

Berichte und Mitteilungen

Bodenmikrobiologisches Monitoring — Vorschläge für eine Bodenzustandsinventur

Von E. KANDELER, R. MARGESIN, R. ÖHLINGER und F. SCHINNER

(Mit 8 Abbildungen)

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit präsentiert Vorschläge für ein einheitliches methodisches Vorgehen bei der Durchführung eines bodenmikrobiologischen Monitoring und Beispiele für die Anwendbarkeit, Auswertung und Interpretation bodenmikrobiologischer Untersuchungsmethoden. Die Anwendung standardisierter Methoden ist Voraussetzung für die Vergleichbarkeit und Bewertung von Analysendaten, die bei der Untersuchung von Proben aus verschiedenen Entnahmestellen gewonnen wurden, aus verschiedenen Laboratorien stammen und/oder zu verschiedenen Zeiten erhalten wurden.

Schlüsselworte: Bodenmikrobiologie, Probenahme, Methoden, Interpretation, Bodenzustandsinventur.

Microbiological soil monitoring — proposals for an inventory of soils

Summary

This work presents proposals for a uniform methodical proceeding when performing a microbiological soil monitoring, and examples for the applicability, evaluation and interpretation of soil microbiological methods. The application of standardized methods is presupposition for the comparability and interpretation of data resulting from the investigation of samples which were taken from different places and investigated by different laboratories and/or on different moments.

Key-words: soil microbiology, sampling, methods, interpretation, soil monitoring.

1. Einleitung

Der Boden ist nicht nur oberste Schicht unserer Erdkugel oder Standort für Pflanzen, sondern auch der Lebensraum und die Ernährungsgrundlage für sämtliche terrestrische Bakterien, Pilze, Pflanzen, Tiere und somit auch für den Menschen. Sämtliche Nährstoffe und Spurenelemente unterliegen einem Kreislauf, in dem sie unterschiedliche Reduktions- und Oxidationsstufen durchlaufen und im Zuge der Biosynthese von einfachen anorganischen zu komplexen organi-

schen Molekülen aufgebaut werden. Nach dem Absterben von Organismen werden diese meist im oder am Boden durch die Aktivität von Bodentieren und Mikroorganismen zu den einfachen Grundstrukturen und anorganischen Komponenten abgebaut. An dieser Stelle des Stoffkreislaufes sind sie wiederum Ausgangsmaterial für neues Leben.

Neben der Bedeutung des Bodens für Stoffkreisläufe ist die Regelfunktion des Bodens als Filter, Puffer und Depot für bodenfremde Stoffe von großer Bedeutung. Weitere Funktionen des Bodens betreffen die Wechselwirkungen mit dem Gashaushalt der Atmosphäre und mit dem Wasserhaushalt der Erde sowie die landwirtschaftliche und forstwirtschaftliche Produktion.

Für die Erfassung des gegenwärtigen Zustandes unserer Böden und für die effektive Planung, Durchführung und Bewertung von Bodenschutzmaßnahmen ist der koordinierte Einsatz geeigneter und normierter Methoden erforderlich. Bodenbiologische Untersuchungsmethoden sind eine Ergänzung zu bodenchemischen Methoden. Beide können sich in ihrer Aussage nicht ersetzen und stehen somit in keiner Konkurrenz zueinander.

Die vorliegende Arbeit soll eine Grundlage für die vergleichbare Ausführung von bodenmikrobiologischen Untersuchungen darstellen. Der methodische Teil gliedert sich in ein Grundprogramm, welches für Basisuntersuchungen zur Erhebung des Ist-Zustandes empfohlen wird und in ein Zusatzprogramm, welches für die Bewertung von landwirtschaftlichen Nutzungsformen, Dünge- und Pflanzenschutzmaßnahmen sowie für die Beurteilung des Einsatzes von Agrarhilfsstoffen und des Einflusses von Schadstoffen geeignet ist.

2. Festlegung der Untersuchungsstellen

Zur Festlegung von Untersuchungsstellen kann die Konzeption der Bodenzustandsinventur nach BLUM et al. (1989) als Grundlage dienen.

Die Aktivität von Bodenorganismen wird durch folgende Standortfaktoren beeinflusst: Vegetation (Streu, Wurzelauausscheidungen), Bewirtschaftungsform (Düngung, Bodenbearbeitung, Pflanzenschutz), bodenkundliche Faktoren (Bodentyp, Bodenart, Humusgehalt, Nährstoffgehalt, pH-Wert), Klima (Bodenfeuchte, Bodentemperatur). Von den genannten Faktoren ist die Bodennutzung (Vegetation und Bodenbewirtschaftungsform) für die Aktivität der Bodenorganismen von größter Bedeutung.

Für eine bodenmikrobiologische Zustandsinventur bestehen zwei Möglichkeiten zur Festlegung der Untersuchungsstellen: Für flächendeckende Untersuchungen wird eine Probenahme nach einem Rastersystem empfohlen, während zur Beurteilung bestimmter Fragestellungen ausgewählte Untersuchungsflächen beprobt werden sollen. Die Verbindung eines bodenmikrobiologischen Monitoring mit Dauerbeobachtungsflächen ist besonders im Hinblick auf eine aussagekräftige Bewertung empfehlenswert.

Flächendeckende Aufnahmen sollen analog den bodenkundlichen Untersuchungen in einem Basisraster von 4×4 km durchgeführt werden. Für spezielle Anforderungen ist es sinnvoll, den Basisraster auf 2×2 km oder 1×1 km zu verdichten (BLUM et al. 1989). In diesen Flächen erfolgt die Festlegung der Probenahmestellen zufällig.

Ausgewählte Untersuchungsflächen dienen z. B. der Erfassung der Bodennutzung (ergibt eine auf dem Rastersystem basierende Auswahl der Untersuchungsflächen eine Verzerrung der tatsächlichen Bodennutzung, sind gezielt zusätzliche Teilbeobachtungsflächen auszuwählen), der Untersuchung von Dauerbeobachtungsflächen (ausgewählte Flächen werden während mehrerer Jahre

untersucht) oder speziellen Fragestellungen. Art und Umfang der zu untersuchenden Einflüsse bestimmen die Probenahme. Spezielle Fragestellungen können sein: Einfluß der Bodenbewirtschaftung (mineralische und organische Düngung, Bodenbearbeitung, Pflanzenschutz, Agrarhilfsstoffe, Fruchtfolge, Monokultur usw.), Einfluß der Immissionen (gasförmige, staubförmige, flüssige und feste Immissionen, Herkunft der Immissionen), Einfluß der bodenkundlichen Parameter (Bodenart, Bodentyp), Einfluß des Klimas (Temperatur und Feuchte, bestimmt durch Exposition, Seehöhe, geographische Lage, Neigung, Geländeform).

Zur Beurteilung von Bodenbewirtschaftungsformen ist die Auswahl von Referenzflächen notwendig. Referenz- und Untersuchungsflächen müssen in bezug auf die übrigen Standortfaktoren Vegetation, Bodentyp und Klima vergleichbar sein. Für die Untersuchung von Immissionsbelastungen erfolgt die Probenahme entlang von Gradienten. Die Gradienten müssen über den belasteten Bereich hinausreichen. Bei der Bearbeitung ausgewählter Untersuchungsflächen soll der Bezug zum Rastersystem der Bodenzustandsinventur hergestellt werden.

Dimensionierung einer Untersuchungsfläche: Für die Untersuchung von Acker- und Grünlandböden wird die zu beprobende Fläche in Form eines Kreises mit einem Radius von 10 m festgelegt. In Waldböden wird die Untersuchungsfläche auf einen Kreis mit einem Radius von 50 m vergrößert, um der besonderen Heterogenität der forstlichen Bodenverhältnisse Rechnung zu tragen.

Geländeaufnahme: Die Geländeaufnahme erfolgt analog den Empfehlungen zur bodenkundlichen Zustandsinventur (BLUM et al. 1989).

3. Probenahme und Probenvorbereitung

Die Bodenprobenahme erfolgt nach SCHINNER et al. (1993). Im folgenden werden die wichtigsten Kriterien kurz dargestellt.

Für eine mikrobiologische Bodenzustandsinventur ist als Probenahmezeitpunkt das zeitige Frühjahr oder ein später Herbsttermin zu wählen. Folgende Voraussetzungen sind zu beachten: Es sollten keine extremen Bodenverhältnisse wie starke Übernässung oder Austrocknung vorliegen, zwischen Düngung und Probenahme ist ein Zeitabstand einzuhalten (bei mineralischer Düngung vier bis sechs Wochen, bei organischer Düngung etwa drei Monate). Für flächendeckende Erhebungen ist eine jährliche Probenahme ausreichend, für die Untersuchung von speziellen Fragestellungen wird jedoch empfohlen, mehrmals pro Jahr Bodenproben zu entnehmen.

