

DISS. ETH Nr. 19029

**COMPOSITION AND DYNAMICS OF THE MICROBIAL  
PHOSPHORUS POOL IN A FERRALSOL**

A dissertation submitted to the

ETH ZÜRICH

For the degree of  
Doctor of Sciences

presented by

KNUT EHLERS

Dipl.-Ing. agr., Justus-Liebig-Universität Giessen, Germany

born December 29, 1976  
citizen of Germany

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Emmanuel Frossard, examiner  
Prof. Dr. Erland Bååth, co-examiner  
Prof. Dr. Lars R. Bakken, co-examiner  
Dr. Else K. Bünemann, co-examiner

## Abstract

Soil microorganisms mediate key processes in the soil phosphorus (P) cycle. Particularly in highly weathered tropical soils like Ferralsols where strong P sorption limits P availability to crops, a capital role is assigned to the microbial P pool as sink and source of soil P. However, a thorough understanding of the composition and dynamics of the microbial P pool is lacking. Until today the microbial P pool has only been investigated after cell lysis by the fumigation-extraction method. This method has several known biases and as the extracted P compounds are hydrolyzed during the extraction it reveals no information on the chemical composition of the soil microbial P pool.

As a prerequisite for more detailed analysis of the microbial P pool, the method of microbial cell extraction by density gradient centrifugation was adapted to a Ferralsol. This soil type presented a challenge to this method due to a low cell yield and a substantial contamination of the extracted microbial fraction by soil material. The combination of modifying pH from originally 4.9 to 7.5 by NaOH addition and adding NaCl (8 g l<sup>-1</sup>) during soil dispersion secured reasonable cell yield (4.6%) and low contamination, and the representativeness was biased within an acceptable range.

Incubating the soil with carbon substrates and ample nitrogen (CN) with and without extra P showed that microbial respiration after CN addition was retarded by P-limitation but microbial growth was not hampered. Substrate induced growth was dominated by fungi, irrespective of P addition. Total P in extracted cells ranged from 2.1 to 8.9 fg P cell<sup>-1</sup>, with a tendency for lower values in less active soil microbial communities.

Between 10-25% of the measured total P in extracted cells was accounted for by the sum of measured RNA-P, DNA-P and phospholipid fatty acid P. Presumably, the RNA-P pool was underestimated because of degradation during extraction.

N and P fertilization in the field did not affect soil microbial biomass C, the microbial P pool, plant litter degradation and soil basal respiration. However, the microbial N pool and the glucose induced respiration were sensitive to N fertilization. In contrast to plant

N:P ratios, soil microbial N:P ratios were not affected by soil total N:P ratios and averaged around  $11 \pm 7$  and  $9 \pm 2$  for fumigation-extraction and extraction of cells, respectively. These data reinforce the hypothesis that plant nutrient concentrations depend more on the nutrient concentrations in the surrounding environment than microbial nutrient ratios which are independent from the surrounding environment and thus homeostatic.

Drying and rewetting of the soil led to an increase in available inorganic P and a decrease in microbial P. Labeling the soil with  $^{33}\text{P}$  indicated that P is rapidly cycled between the available inorganic P pool and the microbial P pool. Comparison of the isotopic composition in the investigated P pools with and without drying and rewetting indicated that the microbial P pool is the source for an increase in available inorganic P. However, this flush in available P disappeared quickly and presumably, the released microbial P was sorbed to soil particles.

The results show that the soil microbial biomass represents a dynamic and labile P pool. Low P availability in the investigated Ferralsol may slow down soil microbes but does not seem to limit them in absolute terms. Cell extraction confirmed results from fumigation-extraction, indicating that P concentration in the soil microbial biomass does not depend on the P availability. It thus seems that on this soil, microorganisms are able to take up enough P from the soil to satisfy their needs if carbon availability allows microbial growth and that soil drying and rewetting is one possible process that leads to a release of microbial P.

## Zusammenfassung

Bodenmikroorganismen sind für wesentliche Prozesse des Phosphorkreislaufs im Boden verantwortlich. Es wird davon ausgegangen, dass sie insbesondere auf stark verwitterten tropischen Böden wie Ferralsolen, auf denen eine starke Sorption von Phosphor (P) die P-Verfügbarkeit für Pflanzen einschränken kann, eine bedeutende Funktion als Senke und Quelle für den Bodenphosphor haben. Jedoch fehlt bislang das Wissen über die Zusammensetzung und Dynamik des mikrobiellen P im Boden. Bisher wurde der mikrobielle P nur über eine Zerstörung mikrobieller Zellen mittels der Fumigation-Extraktionsmethode bestimmt. Diese Methode ist bekannt dafür verzerrte Resultate zu generieren. Da der mikrobielle P bei dieser Methode hydrolysiert wird, kann auch seine Zusammensetzung nicht weiter bestimmt werden.

