

Klaus Peissl, Peter Hirsch, Institut für Allgemeine Mikrobiologie
H.R. Burton, Australian Antarctic Division, Hobart, Tasmania

Untersuchungen zur Ökologie von Bodenmikroorganismen in den Vestfold Hills (Ostantarktis)

Im vergangenen Jahr hatten wir über Versuche zur bakteriellen Kontamination antarktischer Böden berichtet (HIRSCH & PEISSL, 1993, Mitt. Kieler Polarf. 9). Ziel dieser Arbeiten war es, Einflüsse des Menschen auf die Mikroorganismen-Gesellschaften der Böden zu erkennen und insbesondere die vom Menschen eingebrachten Mikroorganismen als solche anzusprechen. Hierzu wurden Gesamtzellzahlen nach Anfärbung mit dem fluoreszierenden Farbstoff DAPI ermittelt und mit Lebendzellzahlen verglichen, die durch Ausstriche auf 14 verschiedenen Nährböden erhalten waren. Erstaunlicherweise lagen die Gesamtzellzahlen in allen 32 untersuchten Böden zwischen ca 10^7 und 10^9 Zellen pro g trockenen Bodens. Besonders in Morainenböden, die ca. 12 km von der Davis Station entfernt auf dem polaren Eisplateau gefunden wurden, gab es erheblich weniger Lebendzellzahlen als nach den Gesamtzellzahlen zu erwarten war (bis zu 10^6 Zellen weniger pro g trockener Bodenprobe). Entweder wurden mit der DAPI Färbung auch tote Zellen erfaßt, oder unsere Kulturbedingungen waren für die hier einheimischen und vermutlich nicht kontaminierenden Mikroorganismen zu ungünstig. Zumindestens konnte ein großer Prozentsatz der mit DAPI gezählten Zellen in inaktiver Dauerform vorliegen, ohne auf unser Nährstoffangebot oder die angebotene Temperatur zu reagieren. Es sollte daher festgestellt werden, ob die Mikroorganismen in den vermutlich nicht kontaminierten Böden *in situ*, d.h. am Standort aktiv stoffwechseln.

Die aktive Ausscheidung hydrolytischer Enzyme läßt sich mit fluorogenen Substrat-Analogen nachweisen. Hierbei verwendet man besonders solche einfachen Substrate, die an 4-Methylumbelliferon ("MUF-"), einen Fluoreszenzfarbstoff, gebunden sind. Das Substratanalogon fluoresziert selbst nicht, aber nach hydrolytischer Abspaltung des Substrateiles wird der MUF-Teil freigesetzt, und dessen Fluoreszenz ist also ein Maß für die Abspaltung des Substrates (MANAFI et al., 1991).

Wir arbeiteten mit MUF-Substratanalogen in der folgenden Weise. Zunächst wurde ein Bodenprofil mit möglichst senkrechter Wandung steril ergraben. Sodann wurden Filterpapierflächen, die zuvor mit dem MUF-Substratanalogon getränkt waren, gegen die Profilwandung gepreßt und so für bis zu 2 Stunden exponiert. Physiologisch aktive Mikrokolonien oder lokale Ansammlungen aktiver Mikroorganismen sollten die Substrate abspalten und damit die Fluoreszenz "freisetzen". Nach der Exponierung wurden die Filterpapiere steril in das Labor überführt, mit NH_3 oder Bicarbonatlösung alkalisch gemacht und unter UV-Licht (360 nm) betrachtet.

Die Ergebnisse waren überzeugend: alle exponierten Filterpapiere (auch mit verschiedenen Substratanalogen getränkt) zeigten reichlich fluoreszierende Punkte, offenbar "Abbildungen" der an diesen Stellen im Boden vorhandenen Mikrokolonien oder Ansammlungen von physiologisch aktiven Mikroorganismen. Bei den einzelnen Substraten gab es signifikante Unterschiede. Einige von ihnen wurden bevorzugt oder nur in den oberen, mehr aeroben Bereichen des Profils gespalten, andere mehr im unteren Bereich - Hinweise für das Vorkommen und die Verteilung physiologisch unterschiedlicher Populationen. Die entsprechende Behandlung von nicht exponierten Filterpapierstreifen ergab keine derartig dichten Ansammlungen von Fluoreszenzpunkten, sondern höchstens einige, auf nachträgliche Kontamination hinweisende Flecken. So konnte daraus geschlossen werden, daß in der Tat diese extremen Böden eine auch *in situ* physiologisch hochaktive Mikroorganismen-Gesellschaft enthielten, und daß die hier niederen Lebendzellzahlen auf ungünstige Kulturbedingungen zurückzuführen waren.

Da die bisherigen Zellzahlbestimmungen mit gelagerten aber gekühlten Bodenproben durchgeführt worden waren, sollten nun auch Zellzahlen "vor Ort", d.h. in der Antarktis bestimmt werden. Vorläufige Ergebnisse deuten darauf hin, daß die in der Antarktis ermittelten Zellzahlen bis zu zehnfach höher waren, als solche, die in Kiel bestimmt worden waren. Die Arbeiten wurden von der DFG und von der Australian Antarctic Division großzügig unterstützt.

Literatur:

MANAFI, M., KNEIFEL, W. UND BASCOMB, S. (1991) Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Microbiological Reviews* 55 : 335 - 348.