

## Ein neues Verfahren zur Untersuchung der bakteriellen Besiedlung grundwasserführender sandiger Sedimente

A new method for the investigation of bacterial occurrence in groundwater-bearing sandy sediments

VON JÜRGEN MARXSEN

Mit 3 Abbildungen und 4 Tabellen im Text

### Abstract

Containers of stainless steel nets with sterilized sand (0.40—0.80 mm grain size) were placed in a pumping tube at 4.0 m depth in groundwater-bearing sediments, so that the quantity of bacteria in the sandy fraction of these sediment layers could be measured. Three months after the beginning of the experiments, when rather stable populations had developed,  $0.16\text{--}0.31 \cdot 10^9$  bacteria per ml and 0.0030—0.0056 mg bacterial dry weight per ml were found. The bacterial biomass amounted to 0.21—0.32 % of the total organic matter. The interstitial bacteria are supposed to amount to less than 1 % of the total number of bacteria in the investigated substrate.

### Einleitung

Ein bisher nicht gelöstes Problem bei der ökologischen Untersuchung grundwasserführender sandiger Sedimente ist die quantitative Bestimmung der bakteriellen Biomasse in diesen Lebensräumen. Innerhalb des von der Deutschen Forschungsgemeinschaft erheblich mitfinanzierten Projektes „Das ökologische Gleichgewicht im Grundwasser sandig-kiesiger Ablagerungen und seine Störung durch versickernde Verunreinigungen“ (vgl. HUSMANN 1972, 1974/75, 1978) war mit Hilfe eines auflichtfluoreszenzmikroskopischen Verfahrens die Zahl der Bakterien und ihre Biomasse in gepumptem Grundwasser bestimmt worden (MARXSEN 1981, 1982 a).

Diese Daten sind vor allem zum Vergleich verschiedener Untersuchungsstellen gut geeignet. Sie erlauben jedoch keine Abschätzung der Bakterienzahlen auf der Oberfläche der vom Grundwasser umgebenen Sand- und Kiespartikel (vgl. SPINEDI & WUHRMANN 1978). Dabei gehören nach MATTHES (1973) mindestens 80 % der Grundwasserbakterien dem Aufwuchs an. Diese Aufwuchsbakterien werden bei der Entnahme von Wasserproben mittels Pumpen aber nur zu einem kleinen Teil vom vorbeiströmenden Grundwasser mitgerissen (FARKASDI et al. 1969; GOLWER et al. 1972).

Die Oberfläche von Partikeln ist ein bevorzugter Aufenthaltsort von Mikroorganismen (s. z. B. PAERL 1975). In Gewässern mit geringem Nährstoff-

angebot wurde eine positive Korrelation zwischen mikrobiellem Wachstum und vorhandener Grenzfläche von fester zu flüssiger Phase gefunden (MARSHALL 1978). Außer Bakterien und anderen Mikroorganismen werden an Partikeloberflächen auch große Mengen Moleküle adsorbiert. Damit befinden sich Mikroorganismen, die derartige Grenzflächen besiedeln, dort an Stätten höherer Konzentration von Nährstoffen als im umgebenden Wasser (MARSHALL 1976; STEVENSON 1978).

FARKASDI et al. (1969) und GOLWER et al. (1972) untersuchten in der Umgebung von Abfallplätzen mit Hilfe verschiedener Kulturverfahren die Keimzahlen von Bakterien. Dabei erhielten sie im Brunnenschlamm weitaus höhere Bakterienzahlen (bis etwa zum  $10^3$ -fachen) als im gepumpten Grundwasser. Allerdings ist der Schlamm des Brunnensumpfes natürlich nur eingeschränkt vergleichbar mit natürlichen sandigen Sedimenten. Auch die Versuche von GOLWER et al. (1972) mit Trägerkörpern (Aufwuchsplatten), die in Brunnen eingehängt wurden, liefern noch keine optimalen Ergebnisse. In den Brunnen kann sich eine von der normalen Grundwasser-Bakterienflora abweichende Population entwickeln. Schwierig ist natürlich die Umrechnung der Bakterienzahlen einer bewachsenen Fläche auf ein Sedimentvolumen.

Das beste Verfahren zur Erfassung der Bakterienflora in grundwasserführenden Ablagerungen ist die Entnahme von ungestörten Sedimentproben. Allerdings ist dieses Verfahren sehr aufwendig und ziemlich schwierig, so daß es für routinemäßige Untersuchungen bisher nicht angewendet wurde. FARKASDI et al. (1969) und GOLWER et al. (1972) fanden mit dieser Methode ähnlich hohe Keimzahlen wie im Schlamm der Brunnensümpfe.

## Methoden

Da die optimale Methode zur Erfassung der Grundwasser-Bakterienflora sandiger Ablagerungen, die Entnahme von ungestörten Sedimentproben, für Routineuntersuchungen mit häufigen Entnahmen an verschiedenen Probenstellen nicht geeignet ist, wurde zu diesem Zweck ein neues Verfahren erprobt. Die Ausgangsüberlegung bei der Entwicklung dieser neuen Technik war: Inkubiert man steriles Sediment in perforierten Rohren, die grundwasserführende Ablagerungen erschließen, wobei das Sediment möglichst den ganzen Durchmesser des Rohres ausfüllen sollte, so müßte sich die bakterielle Besiedlung dieses anfangs sterilen Substrates nach einer gewissen Zeit der Besiedlung in der Umgebung der Rohre angeglichen haben.