Probenahme für Acker- und Grünlandböden: Die Aktivität der Bodenmikroflora ist in den obersten Bodenhorizonten am höchsten und nimmt mit der Tiefe ab. Aus diesem Grund erfolgt die Probenahme in den obersten Bodenschichten: 0 bis 20 cm für Ackerland, 0 bis 10 cm für Grünland. Für gesonderte Fragestellungen kann vor allem im Grünland die Probenahme auf weitere Tiefenstufen ausgedehnt werden (z. B. 0 bis 5 cm und 5 bis 10 cm bei Schwermetallimmissionen). Die zu beprobende Fläche wird in Form eines Kreises mit einem Radius von 10 m festgelegt. Mittels entsprechender Probenahmegeräte wie Hohlbohrer oder Spaten werden 16 bis 20 Stichproben entnommen und in einem Plastikkübel zu einer Mischprobe von mindestens 500 g vereinigt. Nach gründlichem Mischen werden Grobanteile wie Gesteine oder Wurzeln entfernt und die Bodenproben in Säcken abgefüllt. Die Proben werden gekühlt ins Labor transportiert.

5. Laboranalysen

5.1 Biomasse

Die Leistungen der Bodenmikroflora sind vielfältig und für die Bodenfruchtbarkeit entscheidend; sie umfassen Abbauleistungen (Mineralisation pflanzlicher, tierischer, mikrobieller und organisch-synthetischer Substanzen, Mobilisierung anorganischer Nähr- und Spurenstoffe) und Syntheseleistungen (Aufbau mikrobieller Biomasse, Synthese von Huminstoffen und bodenbindenden Substanzen, Immobilisierung von Nährstoffen).

Zur Bestimmung der Biomasse mittels substratinduzierter Respiration im Isermeyeransatz werden Bodenproben mit Glucose versetzt, die unmittelbar folgende Atmungsreaktion wird gemessen (SCHINNER et al. 1993). Durch Kalibrierung dieser Methode mit der Fumigations-Inkubations-Methode (JENKINSON und POWLSON 1976) kann auf mg Biomasse-C umgerechnet werden.

5.1.1 Material

Zusätzlich zur Laborgrundausrüstung sind erforderlich: (a) Zentrifugen- oder Reagenzröhrchen (Außendurchmesser 29 mm, Länge 105 mm) mit Bördelrand aus Polypropylen, in die Röhrchen werden kleine Öffnungen gebohrt (Gasaustausch, anstelle der Röhrchen können feinmaschige Nylonsäckchen in die Schott-Flaschen eingehängt werden); (b) 250 ml Schott-Flaschen mit Schraubverschlußkappe und Ausgießring.

5.1.2 Chemikalien und Lösungen

(1) D-Glucose wasserfrei; (2) Natronlauge 0,1 M (Titrisol) in CO₂-freiem Wasser; (3) Bariumchloridlösung 0,5 M in dest. Wasser; (4) Indikator: 0,1 % Phenolphthalein in 60 % (v/v) Ethanol; (5) Salzsäure 0,1 M (Titrisol).

5.1.3 Bestimmungssatz

100 g naturfeuchten Boden mit 400 mg Reagenz 1 (Glucose) gut vermischen		
In Zentrifugenröhrchen oder Nylonsäckchen (a) einwiegen:	Vollprobe	Blindprobe
Versuchsansätze	3	3
Boden naturfeucht mit Glucose vermischt	20 g	—
In Schott-Flaschen (b) pipettieren:		
Lösung 2 (NaOH)	20 ml	20 ml
Bodenproben in die Flaschen einhängen, Flaschen verschließen		
Inkubation: 4 h bei 22 °C, anschließend die Bodenproben aus den Flaschen entfernen		
In die Flaschen dazupipettieren:		
Lösung 3 (Bariumchlorid)	2 ml	2 ml
Lösung 4 (Indikator)	3—4 Tr.	3—4 Tr.
Die unverbrauchte NaOH mit Lösung 5 (HCl) titrieren.		

5.1.4 Auswertung

Als Maß für die Biomasse werden die freigesetzten mg CO₂ · 100 g⁻¹ TS · h⁻¹ berechnet. Bei einem Respirationskoeffizienten von 1 gilt:

$$1 \text{ mg CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ TS} \cdot \text{h}^{-1} = 20,6 \text{ mg Biomasse-C} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ TS}.$$

Hinweise und Fehlerquellen siehe SCHINNER et al. (1993).

5.2 Stickstoffmineralisation

Die Umsetzung von organischen in anorganische Stickstoffverbindungen im Boden wird als Stickstoffmineralisation bezeichnet. An diesem Prozeß sind

unterschiedliche Mikroorganismen beteiligt. Im Verlauf der Ammonifikation entsteht Ammonium, dieses wird unter geeigneten Bedingungen durch Nitrifikanten zu Nitrit und Nitrat oxidiert. Inkubationsversuche unter anaeroben Bedingungen unterbinden die Nitrifikation. Dadurch kann NH_4^+ als einziges Produkt der N-Mineralisation bestimmt werden. Diese Methode eignet sich zur raschen Bestimmung des biologischen Index der N-Verfügbarkeit (KEENEY 1982).

Zur Bestimmung der N-Mineralisation im anaeroben Brutversuch werden Böden mit Wasser überstaut und sieben Tage bei 40 °C inkubiert. Der aus organischen N-Verbindungen freigesetzte NH_4^+ -N wird kolorimetrisch bestimmt (SCHINNER et al. 1993).

5.2.1 Material

Zusätzlich zur Laborgrundausrüstung sind erforderlich: (a) Reagenzgläser mit Schraubverschlüssen (Durchmesser 2,0 cm, Höhe 19 cm); (b) N-freie Faltenfilter.

Lösungen: (1) Extraktionslösung: 2 M Kaliumchlorid in dest. Wasser; (2) Eichlösungen: 0 (= Blindwert), 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 $\mu\text{g NH}_4^+$ -N·ml⁻¹ dest. Wasser; (3) Natronlauge 0,3 M; (4) Nitroprussid-Salicylat-Lösung: 17 % Na-Salicylat + 0,12 % Nitroprussid-Natrium in dest. Wasser (täglich frisch herstellen); (5) Mischlösung: Lösungen 3, 4 und dest. Wasser im Verhältnis 1:1:1 mischen (erst kurz vor dem Gebrauch herstellen); (6) Oxidationsmittel: 0,1 % Dichlorisocyanursäure-Natriumsalz-Dihydrat in dest. Wasser (täglich frisch herstellen).

5.2.2 Bestimmungsansatz

In Reagenzgläser (a) einwiegen bzw pipettieren:	Vollprobe	Leerprobe	Eichung
Versuchsansätze	3	1	
Boden naturfeucht	5,00 g	5,00 g	—
dest. Wasser	15 ml	15 ml	—
Reagenzgläser verschließen			
Inkubation (7 Tage)	40 °C	-20 °C	
Lösung 1 (Extraktionslösung)	15 ml	15 ml	—
30 min schütteln, anschließend Filtration über Faltenfilter (b)			
In Reagenzgläser pipettieren:			
Filtrat (1:5 oder 1:10 in dest. Wasser)	5 ml	5 ml	—
Lösung 2 (Eichlösungen)	—	—	5 ml
Lösung 5 (Mischlösung)	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Lösung 6 (Oxidationsmittel)	1 ml	1 ml	1 ml
30 min bei Raumtemperatur stehen lassen, anschließend die Extinktion bei 660 nm gegen den Blindwert messen.			

5.2.3 Auswertung

Als Maß für die N-Mineralisation werden die freigesetzten $\mu\text{g N}\cdot\text{g}^{-1}\text{TS}\cdot\text{d}^{-1}$ angegeben. Hinweise und Fehlerquellen siehe SCHINNER et al. (1993).

5.3 Methoden für spezifische Fragestellungen

Detaillierte Hinweise zu den einzelnen Aktivitätsbestimmungen und Auswertemethoden finden sich bei SCHINNER et al. (1993).

5.3.1 Bodenatmung — CO_2 -Freisetzung

Die mikrobielle Bodenatmung wird als Sauerstoffaufnahme oder Kohlendioxidabgabe durch Bakterien, Pilze, Algen und Protozoen definiert und schließt den Gasaustausch des aeroben und anaeroben Metabolismus ein (ANDERSON

1982). Die Bodenatmung resultiert aus dem Abbau von organischer Substanz. Die Kohlendioxidbildung stellt die Endstufe der Kohlenstoffmineralisation dar. Unter ungestörten Bedingungen stellt sich im Boden ein ökologisches Gleichgewicht zwischen den Organismen und deren Tätigkeit ein. Die Respiration in diesem Zustand wird als Grundatmung oder basale Atmung bezeichnet. Bei einer Störung des Gleichgewichts beobachtet man eine veränderte Respiration infolge eines intensiveren Wachstums und einer verstärkten Mineralisierungstätigkeit der Mikroorganismen. Zur Bestimmung der mikrobiellen CO_2 -Freisetzung im Laborversuch wird der Boden bei 25°C bebrütet und das entweichende Kohlendioxid in Natronlauge absorbiert. Nach Rücktitration der unverbrauchten Lauge wird die Kohlendioxidfreisetzung errechnet (JÄGGI 1976).

5.3.2 Xylanase-Aktivität

Die Xylanase stellt neben der Cellulase das wichtigste Enzym des primären Streuabbaus dar. Da der Gesamtkomplex der Cellulasen schwieriger zu erfassen ist, wird der Bestimmung der Xylanaseaktivität häufig der Vorzug gegeben. Die Bestimmung dieser Enzymaktivität erfolgt über den Nachweis der abgespaltenen reduzierenden Zucker.

