

## Der Bakterienaufwuchs auf submersen Makrophyten in Abhängigkeit von der Nährstoffbelastung

Georg-Heinrich Zeltner, Johannes Ottow und Alexander Kohler

During model-pollution tests ( $\text{NH}_4^+$ -contamination) in the laboratory with transplanted submerged macrophytes (oligotrophic species into eutrophic running water sections) damaged *Potamogeton*-leaves were covered by a dense periphyton community of bacteria. The outer skin of the epidermis was discolored black.

In the experiments performed, submerged macrophytes of hard calcareous waters *Potamogeton crispus* and *P. lucens*, species occurring in modestly and/or strongly eutrophic water sections) were tested under controlled running water conditions for a period of three to four weeks with different  $\text{NH}_4^+$ -concentrations (5, 25 and 50 ppm in the form of  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ). Leaf- and water-samples were taken periodically (from 12 to 24 hours up to a 2 days and weekly interim), serially diluted ( $10^{-1}$  to  $10^{-8}$ ) and examined quantitatively for different physiological groups of bacteria (by MPN-Method). The highest diluted, positive tubes were used to isolate bacteria. The isolated pure cultures were subsequently characterized by morphological as well as by physiological tests. For classification, BERGEY's manual of determinative bacteriology (1974) was consulted.

So far, the preliminary results failed to show a significant difference in population density between the leaf- and water-samples. However, a difference in bacterial taxa seems to exist between the organisms from leaves and polluted water. Further, there is evidence that the type of plant and its development stage should not be neglected in further experiments.

The experiments are still in their initial stage. The final goal is to discover the relations between leaf damage and bacterial growth.

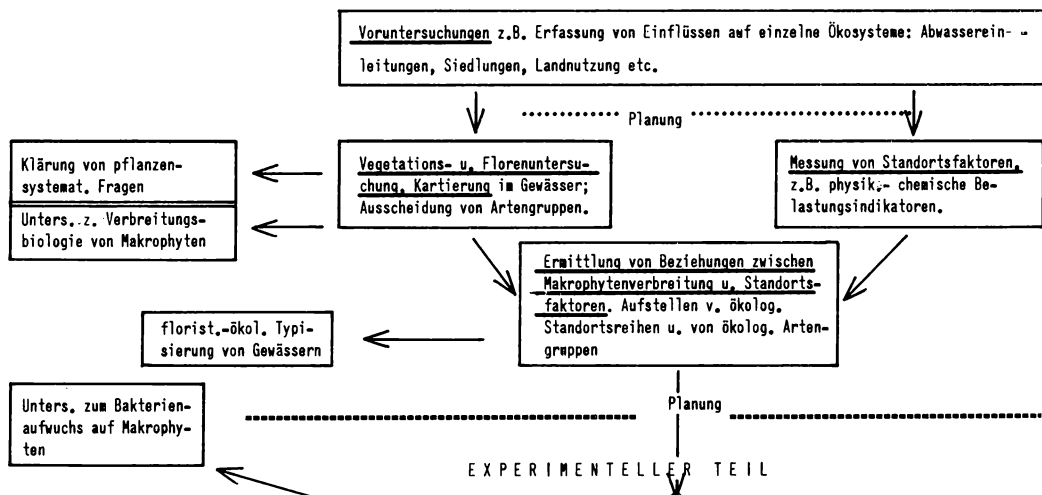
Im nachstehenden Arbeitsrahmen zum Thema "Makrophyten als Belastungsindikatoren in limnischen Ökosystemen (Diskussionsentwurf)" wird im experimentellen Bereich der Bakterienaufwuchs der Makrophyten als Teilgebiet abgegliedert. Die Laborexperimente, zusammen mit deskriptiven Untersuchungen am natürlichen Standort sollen dazu beitragen, die Zusammenhänge zwischen Gewässereutrophierung, Makrophytenschädigung und bakterieller Aufwuchsflora deutlicher erkennen zu lassen. Was diesen Bakterienaufwuchs in Abhängigkeit von der Gewässerbelastung anbelangt, sei vorweg betont, daß es sich im folgenden nur um eine Vorstellung des Projektes handelt, nicht bereits um konkrete, reproduktive Ergebnisse.

