

BERICHTE

der Limnologischen Flußstation Freudenthal

Außenstelle der Hydrobiologischen Anstalt

der Max-Planck-Gesellschaft

VII

1956

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------------------|---|----|
| MÜLLER, Karl | Das produktionsbiologische Zusammenspiel zwischen See und Fluß | 1 |
| FITTKAU, Ernst Josef | Heterotanytarsus brundini n. spec. Chironomidenstudien V | 9 |
| STAVE, Ursula | Wuchszonen auf wasserumströmtem Gestein | 19 |
| JANNASCH, Holger W. | Vergleichende bakteriologische Untersuchung der Adsorptionswirkung des Nil-Treibschlammes | 21 |
| SABANEFF, Peter | Über das Zooplankton der Weser | 28 |
| SCHMITZ, Wolfgang | Der Mineralgehalt der Oberflächengewässer des Fulda-Eder-Flußgebietes (Erste regionale Übersicht) | 43 |

Vergleichende bakteriologische Untersuchung der Adsorptionswirkung des Nil-Treibschlammes

von Holger W. J a n n a s c h

Der „solid surface effect“ oder die stoffwechselfördernde Wirkung untergetauchter Oberflächen fester Körper auf aquatische Bakterien ist bereits in den dreißiger Jahren Gegenstand einer Anzahl experimenteller Arbeiten gewesen. WAKSMAN u. CAREY (1935) sowie ZOBELL u. ANDERSON (1936) gingen von der bekannten Tatsache aus, daß sich Bakterien in den mit Seewasser gefüllten Probeflaschen in kurzer Zeit rapide vermehren. Sie fanden, daß die fördernde Wirkung in kleineren Flaschen stärker war oder proportional dem Verhältnis der eingetauchten Wandfläche zum Volumen der Gefäße.

LLOYD (1937) vergrößerte die „solid surface“ durch Zugabe von Glaskugeln, Kieseln und Kaolin und erhielt den entsprechenden Effekt. STARK, STADLER u. McCOY (1938) stellten mit Hilfe der quantitativen Oxydation der gelösten organischen Stoffe fest, daß diese binnen kurzer Zeit an den Oberflächen der suspendierten Partikel adsorbiert werden, was ZOBELL (1943) auch biologisch nachwies. Die Erscheinung, daß der wachstumsbegünstigende Effekt für die Bakterien nur bei geringen Nährstoffkonzentrationen auftritt, untersuchten HEUKELEKIAN u. HELLER (1940). Die Stoffwechselförderung blieb bereits aus, wenn der Gehalt an gelösten organischen Stoffen 10 bis 20 mg/l überstieg.

In unteroptimalen Nährstoffkonzentrationen, wie sie den Bakterien in natürlichen Gewässern geboten werden, reichern also die Oberflächen aufgeschwemmter Teilchen organische Stoffe adsorptiv zu einer für die Bakterien ausnutzbaren Konzentration an und ermöglichen einen Aufwuchs. ZOBELL u. ANDERSON wiesen nach 24 Std. doppelt soviel Bakterien im Aufwuchs wie im freien Wasser nach.

Ökologisch bestätigten sich diese Ergebnisse in der Weise, daß zum Beispiel Hochseewasser eine ungleich stärkere Aufwuchsbildung auf planktischen anorganischen und organischen Partikeln zeigte als stark verunreinigtes Hafengewasser (JANNASCH 1954).

Wenn der stoffwechselfördernden Wirkung der Schwebeteilchen über die Beeinflussung der Bakterienverteilung hinaus eine weitere ökologische Bedeutung für den Abbau organischer Stoffe zukommt, dann ist sie am ehesten

in Treibschlammgewässern zu erwarten, deren Prototyp der Nil zur Zeit des Hochwassers darstellt.