Im Peilrohr 26 (51 mm Innendurchmesser) des Untersuchungsgebietes Johannesau im Fulda-Tal bei Fulda wurde daher die Entwicklung der bakteriellen Besiedlung von sterilisiertem Sediment verfolgt. Dazu wurden aus Edelstahl-Drahtgeflecht zylinderförmige Behälter gefertigt (Durchmesser 45 mm, Höhe 20 mm), deren 4 Teile (vertikal mit Drahtgeflecht unterteilt) mit sterilem Sand (2 h bei 550 °C gegläht) gefüllt und die übereinander zu einer Säule gestapelt werden können. Zunächst wurde ein Versuch mit einer Säule aus 7 Einzelzylindern (Segmenten), die jeweils Sand der Korngröße 0,63–0,80 mm (Herkunft: Breitenbach bei Schlitz) enthielten, gemacht (Versuch 1980), später (Versuch 1981) mit einer Säule aus 12 Segmenten, die jeweils zu 2 Vierteln mit

Sand der Korngrößen 0,40—0,63 mm und 0,63—0,80 mm (Herkunft: Peilrohr 26) gefüllt waren.

Aus den Säulen wurden in Abständen von 1 bis 2 Wochen Sedimentproben entnommen, um die bakterielle Besiedlung des Substrates zu verfolgen. Zur Ermittlung der Bakterienzahlen wurde die Sedimentprobe jeweils zunächst mit einem Ultra-Turrax-Dispergiergerät (Fa. Janke & Kunkel, Ika-Werke, Staufen im Breisgau; Antriebseinheit T 18/10, Schaft TP 18/2N) behandelt. Die verdünnte, aufgeschlossene Probe wurde nach Filtration über eine Nuclepore-Siebfiltermembran (0,2  $\mu$ m Porendurchmesser) und Anfärbung mit Acridinorange auflichtfluoreszenzmikroskopisch untersucht. Außer der Bakterienzahl wurde der Anteil verschiedener Formen- und Größenklassen ermittelt, so daß von daher ein Rückschluß auf Bakterienvolumen und -biomasse möglich ist. Die Verfahren sind bereits im einzelnen beschrieben (MARXSEN 1981, 1982 a, b).

Zu Beginn der beiden Versuche und bei jeder Sedimententnahme wurden folgende Parameter bestimmt: Wasserstand, Wassertemperatur, pH-Wert, Leitfähigkeit, Säurebindungsvermögen, Chlorid, Sauerstoff, Phosphat, Nitrat, Nitrit, Ammonium (Verfahren bei MARXSEN 1982 a). Außerdem wurde die Bakterienzahl im gepumpten Wasser entsprechend den früher durchgeführten Untersuchungen (MARXSEN 1981, 1982 a) ermittelt. Bei einem Teil des inkubierten Sedimentes wurde, nach der Trocknung bei 105 °C, der Glühverlust (2 h bei 550 °C) als Maß der organischen Substanz bestimmt.

## Untersuchungsort

Das Grundwasser-Untersuchungsgebiet Johannesau im Fulda-Tal nahe der Stadt Fulda wird von zahlreichen eisernen Peilrohren (51 mm Innendurchmesser) erschlossen. Sie erreichen Tiefen von 3,0—6,3 m unter Flur und enden fast ausnahmslos in Tonschichten. Über den Tonschichten befinden sich Ablagerungen von sandigem Kies (1,6—3,3 m), darüber schluffig-tonig-feinsandige Deckschichten (0,4—4,0 m). Eine ausführliche Beschreibung des Untersuchungsgebietes wurde bereits an anderer Stelle gegeben (MARXSEN 1982 a).

Das für die Versuche ausgewählte Peilrohr 26 erreicht eine Tiefe von 5,0 m unter Flur. Die letzten 0,5 m sind nicht perforiert (Rohrsumpf). Das Rohr ist am Rande eines unterirdischen Stromes organischer Verunreinigungen gelegen und daher relativ starken Konzentrationsschwankungen verschiedener Substanzen ausgesetzt (Tabelle 1). Das sterilisierte Sediment wurde in einer Tiefe von 4,0 m unter Flur an einem Edelstahl-Drahtfaden aufgehängt. In dieser Tiefe finden sich Ablagerungen von sandigem Kies. Einzelheiten zur Sedimentzusammensetzung teilt HUSMANN (1974/75) mit. Die Entnahme des Grundwassers für die begleitenden Untersuchungen erfolgte mit einer Schlauchpumpe ebenfalls aus 4,0 m Tiefe.

## Ergebnisse

Obwohl das angewandte Verfahren zur Erfassung der bakteriellen Biomasse bereits erprobt war (MARXSEN 1982 b), traten zunächst noch einige Probleme auf, die anfangs größere Ungenauigkeiten zur Folge hatten (Versuch 1980). Bald jedoch ergaben sich zuverlässigere Ergebnisse (Abb. 1). Alle 3

Tabelle 1. Schwankungsbereich wichtiger Parameter von Peilrohr 26 während der Besiedlungsversuche 1980 und 1981.

Wasserstand	0,48 – 1,79	m unter Flur
Wassertemperatur	2,7 – 12,2	°C
pH-Wert	5,53 – 7,55	
Leitfähigkeit	340 – 766	$\mu\text{S}_{20} \cdot \text{cm}^{-1}$
Säurebindungsvermögen	0,22 – 2,82	$\text{mval} \cdot \text{l}^{-1}$
Chlorid	29,2 – 58,9	$\text{mg Cl} \cdot \text{l}^{-1}$
Sauerstoff	3,0 – 10,9	$\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$
KMnO <sub>4</sub> -Verbrauch	0,6 – 2,8	$\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$
Phosphat (Ortho-)	3 – 38	$\mu\text{g P} \cdot \text{l}^{-1}$
Nitrat	0,16 – 32	$\text{mg N} \cdot \text{l}^{-1}$
Nitrit	5 – 14	$\mu\text{g N} \cdot \text{l}^{-1}$
Ammonium	20 – 210	$\mu\text{g N} \cdot \text{l}^{-1}$

durchgeführten Versuche (1981 mit 2 verschiedenen Korngrößen) zeigten übereinstimmend in den ersten Wochen einen steilen Anstieg der Bakterienzahlen im ursprünglich sterilen Sediment. Im weiteren Verlauf sanken die Zahlen wieder ab, und nach etwa 12 Wochen hatte sich eine relativ stabile Bakterienbesiedlung entwickelt (Abb. 1, 2). Gegen Ende der Versuche erreichten die Bakterienzahlen in 1 ml Sediment Werte von  $0,16\text{--}0,31 \cdot 10^9$ , das Volumen betrug  $0,015\text{--}0,028 \text{ mm}^3$ , woraus sich eine bakterielle Trockensubstanz von  $0,0030\text{--}0,0056 \text{ mg}$  errechnet (Tabelle 2).