Unter Verwendung von Xylan als Substrat werden Bodenproben 24 Stunden bei 50°C und pH 5,5 inkubiert. Die freigesetzten reduzierenden Zucker bewirken die Reduktion von K-Hexacyanoferrat-III in alkalischer Lösung. Das reduzierte K-Hexacyanoferrat-II reagiert mit Fe-III-Ammoniumsulfat in saurer Lösung zu einem Fe-III-Hexacyanoferrat-II-Komplex (Berliner Blau), welcher kolorimetrisch erfaßt wird (SCHINNER und VON MERSI 1990).

5.3.3 Urease-Aktivität

Urease katalysiert die Hydrolyse von Harnstoff zu CO_2 und NH_3 . Dieses Enzym wurde in vielen höheren Pflanzen, in Mikroorganismen und Tieren gefunden. Im Boden ist die Urease zum größten Teil mikrobiellen Ursprungs. Harnstoff gelangt über tierische Exkremente und den Abbau von stickstoffhaltigen Basen aus Nukleinsäuren in den Boden. Weiters wird Harnstoff als Düngemittel in der Landwirtschaft eingesetzt.

Nach einer zweistündigen Inkubation der Bodenproben mit einer ungepufferten Harnstofflösung wird das gebildete Ammonium mit einer 1 M Kaliumchloridlösung extrahiert und kolorimetrisch bestimmt (KANDELER und GERBER 1988). Die Farbreaktion basiert auf einer modifizierten Berthelotschen Reaktion.

5.3.4 Potentielle Nitrifikation

Nitrat wird im Boden zu einem großen Teil infolge der Aktivität von Nitrifikanten gebildet. Chemoautotrophe Bakterien sind für die Nitrifikation in Böden mit einem pH-Wert von über 5,5 verantwortlich (FOCHT und VERSTRAETE 1977), bei einem niedrigeren pH-Wert des Bodens ist die Aktivität auf säuretolerante heterotrophe Nitrifikanten zurückzuführen (SCHMEL et al. 1984). Untersuchungen von KILLHAM (1987) lassen vermuten, daß in landwirtschaftlichen Böden unabhängig vom pH-Wert die autotrophe Nitrifikation dominiert, während man annimmt, daß 90 % der potentiellen Nitrifikation in sauren Waldböden heterotropher Natur sind.

Zur Bestimmung der potentiellen Nitrifikation (Ammoniumoxidation) werden Bodenproben fünf Stunden bei 25°C mit Ammoniumsulfat als Substrat inkubiert, die gebildete Menge an Nitrit wird gemessen (BERG und ROSSWALL 1985). Die Oxidation von Nitrit während des Versuchszeitraumes wird durch Natriumchlorat gehemmt.

5.3.5 Potentielle Denitrifikation

Unter anaeroben Bedingungen nützen aerobe Bakterien Nitrat als alternativen Wasserstoffakzeptor. Nitrat wird dabei über Nitrit zu Distickstoffoxid und weiter zu molekularem Stickstoff reduziert. Unter natürlichen Bedingungen stellt N_2 das Hauptprodukt der Denitrifikation dar, N_2O wird nur in geringen Mengen aus dem Boden freigesetzt (TIEDJE 1982).

Zur Bestimmung der potentiellen Denitrifikation mit der Acetyleninhibierungsmethode werden naturfeuchte Bodenproben unter aeroben oder anaeroben Bedingungen nach Zusatz von Acetylen bis zu 48 Stunden bei 25 °C inkubiert (RYDEN et al. 1979). Das gebildete N_2O wird nach der Bebrütung gaschromatographisch bestimmt.

5.3.6 Phosphatase-Aktivität

In den meisten Böden ist der organisch gebundene P-Anteil höher als der anorganische. Die Aufnahme von Phosphor in Pflanzen setzt eine Mineralisierung der organischen P-Komponente durch Phosphatasen zu Orthophosphat voraus (SPEIR und ROSS 1978, MALCOLM 1983). Phosphatasen sind induzierbare Enzyme, die vor allem bei geringerer Verfügbarkeit von Phosphat verstärkt gebildet werden. Phosphatasen können sowohl aus Pflanzenwurzeln stammen als auch mikrobiellen Ursprungs sein. Im Boden dominieren mikrobielle Phosphatasen. Der Name „Phosphatase“ bezeichnet eine Gruppe von Enzymen, die sowohl Ester als auch Anhydride der Phosphorsäure hydrolysieren. Im Boden liegen verschiedene Phosphatasen vor (TABATABAI 1982): Phosphomonoesterasen (z. B. Phytase, Glycerinphosphatase, Nucleotidasen, Zuckerphosphatasen), Phosphodiesterasen (z. B. Nucleasen, Phospholipasen), Phosphotriesterasen, Polyphosphatasen (z. B. ATPase, Pyrophosphatase), Phosphatasen, die P-N-Verbindungen hydrolysieren (z. B. Phosphoamidase).

Phosphomonoesterasen unterscheiden sich neben ihrer Substratspezifität auch in ihrem pH-Optimum. So kann im Boden zwischen einer sauren und einer alkalischen Phosphatase unterschieden werden. Zur Bestimmung der Phosphomonoesterase-Aktivität werden Bodenproben mit einer Phenylphosphat-Dinatriumsalzlösung versetzt und drei Stunden bei 37 °C bebrütet. Das abgespaltene Phenol wird mit 2,6-Dibromchinon-Chlorimid angefärbt und photometrisch bei 614 nm gemessen (HOFFMANN 1968).

5.3.7 Arylsulfatase-Aktivität

Sulfatasen sind für die Mineralisierung schwefelhaltiger Verbindungen im Boden von Bedeutung. Sie hydrolysieren organische Sulfate und stellen dadurch Schwefel in pflanzenverfügbarer Form bereit (FRENEY 1961, FRENEY et al. 1975). Sulfatasen sind größtenteils mikrobiellen Ursprungs. Sie liegen im Boden auch als Exoenzyme vor und weisen eine enge Beziehung zur organischen Substanz auf. In der Natur kommen verschiedene Sulfatasetypen vor (TABATABAI 1982): Arylsulfatasen, Alkylsulfatasen, Steroidsulfatasen, Glucosesulfatasen, Chondrosulfatasen und Myrosulfatasen. Die Arylsulfatase katalysiert die Hydrolyse eines Arylsulfatanions durch Spaltung der O-S-Bindung.

Zur Bestimmung der Arylsulfatase-Aktivität werden Bodenproben nach Zusatz einer p-Nitrophenylsulfatlösung eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Das enzymatisch abgespaltene p-Nitrophenol wird mit Natronlauge angefärbt und bei 420 nm photometrisch bestimmt (TABATABAI und BREMNER 1970).

5.3.8 Dehydrogenase-Aktivität

Dehydrogenasen werden zu den Oxidoreductasen gezählt und bewirken die Oxidation organischer Verbindungen durch Abspaltung von zwei Wasserstoffatomen. Viele spezifische Dehydrogenasen übertragen den abgespalteten Wasserstoff auf eines der beiden Co-Enzyme NAD oder NADP. Durch diese Co-Enzyme wird der Wasserstoff in die Atmungskette eingeschleust oder ist an reduktiven Vorgängen von Biosyntheseprozessen beteiligt. Die Dehydrogenaseaktivität eines Bodens resultiert daher aus der Aktivität verschiedener Dehydrogenasen, welche ein wesentlicher Bestandteil des Enzymsystems sämtlicher Mikroorganismen sind (Enzyme des Atmungsstoffwechsels, des Citratzyklus' und des Stickstoffstoffwechsels). Somit dient die Dehydrogenaseaktivität als Indikator für biologische Redoxsysteme und kann als Maß für die Intensität mikrobieller Stoffumsetzungen im Boden angesehen werden (TABATABAI 1982).

Zur Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität mit TTC wird das Bodenmaterial mit einer Triphenyltetrazoliumchloridlösung versetzt und 16 Stunden bei 25 °C bebrütet. Das freigesetzte Triphenylformazan (TPF) wird mit Aceton extrahiert und photometrisch bei 546 nm gemessen (THALMANN 1968).

6. Interpretation der Daten

Da standardisierte bodenmikrobiologische Methoden erst seit kurzer Zeit vorliegen (SCHINNER et al. 1993), können noch keine natürlichen Gehaltsbereiche zu den einzelnen Methoden angegeben werden. Die Pflanzendecke beeinflusst über den Eintrag organischer Verbindungen (Streu, abgestorbene Wurzeln, Wurzel Ausscheidungen) bodenmikrobiologische Prozesse sehr stark. Die Vegetations- und Nutzungsform wird daher als wichtigstes Kriterium für die Erstellung von natürlichen Gehaltsbereichen angesehen. Es wird empfohlen, die untersuchten Böden einer der Vegetationsgruppen Acker, Dauergrünland oder Wald zuzuordnen. Eine weitere Untergliederung der drei Vegetationsgruppen könnte aufgrund unterschiedlicher Standorteigenschaften, wie z. B. klimatische Verhältnisse, Bodenart oder Humusgehalt, erfolgen. Für spezifische Fragestellungen ist die Auswahl von Referenzflächen notwendig. Die Vergleichsfläche kann dabei als Bezugsbasis (= 100 %) gewählt werden (GYSI et al. 1991).

