

Über die metabolische Aktivität heterotropher Bakterien im Wassermilieu

B. TRŽILOVÁ, L. MIKLOŠOVIČOVÁ

Die heterotrophen Bakterien stellen bei der Transformation organischer Materie im Wassermilieu eine Gruppe aktiver Mikroorganismen dar. Ihrer Anwesenheit und Anzahl im Wasser wurde bisher bedeutende Aufmerksamkeit gewidmet, hingegen befassen sich nur wenige Studien mit ihrer Lebensfunktion. Daher richteten wir unsere Aufmerksamkeit auf die Bestimmung der metabolischen Aktivität der heterotrophen Bakterien und deren sporulierenden Anteil die bei zwei Temperaturen kultiviert wurden. Die erzielten Erkenntnisse wollen wir für die gründliche Erkennung und eventuelle Lenkung des im Wasser verlaufenden Selbstreinigungsprozesses nützen.

Material und Methodik

1. Die Isolierung heterotropher Bakterien und deren sporulierender Anteil

Die Wasserproben wurden stets aus einem Profil des mittleren Abschnittes des Donaustromes (Str. km 1868) in sterilen 500 ml Glasschliff-Flaschen entnommen und nach der Koch'schen Methode an die Oberfläche des Fleischpeptonagar-Nährbodens (DAUBNER 1972) geimpft und bei 20°C/72 Stunden sowie bei 37°C/48 Stunden kultiviert. Bei der Isolierung sporulierender Bakterien wurde die Wasserprobe auf Fleischpeptonagar-Nährboden vorgeimpft und auf 80°C/20 Min. mittels eines Wasserbades erhitzt. Die Kultivierung verlief wie bei den heterotrophen Bakterien.

2. Herstellung bakterieller Suspensionen zur Untersuchung der metabolischen Aktivität

Die auf Fleischpeptonagar gezüchteten Kolonien wurden mit einer gepufferten Waschlösung TRIS (0,1 M, pH 7,2) von der Oberfläche des Nährbodens abgespült. Die auf diese Weise erhaltene Suspension wurde 15 Minuten bei 3 000 G zentrifugiert. Das Sediment wurde erneut in der Pufferlösung TRIS resuspendiert und die optische Dichte der Suspension

spektrometrisch bei der Wellenlänge 575 nm gemessen. Diese bakterielle Suspension diente zur Beobachtung der metabolischen Aktivität.

3. Bestimmung der metabolischen Aktivität

Die Respirationsaktivität wurde im Warburgschen Gerät mit Barcroft'schen Manometern und Standardgefäßen mit Seitenarm und Absorptionskelch bestimmt (für CO_2). Als Substrat wurden Arabinose, Glukose, Zellobiose, Saccharose, Serin, Asparaginsäure, Lysin, Brenztraubensäure und Bernsteinsäure verwendet. Der Gesamtinhalt des Gemisches war 3,2 ml, die Temperatur des Wasserbades 37°C , resp. 20°C , die Zahl der Schwingungen 120/Minute, die Schwingungsamplitude 2 cm. In regelmäßigen Zeitintervallen wurden die Veränderungen des Druckes am Manometer abgelesen und aufgezeichnet. Die Dauer der Messungen betrug 2 Stunden.

4. Bestimmung der Eiweißstoffe

Zur Bestimmung der Konzentration von Eiweißstoffen in den Suspensionen wurde die Methode nach LOWRY et al. (1951) verwendet. Die Erstellung der Kalibrationskurve erfolgte unter Verwendung von Rindalbumin als Standard.