Untersuchungen zur Klärung dieser Frage wurden auf einer limnologischen Forschungsreise nach Ägypten im Herbst 1954 und nach der Rückkehr in Laborexperimenten vorgenommen. Die Probeentnahmen fanden in einem Seitenarm des Nil bei Asiut ungefähr 250 km südlich Kairo statt. Das Hochwasser war eben über seinen Höchststand hinaus. Die

Untersuchung an Ort und Stelle

sollte zunächst zeigen, welcher Teil der Gesamtbakterienzahl zum Aufwuchs gehörte. Dazu wurden die Schwebstoffe des hellbraunen lehmigen Wassers durch grobe Filter vom freien Wasser getrennt. Dabei wurde beachtet, daß sich keine sekundär filtrierende Schlammschicht auf dem Filter bilden konnte. Die Keimzahl wurde kulturell vorher und nachher bestimmt und parallele mikroskopische Untersuchungen vorgenommen. Kontrollversuche mit einer Bakterienaufschwemmung und zugesetztem sterilisiertem Schlamm hatten vorher gezeigt, daß nur bis zu 4% der frei verteilten Zellen von dem Papierfilter zurückgehalten werden. Mit Einschluß dieses Fehlers kann man die Differenz der Keimzahlen vor und nach der Papierfiltration als ein Maß des Aufwuchses betrachten.

Der hohen Außentemperaturen wegen war das Ansetzen und Transportieren von Gelatine- oder Agarnährböden nicht möglich. Deshalb wurde mit Kartonscheiben gearbeitet, die außerdem das Sterilhalten wesentlich erleichterten. Sie waren vorher im Laboratorium mit den entsprechenden Nährlösungen getränkt, getrocknet und sterilisiert worden. Auf diese Weise wurde ein Peptonnährboden zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl sowie ein Laktosefuchsin-sulfitnährboden für den Colitest präpariert. Frau Dr. A. Beling sei an dieser Stelle für ihre freundliche Hilfe bei der Vorbereitung der Kartonscheiben herzlich gedankt.

Einzel in sterilen Tüten verwahrt wurden die Kartonscheiben in sterile Petrischalen eingelegt und mit ebenfalls sterilem aqua dest. ausreichend befeuchtet. Verunreinigungen kamen anfangs kaum, gegen Ende der Versuche häufiger (bis zu 15%) vor.

Zur kulturellen Keimzählung wurde die Membranfiltermethode angewandt. Das Bebrüten ging in einem Metallkasten vor sich, der mit einem Thermometer versehen war, und dessen Innentemperaturen grob dadurch geregelt werden konnten, daß er in verschiedener Weise der Sonne ausgesetzt wurde.

Bei dem hohen Wasserstand des Nil war es nicht möglich, Proben charakteristischer Verunreinigungszone zu entnehmen. Die 8 untersuchten Proben richteten sich nach ihrem unterschiedlichen Schwebstoffgehalt, der später in Parallelproben photometriert wurde und in Tabelle 1 in relativen Werten erscheint.

| Nr. | Relative Partikel- dichte | ph | Gesamtkeimzahl | | | Bact. coli | | |
|----------|---------------------------------|-----|----------------|------|------------------|------------|------|------------------|
| | | | vor | nach | Abnahme auf % | vor | nach | Abnahme auf % |
| | | | Filtration | | | Filtration | | |
| i. Mill. | | | i. Tausenden | | | | | |
| 1 | 2 | 7,4 | 9,21 | 2400 | 0,02 | 2500 | 6 | 0,24 |
| 2 | 2 | 7,9 | 1,2 | 3 00 | 0,26 | 4000 | 0 | — |
| 3 | 4 | 7,9 | 18,1 | 6700 | 0,04 | 13800 | 0 | — |
| 4 | 7 | 8,0 | 2,4 | 5100 | 0,20 | 9300 | 8 | 0,08 |
| 5 | 9 | 7,6 | 1,7 | 1300 | 0,06 | 26200 | 6 | 0,03 |
| 6 | 10 | 7,6 | 10,8 | 2200 | 0,02 | 3800 | 0 | — |
| 7 | 12 | 7,4 | 0,8 | 620 | 0,08 | 1200 | 1 | 0,08 |
| 8 | 14 | 7,9 | 1,1 | 400 | 0,04 | 6600 | 0 | — |

Tabelle 1: Abnahme der Bakterienzahl (je ml) nach Papierfiltration 8 verschiedener Nilwasserproben.