6.1 Ökophysiologische Parameter

Neben einer Quantifizierung der mikrobiellen Biomasse (und des damit verbundenen C- und Nährstoffpools) gewinnt zunehmend die Charakterisierung des physiologischen Zustandes der Mikroorganismengesellschaft an Bedeutung. Der physiologische Zustand ist determiniert durch den Ernährungsstatus sowie durch Faktoren wie Bodentyp, Klima, Schadstoffeinflüsse usw. Die unten angeführten Methoden sind ausführlich in den angegebenen Originalarbeiten bei HELLMANN und BEESE (1991), INSAM et al. (1991), MARTENS (1991) und SCHINNER et al. (1993) beschrieben.

6.1.1 C_{mic}/C_{org} -Verhältnis

Die mikrobielle Biomasse steht oft in engem Zusammenhang mit dem Gehalt an organischer Substanz des Bodens. Die Biomasse wird von der Verfügbarkeit des abbaubaren Substrates und weiteren physiko-chemischen Faktoren bestimmt. Wird der mikrobielle Kohlenstoff (C_{mic}) auf den organischen Kohlenstoff (C_{org}) bezogen, erhält man das C_{mic}/C_{org} -Verhältnis ($mg C_{mic} \cdot g^{-1} C_{org}$). Dieses Verhältnis erlaubt Aussagen über die C-Dynamik von Böden. In Böden, die über viele Jahre in derselben Art und Weise bewirtschaftet werden, stellt sich ein

Kohlenstoffgleichgewicht ein. Als grobe Orientierung für Ackerböden mittlerer Breiten können die C-Gleichgewichtswerte von ANDERSON und DOMSCH (1989) herangezogen werden, die bei permanenter Monokultur durchschnittlich 23 mg und in Fruchtfolgeböden ca. $29 \text{ mg } C_{\text{mic}} \cdot \text{g}^{-1} C_{\text{org}}$ betragen.

6.1.2 Metabolischer Quotient (q_{CO_2})

Der q_{CO_2} wird aus der Basalatmung und der Biomasse berechnet: $q_{\text{CO}_2} = \text{mg } \text{CO}_2 - \text{C} \cdot \text{g}^{-1} C_{\text{mic}} \cdot \text{h}^{-1}$. Der metabolische Quotient ist ein physiologischer Parameter zur qualitativen Erfassung der Einflüsse auf die Biomasse und ein indirektes Maß für die energetische Effizienz einer Mikroorganismengesellschaft. Je niedriger der q_{CO_2} ist, desto effizienter sind die mikrobiellen Umsatzleistungen. Oft hat die Ermittlung der Einzelparameter Biomasse und Basalatmung eine wesentlich geringere Aussagekraft als der metabolische Quotient, da Belastungssituationen oder Nährstoffmängel dazu führen können, daß z. B. die Biomasse sinkt, während der CO_2 -Ausstoß steigt. Der q_{CO_2} -Wert liegt für landwirtschaftliche Böden zwischen 0,5 und $3 \text{ mg } \text{CO}_2 - \text{C} \cdot \text{g}^{-1} C_{\text{mic}} \cdot \text{h}^{-1}$.

6.1.3 Erhaltungsbedarf der Biomasse (m)

Jene Kohlenstoffmenge, die es ermöglicht, die mikrobielle Biomasse konstant zu halten, wird als deren Erhaltungsbedarf definiert. Dabei kann man zwischen dem Erhaltungsbedarf der ruhenden und der aktivierten Biomasse unterscheiden (ANDERSON und DOMSCH 1985). Der Erhaltungsbedarf $(ds/dt)_M$ ergibt sich aus dem Gesamtverbrauch einer Kohlenstoffquelle mit der Zeit (ds/dt) abzüglich des Verbrauchs für das Wachstum $(ds/dt)_G$: $(ds/dt)_M = ds/dt - (ds/dt)_G$.

Der Erhaltungsbedarf der Biomasse wird als Erhaltungskoeffizient „ m “ ($= \text{mg } C_{\text{Glucose}} \cdot \text{mg}^{-1} C_{\text{mic}} \cdot \text{h}^{-1}$) angegeben. Die Bestimmung des Erhaltungsbedarfes erfolgt durch regelmäßige Zugabe abgestufter Mengen von Glucose über mehrere Wochen (für die ruhende Biomasse). Jene Glucosemenge, die eine Erhaltung der ursprünglichen Biomasse erlaubt, wird als Erhaltungsbedarf bezeichnet. Für die Bestimmung des Erhaltungsbedarfes der aktiv metabolisierenden Biomasse wird jene Glucosemenge ermittelt, die es erlaubt, die substratinduzierte Respiration über längere Zeit aufrechtzuerhalten. Nach INSAM et al. (1991) ermöglicht die Ermittlung des mikrobiellen Erhaltungsbedarfes bei Kenntnis der gesamten mikrobiellen Biomasse eines Standortes sowie des oberirdischen Streueintrags die Abschätzung der unterirdischen Stoffproduktion (Wurzelproduktion, Wurzelausscheidungen usw.).

6.1.4 Mikrobielle Absterberate (q_D)

Die Rate, mit der eine bestimmte mikrobielle Biomasse im Boden bei Lagerung abnimmt, wird als die mikrobielle Absterberate (q_D) bezeichnet. Diese Abnahme ist durch wiederholte Biomassebestimmungen meßbar. Um mikrobielle Biomasse-C-Verlusten unterschiedlicher Böden vergleichen zu können, wird der C_{mic} -Verlust auf die Anfangs-Biomasse bezogen. ANDERSON und DOMSCH (1990) fanden in Böden unter Monokultur eine höhere Absterberate als in Fruchtfolgeböden.

6.1.5 Maximale Glucoseaufnahmerate und Affinitätskonstante

Zur weiteren Charakterisierung der Mikroorganismengesellschaft dienen deren maximale Glucoseaufnahmerate (V_{max}) und die Affinitätskonstante zum Substratkohlenstoff (K_m). ANDERSON und GRAY (1990) fanden mit Hilfe dieser Werte deutliche Unterschiede zwischen Böden unterschiedlicher Bewirtschaft-

tungsweisen. Böden unter langjähriger Monokultur zeigten eine doppelt so hohe maximale Aufnahme, aber eine signifikant geringere Substrataffinität als Fruchtfolgeböden.

6.1.6 Respiratorischer Quotient (CO_2/O_2 , RQ)

Bei Atmungsmessungen an Böden wird entweder die CO_2 -Abgabe oder der O_2 -Verbrauch bestimmt, wobei davon ausgegangen wird, daß das Volumen des verbrauchten Sauerstoffs gleich dem des gebildeten CO_2 ist. Dies ist jedoch nur beim Umsatz von Kohlehydraten der Fall; bei der Veratmung von Carbonsäuren müßte der respiratorische Quotient größer, bei sauerstoffärmeren Verbindungen wie Fetten müßte der RQ kleiner als 1 sein. Zusätzlich kann der RQ durch sauerstoffverbrauchende mikrobielle Umsetzungen im Boden (z. B. Nitrifikation) beeinflußt werden.

Wird die substratinduzierte Respiration (SIR) gleichzeitig als CO_2 -Abgabe und O_2 -Aufnahme bestimmt, kann auch auf den Grad der Anaerobiose geschlossen werden, da unter zunehmend anaeroben Bedingungen Glucose vergoren und dadurch vermehrt CO_2 gebildet wird (BECK und BENDEL 1992).

6.2 Statistische Auswertung

Die korrekte Auswertung von Meßdaten erfordert die richtige Anwendung statistischer Meßgrößen und Tests. Dieser Abschnitt soll anhand einiger Testsituationen lediglich Entscheidungshilfen für die Auswahl geeigneter statistischer Methoden geben, da für die statistische Auswertung bereits geeignete Computerprogramme und Fachliteratur (z. B. SACHS 1992) zur Verfügung stehen.

6.2.1 Analyse von Mischproben

Für die Untersuchung eines Bodenstandorts (bodenkundlich möglichst einheitliche Fläche) wird in der Regel eine Mischprobe aus mehreren Einstichen herangezogen. Durch eine entsprechend große Einstichzahl stellt die Analysenstreuung eine grobe Annäherung an die Gesamtstreuung dar; der Einfluß der Feldstreuung ist im Vergleich zur Analysenstreuung gering. Bei folgenden Testsituationen können Mischproben analysiert werden:

Einmalige Probenahme:

a) Standortanzahl: 2

— Verteilung der Grundgesamtheiten: normal und Streuung bekannt

— Test: Vergleich zweier Mittelwerte unabhängiger Stichproben

b) Standortanzahl: > 2

— Verteilung der Grundgesamtheiten: normal und Streuung bekannt

— Tests für ungeplante Vergleiche: Neuman-Keuls-Test, Tukey-Test, Scheffe-Test, Grenzwariationsbreiten-Test

— Test für geplante Vergleiche: t-Test (nur für einen Vergleich zweier Mittelwerte sinnvoll)

Mehrmalige Probenahme an vergleichbaren Zeitpunkten (z. B. immer im zeitigen Frühjahr):

a) Standortanzahl: 2

— Verteilung: normal

— Test: Vergleich zweier Mittelwerte verbundener Stichproben

b) Standortanzahl: > 2

— Verteilung: normal

— Tests: Varianzanalyse, Neuman-Keuls-Test, Tukey-Test, Scheffe-Test, Grenzwariationsbreiten-Test oder Duncan-Test

Mehrmalige Probenahme an nicht vergleichbaren Zeitpunkten (z. B. Jahresverläufe):

- a) Standortanzahl: 2
 - Verteilung: unbekannt
 - Test: Wilcoxon-Test für Paardifferenzen
- b) Standortanzahl: >2
 - Verteilung: unbekannt
 - Tests: Rangvarianzanalyse nach FRIEDMAN, Wilcoxon-Wilcox-Test (ungeplant), Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (geplant)

6.2.2 Analyse von Einzelproben

Bodenkundlich heterogene Flächen verlangen bei nachfolgenden Testsituationen die Analyse mehrerer Einzelproben (keine Bildung von Mischproben).

