Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie (Mainz 1981) Band X 1983

Verteilung verschiedener Bakteriengruppen eines Fließgewässersystems in Abhängigkeit von der Nährstoffbelastung

Karin Wolf und Johannes Ottow

Quantitative and qualitative studies of bacterial populations along a pollution gradient in a flowing surface water system were performed. In the various zones of pollution the distribution of planktonic microorganisms was compared with that of benthic bacteria and with those microorganisms growing epiphytic on submerged macrophytes. An enhancement of the total bacterial population density was recorded with increasing water pollution. Especially the coliform group and the aeromonads showed maximum population densities in the eutrophic zone and may be used as "indicator" organisms. A main part of the water microflora can be ascribed to the genera *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. Further identification of isolated species may reveal a significant relationship to water quality.

Aquatic microbiology, indicator value, water pollution.

1. Einführung

Die Rolle der Bakterien als Bioindikatoren für belastete Gewässer ist bis heute noch weitgehend ungeklärt. Daher sind grundlegende Untersuchungen über Dichte und Artenvorkommen von Bakterien in Gewässern mit unterschiedlicher Nährstoffbelastung notwendig. Der Einfluß unterschiedlicher Belastungen auf die quantitative und qualitative Zusammensetzung der Aufwuchsflora von submersen Makrophyten im Vergleich zu der Besiedlung von Sediment und Wasser sollte im Rahmen dieses Forschungsprojektes geprüft werden.

2. Material und Methoden

Als Untersuchungsobjekte wurden die Fließgewässer (Quellgräben und Bäche) der Friedberger Au (unweit von Augsburg) gewählt, weil

- unterschiedlich eutrophierte Gewässerabschnitte vorliegen und
- die submerse Makrophyten-Vegetation auf Grund von Kartierungen (vgl. KOHLER et al. 1974) in Beziehung zu den Eutrophierungszonen in 5 floristisch-ökologische Eutrophierungsabschnitte (A bis E) unterteilt werden konnte (Abb. 1).

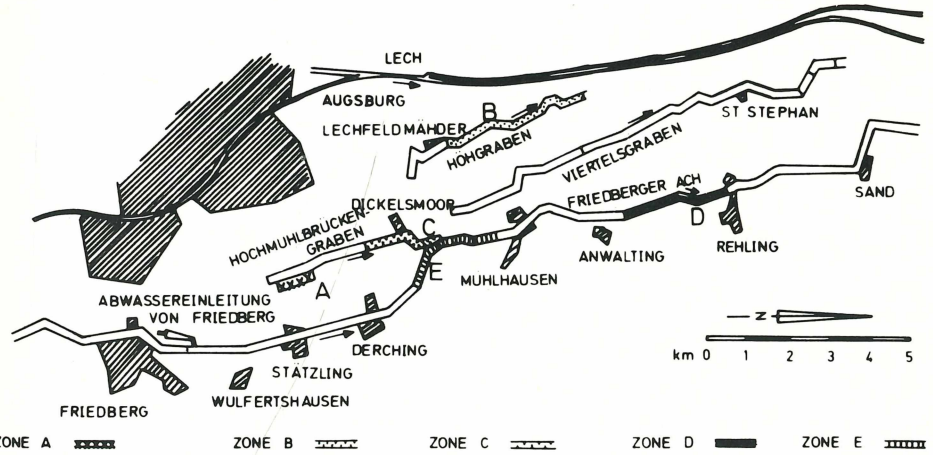

Abb. 1: Schematische Darstellung der Fließgewässer im Einzugsgebiet der Friedberger Au.
Die Probenahmestellen der einzelnen floristischen Zonen sind mit den Buchstaben A, B, C, D und E versehen (vgl. auch Tab. 1).

Tab. 1: Lage der Entnahmestellen und die zur Untersuchung verwendeten Makrophyten.