Die jeweils gleichzeitig bestimmten Bakterienzahlen im gepumpten Grundwasser schwankten während der Untersuchungszeit von  $4,4\text{--}13 \cdot 10^6$  Bakterien pro ml (Versuch 1980) bzw. von  $6,6\text{--}24 \cdot 10^6$  pro ml (Versuch 1981), ohne daß eine Beziehung zum Verlauf der Besiedlung des Sedimentes ersichtlich ist (vgl. Abb. 1).

Die Bakterienzahlen im gepumpten Grundwasser betragen  $2,1\text{--}4,5\%$  der Werte im Sediment (Spannweite der Ergebnisse nach 12, 14 und 33 Wochen Versuchsdauer; Mittelwert  $3,2\%$ , vgl. Tabelle 2).

Die Anteile der Gruppen der unterschiedenen Bakterienformen und -größen an der jeweiligen Gesamtzahl der Bakterien nähern sich in den Sedimentproben im Verlauf der Versuche den Verhältnissen in den gepumpten Wasserproben. Jedoch bleibt auch nach längerer Zeit in der Regel ein höherer Anteil der Stäbchen im Sediment erhalten, ebenso ein größeres durchschnittliches Bakterienvolumen (Abb. 3, Tabelle 3).

Der Versuch 1981 mit 2 Sandfraktionen unterschiedlicher Korngröße zeigt beim Vergleich der erfaßten Formen- und Größenklassen am Ende des Versuches (nach 12 und 14 Wochen) keine signifikanten Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterienpopulationen (Tabelle 3). Jedoch liegen die Gesamtzahlen in der Korngrößenfraktion  $0,63\text{--}0,80 \text{ mm}$  etwas höher als in der Fraktion  $0,40\text{--}0,63 \text{ mm}$  (Tab. 2).

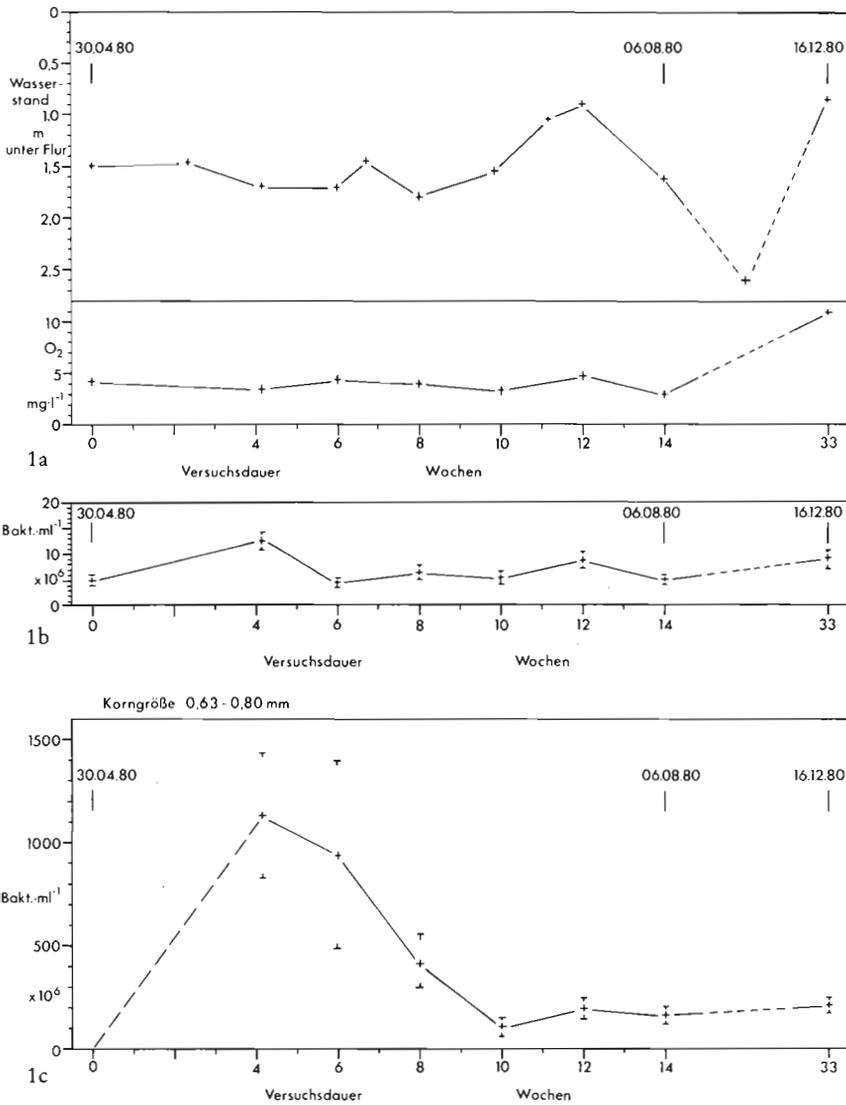


Abb. 1. Besiedlungsversuch 1980. a) (oben) Grundwasserstand und Sauerstoffgehalt im Grundwasser. b) (Mitte) Zahl der Bakterien im gepumpten Grundwasser, mit Vertrauensgrenzen der Zählungen (95%). c) (unten) Zahl der Bakterien im Sediment, mit Vertrauensgrenzen (95%). Die ersten Untersuchungen wurden 4 Wochen nach Beginn des Versuches durchgeführt. Daher wurde die Anfangsphase der Besiedlung nicht erfaßt.

