vor allem für die Frage, ob jetzt einzelne Absolutwerte aussagekräftig sind oder Relationen verschiedener Parameter zueinander. Hier sind wir vorläufig beim Sammeln von Erfahrungsmaterial und wir wissen nicht, wie lange es noch dauern wird, bis wir wirklich solide Aussagen machen können.

Nestroy: Ich sehe nach wie vor eigentlich die Notwendigkeit für solide Aussagen, daß jahreszyklische Untersuchungen notwendig sind! Daß eine Untersuchung sozusagen nichts ist, wie ich das jetzt ganz extrem ausdrücken darf und daß wir über die Vegetationsperiode verteilt zu möglichst genau definierten Zeitpunkten, das ist auch eine Frage wie weit wir das definieren können, hier die Untersuchungen machen sollen. Wenn gesagt wurde, daß eine Erhöhung der Temperatur um 10° C eine Verdopplung der Aktivität zur Folge hat, so muß zum Zeitpunkt der Probenahme Klarheit über das jeweilige Wärme- und Wasserregime des Bodens bestehen.

Hoffmann: Man kann Bodentypen über gewisse Enzymaktivitäten sicher nicht über die Krume allein charakterisieren. Man könnte sich auch fragen, ob es charakteristische Tiefenfunktionen für einzelne Typen gibt und ich könnte mir vorstellen, daß man einen Grund

wasserboden eventuell bodenenzymologisch sehr gut durch die Unterschiede zwischen oben und unten charakterisieren könnte. Das wäre also sicher eine Möglichkeit aber dazu fehlt uns leider Gottes der Erfahrungsschatz, denn man hat sich eben bisher vorwiegend in Versuchen auf terrestrischen Böden, die in der breitesten landwirtschaftlichen Nutzung lagen, beschränkt. Ebenso möchte ich feststellen, daß es eine andere Frage ist zu wissen, was ist eine hohe und eine niedrige Aktivität. Hier könnte es durchaus sein, daß wir von der bisherigen Praxis bodengewichtsbezogene Enzymaktivitäten weg müssen und daß wir uns eine Bezugsgröße suchen müssen, die einzelne Parameter bereits ausschließt, also z.B. daß wir beziehen auf die organische Substanz oder daß wir ein Mischwerk aus organischer Substanz und irgendwelchen Texturgrößen finden. Aber da stehen wir völlig am Anfang.

Th.Beck: Ich würde dafür plädieren eine solche Bezugsgröße im Humusgehalt des Bodens zu sehen, denn da wären bis jetzt die eindeutigsten Beziehungen und ich denke, die Beziehung zum Humusgehalt überlagert sehr viele andere Faktoren, etwa die Struktureigenschaften, die ja kaum geprüft worden sind, denn fast alle haben nur die Krumböden untersucht. Der Bodentyp ist aber doch eine Funktion des Bodenaufbaues. Also wie wollen wir auf einen Bodentyp schließen, wenn wir nur z.B. die ersten 10 cm untersuchen. Dann kommt noch die Bodenbearbeitung, Wiesböden unbearbeitet, Ackerböden immer mit Umschichtung. Wir haben z.B. festgestellt, daß im Frühjahr sehr häufig die Aktivität am höchsten ist in der mittleren Schicht zwischen 10 und 25 cm und erst gegen Herbst die Aktivität erst wieder in der Krume am höchsten ist. Alle diese Dinge sollten im Zuge einer Materialsammlung erst erarbeitet werden.

Hoffmann: Selbstverständlich ist die Probenahme bei diesen Untersuchungen die größte Schwierigkeit und deshalb, Frau Kandeler, wenn Sie z.T. 100 % in der Aktivität Unterschied gefunden haben, dann kann das darauf zurückzuführen sein, daß die Probenahmetiefe sich um 1 cm geändert hat.