Lage[1] der Entnahmestellen	Zone	Submerse Vegetation[2]
Hochmühlbrückengraben	A (typisch)	*Potamogeton coloratus* *Berula erecta*
Höhgraben (nach Lechfeldmähder)	B[3]	*Mentha aquatica* *Groenlandia densa* *Berula erecta*
Hochmühlbrückengraben (vor Mündung in die Friedberger Ach)	C[3]	*Mentha aquatica* *Callitriche obtusangula* *Potamogeton crispus* *Berula erecta*
Friedberger Ach (zwischen Anwalting und Rehling)	D	*Potamogeton crispus* *Ranunculus gluckii* *Zanichellia palustris* *Berula erecta*
Friedberger Ach (vor Einmündung des Hochmühlbrückengrabens)	E	vereinzelte und spärlich wachsende Exemplare von *Elodea canadensis*

1) Vgl. schematische Darstellung in Abb. 1.
2) Die Blätter der unterstrichenen Pflanzen wurden zu den Versuchen herangezogen.
3) Zone B und C sind nicht deutlich voneinander abzugrenzen, sondern gehen kontinuierlich ineinander über.

Tab. 2: Selektivmedien zur quantitativen und qualitativen Erfassung verschiedener Bakteriengruppen

Medien[1]	Organismengruppen
A. Flüssigmedien	
Pepton-Hefeextrakt-Glycerin-Glycerophosphat-Bouillon ('most probable number'-Methode) (LITCHFIELD et al. 1975)	Gesamtkeimzahl (aerob)
MacConkey Broth (Oxoid)	
a) Gas und Säure aus Lactose bei 30 °C in 48 h	Coliforme Keime ("Coli-Titer")
b) Gas und Säure aus Lactose bei 44.5 ± 0.5 °C in 24 h	Coliforme Keime, nur Fäkaltyp ("Fäkalcoli-Titer")
B. Agarmedien	
Glutamat-Stärke-Phenolrot-(GSP) Agar nach KIELWEIN (1969)	a) Aeromonaden, gelbe Kolonien b) Pseudomonaden, violette Kolonien
Dextrin-Fuchsin-Sulfit-(DFS) Agar nach SCHUBERT (1966)	a) Aeromonaden, rote Kolonien b) Pseudomonaden, farblose Kolonien c) dextrinspaltende Enterobakterien, rote Kolonien, jedoch Oxidase negativ
Cetrimid-Agar (Oxoid) (BROWN & LOWBURRY 1965)	insbesondere fluoreszierende Pseudomonaden

1) Bebrütung bei 30 °C, wenn nicht anders angegeben

Tab. 1 zeigt jene Standorte, an denen regelmäßig Pflanzenmaterial, Wasser- und Sedimentproben entnommen wurden. Für die Analyse der Epiphytenflora wurden *Potamogeton coloratus* als Vertreter der Zone A und *Berula erecta* in der Zone A bis D ausgewählt. Das Vorkommen von *Potamogeton coloratus* ist auf die Oberläufe der unbelasteten, Ca-reichen Quellbäche konzentriert. *Berula erecta* hat hingegen ein großes Verbreitungsspektrum in den Gewässern der Friedberger Au und wurde deshalb als Pflanze mit weiter ökologischer Amplitude ausgewählt. Sie ist sowohl in den nährstoffarmen Entwässerungsgräben als auch in der unterschiedlich eutrophierten Friedberger Ach verbreitet.

Die Probenahme erfolgte alle 4 Wochen. Zur chemisch-physikalischen Charakterisierung der jeweiligen Entnahmestellen wurden Temperatur, pH-Wert und Wasserhärte gemessen und der Gehalt an oxidierbarer organischer Substanz, an Ammonium, Nitrat und Phosphat bestimmt (BALKS, REEKERS 1955; BOLTZ 1958; ROBINSON et al. 1959; KURMIES 1971/72; DEUTSCHE EINHEITSVERFAHREN 1975).