Der Glühverlust des Sedimentes wurde 1980 nur am Ende des Versuches bestimmt. In 1 ml Sediment wurden 1,46 mg organische Substanz gefunden, was 0,100% der Trockensubstanz entspricht. Beim Versuch 1981 wurde nach 1 Woche in 1 ml Sediment (Korngröße 0,63—0,80 mm) ein Glühverlust von

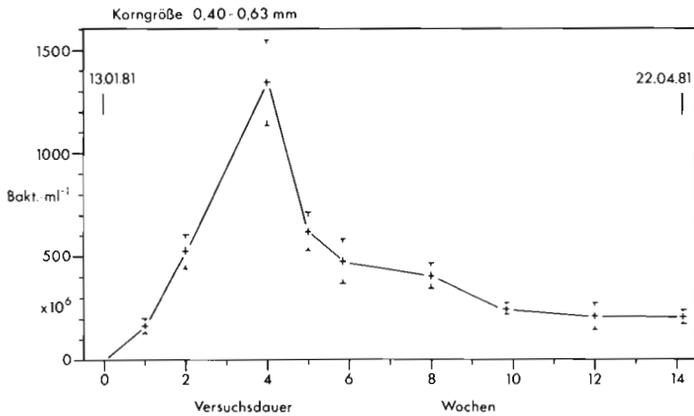


Abb. 2. Besiedlungsversuch 1981. Zahl der Bakterien im Sediment (Korngrößenfraktion 0,40—0,63 mm), mit Vertrauensgrenzen (95 %).

Tabelle 2. Bakterien im gepumpten Grundwasser und im Sediment am Ende der Besiedlungsversuche. Umrechnung von Bakterienvolumen auf bakterielle Trockensubstanz:  $1 \text{ mm}^3 = 0,2 \text{ mg TS}$  (nach TROITSKY & SOROKIN 1968). Bakt. = Bakterienzahl, Vol. = Bakterienvolumen, TS = bakterielle Trockensubstanz, Anteil GW/SED = Relation von Bakterienzahl im gepumpten Grundwasser und im inkubierten Sediment, in %.

Entnahme- datum	Versuchs- dauer Wochen	Bakt. $\cdot 10^9$ in 1 ml Sediment	Vol. $\text{mm}^3$	TS mg	Bakt. $\cdot 10^6$ in 1 ml Grundwasser	Vol. $\text{mm}^3 \cdot 10^{-3}$	Anteil GW/SED %
0,63—0,80 mm Korngröße							
23. 7. 80	12	0,20	0,023	0,0046	8,7	0,63	4,5
6. 8. 80	14	0,16	0,016	0,0032	4,8	0,39	2,9
16. 12. 80	33	0,21	0,019	0,0038	9,0	0,69	4,2
0,63—0,80 mm Korngröße							
7. 4. 81	12	0,25	0,018	0,0036	6,6	0,43	2,6
22. 4. 81	14	0,31	0,028	0,0056	6,6	0,40	2,1
0,40—0,63 mm Korngröße							
7. 4. 81	12	0,21	0,015	0,0030	6,6	0,43	3,2
22. 4. 81	14	0,21	0,018	0,0035	6,6	0,40	3,1

0,50 mg (entsprechend 0,037 % der Trockensubstanz) ermittelt. Nach stetiger Zunahme während des Experimentes wurden nach 12 Wochen 1,55 und 1,44 mg pro ml Sediment (0,40—0,63 mm und 0,63—0,80 mm Korngröße) erreicht, was 0,105 und 0,096 % der Trockensubstanz entspricht.

## Diskussion

Obwohl das entwickelte Verfahren zur Untersuchung der Bakterienbesiedlung grundwasserführender sandiger Ablagerungen sehr aufwendig ist, ermutigen die vorliegenden Befunde zur weiteren Erprobung. Die sterilisierten