Danneberg: Mir ist vollkommen klar, daß alles völlig am Anfang steht und daß auch die bislang vorliegenden Daten, vor allem die des heutigen Nachmittages, im Augenblick nur Material geben, das den Einfluß von Zeit und damit von Witterungsfaktoren auf der einen Seite und von Behandlungsfaktoren zeigt. Die Streuungsursache aus der Bodenentstehung ist eigentlich außer den Daten von Herrn Schinner heute im Laufe dieser Diskussion sehr in den Hintergrund getreten. Da gibt es offensichtlich noch zu wenig Material allenfalls zu ergänzen und zu vergleichen mit den anderen Streuungsursachen im Rahmen einer sehr breit angelegten statistischen Verrechnung.

Ich möchte das nur deswegen so unterstrichen haben, weil ich allfälligen Erwartungen der landwirtschaftlichen Praxis, daß aus diesen Methoden jetzt demnächst eine aussagekräftige Routine würde, etwas dämpfen möchte.

- Edelbauer: Als Pflanzenbauer würde mich interessieren, ob jemanden von den Vortragenden Erfahrung hat mit dem Einfluß der Vorfrucht bei gleichen Bodentyp auf Bodenenzyme.
- Th.Beck: Ich habe ein Beispiel ganz zum Schluß gebracht, das den Einfluß der Vorfrucht Klee mit dem Einfluß der Vorfrucht Kartoffel bei Getreidevarianten vergleicht. Dabei ist herausgekommen, daß bei allen geprüften Parametern ganz eindeutig die Leguminose der Kartoffel als Vorfrucht überlegen war.
- Wimmer: Bei einem von unserer Anstalt betreuten Fruchtfolgeversuch werden auch bodenenzymatische Untersuchungen durchgeführt. Dabei zeigte es sich, daß die einzelnen Früchte, im Ablauf der Fruchtfolgen sehr große Aktivitätsunterschiede aufwiesen, z.B. Mais hat jeweils in einer Fruchtfolge recht schlecht abgeschnitten, ebenso auch Zuckerrübe. Das Getreide lag insgesamt gut und eine Getreidemonokultur mit Raps als Zwischenfrucht wies besonders hohe Aktivitäten auf, obwohl sonst die Monokulturen in der Aktivität relativ schwach waren.
- Peer: Ich habe voriges Jahr die Enqueteproben der ALVA enzymatisch untersucht, und zwar die lufttrockene Bodenprobe. Ich habe verschiedenste Enzyme untersucht und auf Humus bezogen und hatte dadurch sehr gute Kombinationen zwischen den einzelnen Enzymaktivitäten bekommen und dadurch auch eine Reihung der Proben aufgestellt. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die Proben, die ich als beste und aktivste bewertet habe, tatsächlich die tiefgründigsten und die fruchtbarsten Böden waren. Das war vielleicht ein Glücksfall, aber es zeigt auch doch, daß man mit anonymen Proben, wenn man entsprechend viele Enzyme untersucht, hier zu einer Aussage kommen kann.
- Schinner: Ich möchte nochmals auf die Bemerkung von Herrn Nestroy und Herrn Danneberg zu sprechen kommen, da ich glaube, nicht überhört zu haben, daß gewisse Vorbehalte eingebracht werden. Ich wiederhole mich nochmals. Die Bodenbiologie steht in keiner Weise in Konkurrenz zur Bodenkunde. Sie brauchen keine Angst haben. Wir versuchen nur dort, wo das Latein der gegenwärtigen Bodenuntersuchung am Ende ist, anzusetzen.
- Hoffmann: Vielleicht darf ich dazu sagen, daß es im Grunde ein Chemiker war, der die Bodenenzymatik eingeführt hat. Also bei der Bodenkunde besteht sicher keine Angst.

Th.Beck: Sie meinten, daß es vielleicht ein Zufall gewesen sein könnte, daß die tiefgründigsten und fruchtbarsten Böden den höchsten Enzymgehalt besaßen. Ich glaube so ist es nicht. Wir haben über hunderte von Böden untersucht und kennen auf Grund der Ertragslage und der sonstigen Eigenschaften den Fruchtbarkeitszustand der Böden. Wir haben kaum Ausnahmen in den Enzymaktivitäten, diesen genau so gut zu kennzeichnen. Also diese Gesetzmäßigkeit, glaube ich, als gegeben anzusehen.