Für die mikrobiologische Analytik wurden die frischen Sedimentproben (je 20 g) und einzelne Blätter der Wasserpflanzen zur Desorption der Bakterien in 0.18% Natriumpyrophosphatlösung geschüttelt (1 Stunde). Die Bakteriensuspensionen sowie die Wasserproben (je 10 ml) wurden anschließend dezimal verdünnt (in 25% Ringerlösung) und die in Tab. 2 aufgeführten Selektivmedien mit Aliquots aus den Verdünnungsstufen beimpft. Mit der 'most probable number'-Methode wurden die bakterielle Gesamtkeimzahl, Coli- sowie Fäkalcoli-Titer bestimmt. Die Organismen der *Pseudomonas*- und *Aeromonas*-Gruppe wurden durch Ausspateln auf Agarplatten erfaßt. Die Populationsdichte des Sediments wurde pro Gramm Trockensubstanz, die des Aufwuchses pro cm^2 Blattoberfläche ermittelt. Für die qualitative Analyse wurden die auf GSP-, DFS- und Cetrimid-Agar am häufigsten auftretenden Kolonieformen abgeimpft. Aus den positiven Röhrchen der Coli- bzw. Fäkalcoli-Anreicherungen wurden durch Ausstriche auf ENDO C-Agar (Merck) Einzelkolonien isoliert. Sämtliche Isolate wurden durch mehrfaches Subkultivieren in Reinkultur gebracht und nach morphologischen und physiologischen Kriterien (Gramreaktion, Beweglichkeit, Oxidase-Reaktion, O/F-Test) den verschiedenen taxonomischen Gruppen zugeordnet.

3. Ergebnisse

3.1 Chemische Wasseranalysen

Den Verlauf der drei wichtigsten chemischen 'Verschmutzungsindikatoren' in den einzelnen Gewässerabschnitten zeigt Abb. 2. Für die Kurven wurden die Mittelwerte von 8 Messungen aus dem Jahr 1979 verwendet. Der steigende Permanganatverbrauch bestätigt die zunehmende organische Verschmutzung. Zudem ist ein signifikanter Anstieg der Ammonium- und Phosphatkonzentration in den Zonen D und E zu verzeichnen.

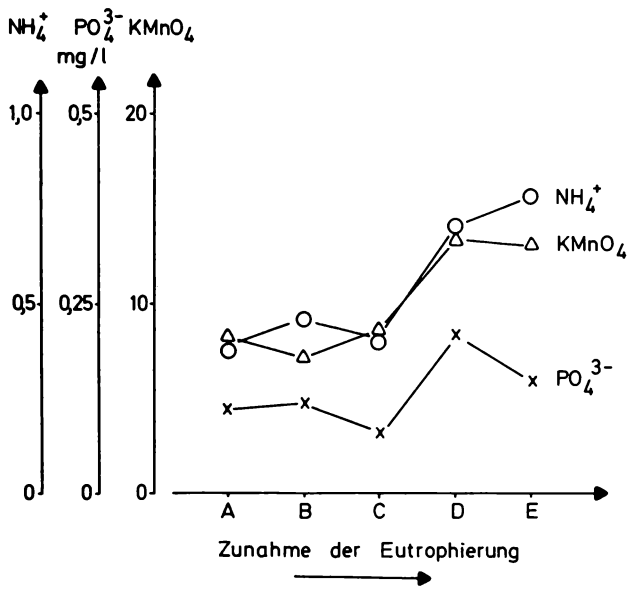

Abb. 2: Verlauf der chemischen Parameter (Permanganatverbrauch, Ammonium- und Phosphat-Gehalt) in den fünf floristisch-ökologischen Zonen der Friedberger Au.

3.2 Quantitative Populationsuntersuchungen

Auf den nachfolgenden vier Abbildungen sind die Ergebnisse der quantitativen Populationsuntersuchungen aus dem Jahr 1979 zusammengestellt. Die Werte wurden aus den Daten von 8 Probenahmen (April - November) gemittelt.