Ergebnisse und Diskussion

Experimentell wurde festgestellt, daß heterotrophe Bakterien, bei 37°C kultiviert, alle verwendeten Substrate mit Ausnahme der Arabinose utilisierten (Tab. 1). Aus der Gruppe der Saccharide (Abb. 1) wurde die größte

Tabelle 1

Metabolische Aktivität der heterotrophen Bakterien und deren sporulierendem Anteil gemessen im Zeitraum von 120 Minuten (in $\mu\text{l O}_2/\text{mg N}$)

Substrat	Heterotrophe Bakterien		Sporulierende Bakterien	
	$37^\circ\text{C}/48\text{ St}$	$22^\circ\text{C}/72\text{ St}$	$37^\circ\text{C}/48\text{ St}$	$20^\circ\text{C}/72\text{ St}$
Arabinose	—	24	—	—
Xylose	28	11	—	—
Glukose	106	68	66	48
Zellobiose	36	21	19	—
Saccharose	49	42	—	—
Serin	140	108	40	36
Asparaginsäure	97	60	12	49
Lysin	—	33	—	21
Brenztraubensäure	80	115	—	30
Bernsteinsäure	64	28	—	—

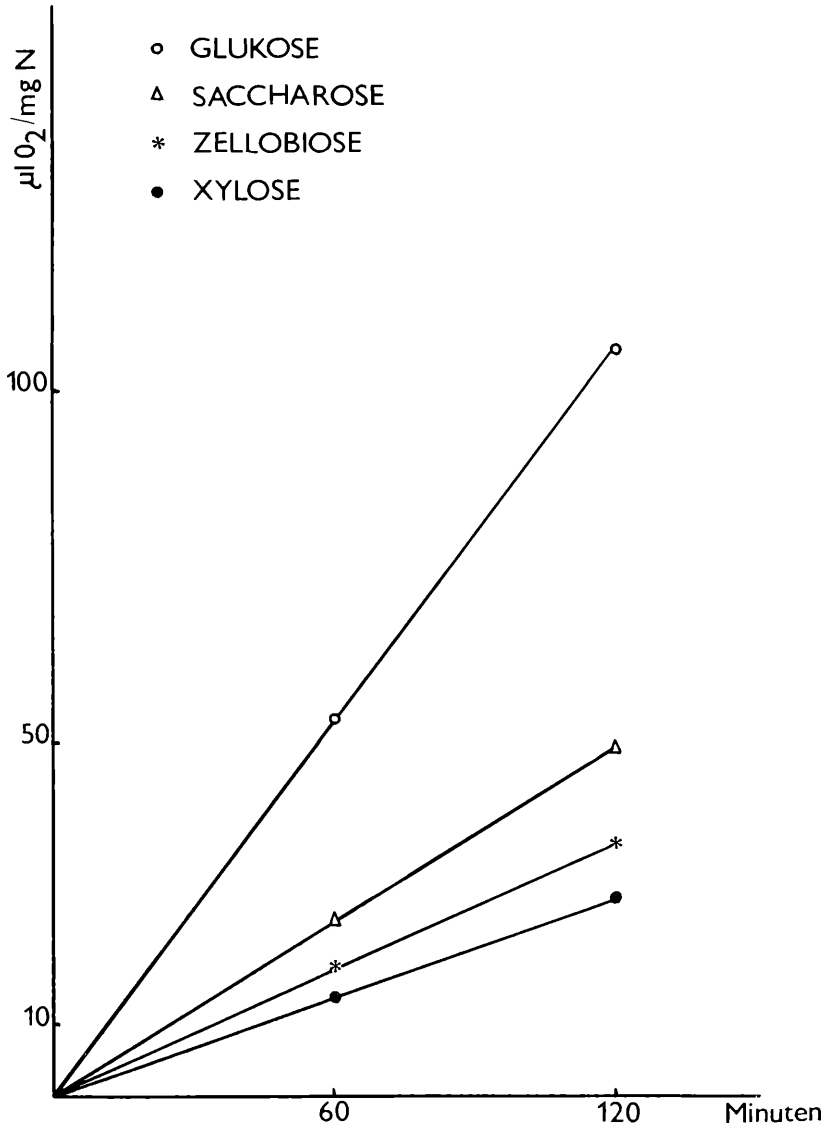


Abbildung 1

Werte der metabolischen Aktivität heterotropher Bakterien (37° C/48 St)
Substrat: verschiedene Kohlenhydrate