Walter: Herr Öhlinger, gibt es eine Erklärung dafür, warum die Versuche, die mit Mineraldünger gedüngt worden sind, am schlechtesten abgeschnitten haben.

Öhlinger: Die mineralischen Varianten lieferten zwar nach BUCHGRABER hohe Erträge waren aber auf der anderen Seite nicht in der Lage, die bodenenzymatische Aktivität ähnlich zu fördern, wie die anderen Varianten. Dies ist auf die einseitige Düngungsart zurückzuführen, die ohne Zufuhr an organischer Substanz operiert. Die Zufuhr von organischer Substanz also, wie sie bei den Stallmist-Jauche und Gülle System gewährleistet ist, war bei richtiger zeitlicher Anwendung für das Bodenleben förderlich.

Kinzel: Natürlich freut es einen als Statistiker, wenn er eindeutige Korrelationen findet. Aber habe ich hier richtig verstanden, daß alle Enzymaktivitäten in gleicher Weise mit dem Humusgehalt korrelieren. Denn dann könnten wir uns die Enzymaktivitätsbestimmung ersparen. Wir brauchen dann überhaupt nur noch den Humusgehalt zu bestimmen. Meiner Erfahrung nach bilden verschiedene Enzyme verschiedene Muster und man kann einzelne Enzymaktivitäten sehr wohl auf den Humusgehalt beziehen, jedoch gibt es auch bei den auf den Humusgehalt bezogenen Enzymaktivitäten verschiedene Verteilungsmuster, die für verschiedenartige Böden charakteristisch sind. Sonst wäre eigentlich diese statistische Angabe der Anlaß dazu, die Enzymaktivitätsbestimmung aufzugeben.

Th.Beck: Also diese enge Korrelationen treffen nur zu im Mittel von sehr vielen Böden. Im Einzelfall weicht es natürlich sehr stark ab. Diese Einzelfälle sind ja sehr interessant, denn daraus können wir Folgerungen ziehen auf die Stabilität der organischen Substanz.

Nestroy: Bei allen Daten und Kurven, die wir heute gesehen haben, war die Lokalisierung, wo genau die Probe ist und vor allem gewonnen worden ist meiner Meinung nicht ganz vollständig. Es waren nur die ungefähren allgemeinen Angaben des Bodentyps, Braunerde, Braunerde aus Schlier, das kann sehr breit sein. Es war keine genaue Horizontangabe angegeben. Müßte man nicht auch vor allem neben der Tiefe auch die Funktionen, also den Horizont, der ja dem Bodengenetiker sehr viel sagt, hineinbringen. Vielleicht könnte man auch

auf diese Weise etwas näher herankommen, um zu sehen, ob die Kombinationen möglich sind, um dann bessere Ableitungen erzielen zu können.

Schuster: Wenn Herr Beck feststellt, daß gute Korrelationen zwischen Enzymwert und Bodenfruchtbarkeit bestehen, möchte ich wissen, mit was korreliert man genau, wenn man Bodenfruchtbarkeit meint ?

Th.Beck: Bodenfruchtbarkeit bezeichnet man gemeinhin als nachhaltige Kraft des Bodens. Es ist nicht der augenblickliche Ertrag eines Bodens, sondern die Tatsache, daß ein Boden über einen langen Zeitraum bei unterschiedlicher Bewirtschaftungsweise hohe Erträge liefern kann.

Schuster: Wie faßt man das quantitativ, um so eine Aussage zu treffen ?

Th.Beck: Man kann keine Kurzzeitversuche heranziehen, sondern nur Langzeitversuche, in denen der Ertrag über einen langen Zeitraum gemessen worden ist. Sie können natürlich auch bodenphysikalische Faktoren heranziehen, aber auch keine Momentaufnahmen.