Ein Vergleich mit einem schwebstoffarmen aber stark verunreinigten Fluß, der Leine 8 km unterhalb von Göttingen, erscheint in Tabelle 2. Die photometrische Messung des Lichtverlustes durch die Schwebstoffe wird hier allerdings fehlerhaft durch die Anwesenheit gefärbter kolloidaler Substanzen. Trockengewichtsbestimmungen ergaben Zahlen von 5 bis 28 mg/100 ml Nilwasser und 0,5 bis 1,5 mg/100 ml Leinewasser.

| Nr. | Relative Partikel- dichte | ph | Gesamtkeimzahl | | | Bact. coli | | |
|--------------|---------------------------------|-----|----------------|------|------------------|------------|------|------------------|
| | | | vor | nach | Abnahme auf % | vor | nach | Abnahme auf % |
| | | | Filtration | | | Filtration | | |
| i. Millionen | | | i. Tausenden | | | | | |
| 1 | 0,2 | 7,8 | 8,5 | 2,1 | 24 | 360 | 61 | 17 |
| 2 | 0,8 | 7,7 | 12,8 | 7,9 | 63 | 470 | 30 | 6,4 |
| 3 | 1,4 | 7,8 | 18,0 | 12,1 | 60 | 21 | 4 | 19 |
| 4 | 1,6 | 7,9 | 25,1 | 11,0 | 44 | 85 | 10 | 12 |

Tabelle 2: Abnahme der Bakterienzahl (je ml) nach Papierfiltration 4 verschiedener Proben von verunreinigtem Flußwasser (Leine).

Der Keimgehalt des Nilwassers wird durch grobe Filtration durch bakteriedurchlässige Filter auf 0,07% vermindert, im Gegensatz dazu das schwebstoffarme Wasser der Leine nur auf rund 50%. Durch die Aufschwemmung von anorganischen Partikeln wird also das freie Flußwasser gleichsam in sich filtrierte und ist keimärmer.

Einen Unterschied gegenüber der Gesamtkeimzahl scheint *Bakt. coli* im Hinblick auf den Aufwuchs zu machen. Dabei ist allerdings unklar, wie sich *Bakt. coli* innerhalb einer Aufwuchsgesellschaft auf dem Endo-Nährboden verhält. Beide Tabellen zeigen, daß *Bakt. coli* zahlenmäßig mehr durch die Papierfiltration zurückgehalten wird als die übrigen Bakterien. Das Nilwasser wird nach dieser groben Filtration in 50 % der Fälle sogar frei von *Bakt. coli*. Die angewandte Methodik ist jedoch nicht imstande, auszusagen, ob tatsächlich eine Artspezifität im Hinblick auf die Beteiligung am Aufwuchs bei *Bakt. coli* vorliegt.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte zunächst, daß der Schlamm in Flocken von einer verhältnismäßig konstanten Größe (5 bis 30μ im Durchmesser) zusammengelagert ist. Diese Flockenbildung scheint insofern wichtig, als sehr kleine Partikel ($< 1\mu$) nach ZOBELL (1943) auf die Bakterienvermehrung nicht fördernd wirken und sie sogar hemmen können. Bei Anfärbung mit Bengalrosa und Erythrosin nach WINOGRADSKY (1925) zeigten sich zwischen dem anorganischen Material in der Mehrzahl Kokken. Vibrionen oder Spirillen wurden in keinem Falle beobachtet, ebensowenig Algenaufwuchs.

Laborversuche.

Mit Schlammproben, die im getrockneten Zustand oder als Suspension mitgebracht wurden, setzten wir vergleichende Experimente zur Untersuchung der Förderung des Bakteriestoffwechsels in Kulturgefäßen an. Der Schlamm wurde zur Entfernung der organischen Bestandteile mit schwefelsaurem Bichromat behandelt und gewaschen. Er verlor daraufhin seine flockenartige Struktur, die scheinbar mit der Adsorption kolloidaler Substanzen zusammenhängt, und die er in der Kultur bereits nach rund 12 Std. wieder zeigte. Er wurde in den gleichen Gewichtsteilen zugesetzt, wie sie durchschnittlich im Nilwasser gefunden worden waren.