metabolische Aktivität bei der Utilisierung der Glukose beobachtet, die eine prinzipielle Quelle der Kohlenstoffe für die Bakterien bei der Kultivierung ist. Der Sauerstoffverbrauch bei der Anwendung dieses Substrates war $106 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$ (Abb. 1). Als weiteres Substrat fand die Saccharose, die im untersuchten Biotop zur Zeit der Zuckerrübenkampagne in größeren Konzentrationen auftreten kann (begleitet von Eiweißstoffen wie Betain u. a.) Verwendung. Die Saccharose wurde hauptsächlich von *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, phytopathogenen Arten der Gattung *Pseudomonas*, *Azobacter*, *Chroococcus* u. a. genutzt. Der Sauerstoffbedarf bei der Utilisierung der Saccharose war $49 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$. Ein um etwas geringerer Sauerstoffverbrauch ($36 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$) wurde bei der Zellobiose registriert. Dieses Saccharid wird durch eine Reihe zellulolytischer Bakterien gespalten (*Micromonospora*, *Streptomyces* u. a.). Als am wenigsten genutztes Substrat zeigten sich die Pentosen. Bei der Xylose wurden Werte des Sauerstoffverbrauches mit $28 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$ gemessen, wogegen die Arabinose für diese Gruppe von Bakterien überhaupt nicht nutzbar war. Die Pentosen sind in der Natur an pflanzliches Material gebunden und werden durch Hydrolyse komplizierter Verbindungen, wie Gummi, Hemizellulose und Nukleinsäuren freigesetzt. Nach BONNER (1950) ist die Wassermikroflora zur direkten Utilisierung dieses Substrates nicht befähigt, was auch aus unseren Ergebnissen ersichtlich ist. Ähnlich untersuchten STRZELCZYK und KAMY-SZEK (1971) die Utilisierung der Ribose. Die gemessenen Werte waren nicht höher als $20 \mu\text{l O}_2$.

Das relativ am leichtesten metabolisierbare Substrat für heterotrophe Bakterien, die bei 37°C wachsen, sind Aminosäuren (Abb. 2). Das Lysin, welches durch die untersuchten Bakterien nur schwach nutzbar war, bildet jedoch eine Ausnahme. Bei Serin wurde die höchste Aktivität für alle der 10 untersuchten Substrate gemessen und zwar $140 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$, bei Asparaginsäure $97 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$. Diese Werte betonen gleichzeitig die Bedeutung der Anwesenheit von Aminosäuren im Wasser, die für Bakterien eine Quelle des Stickstoffes sind. Ähnliche Ergebnisse erzielten STRZELCZYK et al. (1974), die feststellten, daß die Aminosäuren ein wichtiges Substrat für Planktonbakterien sind. Aus der Reihe der Wasserbakterien beteiligen sich an der Zersetzung der Aminosäuren namentlich Vertreter der *Pseudomonadales* und *Eubacterales*.

Bei den untersuchten organischen Säuren (Abb. 2) wurde während der Utilisierung von Brenztraubensäure ein Verbrauch von $80 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$ und bei der Bernsteinsäure $64 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$ gemessen. Ihre Oxidation verläuft im Zyklus der Trikarbonsäuren und bietet den Bakterien Energie und Oxidie-

