

Bestimmung der mikrobiellen Biomasse (Substratinduzierte Respiration; Isermeyer- Ansatz)

Version 1.2 (2020)

| Code der Referenzmethode | B-BM-IS | | Mögliche Einsatzbereiche | |
|--------------------------|---------------------------|--|--------------------------|---|
| Einsatzbereich | Düngeberatung | Ackerkulturen und Grasland | | |
| | | Gemüsebau (Freiland / Gewächshaus) | | |
| | | Weinbau, Obstbau, Beerenanbau, Gewürz- und Medizinalpflanzen | | |
| | Standortcharakterisierung | | | x |
| | Schadstoffbeurteilung | | | |
| | Düngeruntersuchungen | Recyclingdünger | Kompost | |
| | | | Gärgut fest | |
| | | | Gärgut flüssig | |
| | | | Klärschlamm | |
| | | Hofdünger | Mist | |
| | | Gülle | | |
| Mineraldünger | | | | |
| Pflanzkohle | | | | |
| Forschungsmethoden | | | | |
| Analysenprogramm | Probennahme | B-M-PN | | |
| | Probenaufbereitung | B-PAL, B-VI | | |
| | Aufschluss | TS, B-WHK | | |
| | Messung | B-BM-IS | | |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Konzentrations- / Messbereich | |
| Angabe der Ergebnisse | mg C _{mic} (SIR) pro kg Bodentrockensubstanz; Genauigkeit: 1 mg |
| Bemerkungen für äquivalente Methoden | |
| Sicherheit / Umwelt | |



1. Prinzip

Bodenproben werden mit Glucose versetzt. Diese werden so lange bebrütet bis eine maximale initiale Atmung erreicht ist. Diese maximale Atmung ist proportional zur mikrobiellen Biomasse.

2. Durchführung

Apparaturen und Geräte:

- (A) Waage (0.01 g Teilung).
- (B) Reaktionsgefässe: SCHOTT-Laborflaschen mit ISO-Gewinde, 250 ml.
- (C) Einsatzgefässe zur Aufnahme der Bodenproben: Reagenzröhrchen aus Polypropylen Ø 29 x 105 mm, mit Bördelrand und seitlichen Löchern (3 cm unter dem Bördelrand 12 Löcher mit Durchmesser 2 mm) zum Gasaustausch.
- (D) Gummidichtungen: O-Ring 35 x 5 mm.
- (E) Brutschrank, auf 22 ± 0.5 °C einstellbar.
- (F) Bürette oder Dosimat, Volumen 20 bzw. 10 ml, mit CO₂-Falle.

Reagenzien:

- (1) Demineralisiertes Wasser (H₂O, Leitfähigkeit < 5 µS/cm).
- (2) Natronlauge 0.025 M:
Natronlauge 0.1 mol/l Titrisol in 4 l H₂O (1) verdünnen.
- (3) Salzsäure 0.025 M:
Salzsäure 0.1 mol/l Titrisol in 4 l H₂O (1) verdünnen.
- (4) Phenolphthaleinlösung:
0.2 g Phenolphthalein (C₂₀H₁₄O₄, M = 318.33 g/mol) in 200 ml 60 %igem Aethanol lösen.
- (5) Bariumchloridlösung, 0.5 M:
12.22 g Bariumchlorid (BaCl₂ · 2 H₂O, M = 244.28 g/mol, p.a.) in 100 ml Wasser (1) auflösen.
- (6) Glucose wasserfrei (C₆H₁₂O₆, M = 180.16 g/mol).

Arbeitsvorschrift:

- Probemenge für 4 Wiederholungen vorinkubieren (Methode B-VI).
- Pro Bodenprobe werden mindestens je 4 Parallelansätze gemacht.
- Zur Korrektur des Titrationsfehlers infolge CO₂-Bindung aus der Luft während der Durchführung der Bestimmung werden pro Serie je 5 Blindansätze ohne Boden, sonst genau gleich behandelt wie die Vollansätze (mit Boden), durchgeführt.
- Die Flaschen (B) und Einsatzgefässe (C) beschriften. Anschliessend die Flaschen (B) mit 20 ml 0.025 M NaOH-Lösung (2) beschicken. Genauigkeit: 20 ± 0.1 ml. Pro Serie muss die gleiche Lösung (gleiche Flasche) verwendet werden (Bezug zu Blindproben).
- Damit sich die Natronlauge während dem Abfüllen nicht verändert, wird die in die Flasche nachströmende Luft durch ein Röhrchen mit Natronkalk geführt, um das CO₂ zu absorbieren.
- Von den vorinkubierten Böden wird pro Parallelansatz die Menge abgewogen, die 20 g Bodentrockensubstanz entspricht.
- 60 mg Glucose (6) zusetzen und mit Spatel einmischen.
- Wasserverlust während der Vorinkubation (Methode B-VI) ausgleichen.
- Probe in Einsatzgefäss (C) geben.
- Während 2 Stunden in Brutschrank bei 22 °C stellen. Anlaufphase der Glucoseveratmung.
- Röhrchen in Reaktionsgefäss mit NaOH einsetzen und Reaktionsgefäss verschliessen.
- Während 4 Stunden bei 22 °C inkubieren.
- Einsatzgefäss mit Probe entfernen und Reaktionsgefäss wieder verschliessen.
- Titration des unverbrauchten NaOH.