Die erste Versuchsreihe setzten wir synthetisch mit definierbaren Peptonkonzentrationen an und beimpften mit einer Mischkultur aus Nilwasser isolierter Eiweißzersetzer. Die gewonnenen Reinkulturen gehörten zu den Gruppen *Bac. mycoides*, *megaterium* und *subtilis*, *Bakt. proteus* und *Ps. fluorescens*. Die zweite Versuchsreihe wurde mit unsterilisiertem mäßig verunreinigtem Flußwasser (Leine) angesetzt.

Da die kulturelle Zählmethode in diesen Medien mit starker Aufwuchsbildung besonders fehlerhaft ausfallen mußte (wenn man auch jedes Aufwuchsteilchen nach STRUGGER (1949) mit einem Faktor, z. B. 100, belegt), wurde der Sauerstoffverbrauch nach WINKLER (OHLE 1953) bestimmt. Die Ansätze fanden in luftdichten Flaschen von 250 ml statt, die umgeschüttelt und bei 18° bebrütet wurden. Das Ergebnis von je 3 Parallelproben der Peptonkulturen zeigt Abb. 1.

Nach WAKSMAN u. CAREY (1935) werden im ökologischen Konzentrationsbereich 60 % einer Energiequelle im Betriebs- (und Erhaltungs-) stoffwechsel vollständig oxydiert, während die verbleibenden 40 % im Baustoffwechsel in Zellmaterial überführt werden. Rechnet man in unserem Versuch zur Oxy-

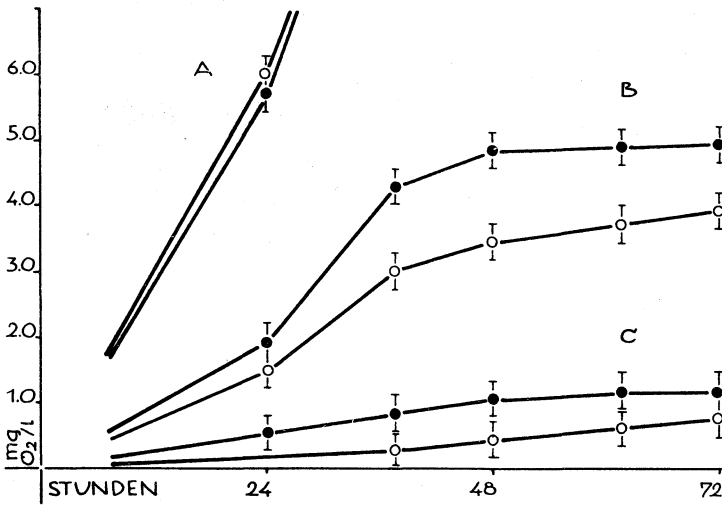


ABB. 1: SAUERSTOFFVERBRAUCH DREIER KULTUREN MIT 50 mg (A) - 10 mg (B) - UND 2 mg (C) PEPTON / L, MIT (—●—) UND OHNE (—○—) NILSCHLAMMZUSATZ