Edelbauer: Es ist heute verschiedentlich angeklungen, daß der Mais die Aktivität dieser geprüften Enzyme herabsetzt, andererseits kann die C4 Pflanze enorme Kohlenhydratmengen in die Rhizosphäre stopfen und damit auch die assoziierten Stickstoffbinder, die freilebenden, fördern. Ich könnte mir fast vorstellen, daß andere, heute nicht geprüfte Enzymaktivitäten doch vorhanden sind, die sehr nachhaltig wirken. Würden Sie nicht auch meinen, daß man mit den heute angeführten Enzymen nicht alles erfaßt hat und unter Umständen einige wesentlich zur Charakterisierung einbauen könnte.

Hoffmann: Tatsache ist, daß natürlich eine ganze Menge Enzyme ganz offensichtlich in verschiedenen Böden ganz besondere Funktionen haben. Ich könnte mir also denken, daß man, z.B. wenn man jetzt bestimmte Fähigkeiten eines Bodens charakterisieren wollte, in den Umsatz einer bestimmten Bindungsart einsteigen müßte. Aber da stehen wir im Moment ganz am Anfang. Vielleicht könnte man mit den Polyphenoloxidasen etwas machen, aber man weiß es nicht.

Boltenstern: Es wurde die Stickstofffixierung der heterotrophen Stickstoffbinder angesprochen. Ich habe Untersuchungen in den landwirtschaftlichen Böden gemacht und es zeigte sich, daß es bei den landwirtschaftlichen Böden durchwegs keine Aktivitäten der Stickstoffbinder gab oder nur sehr gering freilebende Stickstoffbinder vorhanden waren und ich führe das zurück auf die Wirkung des Pflügens, weil damit die Bodenstruktur zerstört wird und dann ein hoher Sauerstoffeintrag

stattfindet, der die sauerstoffempfindlichen Stickstoffbinder inaktiviert. Ich habe z.B. denselben Effekt, wenn ich einen Bodenzylinder nehme, habe ich dort eine hohe Stickstoffbindung und wenn ich diese Struktur zerstöre und den Boden siebe, ist die N-Fixierung gleich null.

Nestroy: Eine Struktur wird durch das Pflügen, glaube ich, nicht zerstört, sie wird beeinflusst.

Alef: Die Stickstofffixierung, die Sie gemessen haben, ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß in Ihrem Boden Nitrat bzw. Ammonium vorhanden war. Ich glaube, daß etwa 1 ppm Ammonium schon ausreichend wäre, um die Nitrogenaseaktivität in dem Boden zu messen. Haben Sie gemessen, wieviel Nitrat und Ammonium in dem Boden war ?

Boltenstern: Es wurde bei allen Böden auch der Mineralstickstoffgehalt gemessen und auch die Mineralisierung von Stickstoff über einen längeren Bebrütungsversuch und da hat sich herausgestellt, daß bei allen untersuchten Böden nur bei einem einzigen ein Stickstoffgehalt vorhanden war, der die Stickstofffixierung hätte hemmen können. Laut Literaturangaben liegen die Werte ungefähr bei 100 ppm.

Foissner: Als Zoologe frage ich mich, wohin die Enzyme eigentlich kommen, nachdem sie so stabil sind und das sogar bei hoher Hitze. Hat man eigentlich die Ausscheidungen von den Regenwürmern untersucht, ob diese entsprechende Enzymmengen besitzen.

Hoffmann: Also wir haben die Regenwürmer geplagt und haben sie entsprechend ausgestreift und haben sie mit dem umgebenden Boden verglichen. Bezogen auf das Gewicht war die Aktivität in den Regenwurmexkrementen beträchtlich höher als im umgebenden Boden. Bezogen auf die organische Substanz waren sie gleich groß und da sind wir, vielleicht aus ihrer Sicht zum dummen Schluß gekommen, daß der Regenwurm die Bodenenzyme aufgenommen hat, sie dabei akkumulierte und danach wieder abgab. Wir nehmen auf Grund der Untersuchungen im Analogieschluß an, daß wirklich die wesentlichsten Enzymproduzenten eben nicht die Regenwürmer, sondern die Mikroorganismen, wovon die tierischen Mikroorganismen natürlich auch zählen, sind.

