

Die mikrobielle Aktivität in einem Fließgewässer

Hubert Müller¹⁾ und Christian Kunze

During the course of one year water samples were taken at twelve different locations of the Wiesbeck, a small running water near Giessen, West Germany. These samples were analysed for several chemical parameters. Besides, the biodegradation of 10 mg/l p-hydroxybenzoic acid was examined to characterize the microbial activity. Due to the access of faecal pollution the total count of bacterial colonies increased after villages, while the decomposition of the phenolic compound was accelerated. Thus a correlation between biomass and bioactivity seems to exist. During the period covered in this report water quality and hence microbial activity showed a close relationship to rate of runoff.

Bacteria, biodegradation, phenolics, water pollution.

1. Einführung

Vergleicht man aquatische mit terrestrischen Ökosystemen, so fällt auf, daß die Nahrungsketten in Gewässern in der Regel länger sind; das heißt, es sind meist mehrere trophische Stufen am Stoffkreislauf und am Energiefluß beteiligt. Es ist daher leicht zu erklären, daß sich Umweltchemikalien in Gewässern als sehr viel schädlicher erweisen als in terrestrischen Ökosystemen, da durch die Länge der Nahrungskette die Möglichkeit zur Akkumulation von Schadstoffen wesentlich größer ist. Dies gilt besonders für persistente Stoffe, die sich biologisch nicht zersetzen lassen.

In der vorliegenden Arbeit ist der biologische Abbau von Phenolen untersucht worden; daher soll zunächst etwas allgemeiner auf diese Stoffgruppe eingegangen werden. Phenolische Verbindungen können auf der einen Seite durch biologische Vorgänge entstehen. So konnten beispielsweise in fast allen untersuchten Kulturpflanzen (Hafer, Raps, Weizen, Erdbeeren u.v.a.) sowohl in den Blättern als auch in den Früchten Phenolderivate nachgewiesen werden (BUIKEMA 1979). Zu dieser Stoffgruppe zählen weiterhin die Gerbstoffe (Tannine) sowie verschiedene pflanzliche Pigmente (Flavone, Anthocyane). Der weitaus größte Teil der natürlich entstehenden Phenole ist jedoch auf den mikrobiellen Abbau von Lignin zurückzuführen. Bei diesem Vorgang werden Verbindungen wie p-Hydroxybenzoesäure, Vanillin, Protocatechusäure, Ferulasäure, Syringasäure etc. freigesetzt (HAIDER 1965), die dann weiter abgebaut werden müssen. Da der Anteil des Lignins an der pflanzlichen Biomasse ca. 30% beträgt, wird deutlich, daß der Abbau phenolischer Verbindungen einen wichtigen Schritt im Kohlenstoffkreislauf darstellt. Diese Stoffe kommen unter natürlichen Bedingungen in Gewässern nur in äußerst geringen Konzentrationen vor, so daß sie keine größere Gefahr darstellen.

Ganz anders sieht es dagegen mit den Phenolen aus, die durch anthropogenen Einfluß in die Umwelt gelangen. Hier sind vor allem die Betriebe der Kohleveredelungsindustrie zu nennen (Gaswerke, Kokereien, Schwelereien etc.), bei denen Phenol, Kresole, Brenzkatechin und das hochtoxische Hydrochinon anfallen, während in Zellulosefabriken große Mengen an schwer abbaubaren Ligninsulfonsäuren produziert werden (BUIKEMA 1979). Bei den phenolischen Bioziden sind die Nitro- und Chlorphenole hervorzuheben, die ebenfalls zu den persistenten Verbindungen zählen (HIGGINS 1975). Flüchtige Verbindungen (Phenol, Kresole) werden durch Verbrennungsmotore und beim Hausbrand freigesetzt (AUERMANN et al. 1976). Diese anthropogenen Phenole sind meist sehr toxische Verbindungen, die auch zu erheblichen Geschmacks- und Geruchsbelästigungen führen können (BEER 1958, LIEBMANN 1960 bzw. WEIL 1974).