Bei Betrachtung geschädigter Blätter sowohl von Transplantationsversuchen, die im Rahmen der Untersuchungen "Makrophyten als Bioindikatoren" in letzter Zeit durchgeführt wurden, als auch in den Aquarien im Labor fiel auf, daß ein Rasen von Aufwuchsortanismen sich auf der Blattoberfläche ausgebreitet hatte. Neben verschiedenen Algen weist dieser Aufwuchs eine große Zahl von Bakterien auf (KOHLER et al. 1972). Dies gab uns die Veranlassung, eine intensivere Untersuchung der Keime vorzunehmen; denn im Hinblick auf die Bedeutung der Mikroorganismen als Selbstreiniger, als Bioindikatoren und als mögliche sekundäre Pflanzenschädlinge scheint uns eine solche Untersuchung notwendig, auch um die Grundlagen zur Beantwortung folgender Fragen zu schaffen:

- I. Wie ist die bakterielle Aufwuchsflora bestimmter submerser Makrophyten im Vergleich zur Mikroflora des umgebenden Wassers zusammengestellt in unterschiedlich belasteten Fließgewässern bis hin zur Verdünnung?
- II. Wie verhält sich die bakterielle Aufwuchsflora ausgewählter Indikatorpflanzen unter kontrollierten Bedingungen (Licht, Temperatur usw.) im Aquarium nach Zugabe von "Verschmutzungen" wie  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$  u.ä. und deren Kombination?
- III. Kann evtl. die Bakterienflora durch ihre toxischen Ausscheidungsstoffe für die Schädigung der Makrophyten verantwortlich gemacht werden?

Um der Lösung dieser Fragen näherzukommen, sind wir bei unseren Versuchen folgendermaßen vorgegangen (Dies betrifft besonders die zweite der drei aufgezeigten Fragen: Aufwuchsflora der Makrophyten unter kontrollierten Bedingungen im Aquarium): Mit der bisher bewährten Aquarienanlage wurden bei konstanten Faktoren (Licht, Temperatur und pH) zwei meso- bis eutraphente Laichkrautarten, *Potamogeton crispus* und *P. lucens*, gezogen. Als Schadstoff wurde Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) in Form von Ammoniumhydrogencarbonat ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) in Konzentrationen von 25 und 50 mg  $\text{NH}_4^+$ /l bei *P. crispus*, und in Mengen von 5, 25 und 50 mg  $\text{NH}_4^+$ /l bei *P. lucens* zugegeben. Als Vergleichsbasis wurde jeweils ein Becken ohne Zugabe von Ammonium unter sonst gleichen Bedingungen gehalten. Die angegebenen Konzentrationswerte sind Ammoniummengen, die durchaus in Fließgewässern gefunden werden.

## DESKRIPTIVER TEIL



## EXPERIMENTELLER TEIL

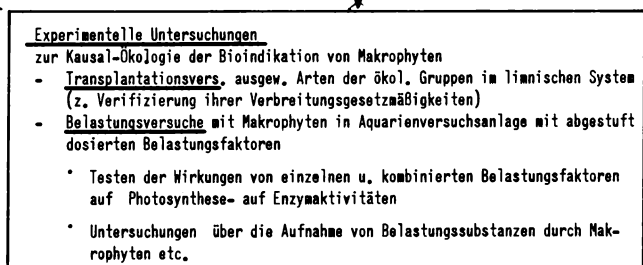


Abb.1: Arbeitsrahmen zum Thema "Makrophyten als Belastungsindikatoren in limnischen Ökosystemen" (Diskussionsentwurf)

Aus diesen Becken, beschickt mit jeweils 6 Pflanzentrieben, wurden nach 3-tägiger Anpassung der Sprosse an die Laborbedingungen und nach 4-5-tägiger  $\text{NH}_4^+$ -Zugabe im 12-, danach im 24- und 48-Stundenrhythmus sowohl Wasser- als auch Blattproben entnommen. Bei *Potamogeton crispus* wurde jeweils ein ganzes Blatt, bei *P. lucens* ein ausgestanztes Teilstück mit der Fläche von  $1 \text{ cm}^2$  in 2 Stunden abgeschüttelt. Einschränkung sei erwähnt, daß die Ausstanzmethode von nur einem Teilstück vielleicht nicht ganz zweckmäßig ist, da es den Anschein hat, daß die Keime nicht homogen auf der gesamten Blattoberfläche verteilt sind, sondern sich Bereiche mit unterschiedlicher Keimdichte abgrenzen lassen. Es empfiehlt sich in Zukunft, mehrere Teilstücke eines Blattes zu verwenden oder bei geeigneter Blattflächenbestimmung ein vollständiges Blatt abzuschüteln.