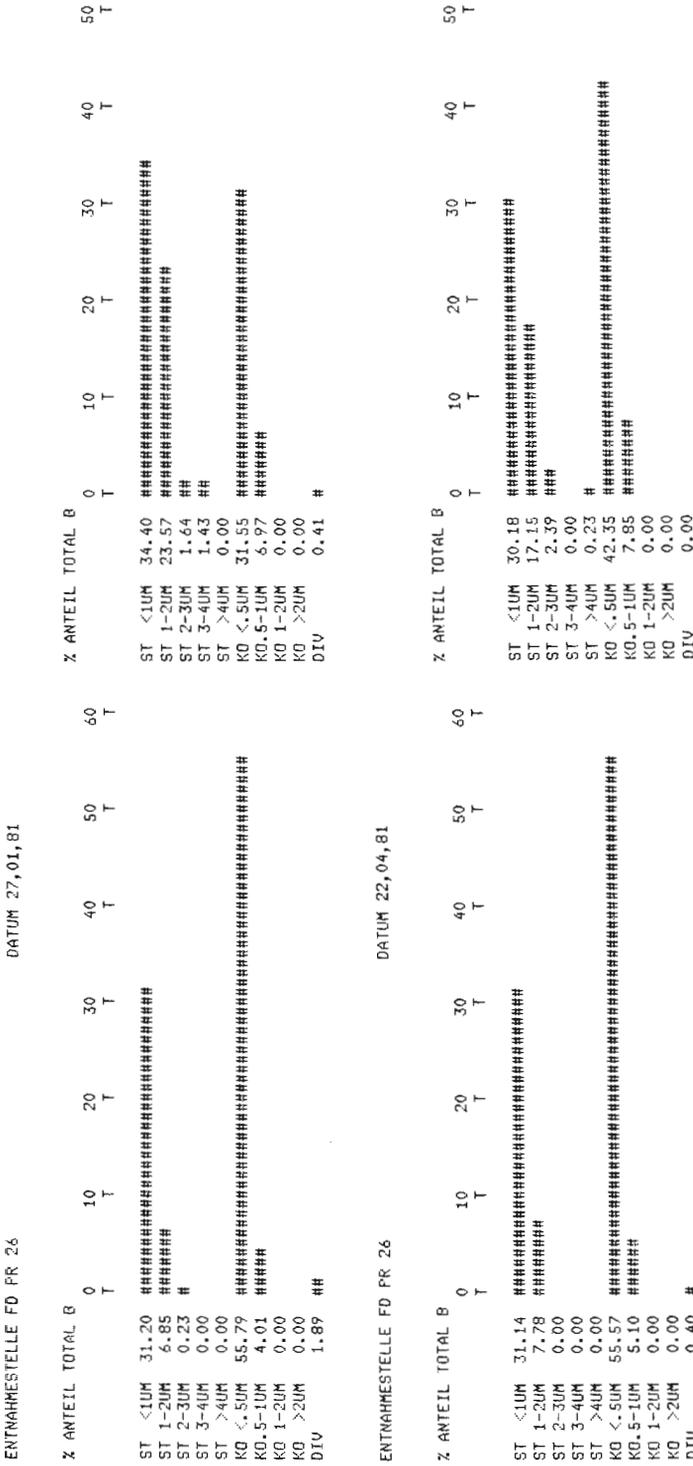


Abb. 3. Anteile der Bakterienformen und -größen während des Besiedlungsversuches 1981 nach 2 Wochen (27. 1. 81, oben) und 14 Wochen (22. 4. 81, unten). Links Grundwasserproben, rechts Sedimentproben (0,63–0,80 mm Korngröße). Von oben nach unten sind jeweils die folgenden Gruppen aufgeführt: Stäbchen < 1 µm, . . . , Stäbchen > 4 µm, Kokken < 0,5 µm, . . . , Kokken > 2 µm, Sonstige. Zuerst ist der Anteil jeder Gruppe in % der Gesamtzahl angegeben, daneben ist dieser Anteil zusätzlich graphisch dargestellt.

Tabelle 3. Anteile der Stäbchen und der großen Bakterien (Länge bzw. Durchmesser  $> 1\mu\text{m}$ ) sowie mittleres Bakterienvolumen im Sediment und im gepumpten Grundwasser am Ende der Besiedlungsversuche.

Entnahme- datum	Versuchs- dauer Wochen	Sediment			Grundwasser		
		Anteil Stäb- chen %	Anteil gr. Bakt. %	mittl. Vol. $\mu\text{m}^3$	Anteil Stäb- chen %	Anteil gr. Bakt. %	mittl. Vol. $\mu\text{m}^3$
0,63–0,80 mm Korngröße							
23. 7. 80	12	62	26	0,12	35	12	0,072
6. 8. 80	14	60	22	0,097	49	12	0,081
16. 12. 80	33	49	17	0,090	35	15	0,077
0,63–0,80 mm Korngröße							
7. 4. 81	12	49	15	0,071	38	11	0,065
22. 4. 81	14	50	20	0,090	39	8	0,061
0,40–0,63 mm Korngröße							
7. 4. 81	12	38	15	0,071	38	11	0,065
22. 4. 81	14	50	19	0,085	39	8	0,061

Sedimente wurden sehr schnell von Bakterien besiedelt. Nach 4 Wochen waren bereits mehr als  $10^9$  Zellen in 1 ml Sediment nachweisbar. Diese hohe Organismendichte war jedoch nur vorübergehender Natur — ein Beispiel einer überschießenden Besiedlung („overshoot“), wie sie oft bei der Neubesiedlung eines leeren Lebensraumes beobachtet wird. Von diesem Maximalwert erfolgte ein stetiger Rückgang, bis sich nach etwa 12–14 Wochen in Größe und Zusammensetzung einigermaßen stabile Bakterienpopulationen entwickelt hatten (Abb. 1, 2). Zur Sicherheit wäre allerdings bei zukünftigen Versuchen eine mindestens 4monatige Inkubationsdauer zu empfehlen.

Während das Substrat des Versuches 1981 von der Untersuchungsstelle Peilrohr 26 stammte, war für den vorhergehenden Versuch Sediment aus dem Breitenbach verwendet worden, das allerdings ebenso wie die Ablagerungen bei Peilrohr 26 Verwitterungsprodukt des im hiesigen Gebiet verbreiteten Buntsandsteins ist. Auf das Substrat zurückzuführende Unterschiede zwischen beiden Versuchen waren nicht erkennbar.

Im gepumpten Grundwasser wurden Bakterienzahlen in Höhe von 2,1–4,5 % der Werte im Sediment gefunden. Berücksichtigt man, daß der Interstitialraum der untersuchten Sande etwa 40 % ihres Volumens einnimmt, so beträgt die Größe der interstitiellen Bakterienzahl im Vergleich zur Aufwuchsbakterienzahl nur etwa 1,3 % (0,8–1,8 %). Ihr tatsächlicher Anteil dürfte allerdings deutlich unter 1 % liegen, weil in den Zahlen des gepumpten Wassers auch Bakterien auf kleinen Partikeln und solche, die durch den Pumpensog von der Oberfläche größerer Körner losgerissen wurden, enthalten sind.