Th.Beck: Man nimmt allgemein an, daß der Nachstrom und die Mineralisierung der Enzyme, die ja Biokatalysatoren sind, sich etwa die Waage halten und sich daher ein unterschiedliches Enzymniveau bzw. ein unterschiedlicher Enzympegel im Boden einstellt. Im übrigen haben wir auch Regenwürmerkot auf den Enzymgehalt analysiert und haben genau die gleiche Erkenntnis gewonnen, daß der Enzymgehalt wesentlich höher ist bezogen auf den C_T-Gehalt. Auch der Mikroorganismengehalt ist im Regenwurmboden entsprechend

erhöht.

W.Beck: Meine sehr geehrten Damen und Herren. Ich möchte Sie an diesem Abend, an dem wir viele neue Eindrücke gehabt haben, nicht mehr belasten. Wir haben alle ein Taster nach neuen Wegen gesehen und man könnte fast mit Gustav Adolf sagen "Verzage nicht du Häuflein klein ...!" Ich glaube, daß wir in wenigen Jahren doch viel mehr wissen. Ich möchte vor allem und entschuldigen Sie das Wort, unserer alten Garde danken, die heute hier erschienen ist, um uns zu zeigen, was in den letzten 20 - 30 Jahren an Grundlagen geschaffen worden sind und möchte unserer jungen Garde, die auch in Österreich vor allem recht aktiv geworden ist, aber auch jene in Deutschland, auffordern hier auf dem Gebiet weiterzutun. Wir brauchen sicherlich diese Untersuchungen in einer Zeit, wo die Analytik immer genauer wird, wo immer neue dringende Fragen auftauchen. Ich appelliere an den Idealismus, an den Optimismus der jungen Leute, trotz all der Schwierigkeiten, hier weiterzuforschen. Man könnte noch viel sagen, Herr Gusenleitner hat die Frage angeschnitten, wo nach dem Beispiel etwa der N_{min} -Untersuchungen ein bestimmter Zeitpunkt zu finden ist, zu dem man untersuchen sollte. Hier gibt es noch ungeklärte Fragen, die uns sicherlich in der nächsten Zeit noch bewegen werden. Es ist ebenso klar, daß Chemiker und Biologen die speziellen Probleme der Bodenkunde erfassen müssen, aber auch umgekehrt natürlich. In diesem Sinne darf ich Ihnen herzlich für Ihr Kommen danken und darf Sie bitten weiterhin unseren Symposien treu zu bleiben.

Danneberg Otto, Doz.Dr.	Bundesanstalt f. Bodenwirtschaft, Denisgasse 31, 1200 Wien
Dannek Karoline, Dr.	Versuchsanstalt f. Gartenbau Schönbrunn, Grünbergstr. 24 1131 Wien
Ditzelmüller Günther, Dr.	Techn. Univ., Inst.f. Biochemie Getreidemarkt 9, 1060 Wien
Dresbach Christoph, Dr.	Weberstr. 59-61, LUFA, D-5300 Bonn
Eckersdorfer Elfriede	Löwengarten 1, 4082 Aschach
Edelbauer Anton, Doz.Dr.	Univ.f.Bodenkultur Gregor Mengelstr. 33,1180 Wien
Eder Gerfried, Dipl.Ing.	Bundesanstalt Gumpenstein 8952 Irnding
Eisenhut Max, Dr.	Bundesanstalt f. Bodenwirtschaft Morellenfeldg. 28, 8010 Graz
Feichtinger Franz, Dipl.Ing.	Bundesanstalt f.Kulturtechnik u. Bodenwasserhaushalt, 3252 Petzen- kirchen
Figl Elisabeth	Döblinger Hauptstr.36/10,1190 Wien
Fink Herbert	Fa. Agrosserta-Biosonn,Dr.Auner- Str.22, 8042 Graz-Raaba
Finkernagel Regina, Mag.	Meinhardstr. 10, 6020 Innsbruck
Fischerlehner Johanna	Landw.-chem. Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Foissner Wilhelm, Doz.Dr.	Zool.Inst.,Univ.Salzburg, Akademiestr. 26, 5020 Salzburg
Fraass, Dipl.Ing.	Fa. BASF, Hietzinger Hauptstr.119 1130 Wien
Gaigg Walter, Dipl.Ing.	Vertriebsges.f.Kalidüngemittel mbH Tuchlauben 7a, 1014 Wien
Galler Joseph, Ing.	LWK Salzburg, Schwarzstr. 19 5020 Salzburg
Gaschler Eugen, Dipl.Ing.	Zuckerfabrik Leopoldsdorf, 2285 Leopoldsdorf/Marchfeld
Gefkem Torsten	Univ.Bremen, Leobenerstr. D-2800 Bremen
Gehlen Peter	Abt. Bodenkunde, Univ.Trier D-5500 Trier