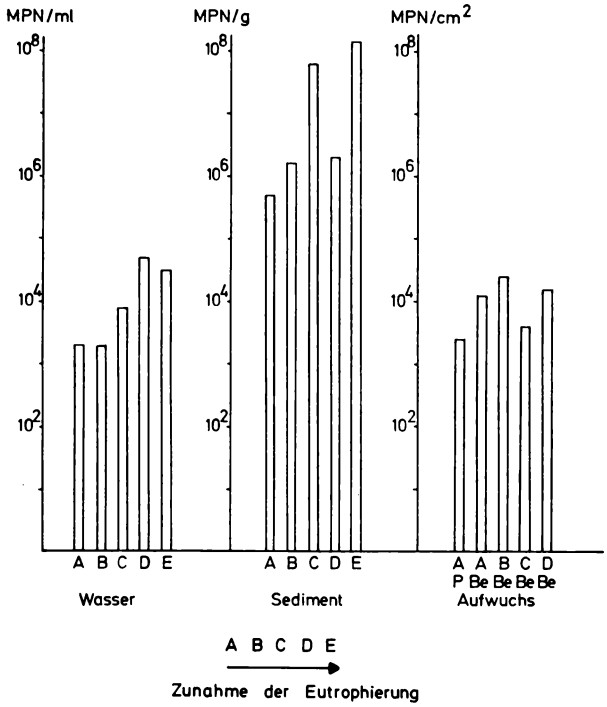

Abb. 3: Entwicklung der Gesamtkeimzahl in Wasser, Sediment und Aufwuchs in Abhängigkeit von der Gewässerbelastung.
P = *Potamogeton coloratus;* Be = *Berula erecta.*

Abb. 3 zeigt den Verlauf der bakteriellen Gesamtkeimzahl in den Wasser- und Sedimentproben sowie auf den Blättern von *Potamogeton coloratus* und *Berula erecta* in Abhängigkeit von der Gewässerbelastung. Die Populationsdichte in Wasser und Sediment steigt mit zunehmender Eutrophierung erwartungsgemäß signifikant an. Das steigende Angebot an leicht mineralisierbaren Kohlenstoffverbindungen geht naturgemäß mit einer starken Vermehrung heterotropher Mikroorganismen einher. Diese Tendenz ist bei den Aufwuchsorganismen nicht festzustellen.

Die Coliformen-Gruppe schließt alle fakultativ anaeroben, gramnegativen, nicht sporenbildenden, stäbchenförmigen Bakterien ein, welche Lactose unter Gasbildung bei 30 °C in 48 h vergären. Die Verbreitung der coliformen Keime in den Gewässern der Friedberger Au (Abb. 4) reflektiert deutlich die zunehmende Gewässerverschmutzung. Der Coli-Titer steigt mit der Belastung signifikant an. Coliforme sind jedoch nicht nur in den Faeces von Warmblütern vorhanden, sondern wurden auch im Verdauungstrakt von Kaltblütern, im Boden und auf Pflanzen nachgewiesen (FRASER et al. 1956; GELDREICH et al. 1964).

Coliforme vom Fäkaltyp, die als Indikatoren für fäkale Verunreinigungen herangezogen werden, fermentieren Lactose bei 44.5 °C innerhalb von 24 h. Im Wasser der Friedberger Ach wurden Fäkalcolis in den eutrophierten Zonen D und E, in den Nebengräben (A, B und C) jedoch nur in geringer Anzahl nachgewiesen. Auch auf den submersen Makrophyten der Zonen A und C sind kaum Fäkalcolis vorhanden. Der Aufwuchs von *Berula erecta* aus B und D enthält immerhin ca. 10 coliforme Keime vom Fäkaltyp pro cm² Blattoberfläche. Die Dichte der Fäkalcolis im Sediment steigt dagegen von 10^2 (Zone A) auf 10^4 Keime/g (Zone E) an. Infolgedessen ist in allen drei Biotopen eine Fäkalverschmutzung wahrscheinlich (Abb. 5).