- Vor der Titration wird das gebildete CO_3^{2-} durch Zugabe von 1 ml 0.5 M BaCl_2 -Lösung (5) gefällt. Anschliessend werden 4 Tropfen Phenolphthalein-Lösung (4) pro Flasche (B) als Indikator zugegeben und sofort mit 0.025 M HCl (3) bis zur Entfärbung des Phenolphthaleins titriert (Ableseung: ml 0.025 M HCl).

• Anmerkung: Für sehr aktive Böden (z.B. organische Böden) muss die Bodeneinwaage halbiert werden.

3. Berechnung

Der HCl-Verbrauch der 5 Blindansätze wird gemittelt (BW). Die Menge des freigesetzten CO_2 pro Stunde (Substrat induzierte Respiration SIR) wird für jeden Vollansatz (VP) nach der folgenden Formel berechnet:

$$\text{SIR} = \left((\text{BW} - \text{VP}) \cdot \frac{k \cdot 22 \cdot 1000}{\text{EW} \cdot 4} \right) \cdot \frac{22.4}{44.01} \cdot \frac{295}{273}$$

wobei:

| | | |
|--------------|---|--|
| BW | = | Mittelwert des HCl-Verbrauchs der Blindansätze (ml) |
| VP | = | HCl-Verbrauch des Vollansatzes (ml) |
| k | = | Konzentration der HCl |
| 22 | = | Faktor (1 ml 1 molarer HCl entspricht 22 mg CO_2) |
| EW | = | Bodeneinwaage (g Boden-TS) |
| 1000 | = | Umrechnung von g zu kg |
| (22.4/44.01) | = | Umrechnung mg CO_2 in ml CO_2 bei Normalbedingungen (0 °C) |
| (295/273) | = | Umrechnung von 0 auf 22 °C |

Aus der Respiration lässt sich nach Anderson und Domsch (1978) die mikrobielle Biomasse berechnen.

Kaiser et al. (1992) ermittelten einen Umrechnungsfaktor von 30 mg C_{mic} pro ml CO_2 . Daraus folgt:

$$C_{\text{mic}}(\text{SIR}) = \text{SIR} \cdot 30$$

4. Resultatangabe

mg C_{mic} (SIR) pro kg Bodentrockensubstanz; Genauigkeit: 1 mg

5. Bemerkungen

- Aktivierbare aerobe Mikroorganismen im Boden reagieren auf die Zugabe einer optimalen Konzentration von Glucose mit einer sofortigen Steigerung ihrer Atmungsaktivität bis zu einem maximalen Wert. Dieser bleibt für einige Stunden konstant, bevor infolge der Vermehrung der Mikroorganismen die Atmungsaktivität steil ansteigt. Die maximale Substratinduzierte Respiration korreliert nach Anderson und Domsch (1978) eng mit der mikrobiellen Biomasse nach der Fumigation-Inkubation-Methode (FIM) nach Jenkinson und Powlson (1976). Dieser Zusammenhang ermöglicht die Ermittlung eines Faktors, der eine Umrechnung von Substrat-induzierter maximaler Atmungsrate auf mikrobielle Biomasse erlaubt. Bei 100 g Bodeneinwaage (TS) und 22 °C entspricht eine maximale Anfangsrespiration von 1 ml CO_2/h 40 mg Biomasse-C. Kaiser et al. (1992) ermittelten an wesentlich mehr Böden einen Umrechnungsfaktor von 30 mg Biomasse-C pro ml CO_2 . Dieser Umrechnungsfaktor wird seither allgemein verwendet.
- Bei Anwendung der Isermeyer-Methode kann die stündliche CO_2 -Bildungsrate nicht direkt ermittelt werden. Es wird davon ausgegangen, dass die Zeitspanne zwischen der 2. und 6. Stunde der Inkubation das Plateau der maximalen anfänglichen Respiration darstellt. Die stündliche CO_2 -Bildungsrate wird durch Division des 4-Stunden-Wertes ermittelt und nach der entsprechenden Formel in Biomasse umgerechnet.

–Die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse nach der SIR-Methode nach Anderson und Domsch (1978) erfordert eigentlich Geräte oder Versuchsanlagen zur stündlichen Messung der Bodenatmung. Am besten dazu geeignet ist die Infrarot-Gasanalysator-Messanlage nach Heinemeyer (1989) (vgl. Methode B-BM-HM). Auch die Messung der O₂-Aufnahme mit dem Saproimat oder dem Warburgapparat ist möglich.

6. Literatur

Anderson J.P.E. und Domsch K. H.(1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* **10**, 215-221.

Jenkinson D.S. und Powlson D.S. (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* **8**, 209-213.

Kaiser E.-A., Müller T., Jörgensen R.G., Insam H. und Heinemeyer O. (1992). Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter. *Soil Biol. Biochem.* **24**, (7) 675-683.

Heinemeyer O., Insam H., Kaiser E.-A. und Walenzik G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements: An automated technique based on infrared analysis. *Plant and Soil* **116**, 191-195.

7. Historie

| Version | Art der Änderung | neu | bisher |
|--------------------|--------------------|--|--------|
| Version 1 (1996) | Erstellung Methode | | |
| Version 1.1 (1998) | Freigabe Methode | | |
| Version 1.2 (2020) | Editorisch | Elektronische Veröffentlichung mit geändertem Layout | |

Impressum

| | |
|-------------|---|
| Herausgeber | Agroscope Reckenholzstrasse 191 8046 Zürich www.agroscope.ch/referenzmethoden |
| Auskünfte | Diane Bürge |
| Copyright | © Agroscope 2020 |