Einmalige Probenahme:

- a) Standortanzahl: 2
 - Verteilung der Grundgesamtheiten: unbekannt, d. h. eine Normalverteilung ist nicht zu erwarten.
 - Test: U-Test von MANN und WHITNEY (für unabhängige Stichproben)
- b) Standortanzahl: >2
 - Verteilung: unbekannt
 - Tests: H-Test von KRUSKAL-WALLIS, Nemenyi-Test (ungeplant), U-Test von MANN und WHITNEY (geplant)

Mehrmalige Probenahme an vergleichbaren Zeitpunkten

- a) Standortanzahl: 2
 - Verteilung: unbekannt
 - Test: U-Test von MANN und WHITNEY

6.3 Beispiele zur Auswertung bodenmikrobiologischer Untersuchungen

In den folgenden Abschnitten werden Fallbeispiele dargestellt, die nach folgenden Gesichtspunkten gegliedert wurden: räumliche und zeitliche Variabilität, Einfluß von Vegetation und Bewirtschaftung (Bodenbearbeitung, mineralische und organische Düngung), Einfluß verschiedener Schadstoffe auf Bodenmikroorganismen und deren Stoffwechselleistungen.

6.3.1 Zusammenhang zwischen Anzahl der Einstiche, Anzahl der Analysen, Fehler und Präzision der Proteaseaktivitätsbestimmung

Auf einer bodenkundlich einheitlichen Grünlandfläche wurden 200 Bodenproben systematisch geworben und bodenmikrobiologisch untersucht (ÖHLINGER et al. 1993). Am Beispiel der Proteaseaktivität werden die Ergebnisse interpretiert: Die Tagesschwankung der enzymatischen Analysen betrug innerhalb eines zweimonatigen Analysenzeitraumes für <2 mm gesiebte Böden 4 bis 7 % und für <5 mm gesiebte Böden ca. 13 %. Die Analysenvarianz (inklusive Tagesstreuung) lag bei der 2-mm-Siebung unter 8 %, bei der 5-mm-Siebung bei ca. 17 %. Die Feldstreuung (Streuung zwischen den Einstichen) betrug ca. 14 %. Für die beprobte Fläche konnten ca. 35 Einstiche für eine Mischprobe mit drei Analysen empfohlen werden. Diese Voraussetzung erreichte eine Präzision von ca. ± 10 % (Tab. 1).

Tabelle 1

Zusammenhang zwischen Anzahl der Einstiche, Anzahl der Analysen, Fehler und Präzision am Beispiel der Proteaseaktivität (nach ÖHLINGER et al. 1993)

Anzahl der Einstiche für eine Mischprobe	Anzahl der Analysen der Mischprobe	Fehler in %	Präzision* in %
1	1	100	33
2	1	80	27
4	1	64	21
12	1	51	17
14	2	41	14
19	3	33	11
46	4	26	9
75	6	21	7
120	9	17	6
311	21	11	4
760	52	7	2

* Abweichung in % vom „idealen“ Mittelwert aus 200 Einzelanalysen

6.3.2 Tiefenverteilung bodenmikrobiologischer Aktivitäten im Bodenprofil

Die Besiedlungsdichte von Mikroorganismen in Böden hängt von der Nährstoff- und Sauerstoffversorgung der Bodenhorizonte ab. Die Tiefenverteilung der Proteaseaktivität im Bodenprofil einer Lockersedimentbraunerde zeigte, daß mikrobielle Stoffwechselleistungen im Oberboden eines Ackers höher liegen als im Unterboden (Abb. 1). Die etwas niedrigere Aktivität in der Bodentiefe von 0 bis 5 cm kann durch die Hemmung mikrobieller Aktivitäten und durch die geringere Resistenz von Proteasen gegenüber Austrocknung erklärt werden.

6.3.3 Bodenmikrobiologische Charakterisierung von Bodentypen

Pflanzenbewuchs, Nutzungsform und Bodengenese wirken in charakteristischer Weise auf die Stoffwechselaktivitäten der Bodenmikroflora. Die vorliegende Untersuchung an einem braunen Auboden, einer Parabraunerde über Löß, einer silikatischen Felsbraunerde und einem Schlierkulturrohoden zeigte typische „Fingerprints“ der Bodenenzymmuster (PUCHNER 1984). In dem gezeigten Beispiel werden Bodenproben einer Sommerprobenahme (Bodentiefe 0 bis 10 cm) dargestellt. Die Äquivalenzprofile derartiger Untersuchungen sind vielseitig interpretierbar. Alkalische Phosphatase, Dehydrogenase und Protease wiesen im Unterschied zur Xylanase und Bodenatmung eine Aktivitätsabnahme vom Auboden bis hin zum Schlierkulturrohoden auf. Am Beispiel der Para-

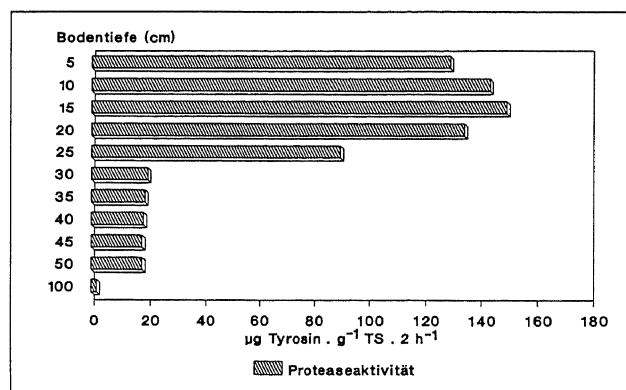


Abb. 1: Tiefenverteilung der Proteaseaktivität im Bodenprofil einer Lockersedimentbraunerde

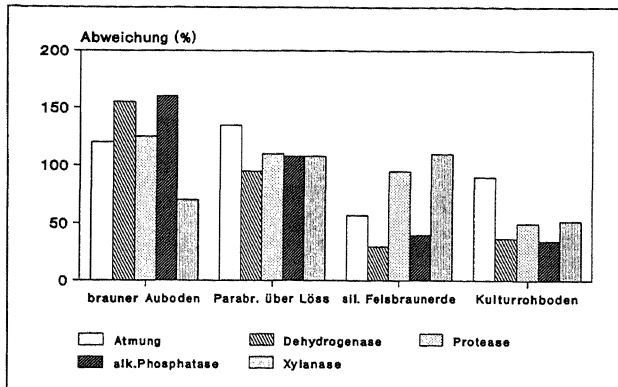


Abb. 2: Prozentuelle Abweichung bodenmikrobiologischer Parameter vom theoretischen Mittelwert (= 100 %) in verschiedenen Bodentypen (nach PUCHNER 1984)

braunerde über Löss fiel eine relativ hohe Phosphataseaktivität auf, die auf eine geringe Phosphorverfügbarkeit schließen ließ. Gleichzeitig wiesen die niedrigen Xylanasewerte auf eine geringe Mineralisation der organischen Bodenkomponenten hin. Im Gegensatz dazu zeigte die silikatische Felsbraunerde eine schwache Phosphataseaktivität, die mit einer Endprodukthemmung bei guter Phosphorverfügbarkeit zu erklären ist (Abb. 2).

6.3.4 Enzymaktivitäten verschiedener Sukzessionsstufen — Bedeutung der Bezugsgröße

Zur Beurteilung von Übergangsbereichen verschiedener Vegetationstypen wurden eine Lägerflur, eine bewirtschaftete Almwiese (I), eine wenig bewirtschaftete Almwiese (II), ein Erlenbestand und ein Wald im Bereich der subalpinen Waldgrenze im Gasteinertal bodenmikrobiologisch untersucht (SCHINNER und HOFMANN 1978). Im gezeigten Beispiel wurden als Parameter Enzyme des primären Streuabbaus (Xylanase, Cellulase und Pectinase) gewählt. Die Ergebnisse der enzymatischen Untersuchungen wurden auf die organische Substanz des Bodens bezogen und in relativen Enzymaktivitäten angegeben.

Die Untersuchungen zeigten, daß die metabolische Aktivität der Bodenmikroflora mit zunehmender Sukzession zum standortstypischen Vegetationstyp Wald deutlich abnahm (Abb. 3). Diese Aussage ist jedoch nur möglich, wenn die organische Substanz des Bodens und nicht das Bodengewicht als Bezugsgröße eingesetzt wird. Für ökophysiologische Fragestellungen hat sich in vielen Fällen die organische Substanz als Bezugsgröße bewährt.