Die Gesamtkeimzahl bestimmten wir zunächst mit dem Plate-Count-Agar-Verfahren, gingen dann aber des geringeren Arbeitsaufwandes wegen zur MPN-Methode (Most-Probable-Number) mit dem für limnische Ökosysteme bestimmten Nährmedium ESWA nach LITCHFIELD et al. (1975) in flüssiger Form über. Werden von den Verdünnungsstufen jeweils 3 Parallelreagenzröhrchen beimpft, läßt sich die Keimzahl durch Auswertung positiver, also bewachsener Röhrchen mittels einer statistisch begründeten Tabelle nach DE MANN (1974) ablesen. Ein direkter Vergleich mit dem Platten-Auszählungsverfahren ist durch die Verfahrensunterschiede nicht mehr möglich. Bebrütet wird bei  $30^\circ\text{C}$ . Die so gefundenen Werte der Keimzahlen lassen leider noch keinen Schluß auf die Abhängigkeit von der  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration sowohl im freien Wasser, als auch auf den Blättern zu. Während der Versuchsdauer traten bisher starke Schwankungen auf, die bei den Blattproben - nicht nur bei den Teilstücken, sondern auch bei den vollständigen *P. crispus*-Blättern - stärker in Erscheinung traten.

Eine Abhängigkeit von der Lichtintensitätsschwankung zwischen Tag und Nacht läßt sich bisher nicht nachweisen. So bewegen sich die Werte im Wasser im Bereich von  $10^2$  bis  $10^4$  Keimen pro ml, bei den Blattproben von  $10^2$  bis  $10^6$  Keimen pro  $\text{cm}^2$ . Ein signifikanter Unterschied der Keimdichte zwischen beiden Laichkräutern ist ebenfalls bisher nicht feststellbar gewesen. Ob dies bei Wasser- und Blattproben der Fall ist, läßt sich erst an Hand einer Reihe von noch durchzuführenden Parallelversuchen und einem Vergleich untereinander nachweisen.

In der Annahme, daß die Keime der stärksten Verdünnungsstufe, also die der Wahrscheinlichkeit nach am häufigsten vorhandenen, am intensivsten in die Gewässerökologie eingreifen, nehmen wir die am schwächsten bewachsenen Röhrchen zur Vereinzelung und Isolierung der Stämme. Nach Verdünnungsausstrichen werden die Einzelkolonien mit verschiedenen physiologisch-biochemischen Methoden wie Gramfärbung, Beweglichkeitsbestimmung usw. getestet. Darunter sind auch Tests zur Bestimmung von nitrifizierenden und denitrifizierenden Keimen (HÖFLICH 1969). Erstere, also  $\text{NH}_4^+$  zu  $\text{NO}_2^-$  bzw.  $\text{NO}_2^-$  zu  $\text{NO}_3^-$  oxidierende Bakterien konnten nicht nachgewiesen werden, dagegen Denitrifikanten, die allerdings entgegen den Literaturangaben nicht bei 37°C, sondern bei 30°C Bebrütungstemperatur ihre Aktivität entfalten und  $\text{NO}_2^-$  und  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{N}_2$ -Gas reduzieren, also mesophile, vielleicht sogar psychrophile Keime darstellen.

Nachstehendes Schema erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Die gram-negativen Bakterien - und dies sind fast immer neben wenigen gram-positiven Kokken alle gefundenen Keime - scheinen sich vorläufig folgendermaßen zu gruppieren (es bedarf weiterer Beobachtungen, um dies abzusichern):

Zu Beginn des Versuchsablaufes überwiegt die Gruppe Pseudomonaden und Pseudomonaden-ähnliche, wogegen nach 7-10 Tagen diese zurückgedrängt zu werden scheint und eine *Alcaligenes-Acinetobacter*-Gruppe stärker in Aktion tritt. Diese läßt sich wohl auch häufiger in den Ammoniumkonzentrationen von 25 bzw. 50 mg/l finden, also in stärker belasteten Aquarien.

Eine weitere Gruppe - gram- und Oxidase-negativ, aber beweglich - muß noch weiter getestet werden, um sie besser klassifizieren und einordnen zu können.

Es sieht auch so aus, als würden im freien Wasser der Aquarien aerobe, bewegliche, *Pseudomonas*-ähnliche Organismen, die im Kohlenhydratstoffwechsel keine Säurebildung aufweisen, auftreten, die bisher nicht auf den Blättern gefunden wurden (HUGH u. LEIFSON 1953). Ob es sich um *Alcaligenes* ssp. oder *Pseudomonas* ssp. handelt, ist noch zu beweisen.

Wie diesen Ausführungen zu entnehmen ist, stehen wir noch ziemlich am Anfang einer Reihe von Problemen, die es zu klären gilt, um der Lösung der eingangs erwähnten drei großen Fragen des Zusammenhanges zwischen Bakterienaufwuchs und Blattschädigung bei submersen Makrophyten näherzukommen.

Wir hoffen, dies in Zukunft auch mit parallel zu den Laborversuchen laufenden Freilanduntersuchungen in verschiedenen floristisch-ökologischen Flußzonen eines Fließsystems intensiver bearbeiten zu können.