Trotz der recht rauen Behandlung der Sedimentproben wurden in diesen Proben in der Regel größere Bakterien als im gepumpten Grundwasser festgestellt (Tabelle 3, Abb. 3). Dies spiegelt ebenso wie der erhöhte Anteil von Stäbchen und die große Gesamtzahl der Bakterien die bessere Nährstoffversorgung der Zellen an der Oberfläche der Sedimentpartikel wider. Es ist bekannt, daß sich mit erhöhter Nährstoffzufuhr die mikroskopisch erkennbare Zusammensetzung von Bakterienpopulationen zugunsten eines höheren Anteils von großen Bakterien und Stäbchen verschiebt (DAUBNER 1972, RHEINHEIMER 1977). Diese Feststellung wurde bisher beim Vergleich von Gewässern unterschiedlichen Trophiegrades und bei jahreszeitlichen Schwankungen des Nährstoffgehaltes eines Gewässers gemacht. Sie scheint aber auch für Bakterienpopulationen in Ökosystemen, die im Mikrobereich bezüglich des Nährstoffangebotes stark strukturiert sind, zu gelten.

Am Ende des Versuches 1980 wurden 0,0038 mg bakterielle Trockensubstanz in 1 ml Sediment gefunden. Das sind 0,26 % der gesamten organischen Substanz. Der Versuch von 1981 ergab in der Korngrößenfraktion 0,63–0,80 mm den Wert 0,32 %, in der kleineren Fraktion (0,40–0,63 mm) 0,21 %. In der obersten Sedimentschicht des Breitenbaches wurde im November/Dezember 1979 4,0 mg organische Trockensubstanz und 0,045 mg bakterielle Trockensubstanz, jeweils pro ml Sediment, gefunden, woraus sich ein Anteil der bakteriellen Biomasse an der gesamten organischen Substanz von 1,1 % errechnet (MARXSEN 1982 b). Diese deutlich höheren Werte sind Ausdruck der wesentlich intensiveren biologischen Vorgänge an der Sedimentoberfläche des Breitenbaches am Ende der Laubfallzeit im Vergleich mit dem untersuchten Grundwasserlebensraum.

Mit abnehmender Partikelgröße nimmt nach ZOBELL (1938), OPPENHEIMER (1960), TSENOGLOU & ANTHONY (1971), DALE (1974), MARSHALL (1976) die Zahl der Bakterien im Sediment zu, was auf die mit fallender Korngröße anwachsende Oberfläche, an der Nährstoffe und Bakterien adsorbiert werden, zurückgeführt wird. Der 1981 durchgeführte Besiedlungsversuch, bei dem 2 unterschiedlich große Sandfraktionen verwendet wurden, ergab jedoch die umgekehrte Tendenz. Die Bakterienzahlen in der größeren Fraktion lagen etwas höher (Tabelle 2). In der Zusammensetzung der Bakterienpopulationen traten jedoch keine deutlichen Unterschiede auf.

Ob die ermittelten Werte für Biotope, wie bei Peilrohr 26, und Sedimente der untersuchten Korngrößen typisch sind, bleibt noch offen. Sicherlich haben Form und Rundung der Sedimentkörner wie auch ihre mineralische Zusammensetzung einen Einfluß auf die bakterielle Besiedlung. In der vorliegenden Untersuchung wurde bei dem Versuch 1981 Sediment vom Untersuchungsort verwendet, so daß von daher die örtlichen Verhältnisse reproduziert wurden. Allerdings ist bei Peilrohr 26 ein Gemisch sehr unterschiedlicher Korngrößen (Kies mit Sand) abgelagert, das im Vergleich mit dem sortierten Sediment der

Tabelle 4. Epifluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Bakterienflora sandiger Sedimente. Die mit \* markierten Werte wurden aus den publizierten Daten umgerechnet. Die Abkürzungen bedeuten: BAKT/V = Zahl der Bakterien pro ml Sediment, VOL<sub>m</sub> = mittleres Bakterienvolumen, BAKT/TS = Zahl der Bakterien pro g Sediment (Trockensubstanz), m Kgr = mittlere Korngröße der Sedimente, MW = Mittelwert. Die organische Substanz ist in mg Trockensubstanz pro cm<sup>3</sup> Sediment angegeben; die %-Werte sind aus der organischen Trockensubstanz bezogen auf die Trockensubstanz der Sedimente errechnet. Außer bei WEISE & RHEINHEIMER, die ihre Proben mit Ultraschall behandelten, wurden alle anderen Sedimente vor der bakteriologischen Untersuchung mit einem Homogenisator (z. B. Ultra-Turrax) zerkleinert.

	BAKT/V 10 <sup>9</sup> · ml <sup>-1</sup>	VOL <sub>m</sub> μm <sup>3</sup>	BAKT/TS 10 <sup>9</sup> · g <sup>-1</sup>	m Kgr mm	Organische Substanz mg · cm <sup>-3</sup> %		Quelle
"intertidal sediments" Nova Scotia, Canada			0,12 - 9,97	0,0077 - 0,21	0,2	-34*	DALE 1974
"salt marsh", NC, USA							RUBLEE & DORNSEIF 1978
Oberfläche	8,4 - 10,9			0,06 - 2,6	2,7	-21*	
20 cm Tiefe	2,2 - 2,6			2,7 - 2,8	1,6	- 2,7*	
"sandy beach sediments", Ostsee	MW 1,1	MW 0,21*	MW 1,3				MEYER-REIL et al. 1978
Kieler Bucht, Ostsee, 14 m Wassertiefe	0,35 - 1,3	0,13 - 0,41*	0,39 - 2,7	0,18 - 0,54	2,0 - 8,0	0,23 - 0,94	WEISE & RHEINHEIMER 1979
St. Peter-Ording, Nord- see, Gezeitenstrand	0,11 - 0,14		0,069 - 0,10*	0,18 - 0,23	1,3 - 1,9	0,096 - 0,13*	WEISE & RHEINHEIMER 1979
Breitenbach, Hessen	2,0	0,11	1,2	0,17	4,0	0,25	MARXSEN 1982 b
Sediment von Peilrohr 26	0,16 - 0,31	0,071 - 0,12	0,11 - 0,21	0,5 - 0,7	1,4 - 1,6	0,10	

Versuche ganz unterschiedliche Bedingungen bietet. Auch die vorkommenden Tonpartikel können einen erheblichen Einfluß auf die Bakterienpopulationen ausüben (s. z. B. FILIP 1979). Daher ist eine Übertragung der ermittelten Werte der bakteriellen Besiedlung auf grundwasserführende natürliche Sedimente nur mit großer Vorsicht vorzunehmen, bevor nicht noch zahlreiche zusätzliche Untersuchungen durchgeführt werden können.