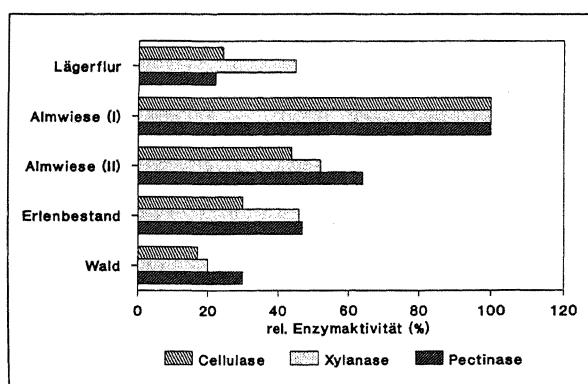


Abb. 3: Relative Enzymaktivitäten verschiedener Sukzessionsstufen zwischen einer bewirtschafteten Almwiese und einem Wald (nach SCHINNER und HOFMANN 1978)

6.3.5 Einfluß der Vegetation

Die Pflanzendecke kann bodenmikrobiologische Aktivitäten auf vielfältige Weise beeinflussen. Organische Bestandteile, wie abgestorbene Wurzeln, Wurzelexsudate oder Streuanfall, sind wichtige Nährsubstrate für Mikroorganismen und wirken regulierend auf deren Aktivität. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen natürliche Gehaltsbereiche bodenmikrobiologischer Aktivitäten bei gleichem Bodentyp, aber unterschiedlicher Vegetationsform. Bei der Untersuchung einer landwirtschaftlich genutzten, kalkreichen Lockersedimentbraunerde findet man in Dauergrünlandböden stets eine höhere mikrobielle Stoffwechsellumsetzung als in Grünbrache- oder Ackerflächen (KANDELER und MURER 1993). Die Ergebnisse stellen Mittelwerte aus sechs Versuchsflächen, die zu 23 zeitlich gestaffelten Zeitpunkten analysiert wurden, dar (Tab. 2).

Tabelle 2

Einfluß der Vegetationsform auf Aggregatstabilität, mikrobielle Biomasse und mikrobielle Aktivitäten in einer Lockersedimentbraunerde (nach KANDELER und MURER 1993)

Parameter	Fruchtfolge (n = 138)	Grünbrache (n = 138)	Dauergrünland (n = 21)
Mikrobielle Biomasse (mg CO ₂ · 100 g ⁻¹ TS · h ⁻¹)	3,6	4,9	6,3
Dehydrogenase (µg TPF · g ⁻¹ TS · 16 h ⁻¹)	134	197	322
Xylanase (µg Glucose · g ⁻¹ TS · 24 h ⁻¹)	681	947	1018
Phosphatase (µg Phenol · g ⁻¹ TS · 3 h ⁻¹)	527	659	1201
Protease (µg Tyrosin · g ⁻¹ TS · 2 h ⁻¹)	304	396	624
Urease (µg N · g ⁻¹ TS · 2 h ⁻¹)	36,5	47,4	61,7
Aktuelle Nitrifikation (ng N · g ⁻¹ TS · 24 h ⁻¹)	161	229	308
Potentielle Nitrifikation (ng N · g ⁻¹ TS · 5 h ⁻¹)	500	456	477
N-Mineralisation (µg N · g ⁻¹ TS · 7 d ⁻¹)	45,3	59,8	67,8
Aggregatstabilität (%)	46,6	54,8	82,4

6.3.6 Mineralische Düngung von Dauerbracheflächen

Die mikrobielle Biomasse und verschiedene Enzymaktivitäten des Bodens werden durch Bewirtschaftung beeinflusst. Bracheflächen zeigen in der Regel niedrigere Stoffumsetzungen als bepflanzte Flächen. Bei fehlender Pflanzendecke konnte in einem langjährigen Feldversuch der direkte Einfluß der Düngung auf bodenmikrobiologische Prozesse untersucht werden. Nach 25jähriger mineralischer und organischer Düngung einer kalkfreien Lockersedimentbraunerde in Gumpenstein (Steiermark) wiesen die Parzellen unterschiedliche C_t- und N_t-Gehalte auf (KANDELER und EDER 1990). Die Phosphor- und Kaliumgehalte im CAL-Extrakt lagen bereits deutlich über dem für das Pflanzenwachstum notwendigen Versorgungsniveau. Trotz dieses hohen Nährstoffangebots wurden bodenmikrobiologische Umsetzungen im Vergleich zu den organischen Düngungsvarianten stark reduziert (Tab. 3). Die geringeren Enzymaktivitäten wurden hauptsächlich durch die Abnahme der organischen Substanz verursacht. Durch den geringeren Humusgehalt und die fehlende Pflanzendecke standen nur wenige leicht abbaubare organische Verbindungen zur Verfügung. Die Möglichkeit der Adsorption und damit der Stabilisierung von Enzymen an Huminstoffe wurde bei diesen Flächen ebenfalls reduziert.

Tabelle 3

Physikalische, chemische und mikrobiologische Bodeneigenschaften einer 25jährigen Schwarzbrache (kalkfreie Lockersedimentbraunerde) mit unterschiedlicher mineralischer und organischer Düngung (nach KANDELER und EDER 1990)

Parameter	PK	NPK	Gülle	Gülle + Stroh	Stallmist
Aggregatstabilität (%)	7,3	10,4	20,9	20,9	10,0
pH (CaCl ₂)	6,5	6,3	6,3	5,7	6,4
Humus (%)	1,9	2,9	2,8	4,1	6,4
N _t (%)	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3
Biomasse (SIR) ¹	1,4	2,2	3,7	4,7	3,0
Xylanase ²	1,0	1,3	1,8	3,8	1,9
Cellulase ³	145,6	170,4	248,8	326,4	269,7
β-Glucosidase ⁴	49,6	68,8	84,7	118,1	97,9
Protease ⁵	292,2	352,0	497,6	536,6	591,4
Glutaminsaminierung ⁶	57,9	64,1	155,4	145,9	156,9
Urease ⁷	32,6	44,2	123,6	122,6	87,4
saure Phosphatase ⁸	141,8	212,0	285,1	404,5	355,1

¹ mg CO₂ · 100 g⁻¹ TS · h⁻¹

² mg Glucoseäquivalente · g⁻¹ TS · 24 h⁻¹

³ µg Glucoseäquivalente · g⁻¹ TS · 24 h⁻¹

⁴ µg Saligenin · g⁻¹ TS · 3 h⁻¹

⁵ µg Tyrosinäquivalente · g⁻¹ TS · 2 h⁻¹

⁶ µg N · g⁻¹ TS · 2 h⁻¹

⁷ µg N · g⁻¹ TS · 2 h⁻¹

⁸ µg Phenol · g⁻¹ TS · 3 h⁻¹

6.3.7 Gülledüngung im Dauergrünland

Gülledüngung im Grünland führt zu einer veränderten N-Dynamik im gesamten durchwurzelten Raum (SCHERER et al. 1988). Aus diesem Grund wurde die Tiefenverteilung der Ureaseaktivität eines Grünlandbodens (Pararendsina, sandiger Schluff) mit hoher Rindergülledüngung untersucht (KANDELER und EDER 1991). Der Nährstoffaustrag wurde in einer Lysimeteranlage mit denselben Versuchsgliedern ermittelt.

Bei hoher Dosierung der Rindergülle (480 kg N · ha⁻¹ · Jahr⁻¹) konnte eine verstärkte Stickstoffauswaschung nachgewiesen werden. Bodenmikrobiologische Untersuchungen an Bodenproben zeigten, daß die in den N-Kreislauf involvierten Enzymaktivitäten (Urease, Arginin-Desaminierung, Protease), die N-Mineralisation und die Nitrifikation im Oberboden (0 bis 10 cm) durch Gülledüngung

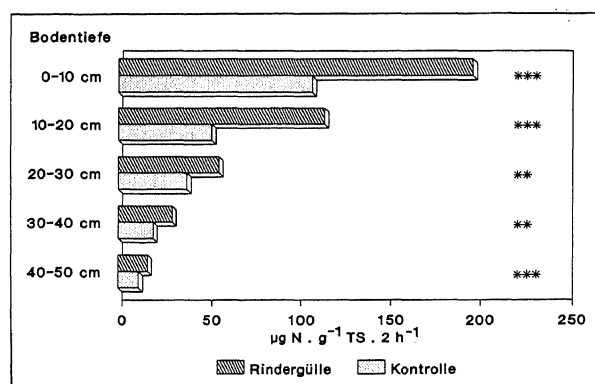
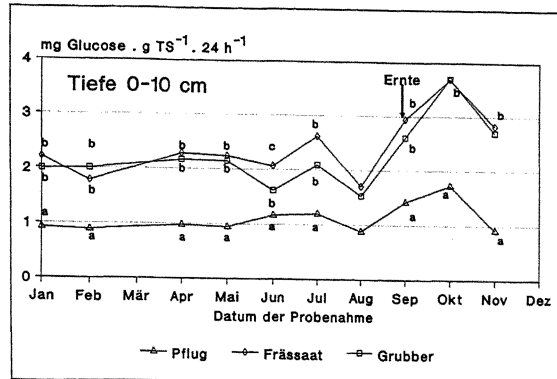


Abb. 4: Wirkung hoher Gülledüngung (480 kg · ha⁻¹ · Jahr⁻¹) auf die Tiefenverteilung der Ureaseaktivität in einem Grünlandboden (Pararendsina, sandiger Schluff; ***P < 0,001, **P < 0,01; nach KANDELER und EDER 1991)

Abb. 5: Jahreszeitlicher Verlauf der Xylanaseaktivität bei unterschiedlicher Bodenbearbeitung (Symbole, die mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich signifikant ($P < 0,05$) voneinander; nach KANDELER et al. 1993)



erhöht wurden. Die Aktivitätssteigerung der Urease war auch in den tieferen Bodenschichten (10 bis 20 cm, 20 bis 30 cm, 30 bis 40 cm) nachweisbar (Abb. 4). Die geringere Durchwurzelung des Bodens und die erhöhte N-Mineralisation verursachten bei hoher Gülledüngung eine verstärkte Nitratauswaschung.