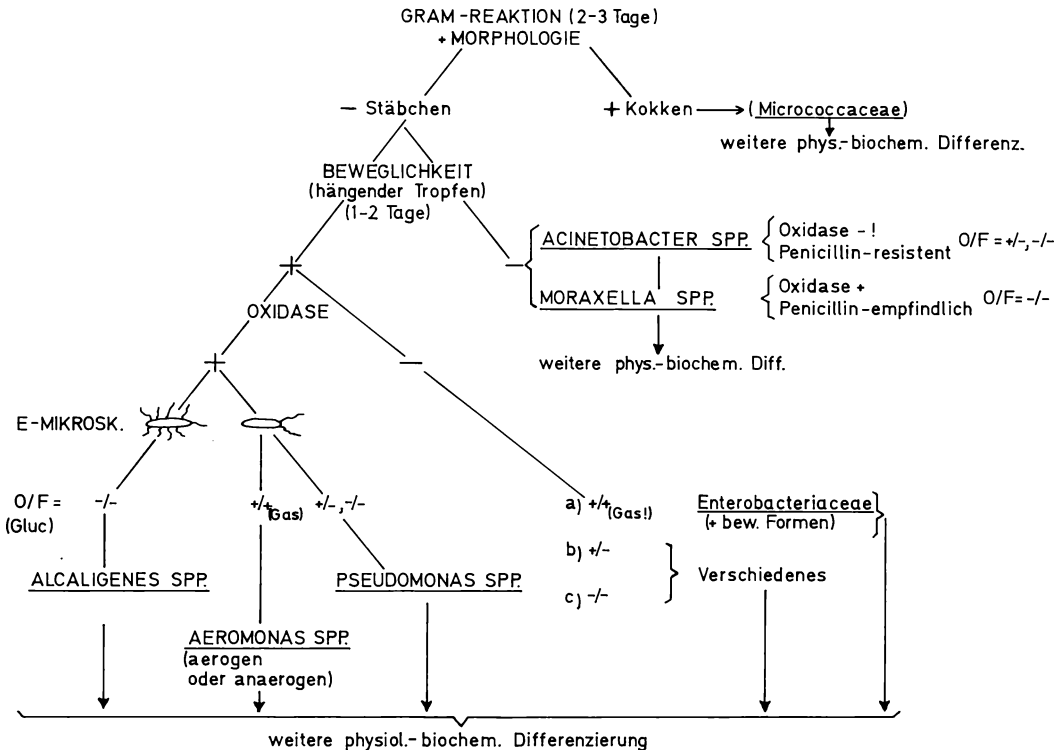


Abb.2: Schema zur systematischen Identifizierung des Bakterienaufwuchses auf submersen Makrophyten

## Literatur

- BERGEY's Manual of determinative bacteriology (1974). (Ed. COWAN S.T., HOLT J.G., LISTON I. etc.)  
Baltimore (Williams a. Wilkins Comp.)
- HÖFLICH G., 1969: Möglichkeiten zur quantitativen Ermittlung der Nitrifikationsbakterien. Zentralbl. f. Bakteriologie 123: 138-146.
- HUGH R., LEIFSON E., 1953: The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J. Bact. 66: 24-26.
- KOHLER A., ZELTNER G.-H., BUSSE M., 1972: Wasserpflanzen und Bakterien als Verschmutzungsanzeiger von Fließgewässern. Umschau 72: 158-159.
- LITCHFIELD C.D., RAKE J.B., SINDULIS I., WATANABE R.T., STEIN D.J., 1975: Optimization of procedures for the recovery of heterotrophic bacteria from marine sediments. Microbiol. Ecol. 1: 219-253.
- DE MANN J.C., 1974: The probability of most probable numbers. Eur.J.Appl.Microbiol.1:67-78.

## Adressen

Dipl.-Ing. Georg-Heinrich Zeltner  
Prof. Dr. Alexander Kohler  
Inst. f. Landeskultur u. Pflanzenökologie  
d. Universität Hohenheim (05200)  
Postfach 106  
D-7000 Stuttgart 70

Prof. Dr. Johannes Ottow  
Inst. f. Bodenkunde u. Standortslehre  
d. Universität Hohenheim (05100)  
Emil-Wolff-Str. 27  
D-7000 Stuttgart 70

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1978

Band/Volume: [7\\_1978](#)

Autor(en)/Author(s): Zeltner Georg-Heinrich, Ottow Johannes C.G., Köhler Alexander

Artikel/Article: [Der Bakterienaufwuchs auf submersen Makrophyten in Abhängigkeit von der Nährstoffbelastung 257-260](#)