Als Voraussetzung für eine genauere Untersuchung der Zusammensetzung des mikrobiellen P wurde die Methode zur Zellextraktion von Bodenmikroorganismen mittels Zentrifugierung über einem Dichtemedium an den Bodentyp Ferralsol angepasst. Bisher war die Extraktion von Mikroorganismen aus diesem Bodentyp wegen geringer Zellausbeute und starker Verunreinigung der extrahierten Zellen durch Bodenpartikel nur eingeschränkt erfolgreich. Eine Kombination von pH Erhöhung (von 4.9 auf 7.5 mittels NaOH Zugabe) und eine Salzzugabe von  $8 \text{ g NaCl l}^{-1}$  während der Dispergierung ermöglichte eine ausreichende Zellausbeute (4.6%) und geringe Kontamination. Die Repräsentativität der extrahierten Bodenmikroorganismen wurde durch diese Behandlung in vertretbarem Rahmen beeinträchtigt.

Eine Inkubation des Bodens mit leicht verfügbaren Quellen von Kohlenstoff (C) und Stickstoff (N) mit oder ohne P-Zugabe zeigte, dass die mikrobielle Atmungsrate und das mikrobielle Wachstum nach CN-Zugabe durch eine P-Limitierung verlangsamt, aber nicht gänzlich eingeschränkt ist. Das durch die Nährstoffzugabe induzierte mikrobielle Wachstum wurde von Pilzen dominiert, unabhängig davon, ob zusätzliches P zugegeben wurde oder nicht. Der Gesamtgehalt an P in den Zellen schwankte zwischen 2.1 bis 8.9 fg P pro Zelle, mit einer Tendenz zu niedrigeren Werten in weniger aktiven mikrobiellen

Gemeinschaften. 10-25% des gemessenen gesamten zellulären P konnte als RNA-P, DNA-P und PLFA-P identifiziert werden. Diese niedrigen Werte führe ich auf eine Unterschätzung des RNA-P zurück. Vermutlich wird RNA bei der Extraktion der Zellen teilweise zersetzt.

N- und P-Düngung im Boden hatte keinen Einfluss auf die mikrobielle Biomasse, die Menge des mikrobiellen P, die Zersetzung von Pflanzenrückständen und die mikrobielle Basalatmung. Die Menge des mikrobiellen N und auch die Atmung nach Glukosezugabe wurde durch N-Düngung erhöht. Im Gegensatz zu N:P-Verhältnissen in Pflanzen war das N:P-Verhältnis in Bodenmikroorganismen nicht durch N:P-Verhältnisse im Boden beeinflusst. Das mikrobielle N:P-Verhältnis schwankte zwischen  $11 \pm 7$  für die Fumigation-Extraktionsmethode und  $9 \pm 2$  für extrahierte Zellen. Diese Ergebnisse unterstützen die These, dass die Nährstoffverhältnisse in Pflanzen in einem gewissen Rahmen von der Umgebung abhängig sind, während mikrobielle Nährstoffverhältnisse unabhängig von den Nährstoffverhältnissen der Umgebung und somit homeostatisch sind.

Das Austrocknen und Wiederbefeuchten von Boden führte zu einem Anstieg des verfügbaren anorganischen P Gehaltes des Bodens und einer Abnahme des mikrobiellen P. Durch das Markieren des Bodens mit  $^{33}\text{P}$  wurde deutlich, dass P zwischen dem verfügbaren anorganischen P und dem mikrobiellem P zügig ausgetauscht wird. Der Vergleich der Isotopenzusammensetzung in den P-Pools des Bodens mit und ohne Bodenaustrocknung und Wiederbefeuchtung deutete an, dass das mikrobielle P die Quelle für den Anstieg des verfügbaren anorganischen P ist. Dieser Anstieg an verfügbarem anorganischen P verschwand allerdings recht schnell und wir gehen davon aus, dass er an Bodenpartikel sorbiert wurde.

Die Ergebnisse zeigen, dass die mikrobielle Biomasse im Boden einen labilen und dynamischen P-Pool darstellt. Eine niedrige P-Verfügbarkeit im Boden mag Bodenmikroorganismen beeinträchtigen, scheint auf diesem Standort jedoch keine absolute Limitation darzustellen. Die Zellextraktion bestätigte die Ergebnisse der

Fumigation-Extraktionsmethode, dass die P-Konzentration in der mikrobiellen Biomasse nicht von der P Verfügbarkeit abhängt. Dementsprechend scheint es, dass auf diesem Boden Mikroorganismen ihren Bedarf an P decken können, wenn die C-Verfügbarkeit ein mikrobielles Wachstum zulässt. Bodenaustrocknung und Wiederbefeuchtung ist ein Prozess, der zur Freisetzung von mikrobiellem P führen kann.