6.3.8 Bodenbearbeitung

Intensive Bodenbearbeitung verändert die Bodenstruktur und teilweise auch die Nährstoffverteilung innerhalb eines Bodenprofils. Bodenmikrobiologische Methoden wurden eingesetzt, um die Wirkung von Minimalbodenbearbeitung (Horschsystem), Grubber und Pflug auf die bodenmikrobiologischen Aktivitäten eines Tschernosems in Fuchsenbigl (Niederösterreich) zu untersuchen (KANDELER et al. 1993). Minimalbodenbearbeitung führte zu einer Erhöhung der Xylanaseaktivität in der obersten Bodenschicht (0 bis 10 cm) des Tschernosems (Abb. 5). Ernterückstände und höhere Nährstoffgehalte in dieser Tiefenstufe erhöhten mikrobielle Stoffwechsellleistungen. Bildet man jedoch die Summe der Enzymaktivität in den drei Tiefenstufen 0 bis 10 cm, 10 bis 20 cm und 20 bis 30 cm, so konnte man nach dreijähriger Versuchsdauer noch keine Unterschiede zwischen den Untersuchungsvarianten beobachten.

6.3.9 Kombinationswirkung von Schwermetallen im Gefäßversuch — Methodenwahl

Für die Beurteilung der Toxizität von Schwermetallen wurden Kurzzeit- und Langzeitversuche durchgeführt (WILKE 1988). In einem mehrjährigen Großgefäßversuch unter Freilandbedingungen wurde die Kombinationswirkung der Schwermetalle Zn, Cu, Ni, V und Cd (Konzentration nach Kloke) auf bodenmikrobiologische Aktivitäten einer sauren, tonarmen Felsbraunerde untersucht (KANDELER et al. 1990). Es zeigte sich, daß wichtige Funktionen des N-, P- und S-Kreislaufes durch Schwermetalle langfristig gehemmt wurden (die Angaben erfolgten als prozentuelle Hemmung gegenüber der unbehandelten Kontrolle). Phytotoxische Effekte konnten am Beispiel der Schwermetallanalysen von Buschbohnenblättern nicht festgestellt werden. Schwermetallkonzentrationen, die den Grenzwerten nach Kloke entsprachen, hemmten zahlreiche bodenmikrobiologische Prozesse signifikant ($P < 0,05$; Abb. 6).

6.3.10 Wirkung von Pflanzenschutzmitteln bei unterschiedlichem Bewuchs des Bodens

Bodenbiologische Aktivitäten werden in hohem Maß vom Pflanzenbewuchs mitbestimmt. Die Ausscheidungen der Pflanzenwurzeln, absterbende Feinwur-

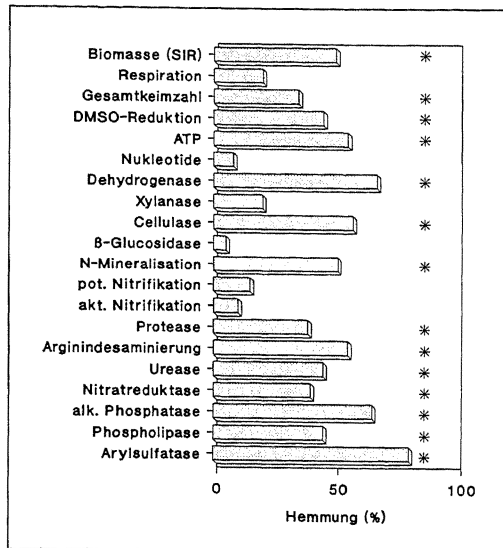


Abb. 6: Kombinationswirkung der Schwermetalle Zn, Cu, Ni, V und Cd auf bodenmikrobiologische Aktivitäten einer sauren, tonarmen Felsbraunerde (nach KANDELER et al. 1990)

zeln und Wurzelrindenteile sowie Streuanfall während der Vegetationsperiode dienen als Nahrungsgrundlage für Bodenmikroorganismen. In der Rhizosphäre kann sich aus diesem Grund eine artenreiche, aktive Bodenmikroflora entwickeln, die auch dem Einfluß von Pestiziden besser widersteht und Xenobiotika rascher abbaut als artenarme, minderaktive Gesellschaften.

Abbildung 7 zeigt die Wirkung des Fungizids Mancozeb auf die Xylanaseaktivität eines Grünlandbodens oder eines mit Silomais bewachsenen Bodens (MITTERER 1984). Bemerkenswert war die relativ geringe Wirkung des Fungizids auf die Bodenmikroflora im Grünland und die sehr intensive Wirkung auf die Bodenmikroflora der Bracheparzelle und der Parzelle mit Maisanbau.

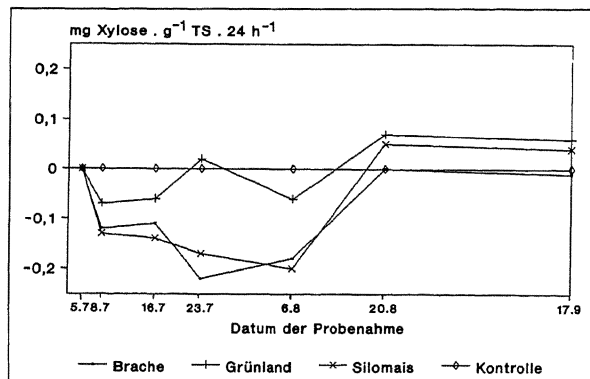
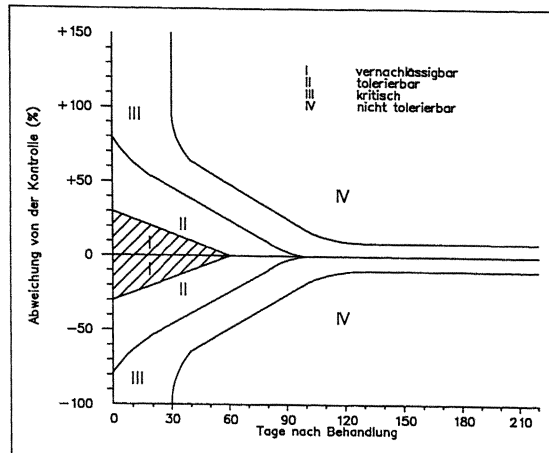


Abb. 7: Einfluß des Fungizids Mancozeb auf die Xylanaseaktivität einer Brachefläche, eines Grünlandbodens und eines mit Silomais bewachsenen Bodens (nach MITTERER 1984)

6.3.11 Prüfung von Pflanzenschutzmitteln

Die Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln auf die Aktivität der Bodenmikroflora kann nach den Richtlinien von ANDERSON et al. (1990) beurteilt werden. Zur Beschreibung der Stoffwechselaktivität der mikrobiellen Biomasse werden als Untersuchungsmethoden entweder die Dehydrogenaseaktivität, die Kurzzeitatmung oder die substratinduzierte Respiration empfohlen. Für die Bewertung des N-Umsatzes sollten N-Mineralisation und Nitrifikation bestimmt werden.

Abb. 8: Beurteilung der Wirkung von Pflanzenschutzmitteln (nach MALKOLMES 1985)



Reversible Veränderungen von Bodenmikroorganismen und deren Leistungen, die 30 Tage nach der Applikation weniger als 15 % betragen, gelten als vernachlässigbar (MALKOLMES 1985). Als Maß für diese Toleranzgrenze wurden natürliche Schwankungsbreiten, die durch Streßfaktoren (z. B. Nährstoff- und Sauerstoffmangel) verursacht werden, herangezogen (DOMSCH 1984, Abb. 8). Eine systematische Übersicht über Wechselwirkungen zwischen Pestiziden und Mikroorganismen im Boden gibt DOMSCH (1992).

Danksagung

Für wertvolle Ratschläge danken wir Dr. A. BAUMGARTEN, Dr. H. RÖSSNER, Dozent Dr. W. STROBL und Dr. S. ZECHMEISTER-BOLTENSTERN. Wir bedanken uns beim Bundesministerium für Wissenschaft und Forschung (Wien) für die Bereitstellung finanzieller Mittel.