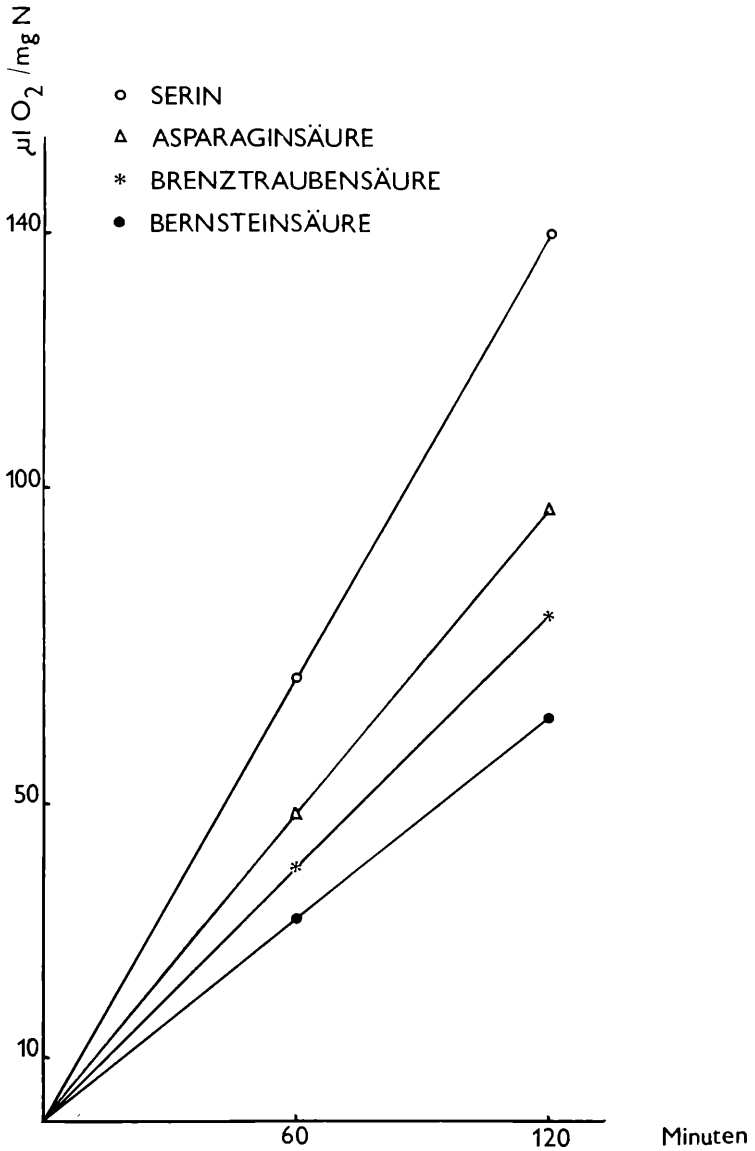


Abbildung 2

Werte der metabolischen Aktivität heterotropher Bakterien (37° C/48 St)
Substrat: verschiedene Amino- und organische Säuren

zung der reduzierten Pyridinnukleotiden durch den Mechanismus des Elektrontransfers im Cytochromsystem der Enzyme.

Die metabolische Aktivität der heterotrophen Bakterien an Substraten mit Fumarat, Propionat und Brenztraubensäure wurde von den polnischen Wissenschaftern STRZELCZYK und KAMYSZEK (1971) bei pigmentierten Kolonien aus zwei Seen — oligotroph und eutroph — untersucht. Sie beobachteten den größten Sauerstoffverbrauch bei Brenztraubensäure ($200 \mu\text{l O}_2$), ferner bei Fumarat $170 \mu\text{l O}_2$ und Propionat ($100 \mu\text{l O}_2$). Im eutrophen Wasser, wie es auch die Donau führt, wurde von uns übereinstimmend mit ihren Ergebnissen der höchste Wert für Sauerstoff bei der Utilisierung der Brenztraubensäure gemessen.

Die heterotrophen Bakterien, bei $20^\circ\text{C}/72$ Stunden kultiviert, utilisierten alle verwendeten Substrate (Tab. 1). Deutlich machte sich der Temperaturfaktor im Sinne des Van't Hoffschen Gesetzes bemerkbar. Zum Unterschied von Organismen, die bei 37°C kultiviert wurden, war ein Absinken der Werte bei den gemessenen metabolischen Aktivitäten deutlich. Die Verminderung der enzymatischen Aktivität bei heterotrophen Bakterien durch den Einfluß der Temperatur führt auch RHEINHEIMER (1971) an.