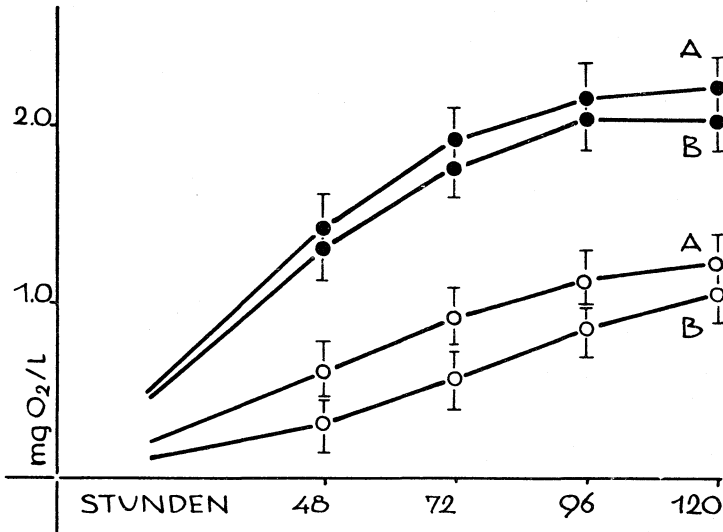


ABB. 2: SAUERSTOFFVERBRAUCH EINER FLUSSWASSERPROBE (LEINE), UNFILTRIERT (A) UND FILTRIERT (B), MIT (—●—) UND OHNE (—○—) NILSCHLAMMZUSATZ

ation von 1 mg Pepton 1,43 mg Sauerstoff, dann wurden nach 48 Std.

| | | | |
|-----------|----------------------|------|----------------------------|
| in Kultur | I ohne Schlammzusatz | 19 % | der Energiequelle oxydiert |
| „ | „ I mit | 48 % | „ „ |
| „ | „ II ohne | 34 % | „ „ |
| „ | „ II mit | 56 % | „ „ |

Mit anderen Worten, die Förderung durch Schlammzusatz beträgt zu diesem Zeitpunkt bei der Konzentration von 2 mg Pepton/l 152%, bei der Konzentration von 10 mg Pepton/l nur noch 83%. Der Ansatz mit 50 mg Pepton/l zeigte keinerlei meßbare Förderung. Ganz ähnliche Resultate ergaben entsprechende Versuche, bei denen Chitinpartikel verwendet wurden (JANNASCH 1955). Nach vollständigem Verbrauch der Energiequelle, der nach etwa drei Wochen gemessen wurde, waren die Prozentzahlen für die Oxydation in der Kultur I 54% und in der Kultur II 61%. Bei der geringen Nährstoffkonzentration war also im Verhältnis mehr Material in Zellschubstanz überführt worden als bei der höheren Konzentration.

Die zweite Versuchsreihe variierten wir, indem wir die Flußwasserkultur filtriert und unfiltriert mit der entsprechenden Schlammmenge versetzten. Auf diese Weise sollte die Rolle des eigenen Schwebstoffanteiles mit der des Nilschlammes verglichen werden (Abb. 2). Während die Schlammzugabe in ihrer Wirkung den Ergebnissen der vorhergehenden Versuche entspricht, macht sich die Entfernung des Planktons und Detritus der Leine bemerkbar. Der Abstand der Kurven A und a liegt bereits innerhalb der Fehlergrenzen der angewandten Methode.

Da sich bei dem kulturellen Verfahren aus jedem Aufwuchspartikel nur eine zählbare Kolonie entwickeln kann, kommt die Förderung der Bakterienvermehrung in der Plattenzahl natürlich nicht zum Ausdruck. Das scheint der Grund zu sein, weshalb sich die Beobachtung WAKSMANS und CAREYS (1935) bei unserem Versuch nicht bestätigten. Sie fanden nach völliger Sterilfiltration und Neubeimpfung einer Rohwasserprobe eine fast gleiche Zellzahl wie in der unfiltrierten Probe und versuchten den Befund damit zu erklären, daß der fehlende Bakterienfraß durch Protozoen in den filtrierten Proben das zu erwartende Defizit ausglich. Auch in unseren Versuchen zeigten die Plattenzahlen keinen wesentlichen Unterschied, wohl aber wird er bei der mikroskopischen Untersuchung in dem starken Bewuchs der Schlammpartikel deutlich. Die Plattenzahl kann schließlich nur als ein Abbild der Partikeldichte gelten. Tatsächlich erhöht sie sich beträchtlich, wenn die Proben vor dem Plattenguß stark geschüttelt und die größeren Flocken damit zerstört werden.

Daß die Atmungsgröße des Bewuchses kein getreues Abbild der Zellvermehrung sein kann, liegt daran, daß das Verhältnis von 60% zu 40% nicht festliegt und sich wahrscheinlich in der Phase des Aufwuchses zugunsten des Baustoffwechsels verschiebt. Die Förderung vermag die Messung des Sauerstoffverbrauches jedoch trotz dieses vermutlichen Defizits deutlich zu zeigen.