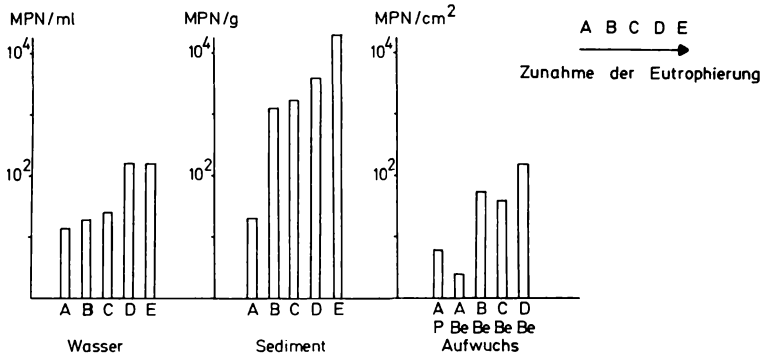

Abb. 4: Entwicklung der coliformen Keime (Gas aus Lactose bei 30 °C in 48 h) in Wasser, Sediment und Aufwuchs in Abhängigkeit von der Gewässerbelastung.
P = *Potamogeton coloratus;* Be = *Berula erecta.*

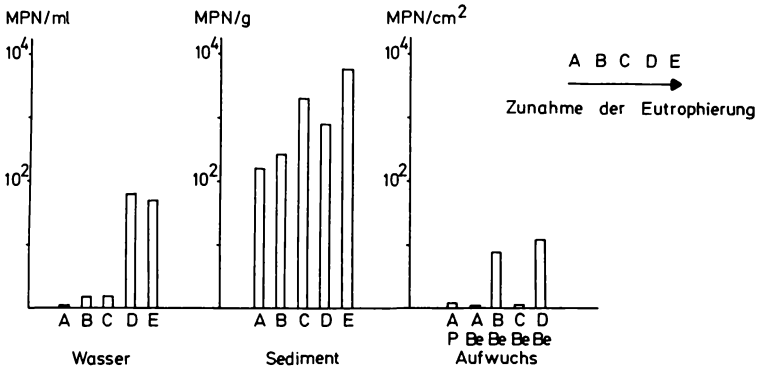

Abb. 5: Entwicklung der coliformen Keime vom Fäkaltyp (Gas aus Lactose bei 44.5 °C in 24 h) in Wasser, Sediment und Aufwuchs in Abhängigkeit von der Gewässerbelastung.
P = *Potamogeton coloratus;* Be = *Berula erecta.*

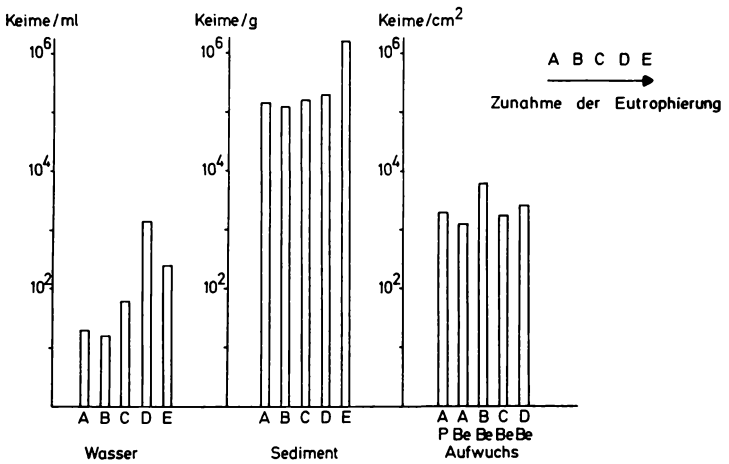

Abb. 6: Populationsdichte von Aeromonaden in Wasser, Sediment und Aufwuchs in Abhängigkeit von der Gewässerbelastung.
Ermittlung der Keimzahlen durch Ausspateln auf GSP-Agar.
P = *Potamogeton coloratus;* Be = *Berula erecta.*