Ähnlich, wie bei der Temperatur von 37°C , war das am besten utillierte Substrat von den Sacchariden (Abb. 3) die Glukose mit Sauerstoffbedarf $68 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$. Es ist dies um nahezu die Hälfte weniger, als bei Bakterien, die bei 37°C kultiviert wurden. Ein geringerer Sauerstoffverbrauch war bei der Utilisierung der Saccharose ($42 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$) festzustellen. Eine ähnliche geringe Aktivität wurde auch bei Anwendung der Arabinose, Zellobiose und Xylose $24,21$ resp. $11 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$ beobachtet. Aus den Aminosäuren (Abb. 4) utilisierten heterotrophe Bakterien, die bei 20°C wuchsen, am besten Serin ($108 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$) und Asparaginsäure ($60 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$). Zum Unterschied von Bakterien, bei 37°C kultiviert, weisen diese Bakterien (20°C) eine metabolische Aktivität auch für das Substrat Lysin auf, wenn auch auf geringer Stufe ($33 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$). Unterschiedlich war die metabolische Aktivität bei der Anwendung organischer Säuren (Abb. 4), wogegen bei der Utilisierung der Brenztraubensäure relativ hohe Werte gemessen wurden ($115 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$), bei Bernsteinsäure jedoch nur $28 \mu\text{l O}_2/\text{mg N}$.

Sporulierende heterotrophe Bakterien treten im untersuchten Biotop in bedeutend kleinerer Zahl auf. Ihre Anwesenheit im Oberflächenwasser hängt von der Menge schwer zersetzbarer organischer Stoffe ab (KUSNEZOW 1959, DAUBNER 1972), wodurch diese Bakterien Indikatoren der trophischen Verhältnisse im Oberflächenwasser werden. Im Donauwasser, in welchem sich genügend leicht utilisierbarer organischer Stoffe befinden, treten