Zur Spaltung von aromatischen Verbindungen, und damit letztlich zum Phenolabbau, sind verschiedene Mikroorganismen befähigt. Zwar sind grundsätzlich sowohl Bakterien als auch Pilze dazu in der Lage, doch haben eigene Versuche gezeigt, daß, zumindest im Fall des untersuchten Fließgewässers, nur Bakterien am Abbau beteiligt sind. Bei diesen Versuchen wurde, in Anlehnung an die bei KÖHLER und KUNZE (1979) beschriebene Methode, jeweils eine der beiden Gruppen mit spezifischen Inhibitoren ausgeschaltet. Der Abbaumechanismus ist schon seit längerem bekannt. Hier soll die sogenannte Ortho-Spaltung vorgestellt werden, die bei *Pseudomonas fluorescens* gefunden wurde (STANIER 1966).

1) Auszug aus einer Dissertation am FB 15 der Universität Gießen.

Wie aus Abb. 1 zu ersehen ist, wird Phenol enzymatisch in Stoffwechselintermediate überführt, die in den Zitronensäurezyklus eingeschleust werden und so der Energiegewinnung und dem Aufbau körpereigener Substanzen dienen. Neben dem Abbauweg ist vor allem die Abbaugeschwindigkeit von Bedeutung. Sie ist definiert als die Zeit, in der eine bestimmte Substratmenge mineralisiert worden ist. Diese Abbaugeschwindigkeit ist von vielen ökologischen Faktoren abhängig, die sowohl physikalischer

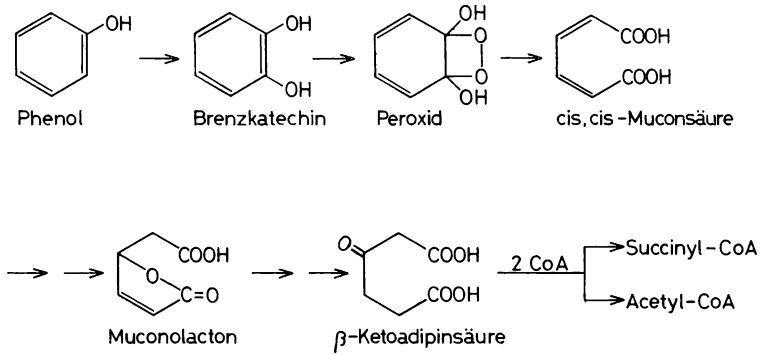


Abb. 1: Abbaumechanismus von Phenol (STANIER 1966, verändert).

und chemischer als auch biologischer Natur sein können. Hier seien, ohne Anspruch auf Vollständigkeit, genannt:

- Temperatur, Licht, Wasserbewegung
- Sauerstoffgehalt, pH-Wert, Nährsalze, toxische Stoffe
- Keimgehalt, Antagonisten, adaptiver Zustand der Mikroorganismengesellschaft, und die Verwertbarkeit des Substrates, die ganz erheblich von der chemischen Struktur der betreffenden Verbindung bestimmt wird.

In der Literatur sind viele Untersuchungen beschrieben, in denen der Phenolabbau mit isolierten Pilz- bzw. Bakterienkulturen durchgeführt wurde (BAUM 1964; ENGELHARDT et al. 1979; CRAWFORD et al. 1978; NEHEZ et al. 1977; ROA, BHAT 1971 u.v.a.). In der vorliegenden Arbeit ist versucht worden, mit natürlichen Mikroorganismengesellschaften zu arbeiten, um so die Ergebnisse eher auf normale Umweltbedingungen übertragen zu können. Das heißt, es wurde Wasser aus einem Bach entnommen, eine definierte Phenolmenge hinzugegeben und dann der Abbau dieses Substrates verfolgt. Es sollte geklärt werden, unter welchen ökologischen Bedingungen der Phenolabbau langsamer bzw. schneller abläuft und im besonderen, ob ein Zusammenhang zwischen Saprophytenzahl und der Intensität der Phenolzersetzung gegeben ist.

2. Methoden

Es wurden zunächst 12 Probestellen entlang des Flußlaufes der Wieseck ausgesucht (Abb. 2). Dieser Bach entspringt im vorderen Vogelsberg, fließt in westlicher Richtung ins Gießener Becken und mündet in Gießen in die Lahn. Die Standorte wurden so ausgesucht, daß jeweils vor (Nr. 1, 3, 5 und 7) und hinter einer Ortschaft (Nr. 2, 4, 6 und 8) Wasser entnommen wurde (Nr. 10, 11 und 12 liegen im Stadtbereich von Gießen), um so den anthropogenen Einfluß verfolgen zu können.