Vergleichswerte von Sedimentbakterienzahlen liegen fast nur aus dem marinen Bereich vor (Tabelle 4). Mit wenigen Ausnahmen sind die Werte höher als die in dieser Untersuchung gefundenen. Am Gezeitenstrand von St. Peter-Ording (Nordsee) fanden WEISE & RHEINHEIMER (1979) ähnlich niedrige Bakterienzahlen wie in den Grundwassersedimenten. Dieses Sediment hatte auch einen gleichermaßen geringen Gehalt an organischer Substanz. Die naheliegende Annahme einer positiven Korrelation von Bakterienbiomasse und organischer Substanz kann wegen des spärlichen Datenmaterials nicht weiter diskutiert werden. In den Untersuchungen aus dem marinen Bereich wird jedoch meist die Korngröße als entscheidend angesehen. So fand auch DALE (1974) bei seinen Untersuchungen von sandigen Sedimenten aus dem Gezeitenbereich (Nova Scotia, Canada) eine Abnahme der Bakterienzahlen mit zunehmender Korngröße. Bei der größten von ihm erfaßten mittleren Korngröße

(0,2 mm) erhielt er die kleinsten Bakterienzahlen von etwa  $200 \cdot 10^6$  pro ml Sediment bei einem Gehalt an organischer Substanz von etwa 0,2–0,8 %.

### Schlußbemerkungen

Auf Grund des geringen Datenmaterials über die bakterielle Besiedlung sandiger Süßwassersedimente können viele Fragen zum Vorkommen und zur Funktion der Bakterien in diesen Ökosystemen noch nicht einmal ansatzweise diskutiert werden. Jedoch erscheint die entwickelte Methode der Inkubation sterilisierten Sedimentes in grundwasserführenden Ablagerungen mit darauf folgendem Aufschließen dieser Substrate und auflichtfluoreszenzmikroskopischer Untersuchung ein aussichtsreicher Weg, um zu weiteren Erkenntnissen zu gelangen, wenn kein leicht erreichbares — d. h. vor allem oberflächennahes — Sediment mit natürlicher Besiedlung unmittelbar mit dem Aufschlußverfahren untersucht werden kann.

### Zusammenfassung

Zur Untersuchung der Bakterienflora grundwasserführender sandiger Ablagerungen wurde ein neues Verfahren erprobt. Dabei wird sterilisiertes Sediment in Behältern aus Edelstahl-Drahtgewebe in Rohren, die die grundwasserführende Schicht erreichen, inkubiert. Erste Versuche wurden im Fulda-Tal bei Fulda in einem Peilrohr, das leicht verunreinigtes Grundwasser erschließt (Tabelle 1), mit Sedimenten der Korngrößen 0,40–0,63 und 0,63–0,80 mm in einer Tiefe von 4,0 m unter Flur durchgeführt.

Nach zunächst überschießender Besiedlung (Maximum nach 4 Wochen) hatten sich nach 3 Monaten in Größe und Zusammensetzung (jeweils epifluoreszenzmikroskopisch ermittelt) relativ stabile Bakterienpopulationen entwickelt (Abb. 1, 2). Die Zellzahlen betragen zu dieser Zeit  $0,16–0,31 \cdot 10^9$ , das bakterielle Volumen  $0,015–0,028 \text{ mm}^3$  und die bakterielle Trockensubstanz  $0,0030–0,0056 \text{ mg}$ , jeweils pro ml Sediment (Tabelle 2). Damit erreichte die bakterielle Biomasse 0,21–0,32 % der gesamten organischen Substanz. — Der Anteil der interstitiellen Bakterien an der Gesamtzahl im sandigen Sediment wird mit weniger als 1 % angenommen. — Im Aufwuchs der Sandpartikel wurde ein höherer Anteil an Stäbchen und großen Bakterien als im gepumpten Grundwasser gefunden (Tabelle 3, Abb. 3).

### Danksagungen

Die Arbeiten wurden durch eine Beihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Hu 41/17) an Dr. SIEGFRIED HUSMANN, Schlitz, der das Gesamtprojekt plante und leitete, finanziell gefördert. Mein herzlicher Dank gilt sowohl der DFG wie auch ganz besonders Dr. S. HUSMANN, der die finanziellen Voraussetzungen für die Untersuchungen schuf und sie auch darüber hinaus in vielfältiger Weise förderte. Ich danke auch Prof. Dr. J. OVERBECK, Direktor des Max-Planck-Instituts für Limnologie in Plön, für seine Unterstützung, ebenso Prof. Dr. J. ILLIES, Leiter der Limnologischen Flußstation in Schlitz, der den Arbeitsplatz an der Station bereitstellte. Ebenso sei den Wasserwerken Fulda, Ersteller und Eigner der Peilrohre in der Johannesau, für ihre Hilfe gedankt. Besonderen Dank schulde ich den technischen Mitarbeitern der Flußstation, G. SUSEMICHEL und A. GERBIG, für ihre Hilfe bei der Probenentnahme und für die mit viel Mühe angefertigten Versuchsbehälter.