In Abb. 6 ist der Verlauf der Populationsdichte der Aeromonaden dargestellt. Hier ergab die Keimzahlbestimmung auf GSP-Agar nur im Falle der im Wasser frei beweglichen Organismen (Maximum der Aeromonaden-Dichte in der Zone D) eine eindeutige Beziehung zum Belastungsgrad. Über den Indikatorwert der Aeromonaden-Dichte wird noch diskutiert, jedoch gelang es einigen Autoren, eine Korrelation zwischen Aeromonaden-Gehalt und Trophiezustand von Gewässern festzustellen (SCHUBERT 1975; HAZEN et al. 1978; RIPPEY, CABELLI 1979).

Die auf Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar (GSP) ermittelte Pseudomonaden-Population läßt keine Abhängigkeit vom Eutrophierungsgrad der jeweiligen Zone erkennen. Vielmehr sind die Populationsdichten der Pseudomonaden in jedem der 3 Biotope (Wasser, Sediment und Aufwuchs) fast konstant. Isolierung und Identifizierung der vorkommenden *Pseudomonas*-Arten könnten Aufschluß darüber geben, ob einige dieser Spezies eine Zeigerfunktion besitzen. So konnte SCHMIDER (1979) bei der Untersuchung der denitrifizierenden Flora der Friedberger Au *Pseudomonas fluorescens* nur in der Zone A nachweisen. Weitere qualitative Untersuchungen sind hier erforderlich.

3.3 Qualitative Populationsuntersuchungen

Für die qualitativen Populationsuntersuchungen wurden insgesamt 368 Bakterienstämme isoliert. Die Reinkulturen wurden nach dem in Tab. 3 aufgeführten Schema einer vorläufigen morphologisch-biochemischen Differenzierung unterworfen. Es handelt sich durchweg um aerobe, gram-negative, asporogene Stäbchen.

Aus Tab. 3 ist zu ersehen, daß die Pseudomonaden den Hauptanteil der isolierten Stämme darstellen. Organismen aus der Familie der Enterobacteriaceen stehen an zweiter Stelle. *Alcaligenes*- und *Pseudomonas*-Spezies, die aus Glucose weder oxidativ noch fermentativ Säure bilden, sowie die unbeweglichen, gram-variablen und kokkoiden *Acinetobacter*-Arten kommen häufig in Oberflächengewässern vor (SEILER 1979) und stellen auch unter unseren Isolaten eine beträchtliche Fraktion. *Aeromonas* bzw. *Vibrio* bilden die kleinste Gruppe.

Tab. 3: Identifizierung der Reinkulturen auf Grund von morphologischen und physiologischen Hauptmerkmalen.

Anzahl Stämme	Morphologie	Gramreaktion	Beweglichkeit	Oxidase	O/F-Test (Glucose)	vorläufige Zuordnung
159	Stäbchen	-	+	+	+/-	*Pseudomonas* spp.
70	Stäbchen	-	+	-	+/+[1]	*Enterobacteriaceae*
40	Stäbchen	-	+	+	-/-	*Alcaligenes/ Pseudomonas* spp.
30	kokkoide Stäbchen	variabel	-	-	+/-;-/-	*Acinetobacter* spp.
23	Stäbchen	-	+	+	+/+[2]	*Aeromonas/Vibrio* spp.

[1] Gasbildung + ; [2] Gasbildung ± .

Tab. 4: Verteilung der Isolate in den untersuchten Biotopen

Biotop / Taxonomische Gruppe	Sediment					Wasser					Aufwuchs				
											P. col.	*B. erecta*			
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	A	B	C	D
Pseudomonas	25	18	27	22	21	3	8	7	5	5	6	5	2	2	3
Alcaligenes	5	2	3	8	12	-	-	1	1	2	-	1	1	1	3
Enterobacteriaceae	7	6	5	5	7	4	3	2	17	7	3	-	1	2	1
Acinetobacter/ Moraxella	-	6	-	2	4	1	4	2	3	5	-	1	-	-	2
Aeromonas/Vibrio	2	4	-	2	2	-	1	-	2	2	1	1	2	3	1