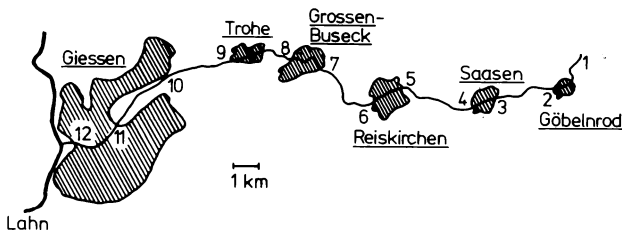


Abb. 2: Die untersuchten 12 Standorte an der Wieseck.

An diesen 12 Stellen erfolgten ein Jahr lang (Juli 1978 - Juli 1979) im Abstand von 14 Tagen die Probenahmen. Das Wasser wurde, teils an Ort und Stelle, teils im Labor auf folgende Parameter untersucht:

- Temperatur (geeichtes Thermometer)
- Sauerstoffgehalt (Sauerstoffelektrode)
- Sauerstoffsättigung
- pH-Wert (pH-Elektrode)
- Leitfähigkeit (Leitfähigkeitselektrode)
- Härtegrad (Gesamthärte nach MERCK o.J.)
- Ammonium (mit Neßlers Reagenz nach MERCK o.J.)
- Nitrit (mit α -Naphthylamin u. Sulfanilsäure nach MERCK o.J.)
- Nitrat (mit Na-Salicylat nach MERCK o.J.)
- Phosphat (mit Vanadat-Molybdat nach MERCK o.J.)
- Chlorid (potentiometrische Bestimmung nach DEV 1971)
- Biochemischer Sauerstoffbedarf (Flaschenmethode, MERCK o.J.)
- Koloniezahl (auf CPS-Agar (COLLINS 1963) nach 7 Tagen bei 20 °C).

Parallel dazu wurde, um die mikrobielle Aktivität zu charakterisieren, der biologische Abbau von p-Hydroxybenzoesäure verfolgt. Grundlage der angewandten Methode ist die Eigenschaft der Phenole, im UV-Bereich eine starke Eigenabsorption zu besitzen. Der Konzentrationsrückgang ist dadurch bestimmt worden, daß, nach Inkubation mit dem Substrat, alle zwei Stunden die UV-Extinktion am Absorptionsmaximum gemessen wurde. Aus dem Rückgang dieser UV-Absorption konnte dann, über vorher angefertigte Eichkurven, auf die Abnahme des Substrates geschlossen werden (MÜLLER, KUNZE 1978).

Im einzelnen wurde

- ein Liter Wieseckwasser auf neutralen pH-Wert gepuffert und mit 10 mg p-Hydroxybenzoesäure versetzt
- der Ansatz auf die Schüttelmaschine gestellt
- alle zwei Stunden die UV-Extinktion am Absorptionsmaximum bestimmt
- im Diagramm die Phenolkonzentration (in %) gegen die Zeit aufgetragen (Abbaukurve).

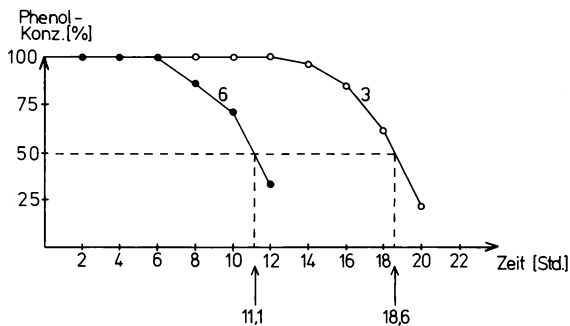


Abb. 3: Abbau vom 10 mg/l p-Hydroxybenzoesäure an den Standorten Nr. 3 (○—○) und Nr. 6 (●—●).

In Abb. 3 ist eine typische Abbaukurve dargestellt. Es wird deutlich, daß vor dem eigentlichen Abbau der Verbindung eine mehr oder weniger lange lag-Phase vorhanden ist, in der sich die Mikroorganismengesellschaft auf das neue Nährstoffangebot einstellen muß. Wie Versuche mit isolierten Bakterien zeigten, müssen Enzyme, die der Phenolabbau erfordert, induktiv gebildet werden (SCHLEGEL 1974). Es liegt daher die Vermutung nahe, daß bei unseren Versuchen ebenfalls eine enzymatische Adaptation gegeben ist.