Gemeinhardt Günther	Defreggergasse 5, 4050 Traun
Gerzabek Martin, Dipl.Ing.	Inst.f.Landwirtschaft, FZ Seibersdorf, 2444 Seibersdorf
Gfreyter Isabella	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr.8, 4025 Linz
Göbl Friederike, Dr.	Forstl.Bundesversuchsanstalt Hofburg 1, 6020 Innsbruck
Gök Mustafa, Dipl.Ing.	Inst.f.Bodenkunde, Univ.Hohenheim Emil-Wolff-Str.27,D-7000 Stuttgart 70
Gommeringer Gerhard, Dipl.Ing.	Deut.Hyperphosphat GmbH, D-6501 Budenheim
Grall Heide, Dipl.Ing.	Univ.f.Bodenkultur, Inst.f. Bodenkunde, Gregor Mendelstr.33,1180 Wien
Grieszler Barbara, Dr.	Inst.f.Pflanzenphysiologie, Althanstr.14, 1090 Wien
Gruber Friedrich, Dr.	"Bodenkalk", Keplerstr.32, 8020 Graz
Gurtner Friedrich, FL	LBFS Otterbach
Gusenleitner Josef, HR.Dr.	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr.8, 4025 Linz
Hacker Heinrich, HR.Dipl.Ing.	Glatzg. 4/21, 1190 Wien
Haudum Johann, Dipl.Ing.	LBFS Kirchsschlag
Haunold Ernst, Prof.Dr.	Inst.f.Landwirtschaft, FZ Seibersdorf, 2444 Seibersdorf
Heindl Mathilde	Landw.-chem. Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Herzan Gerhard	Türkisgasse 10, 1210 Wien
Hoffmann Georg, Prof.Dr.	Innichnerstr.1, D-8050 Freising
Hofstadler Franz, Dipl.Ing.	Hadersdorf 12, 4211 Alberndorf
Holz Friedhelm, Dr.	Landw. Forschung Hanninghof d. Ruhr-Stickstoff AG, D-4408 Dülmen
Holzlechner, Dipl.Ing.	LBFS Freistadt
Horner Franz, Dr.	Bundesanst.f.Bodenwirtschaft Denisgasse 31, 1200 Wien
Huber Roland, Dipl.Ing.	LBFS Freistadt
Hübner, Dipl.Ing.	TU Wien, Getreidemarkt 9, 1060 Wien