Wie diese 5 Hauptgruppen in den verschiedenen Biotopen innerhalb des Fließgewässersystems verteilt sind, zeigt Tab. 4. Pseudomonaden wurden vor allem aus dem Sediment isoliert. Auch Organismen mit den Hauptmerkmalen für *Alcaligenes* stammen hauptsächlich aus dem Sediment. Auffallend ist die relativ hohe Anzahl von Enterobacteriaceen aus dem Wasser der Zone D. Die Aufwuchsflora setzt sich anscheinend aus wenigen Arten zusammen; es wurden verhältnismäßig oft Pseudomonaden, jedoch kaum *Acinetobacter* isoliert. Eine eingehende Klassifizierung der isolierten Stämme wird zur Zeit durchgeführt, um ein Artenspektrum für die jeweiligen Standorte zu erstellen.

4. Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse lassen vorläufig folgende Schlüsse zu:

I. Ein sicherer Indikator für die Gewässerverunreinigung, besonders unter hygienischen Gesichtspunkten, ist nach wie vor der Coli-Titer. Ebenso sind ansteigende Aeromonaden-Zahlen im Wasser charakteristisch für eine Zunahme der Verschmutzung. Kaum geeignet als Indikatoren sind die Pseudomonaden. Die *Pseudomonas*-Gruppe setzt sich aus Arten mit außerordentlich vielseitigen Stoffwechselleistungen zusammen (STANIER et al. 1966). Infolgedessen sind die Pseudomonaden sehr anpassungsfähig und nahezu in jedem Biotop vertreten. Erst eine qualitative Analyse der Pseudomonaden-Population wird die Verbreitung der Arten in Abhängigkeit von den Bedingungen in den einzelnen Belastungszonen darstellen können.

II. Die Bedeutung der quantitativen Populationsuntersuchungen im Hinblick auf eine Indikation der Gewässerverschmutzung darf nicht zu hoch eingeschätzt werden. Der Anstieg der bakteriellen Gesamtkeimzahl entlang eines Eutrophierungsgradienten ist zwar offensichtlich, jedoch muß ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß vergleichbare Keimzahlen nicht notwendigerweise auch denselben Gewässerzustand anzeigen, da die Zusammensetzung der Bakterienflora von vielen komplexen Faktoren beeinflußt wird. Eine von der Nährstoffbelastung abhängige zunehmende Populationsdichte von Bakterien konnte auf den Blättern der submersen Makrophyten *Berula erecta* und *Potamogeton coloratus* nicht beobachtet werden. Die Assimilation der Pflanze und die damit verbundene Ausscheidung von Blattexsudaten beeinflussen vermutlich den Biotop epiphytischer Bakterien in einem stärkeren Ausmaß als die Eutrophierung.

III. Bei der qualitativen Analyse der Mikroflora wurde versucht, durch Isolierung der für die jeweilige Probe charakteristischen Kolonieformen ein möglichst authentisches Verbreitungsmuster der Organismen zu erhalten. Der Einsatz von Selektivmedien hat jedoch den Nachteil, daß durch Schaffung eines extremen künstlichen Milieus nicht der natürliche Zustand widergespiegelt wird. Zudem ist die Auswahl der Isolate nach morphologischen Kriterien verhältnismäßig subjektiv. Somit kann kaum eine Garantie für Vollständigkeit des Artenspektrums gegeben werden. Dennoch ist die Identifizierung der scheinbar typischen Vertreter aus den einzelnen Biotopen notwendig, um generell Aussagen über die Bakterienverteilung, speziell in unserem untersuchten Fließgewässersystem, machen zu können.

Diese Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziell unterstützt.

Literatur

BALKS R., REEKERS I., 1955: Bestimmung des Nitrat- und Ammoniumstickstoffes im Boden. Landw. Forsch. 8: 7-13.