Die Abbaukurve macht weiterhin deutlich, daß es, auf Grund der zweistündigen Messungen, sehr schwer ist, die exakte Abbauzeit zu bestimmen. Daher wurde die Zeit ermittelt, in der 50% der eingesetzten p-Hydroxybenzoesäure abgebaut waren. Nach Abb. 3 für Standort Nr. 3: 18,6 Std. und für Standort Nr. 6: 11,1 Std. Die Abbaugeschwindigkeit, d.h. die mineralisierte Menge/Zeit, kann demnach, da jeweils eine konstante Substratmenge eingesetzt wurde, durch die Abbauzeit charakterisiert werden.

Der methodische Ansatz zeigt, daß bei diesen Untersuchungen nicht die Aktivität der Mikroorganismen im freien Wasser gemessen wurde, sondern deren *potentielle Stoffumsatzaktivität* unter standardisierten Laborbedingungen.

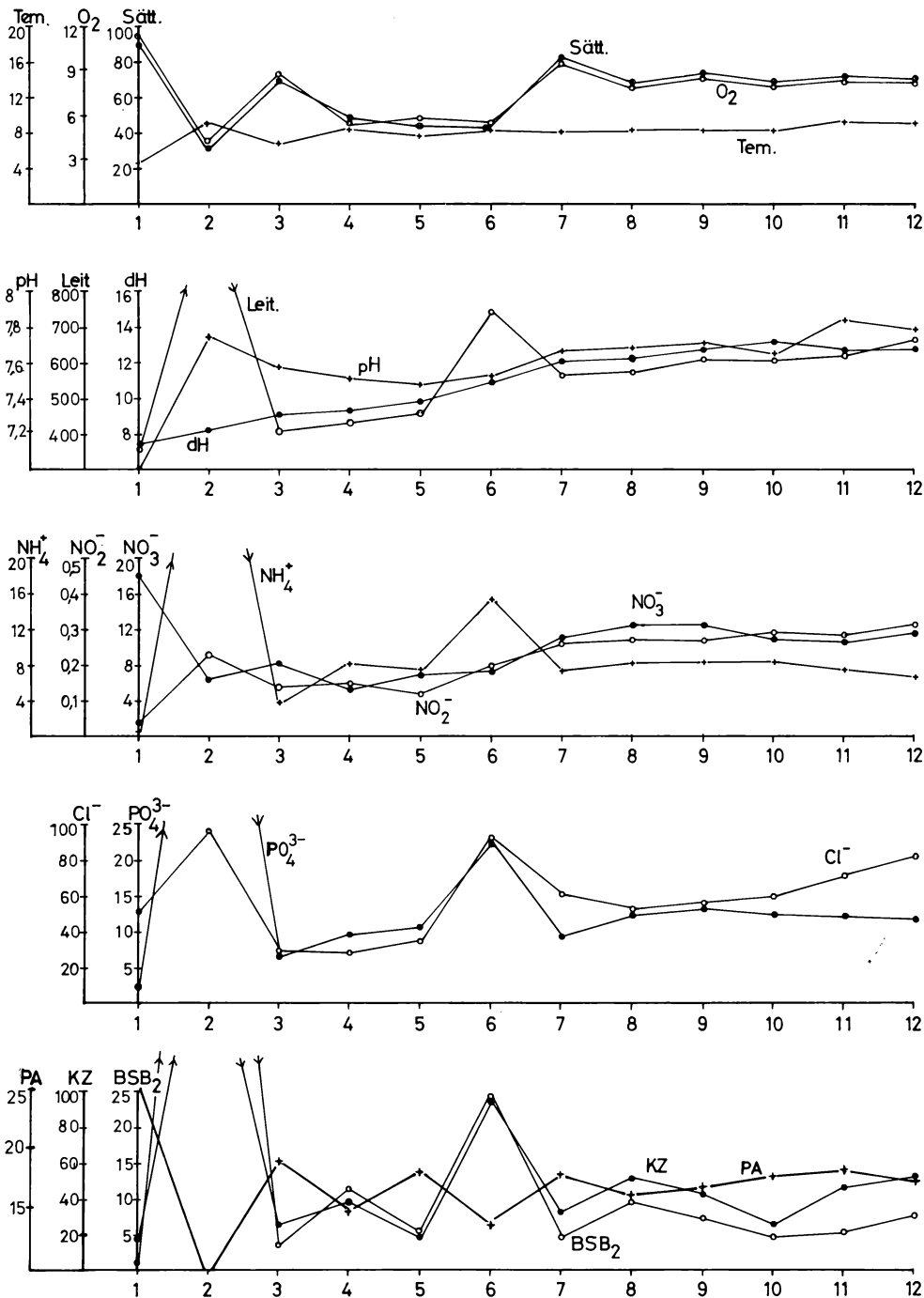


Abb. 4: Jahresmittelwerte der Standorte 1-12 (n = 26).
 Temperatur Tem (°C); Sauerstoff O₂ (mg O₂/l); Sauerstoffsättigung Sätt (%);
 pH-Wert pH; Leitfähigkeit Leit (µS/cm); Härtegrad dH (°dH);
 Ammonium NH₄⁺, Nitrit NO₂⁻, Nitrat NO₃⁻,
 Chlorid Cl⁻, Phosphat PO₄³⁻ (alle in mg/l);
 Phenolabbau PA (siehe Methoden); Koloniezahl KZ (Kolonien x 10⁴/ml),
 Biochemischer Sauerstoffbedarf BSB₂ (mg O₂/l).

3. Ergebnisse

Aus dem umfangreichen Material sollen hier jeweils nur die wichtigsten Parameter exemplarisch besprochen werden. Man kann der Abb. 4, die die Jahresmittelwerte der 12 Standorte zeigt, entnehmen, daß Standort Nr. 1, die Wieseck-Quelle, erwartungsgemäß unbelastet ist: hoher Sauerstoffgehalt, niedrige Leitfähigkeit, kein Ammonium und kein Phosphat. Standort Nr. 2 führt dagegen das am meisten belastete Wasser: Der Sauerstoffgehalt liegt im Jahresdurchschnitt bei nur 4 mg O₂/l, und auch die Leitfähigkeit zeigt mit Werten über 1000 µS/cm eine extreme Verschmutzung an. Weiter flußabwärts wird eine Auf- und Abbewegung der Belastung deutlich, die dadurch zustande kommt, daß das Wasser unmittelbar hinter den Ortschaften (Standorte 2, 4, 6 u. 8) stark verschmutzt ist, dann aber eine biologische Selbstreinigung erfolgt. Gut ist diese Tendenz bei den Ammonium- und Phosphatwerten zu beobachten. Die Ortschaften, die vor Standort Nr. 2 bzw. Nr. 6 gelegen sind, stechen hier besonders hervor, so daß man sie als Hauptverschmutzer der Wieseck bezeichnen kann. Koloniezahl und BSB₂ zeigen ebenfalls die anthropogene Belastung des Wassers.

Die Jahresmittelwerte für den Phenolabbau machen deutlich, daß an den stärker belasteten Standorten die p-Hydroxybenzoesäure wesentlich schneller mineralisiert wird als an den weniger verschmutzten Stellen. Der inverse Kurvenverlauf von Koloniezahl und Phenolabbau zeigt, daß offensichtlich eine Kopplung zwischen Destruenten-Biomasse und deren Aktivität besteht.

Wie oben bereits angedeutet, ist das Wieseckwasser, trotz der zum Teil erheblichen Belastungen, dennoch zur Selbstreinigung fähig. Dieser Effekt wird verdeutlicht, wenn auf dem Streckenabschnitt zwischen Standort Nr. 6 (hinter Reiskirchen) und Standort Nr. 7 (vor Großen-Buseck) alle 500 m Wasser entnommen und untersucht wird (Abb. 5). Der Ammonium- bzw. Phosphatgehalt verringert sich wesentlich; die Sauerstoffkonzentration nimmt im gleichen Maße zu. Bei 2000 m wird die Selbstreinigungsstrecke allerdings durch erneute Abwassereinleitung beeinträchtigt. Sowohl BSB₂ als auch Koloniezahl zeigen die fortschreitende Besserung der Wassergüte.

Vergleicht man die Koloniezahl mit dem Phenolabbau, wird die gleiche Tendenz deutlich, die oben schon erwähnt wurde: Mit dem Absinken der Koloniezahl verringert sich die Abbaugeschwindigkeit. Bei älteren Untersuchungen, die REICHARDT, SIMON (1972) an der Mettma durchgeführt haben, zeigte sich, daß die Aktivität der alkalischen Phosphatase, im Gegensatz zur Maltase, ebenfalls eine enge Kopplung an die aktive Biomasse der heterotrophen Bakterien erkennen läßt.