Ilk Friedrich, Ing.	LBFS Lambach
Insam Heribert, Dr.	Bundeforschungsanst. f. Landwirtschaft, Inst.f.Bodenbiologie, Bundesallee 50, D-33 Braunschweig
John Ernst, Dr.	TU Wien, Inst.f.Biochemie, Getreidemarkt 9, 1060 Wien
Kalab Gerda	Landw.-chem. Bundesanstalt Wieningerstr.8, 4025 Linz
Kandeler Ellen, Dr.	Bundesanst.f.Bodenwirtschaft, Denisgasse 31, 1200 Wien
Kauss Annette	Studentenwohnheim Tarforst I, 302, D-5500 Trier-Tarforst
Kesselring Heinz, Dr.	Landw.-chem.Landes-Ver-u.Untersuchungsanst., Burgg.2,8010 Graz
Kinzel Helmut, Prof.Dr.	Inst.f.Pflanzenphysiologie, Althanstr.14,1090 Wien
Kinzlbauer Herta	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Klinglmair Berthold, Ing.	LBFS Vöcklabruck
Köchrl Arnold, Dipl.Ing.	Landw.-chem.Bundesanstalt Trunnerstr. 1, 1020 Wien
Koppenberger Inge	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr.8, 4025 Linz
Kowalczyk Thomas	Bahnhofstr. 26, D-5500 Trier
Kutscha-Lissberg Peter, Dipl.Ing.	Reitherstr. 21-23, 3430 Tulln
Lanner Stephan	Anzengruberg.11/21, 1050 Wien
Leder Norbert, Dipl.Ing.	BA f.Kulturtechnik u. Bodenwasserhaushalt, 3252 Petzenkirchen
Leinert Edda, Ing.	Landw.-chem. Bundesanstalt Trunnerstr. 1, 1020 Wien
Lew Hans, Dr.	Landw.-chem. Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Linher Otto	Alte Landstr. 37, 6820 Frastanz
Löhnertz Otmar, Dipl.Ing.	Inst.f.Bodenkunde u.Pflanzenernährung, D-6222 Geisenheim
Loub Walther, Prof.Dr.	Inst.f.Bodenforschung, Univ.f. Bodenkultur, Gregor Mendelstr. 33, 1180 Wien

Lübke Uta	Untererleinsbach 1,4722 Peuerbach
Margesin Rosa	Botanikerstr. 1, 6020 Innsbruck
Meditz Waldemar, Dipl.Ing.	LBFS Kirchsschlag
Mühlhölzl Walter, Dr.	Bayer.Staatsministerium , Rosenkavalierplatz 2, D-8 München 81
Munk Harald, Dr.	Versuchsanst.Kamperhof, Mintarder Str. 264, D-4330 Mülheim-Saarn 13
Mursch Franz, Ing.	LBFS Altmünster
Mutsch Franz Dr.	Forstl. BVA Schönbrunn, 1131 Wien
Natter Franz, FL	Rheinhofstraße 16, 6845 Hohenems
Nelhiebel Peter, Dipl.Ing.	Bundesanst.f.Bodenwirtschaft, Denisgasse 31, 1200 Wien
Nestroy Othmar, Prof.Dr.	Inst.f.Geographie, Universitätsstr. 7, 1010 Wien
Neugebauer Ingrid, Dipl.Ing.	HBLA St.Florian, 4490 St.Florian
Neuwinger Irmentraud, Dr.	Forstl.BVA, Rennweg 1, 6020 Innsbruck
Nowak Horst, Dr.	Umweltbundesamt, Biberstr.11, 1010 Wien
Öhlinger Richard, Dipl.Ing.	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Otzelberger Kurt, Dr.	Landw.-chem.Bundesanstalt Trunnerstraße 1, 1020 Wien
Peer Thomas, Doz.Dr.	Inst.f.Botanik, Freisaalweg 16, 5020 Salzburg
Pichler Heidelinde	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Plakolm Gerhard, Dipl.Ing.	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Puchwein Wolfgang, Dipl.Ing.	Landw.-chem. Landes-Vers.-u. Untersuchungsans., Burggasse 2, 8010 Graz
Reh Gerald, Ing.	Landw.-chem.Bundesanstalt, Trunnerstraße 1, 1020 Wien
Roth Klaus, Ing.	Landw.-chem. Bundesanstalt Trunnerstraße 1, 1020 Wien