BOLTZ D.F., 1958: Colorimetric determination of nonmetals. Chem. Analysis 8: 141. New York (Intersc. Publ.).

BROWN V.J., LOWBURRY E.J.L., 1965: Use of an improved cetrimide agar medium and other culture methods for Pseudomonas aeruginosa. J. Clin. Pathol. 18: 752-756.

DEUTSCHE EINHEITSVERFAHREN zur Wasseruntersuchung, 1975, 3.-7. Aufl. Weinheim (Verlag Chemie).

FRASER M.H., REID W.B., MALCOLM J.F., 1956: The occurrence of coli-aerogenes organisms on plants. J. Appl. Bact. 19: 301-309.

GELDREICH E.E., KENNER B.A., KABLER P.W., 1964: Occurrence of coliforms, fecal coliforms, and Streptococci on vegetation and insects. Appl. Microbiol. 12: 63-69.

HAZEN T.C., FLIERMANS C.B., HIRSCH R.P., ESCH G.W., 1978: Prevalence and distribution of Aeromonas hydrophila in the United States. Appl. Environm. Microbiol. 36: 731-738.

KIELWEIN G., 1969: Ein Nährboden zur selektiven Züchtung von Pseudomonaden und Aeromonaden. Arch. Lebensmittelhyg. 20: 131-133.

KOHLER A., BRINKMEIER R., VOLLRATH H., 1974: Verbreitung und Indikatorwert der submersen Makrophyten in den Fließgewässern der Friedberger Au. Ber. Bayer. Bot. Ges. 45: 5-36.

KURMIES B., 1971/72: Zur Fraktionierung der Bodenphosphate. Phosphorsäure 29: 118-151.

LICHTFIELD C.D., RAKE J.B., ZINULIS J., WATANABE R.T., STEIN D.J., 1975: Optimization of procedures for the recovery of heterotrophic bacteria from marine sediments. Microb. Ecol. 1: 219-233.

RIPPEY S.R., CABELLI V.J., 1979: Aeromonas hydrophila as an indicator of trophic state. Abstr. Ann. Meeting ASM, N1.

ROBINSON J.B.D., ALLEN M. de V., GACOKA P., 1959: The determination of soil nitrates with a Brucine reagent. Analyst 84: 635-640.

SCHMIDER F., 1979: Quantitative und qualitative Zusammensetzung der denitrifizierenden Flora in einem carbonatreichen Fließgewässer sowie auf seinen submersen Makrophyten in Abhängigkeit von der Nährstoffbelastung. Diplomarbeit Univ. Hohenheim.

SCHUBERT R.H.W., 1966: Das Vorkommen der Aeromonaden in oberirdischen Gewässern. Arch. Hyg. Bakteriol. 150: 688-708.

SCHUBERT R.H.W., 1975: Die Relation von aerogenen zu anaerogenen Aeromonaden der "Hydrophila-Punctata-Gruppe" in Fließgewässern in Abhängigkeit von der Abfallstoffbelastung. Zbl. Bakt. Hyg. I. B 160: 237-245.

SEILER H., 1979: Taxonomische Untersuchungen über Acinetobacter aus Oberflächenwasser. Arch. Hydrobiol. 85: 57-71.

STANIER R.Y., PALLERONI N.J., DOUDOROFF M., 1966: The aerobic Pseudomonads: a taxonomic study. J. Gen. Microbiol. 43: 159-271.

Adressen

Dipl.-Biol. Karin Wolf
Prof. Dr. J.C.G. Ottow
Institut für Bodenkunde und Standortslehre
Universität Hohenheim
Emil-Wolff-Str. 27

D-7000 Stuttgart 70

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie

Jahr/Year: 1983

Band/Volume: 10_1983

Autor(en)/Author(s): Ottow Johannes C.G., Wolf Karin

Artikel/Article: Verteilung verschiedener Bakteriengruppen eines Fließgewässersystems in Abhängigkeit von der Nährstoffbelastung 413-420