Der Jahresgang der gemessenen Parameter soll am Standort mit der höchsten Belastung (Nr. 2) dargestellt werden. Von Bedeutung ist der Wasserabfluß Q (m³/s), denn unsere Untersuchungen wurden im schneereichen Winter 1978/79 durchgeführt. In den Monaten Februar, März, April und Mai stieg die Wasserführung infolge der Schneeschmelze erheblich an, was große Auswirkungen auf den Belastungsgrad des Wassers hatte.

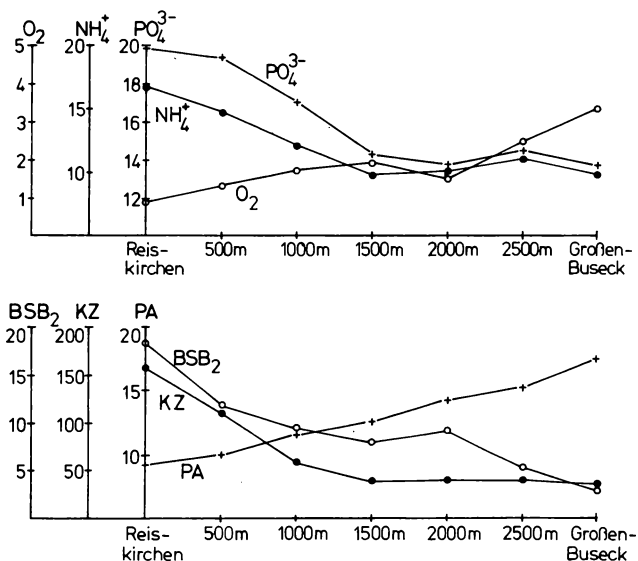


Abb. 5: Entwicklung einiger Parameter entlang der Fließstrecke unterhalb von Reiskirchen (6) und oberhalb von Großen-Buseck (7). (Abkürzungen und Dimensionen siehe Abb. 4).