## Literaturverzeichnis

- DALE, N. G. (1974): Bacteria in intertidal sediments: Factors related to their distribution. — *Limnol. Oceanogr.* **19**: 509—518.
- DAUBNER, I. (1972): Mikrobiologie des Wassers. — BLV Verlagsgesellschaft, München, Bern, Wien, 440 S.
- FARKASDI, G., GOLWER, A., KNOLL, K.-H., MATTHES, G. & SCHNEIDER, W. (1969): Mikrobiologische und hygienische Untersuchungen von Grundwasserverunreinigungen im Unterstrom von Abfallplätzen. — *Städtehygiene* **20**: 25—31.
- FILIP, Z. (1979): Wechselwirkungen von Mikroorganismen und Tonmineralen, eine Übersicht. — *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* **142**: 375—386.
- GOLWER, A., KNOLL, K.-H., MATTHES, G., SCHNEIDER, W. & WALLHÄUSSER, K. H. (1972): Mikroorganismen im Unterstrom eines Abfallplatzes. — *Gesundheits-Ingenieur* **93**: 142—152.
- HUSMANN, S. (1972): Das ökologische Gleichgewicht im Grundwasser sandig-kiesiger Ablagerungen und seine Störung durch versickernde Verunreinigungen; mit besonderer Berücksichtigung vertikaler Infiltrationsvorgänge. — *Verh. Ges. Ökologie (Gießen 1972)* **1**: 89—96.
- (1974/75): Versuche zur Erfassung der vertikalen Verteilung von Organismen und chemischen Substanzen im Grundwasser von Talauen und Terrassen; Methoden und erste Befunde. — *Int. J. Speleol.* **6**: 271—302.
- (1978): Die Bedeutung der Grundwasserfauna für biologische Reinigungsvorgänge im Interstitial von Lockergesteinen. — *gwf-wasser/abwasser* **119**: 293—302.
- MARSHALL, K. C. (1976): Interfaces in microbial ecology. — Harvard University Press, Cambridge, Mass., and London, England, 156 S.
- (1978): The effects of surfaces on microbial activity. — In: MITCHELL, R. (ed.): *Water pollution microbiology*, Vol. 2: 51—70. — Wiley & Sons, Chichester, Sussex, England.
- MARXSEN, J. (1981): Bacterial biomass and bacterial uptake of glucose in polluted and unpolluted groundwater of sandy and gravelly deposits. — *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **21**: 1371—1375.
- (1982 a): Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung der Bakterienflora und Bestimmung ihrer heterotrophen Aktivität in organisch belastetem und unbelastetem Grundwasser sandig-kiesiger Ablagerungen. — *Int. J. Speleol.* (im Druck).
- (1982 b): Zur Anwendbarkeit zweier bakteriologischer Verfahren bei der Untersuchung limnischer sandiger Sedimente. *Schlitzer produktionsbiologische Studien* Nr. 51. — *Beitr. Naturkd. Osthessen* **18** (im Druck).
- MATTHES, G. (1973): Die Beschaffenheit des Grundwassers. — Gebrüder Borntraeger Verlag, Berlin, Stuttgart, 324 S.
- MEYER-REIL, L.-A., DAWSON, R., LIEBEZEIT, G. & TIEDGE, H. (1978): Fluctuations and interactions of bacterial activity in sandy beach sediments and overlying waters. — *Mar. Biol.* **48**: 161—171.
- OPPENHEIMER, C. H. (1960): Bacterial activity in sediments of shallow marine bays. — *Geochim. Cosmochim. Acta* **19**: 244—260.
- PAERL, H. W. (1975): Microbial attachment to particles in marine and freshwater ecosystems. — *Microb. Ecol.* **2**: 73—83.
- RHEINHEIMER, G. (1977): Mikrobiologische Untersuchungen in Flüssen. I. Fluoreszenzmikroskopische Analyse der Bakterienflora einiger norddeutscher Flüsse. — *Arch. Hydrobiol.* **81**: 106—118.

- RUBLEE, P. & DORNSEIF, B. E. (1978): Direct counts of bacteria in the sediments of a North Carolina salt marsh. — *Estuaries* 1: 188—191.
- SPINEDI, C. & WUHRMANN, K. (1979): Über die mikrobielle Besiedlung von Grundwasserleitern. — *EAWAG Jahresbericht 1978*: 40.
- STEVENSON, L. H. (1978): A case for bacterial dormancy in aquatic systems. — *Microb. Ecol.* 4: 127—133.
- STRASKRABOVA, V. & SOROKIN, Y. U. (1972): Determination of cell size of microorganisms for the calculation of biomass. — In: SOROKIN, Y. I. & KADOTA, H. (eds): *Techniques for the assessment of microbial production and decomposition in fresh waters*: 48—50. — Blackwell Scientific Publications, London.
- TROITSKY, A. S. & SOROKIN, Y. I. (1967): On the methods of the calculation of the bacterial biomass in water bodies. — *Trans. Inst. Biol. Inland Waters, Acad. Sci. USSR* 19: 85—90. Zitiert nach STRASKRABOVA & SOROKIN (1972).
- TSEKNOGLOU, D. & ANTHONY, E. H. (1971): Particle size, water-stable aggregates, and bacterial populations in lake sediments. — *Canad. J. Microbiol.* 17: 217—227.
- WEISE, W. & RHEINHEIMER, G. (1979): Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Bakterienbesiedlung mariner Sandsedimente. — *Bot. Mar.* 22: 99—106.
- ZOBELL, C. E. (1938): Studies on bacterial flora of marine bottom sediments. — *J. Sedim. Petrol.* 8: 10—18.

Anschrift des Verfassers:

Dr. JÜRGEN MARXSEN, Limnologische Flußstation des Max-Planck-Institutes für Limnologie, D-6407 Schlitz (Hessen), Fed. Rep. of Germany.