Im Hinblick auf die Ökologie der Wasserbakterien bestätigen diese Versuche die Vermutung LLOYDS, die er bereits 1930 äußerte, daß die Hauptzahl der Bakterien in Gewässern an Plankton „attached“ vorkommt, während ihre

Anzahl im freien Wasser gering ist. In besonderem Maße trifft das für die heterotrophen Bakterien zu (JANNASCH 1955), die im freien Wasser nur als Dauerformen existieren und zu den periphytischen Organismen zu zählen sind.

Die Ergebnisse der zitierten und der vorliegenden Untersuchungen verallgemeinernd kann gesagt werden, daß sich der Begriff der „inneren Filtration“ des Flußwassers durch Schwebstoffe als Element der Selbstreinigung aus zwei verschiedenen Komponenten zusammensetzt. Einmal senkt die adsorptive Anreicherung der gelösten Nährstoffe an der Oberfläche suspensierter Partikel und die darauf folgende Aufwuchsbildung die Anzahl der frei verteilten Keime. Grob filtriertes (Bodenfiltration) schwebstoffreiches Wasser ist hygienisch einwandfreier als schwebstoffarmes. Zum anderen wird der bakterielle Abbau der organischen Reststoffe durch dieselbe Adsorption und Anreicherung beschleunigt oder die Reinigungsaktivität gesteigert.

Zusammenfassung.

Die Verteilung der Bakterien wird im Flußwasser durch die Anwesenheit von Schwebstoffen dehomogenisiert. Mehr als 99% der gesamten Bakterienflora des schwebstoffreichen Nilwassers gehören zum Aufwuchs, dagegen rund 50% in mäßig verunreinigtem Flußwasser (Leine). Der Sauerstoffverbrauch wurde bei der Zugabe sterilisierten rein anorganischen Nilschlammes bis zu 150% gefördert, wenn die gelösten organischen Stoffe in geringen Konzentrationen ($< \sim 20$ mg/l) vorlagen. Die adsorbierende für die Bakterien stoffwechselfördernde Wirkung des normalen Flußplanktons und -detritus (Leine) war neben der des Nilschlammes kaum nachweisbar.

Literatur.

- HEUKELEKIAN H. u. HELLER, A.: Relation between food concentration and surface for bacterial growth. — *Jour. Bact.* 40, 547 (1940).
- JANNASCH H. W.: Ökologische Untersuchungen der planktischen Bakterienflora im Golf von Neapel. — *Naturwissenschaften* 41, 42 (1954).
- , Zur Ökologie der zymogenen planktischen Bakterienflora natürlicher Gewässer. *Arch. f. Mikrobiol.* 23, 146 (1955).
- LLOYD B.: Bacteria of the Clyde Sea Area. — *Jour. Mar. Biol. Assoc.* 16, 879 (1930).
- , Bacteria in stored sea water. — *Jour. Roy. Tech. College, Glasgow* 4, 137 (1937).
- OHLE, W.: Die chemische und elektrochemische Bestimmung des molekular gelösten Sauerstoffs der Binnengewässer. — *Mitt. d. I.V.L.* Nr. 3 (1955).
- STARK W. H., STADLER J. u. MCCOY E.: Some factors affecting the bacterial population of freshwater lakes. — *Jour. Bact.* 36, 653 (1938).
- STRUGGER S.: Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. — Hannover 1949.
- WAKSMAN S. A. u. CAREY C. L.: Decomposition of organic matter in sea water by bacteria. I u. II. — *Jour. Bact.* 29, 531 u. 549 (1935).
- WINOGRADSKY S.: *Ann. Inst. Past.* 39, 299 (1925) u. 40, 455 (1926).
- ZOBELL, C. E.: The effect of solid surface upon bacterial activity. — *Jour. Bact.* 46, 39 (1943).
- ZOBELL, C. E. u. ANDERSON, D. Q.: Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension. *Biol. Bull.* 71, 324 (1936).