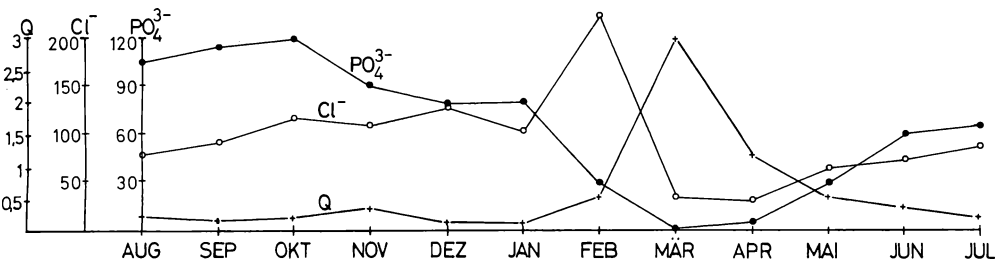
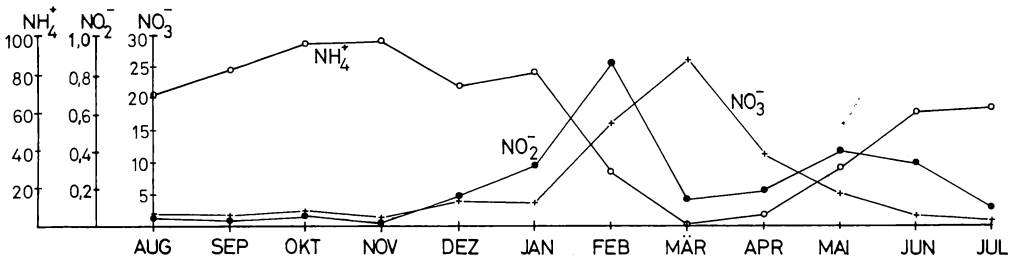
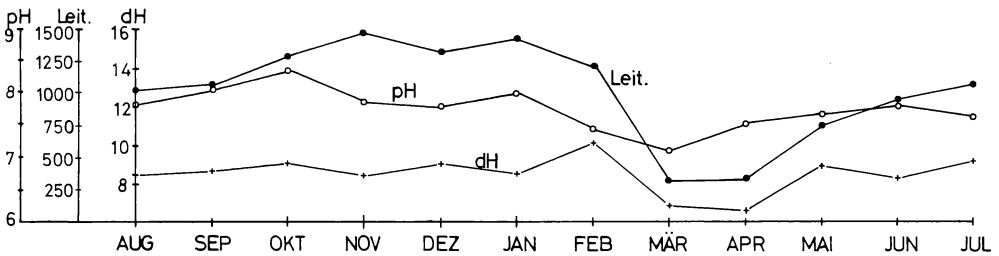
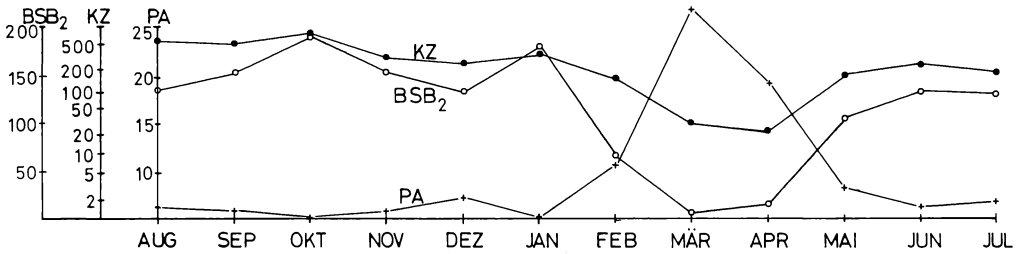
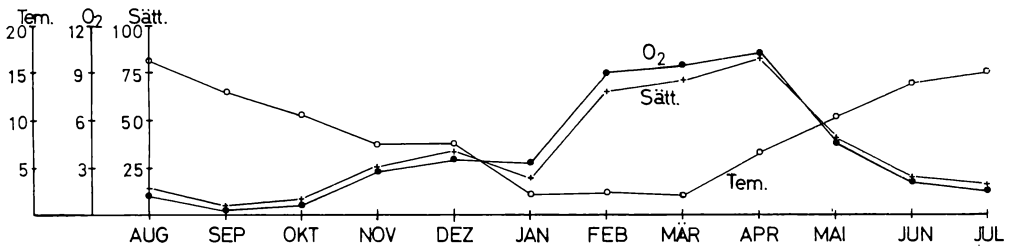


Abb. 6: Jahresgänge der Parameter am Standort Nr. 2.
(Abkürzungen und Dimensionen siehe Abb. 4).

Bei den Kurven von Ammonium und Phosphat (Abb. 6) ist zu sehen, daß die hohen Verschmutzungswerte in den Niedrigwasser-Monaten auftreten, während in den Hochwasser-Monaten fast sauberes Wasser vorhanden ist. Da der Abwasseranfall immer gleich war, kann die Besserung der Verhältnisse eindeutig auf den Verdünnungseffekt zurückgeführt werden. Der Anstieg des Nitrates ist größtenteils durch Auswaschungen aus landwirtschaftlich genutzten Flächen bedingt, während die hohen Chloridwerte sicher durch Streusalz verursacht wurden. In der abflußarmen Periode beobachtet man außerdem auch sehr geringe Sauerstoffkonzentrationen; durch das Sinken der Temperatur im Herbst verbessert sich die Situation geringfügig, doch der deutliche Anstieg im Februar ist auf das Frühjahrshochwasser zurückzuführen. Bei den Parametern BSB₂ und Koloniezahl herrscht die gleiche Tendenz: im Sommer extrem hohe Werte, während der Hochwasserzeit geringe Belastung. Der Phenolabbau zeigt auch am Standort 2 eine enge Beziehung zur Koloniezahl; entsprechende Ergebnisse wurden erzielt, wenn an Stelle von Phenol Zellulose als Substrat diente (MÜLLER et al. 1980).

Die hier besprochenen Jahresgänge der verschiedenen Verschmutzungsindikatoren eines Fließgewässers zeigen deutlich, wie zufällig die Ergebnisse einer Einzelbestimmung sein können. Daher führt nur die Betrachtung über einen längeren Zeitraum hinweg zu gesicherten Aussagen.