Literatur

- ANDERSON, J. P. E., 1982: Soil respiration. In: PAGE, A. L., R. H. MILLER and D. R. KEENEY (eds.): Methods of Soil Analysis, Part 2. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- ANDERSON, T. H., and K. H. DOMSCH, 1985: Maintenance carbon requirements of actively metabolizing populations under in situ conditions. *Biol. Fertil. Soils* 1, 81–89.
- ANDERSON, T. H. and K. H. DOMSCH, 1989: Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biol. Biochem.* 21, 471–479.
- ANDERSON, T. H. and K. H. DOMSCH, 1990: Application of ecophysiological quotients (q_{CO_2} and q_D) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.* 22, 251–255.
- ANDERSON, T. H. and T. R. G. GRAY, 1990: Soil microbial carbon uptake characteristics in relation to soil management. *FEMS Microbiol. Ecol.* 74, 11–20.
- ANDERSON, J. P. E., D. CASTLE, H. EHLE, D. EICHLER, H. T. LAERMANN, G. MAAS und H. P. MALKOLMES, 1990: Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, 2. Auflage. Pigge Letter Shop GmbH, Braunschweig.
- BECK, T. und A. BENGEL, 1992: Die mikrobielle Biomasse in Böden, ihre Bestimmung, Indikatorfunktion und Bedeutung für die Stoffumsetzungen. Bayer. Staatsmin. f. Ernähr., Landw. und Forsten, Schule und Beratung 01/02/92.
- BERG, P. and T. ROSSWALL, 1985: Ammonium oxidizer numbers, potential and actual oxidation rates in two swedish arable soils. *Biol. Fertil. Soils* 1, 131–140.
- BLUM, W. E. H., H. SPIEGEL und W. W. WENZEL, 1989: Bodenzustandsinventur. Konzeption, Durchführung und Bewertung. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.
- DOMSCH, K. H., 1984: Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil. *Plant and Soil* 76, 367–378.
- DOMSCH, K. H., 1992: Pestizide im Boden. Verlag Chemie, Weinheim.

- FOCHT, D. D. and W. VERSTRAETE, 1977: Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Adv. Microbiol. Ecol.* 1, 135—214.
- FRENEY, J. R., 1961: Some observations on the nature of organic sulphur compounds in soil. *Austr. J. Agric. Res.* 12, 424—432.
- FRENEY, J. R., G. E. MELVILLE and C. H. WILLIAMS, 1975: Soil organic matter fractions as sources of plant available sulphur. *Soil. Biol. Biochem.* 7, 217—221.
- GYSI, C., S. GUPTA, W. JÄGGI und J. A. NEYROUD, 1991: Wegleitung zur Beurteilung der Bodenfruchtbarkeit. Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft und Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene.
- HEILMANN, B. und F. BEESE, 1991: Variabilität der mikrobiellen Aktivität und Biomasse eines großen Bodenkollektives in Abhängigkeit von verschiedenen Standortparametern. *Mitt. Dt. Bodenkundl. Ges.* 66, 495—498.
- HOFFMANN, G., 1968: Eine photometrische Methode zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität in Böden. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 118, 161—172.
- INSAM, H., C. C. MITCHELL and J. F. DORMAAR, 1991: Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of three ultisols. *Soil. Biol. Biochem.* 23, 459—464.
- JÄGGI, W., 1976: Die Bestimmung der CO₂-Bildung als Maß der bodenbiologischen Aktivität. *Schweiz. Landw. Forschung* 15, 371—380.
- JENKINSON, D. S. and D. S. POWLSON, 1976: The effects of biocidal treatments on metabolism in soil — V. A method for measuring soil biomass. *Soil. Biol. Biochem.* 8, 203—208.
- KANDELER, E. und G. EDER, 1990: Bodenmikrobiologische Prozesse und Aggregatstabilität einer 28jährigen Dauerbrachefläche mit unterschiedlicher mineralischer und organischer Düngung. *Mitt. Dt. Bodenkundl. Ges.* 62, 63—66.
- KANDELER, E. und G. EDER, 1991: Gülledüngung im Dauergrünland und ihre Wirkung auf Bodenbiologie und Stickstoffaustrag. *VDLUFASchriftenreihe* 33, 257—262.
- KANDELER, E. und H. GERBER, 1988: Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 6, 68—72.
- KANDELER, E. und E. MURER, 1993: Aggregate stability and soil microbial processes in a soil under different cultivation. In: BRUSSARD, L. and M. I. KOISTRA (eds.): *Int. Workshop on Methods of Research on Soil Structure/Soil Biota Interrelationships*. *Geoderma* 56, 503—513.
- KANDELER, E., A. MENTLER, M. PFEFFER und O. HORAK, 1990: Bodenbiologische Beurteilung der Toxizität von Schwermetallen in künstlich belasteten Böden. *VDLUFASchriftenreihe* 32, 621—626.
- KANDELER, E., K. BÖHM und W. E. H. BLUM, 1993: Einfluß der Bodenbearbeitung auf die Tiefenverteilung der mikrobiellen Biomasse und verschiedener Enzymaktivitäten. *Mitt. Dt. Bodenkundl. Ges.*, im Druck.
- KEENEY, D. R., 1982: Nitrogen-availability indices. In: PAGE, A. L., R. H. MILLER and D. R. KEENEY (eds.): *Methods of Soil Analysis, Part 2*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- KILLHAM, K., 1987: A new perfusion system for the measurement and characterization of potential rates of soil nitrification. *Plant and Soil* 97, 267—272.
- MALCOLM, R. E., 1983: Assessment of phosphatase activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 15, 403—408.
- MALKOLMES, H. P., 1985: Einflüsse von Pflanzenschutzmitteln auf Bodenorganismen und ihre Leistungen. *Berichte über Landwirtschaft, Sonderheft* 198, 134—147.
- MARTENS, R., 1991: Methoden zur quantitativen Bestimmung und Charakterisierung der mikrobiellen Biomasse in Böden. Eigenverlag des Institutes für Bodenbiologie der FAL Braunschweig.
- MITTERER, M., 1984: Der Einfluß von Pestiziden auf bodenbiologische Aktivitäten bei unterschiedlichem Bewuchs. *Dissertation, Universität Innsbruck*.
- ÖHLINGER, R., A. EIBELHUBER und M. VINZENZ, 1993: Die Verteilung und Streuung von Bodenenzymaktivitäten in einer einheitlichen Fläche und deren Einfluß auf Probenahme und Analyse. *Die Bodenkultur* 44, 103—117.
- PUCHNER, D., 1984: Zusammenhang zwischen bodenbiologischen und bodenchemischen Parametern in Bodenmaterialien verschiedener Bodentypen. *Diplomarbeit, Universität Innsbruck*.
- RYDEN, J. C., L. J. LUND and D. D. FOCHT, 1979: Direct measurement of denitrification loss from soils: I. Laboratory evaluation of acetylene inhibition of nitrous oxide reduction. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 104—110.
- SACHS, L., 1992: *Angewandte Statistik*. Springer-Verlag, Berlin.
- SCHERER, H. W., W. WERNER und A. KOHL, 1988: Einfluß langjähriger Gülledüngung auf den Nährstoffhaushalt des Bodens. 1. Mitteilung: N-Akkumulation und N-Nachlieferungsvermögen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 151, 57—61.

- SCHIMMEL, E. L., M. K. FIRESTONE and K. S. KILLHAM, 1984: Identification of heterotrophic nitrification in a Sierran forest soil. *Appl. Environm. Microbiol.* **48**, 802—806.
- SCHINNER, F. und H. HOFMANN, 1978: Cellulase-, Xylanase- und Pectinaseaktivitätsbestimmung in verschiedenen Böden der oberen subalpinen Stufe. In: CERNUSCA, A. (ed.): Ökologische Analysen von Almflächen im Gasteiner Tal. Universitätsverlag Wagner, Innsbruck.
- SCHINNER, F. and W. VON MERSI, 1990: Xylanase, CM-cellulase- and invertase activity in soil, an improved method. *Soil Biol. Biochem.* **22**, 511—515.
- SCHINNER, F., R. ÖHLINGER, E. KANDELER und R. MARGESIN (Hrsg.) 1993: Bodenbiologische Arbeitsmethoden, 2. Auflage. Springer-Verlag, Berlin.
- SPEIR, T. W. and D. J. ROSS, 1978: Soil phosphatase and sulphatase. In: BURNS, R. G. (ed.): *Soil Enzymes*. Academic Press, London.
- TABATABAI, M. A., 1982: Soil enzymes. In: PAGE, A. L., R. H. MILLER and D. R. KEENEY (eds.): *Methods of Soil Analysis, Part 2*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- TABATABAI, M. A. and J. M. BREMNER, 1970: Arylsulfatase activity of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **34**, 225—229.
- THALMANN, A., 1968: Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.* **21**, 249—258.
- TIEDJE, J. M., 1982: Denitrification. In: PAGE, A. L., R. H. MILLER and D. R. KEENEY (eds.): *Methods of Soil Analysis, Part 2*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- WILKE, B. M., 1988: Langzeitwirkungen potentieller anorganischer Schadstoffe auf die mikrobielle Aktivität einer sandigen Braunerde. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkde.* **151**, 131—136.

(Manuskript eingelangt am 15. Oktober 1993, angenommen am 21. Oktober 1993)

Anschrift der Verfasser:

Dr. Ellen KANDELER, Bundesanstalt für Bodenkultur, Denisgasse 31—33, A-1200 Wien;
 Dr. Rosa MARGESIN und Prof. Dr. Franz SCHINNER, Institut für Mikrobiologie der Universität
 Innsbruck, Technikerstraße 25A, A-6020 Innsbruck; Dr. Richard ÖHLINGER, Bundesanstalt
 für Agrarbiologie, Wieningerstraße 8, A-4025 Linz