Rothmeier Hubert, Dr.	Deut.Hyperphosphat GmbH, D-6501 Budenheim
Rössner Hugo, Mag.	Zuckerforschungsinst.,Fuchsenbigl 2286 Fuchsenbigl
Schäfer Andreas, Dipl.Ing.	Donau Reno Hyperphosphat GmbH., Am Heumarkt 10,1037 Wien
Schaller Klaus, Prof.Dr.	Inst.f.Bodenkunde u.Pflanzen- ernährung,D-6222 Geisenheim
Scheuwimmer Franz, Dipl.Ing.	LBFS Katsdorf
Schifferegger Robert	Inst.f.Mikrobiologie, Techniker- str. 25, 6020 Innsbruck
Schinner Franz, Dr.Do.	Inst.f.Mikrobiologie, Univ.Inns- bruck,Technikerstr. 25, 6020 Innsbruck
Schmoigl Karl, Ing.	OÖ.LWK, Auf der Gugl 3, 4021 Linz
Schott Wolfgang	Bisambergstr.21, 2100 Korneuburg
Schuster Evi, Dipl.G.	Univ.Trier,Abt.Bodenkunde, D-5500 Trier
Schwarz Sigrid	Gilmg. 7/4, 1170 Wien
Siegenthaler Christoph, Mag.	Inst. f.Botanik, Univ.Salzburg, Freisaalweg 16, 5020 Salzburg
Smoliner Christian, Dr.	BM f. Wissenschaft u.Forschung Abt. 23, Freyung 1, 1010 Wien
Sobotik Monika, Dr.	BA Gumpenstein, 8952 Irdning
Sommer Hilda	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr.8, 4025 Linz
Stenitzer Elmar, Dr.	BA f.Kulturtechnik u.Bodenwasser- haushalt, 3252 Petzenkirchen
Streichsbier Franz, Doz.DDr.	TU Wien, Getreidemarkt 9,1060 Wien
Strobl Walter, Dr.	Inst.f.Botanik, Freisaalweg 16, 5020 Salzburg
Telser Heinrich, Dipl.Ing.	Keplerstr. 32, 8020 Graz
Toth Josef	Tigergasse 3/8, 1080 Wien
Trabandh Gudrun	Inst.f.Bodenkunde u.Pflanzener- nährung,D-6222 Geisenheim

Velimirov Branko, Dr.Doz.	Umweltbundesamt, Biberstr.11 1010 Wien
Verstraeten Louis	Kard.Mericierlaan 92, B-3030 Heverlee-Belgie
Vlassak Karel, Prof.	Kard.Mericierlaan 92,B-3030 Heverlee-Belgie
Vollmer Gerald	Univ.Bremen, Leobenerstr. D-2800 Bremen
Von der Ende Karin	Bennogasse 8/19, 1080 Wien
Von Mersi Wilfried	Stumpfstr.80/26, 6020 Innsbruck
Walter Josef, FL	LBFS Schlierbach
Wiesböck Johann, Ing.	Österr.Düngerberatungsstelle, Auenbruggergasse 2, 1030 Wien
Wieser Siegfried, Dipl.Ing.	LWK Salzburg, Schwarzstr. 19 5024 Salzburg
Wimmer Josef, Dr.	Landw.-chem.Bundesanstalt Wieningerstr. 8, 4025 Linz
Wright John, Ing.	Nordbahnstr. 26/2/1/6, 1020 Wien
Wurst Friedrich,Doz.Dr.	TU Wien, Getreidemarkt 9, 1040 Wien
Xander Andrea	Höttinger Au 34/204, 6020 Inns- bruck
Zehetner Alfons, Dipl.Ing.	OÖ.LWK, Auf der Gugl 3, 4021 Linz
Zengerer Jörg M., Mag.	Fa.Agrosserta-Biosonn, Dr.Auner Str. 22, 8042 Graz-Raaba
Zödl Monika, Dr.	Fa.Agrosserta-Biosonn, Dr.Auner Str. 22, 8042 Graz-Raaba
Zohner A., Dr.	Chemie Linz AG., Welser Str. 42 4021 Linz