4. Ausblick

Die Untersuchungen waren Teil eines interdisziplinären Forschungsvorhabens mit dem Ziel, sowohl die Wieseck als auch die Wieseckkaue ökologisch zu charakterisieren (MÜLLER, KUNZE 1980 u.v.a.). Dabei sind beispielsweise erhebliche Schwermetallkonzentrationen im Schlamm und große Mengen von Coli-Bakterien und Salmonellen im Wasser der Wieseck gefunden worden. Ein im Bau befindlicher Abwasser-sammler soll nun die anthropogene Belastung des Baches verringern. Es wird daher zur Zeit untersucht, inwieweit sich die reichhaltige Lebensgemeinschaft, die früher in der Wieseck zu beobachten war, durch die Verbesserung der Wasserqualität regenerieren kann.

Literatur

- AUERMAN E. et al., 1976: Phenol-Immissionen in Karl-Marx-Stadt. Z. ges. Hygiene 20: 398-400.
- BAUM F., 1964: Physiologische und biochemische Studien über den Abbau von Salicylsäure durch *Aspergillus niger*. Z. allg. Mikrobiol. 4: 114-133.
- BEER W.-D., 1958: Untersuchungen über die toxische Wirkung von Phenolen und phenolhaltigen Industrieabgängen auf Wasser- und Landorganismen. Wiss. Z. Karl-Marx-Univ. Leipzig 8: 67-96.
- BUIKEMA A., 1979: Phenolics in aquatic ecosystems: a selected review of recent literature. Mar. Environ. Res. 2: 87-181.
- COLLINS V.G., 1963: The distribution and ecology of bacteria in freshwater. Proc. Soc. Wat. Treat. Exam. 18: 40-73.
- CRAWFORD R.L. et al., 1978: Microbial catabolism of vanillate. Appl. Environ. Microbiol. 36: 539-543.
- DEV (Deutsches Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung), 1971: Weinheim.
- ENGELHARDT G. et al., 1979: Degradation of aromatic carboxylic acids by *Nocardia spec.* FEMS Microbiol. Letters 5: 245-251.
- HAIDER K., 1965: Untersuchungen über den mikrobiellen Abbau von Lignin. Zbl. Bakt. Abt. I 198: 308-316.
- HIGGINS B., 1975: The chemistry and microbiology of pollution. London/New York.
- KÖHLER H., KUNZE C., 1979: Differenzierte quantitative Erfassung der Nettoammonifikation durch Pilze und Bakterien in Böden unter verschiedenen Pflanzengesellschaften. Z. Pflanzenern. Bodenkd. 142: 387-398.
- LIEBMANN H., 1960: Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie. Bd. 2, München.
- MERCK E.: Die Untersuchung von Wasser. 7. Aufl. Darmstadt.
- MÜLLER H., KUNZE C., 1978: Abbau von p-Hydroxybenzoesäure in Wasserproben in Abhängigkeit vom N- und P-Angebot. Angew. Bot. 52: 277-281.
- MÜLLER H. et al., 1980: Chemische und biologische Analysen der Wieseck. In: Orientierende ökologische Daten zur Landschaftsplanung. Gießen.
- NEHEZ Z.M. et al., 1977: Some data on the decomposition of Dinitro-o-cresol by microorganisms. Acta Phytopath. Ac. Sc. Hung. 12: 73-79.

- RAO B., BHAT J.V., 1971: Characteristics of yeasts isolated from phenol- and catechol-adapted sludges. *Antonie van Leeuwenhoek* 37: 303-312.
- REICHARDT W., SIMON M., 1972: Die Mettma - ein Gebirgsbach als Brauereivorfluter. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 42: 125-138.
- SCHLEGEL H., 1974: *Allgemeine Mikrobiologie*. 3. Aufl. Stuttgart.
- STANIER R.Y., 1966: The aerobic pseudomonas: a taxonomic studie. *J. gen. Microbiol.* 43: 159-271.
- WEIL D., 1974: Phenole im Wasser und ihre Bestimmung. *Hydrogeol. Mitt.* 1: 83-95.

Adresse

Dipl.-Biol. Hubert Müller
Prof. Dr. Christian Kunze
Institut für Pflanzenökologie
Heinrich-Buff-Ring 38
D-6300 Gießen

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1981

Band/Volume: [9_1981](#)

Autor(en)/Author(s): Kunze Christian, Müller Hubert

Artikel/Article: [Die mikrobielle Aktivität in einem Fließgewässer 79-86](#)