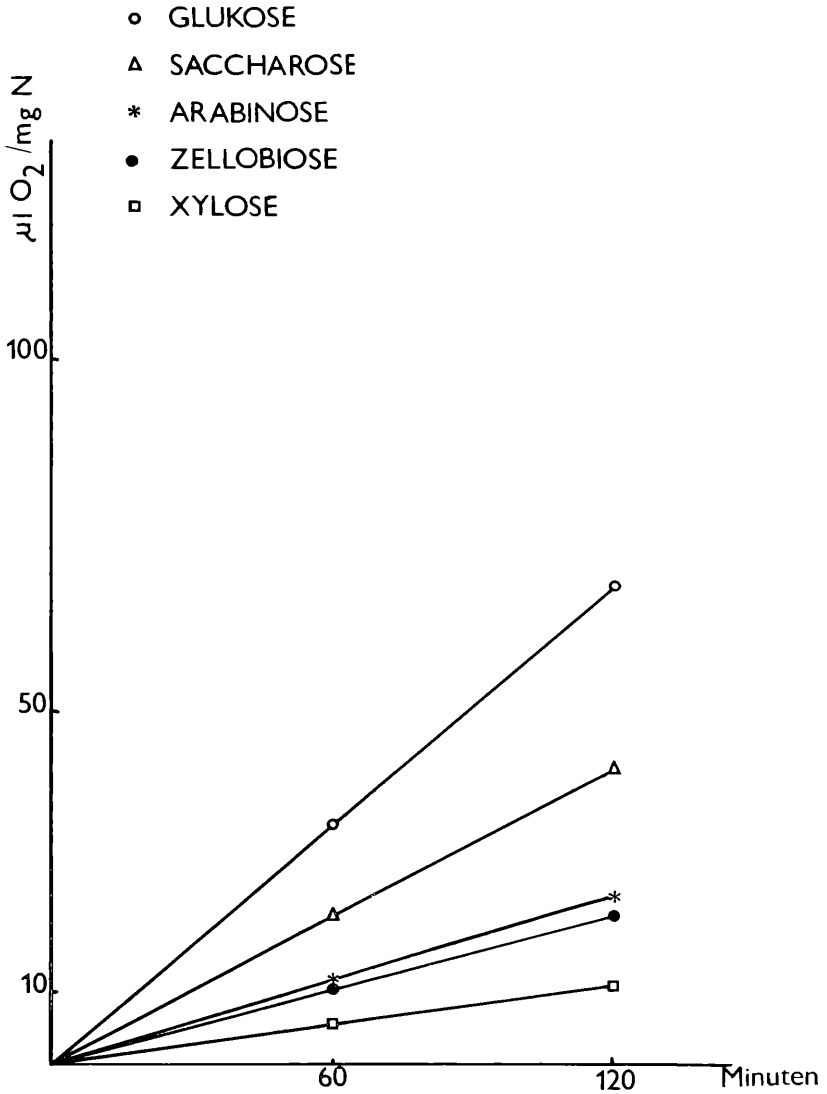


Abbildung 3

Werte der metabolischen Aktivität heterotropher Bakterien (20° C/72 St)
Substrat: verschiedene Kohlenhydrate

nur 2,20% sporulierender Formen auf (MUCHA, DAUBNER 1965, TRŽILOVÁ 1974). Im untersuchten Biotop wurde von uns bei den sporulierenden Bakterien (37°C) an den gewählten Substraten ein relativ geringer Sauerstoffverbrauch gemessen (Tab. 1). Von den Sacchariden utlizierten diese Mikroorganismen nur Glukose und Zellobiose (66, resp. 19 µl O₂/mg N). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die bei der Untersuchung der hetrotrophen Bakterien, — bei 37°C kultiviert — erzielt wurden, betrug unter Anwendung der Aminosäuren der höchste Wert des Sauerstoffverbrauches bei Serin 40 µ O₂/mg N, wogegen bei der Asparaginsäure verglichen mit heterotrophen Bakterien, bei 37°C kultiviert (12 µl O₂/mg N), der Wert etwa sechsmal geringer war. Die metabolische Aktivität auf dem Substrat Lysin war gleich Null, was mit jenen Ergebnissen übereinstimmt, die bei der Untersuchung der Respiration an heterotrophen Bakterien, bei 37°C kultiviert, erzielt wurden.

Zum Unterschied von den heterotrophen Bakterien, bei 20°C kultiviert, die alle eingesetzten Substrate sehr aktiv utlizierten, konnte der sporulierende Teil dieser Bakterien (20°) nur einige der untersuchten Substrate utlizieren (Tab. 1). Die Pentosen Arabinose und Xylose, wie auch die Disaccharide Saccharose und Zellobiose wurden von diesem Anteil der Bakterien nicht utliziert. Ein Verbrauch von Sauerstoff wurde nur bei der Glukose beobachtet, er betrug 48 µl O₂/mg N.

Bedeutsam erwiesen sich jedoch für diese Bakterien die Aminosäuren. Während heterotrophe Bakterien als Gesamtheit, bei 37°C und 20°C, und ihr sporulierender Anteil bei 37°C kultiviert am aktivsten Serin utlizierten, erwies sich für sporulierende Bakterien, bei 20°C kultiviert, als zugänglichstes Substrat die Asparaginsäure. Der Sauerstoffverbrauch war 49 µl O₂/mg N. Es ist dies ein dreimal höherer Wert als wir bei dem sporulierenden Anteil der heterotrophen Bakterien, bei 37°C kultiviert, beobachten konnten. Bei weiteren Aminosäuren, Serin und Lysin war der Verbrauch an Sauerstoff 36, resp. 21 µl O₂/mg N. Aus der untersuchten Gruppe von Bakterien hatte nur der sporulierende Anteil, der bei 20°C wächst, Fähigkeit zur Utilisation von Lysin. Ein wichtiger Faktor ist wahrscheinlich die Temperatur des Milieus. Bei der Brenztraubensäure war der gemessene Wert 30 µl O₂/mg N, wogegen sporulierende Bakterien bei 37°C und 20°C kultiviert, Bernsteinsäure nicht utlizierten.

Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, daß die heterotrophen Bakterien und deren sporulierender Teil (bei 20°C und 37°C kultiviert) unterschiedliche metabolische Aktivität und Fähigkeit zur Utlizierung der verwendeten organischen Nährsubstanzen haben.

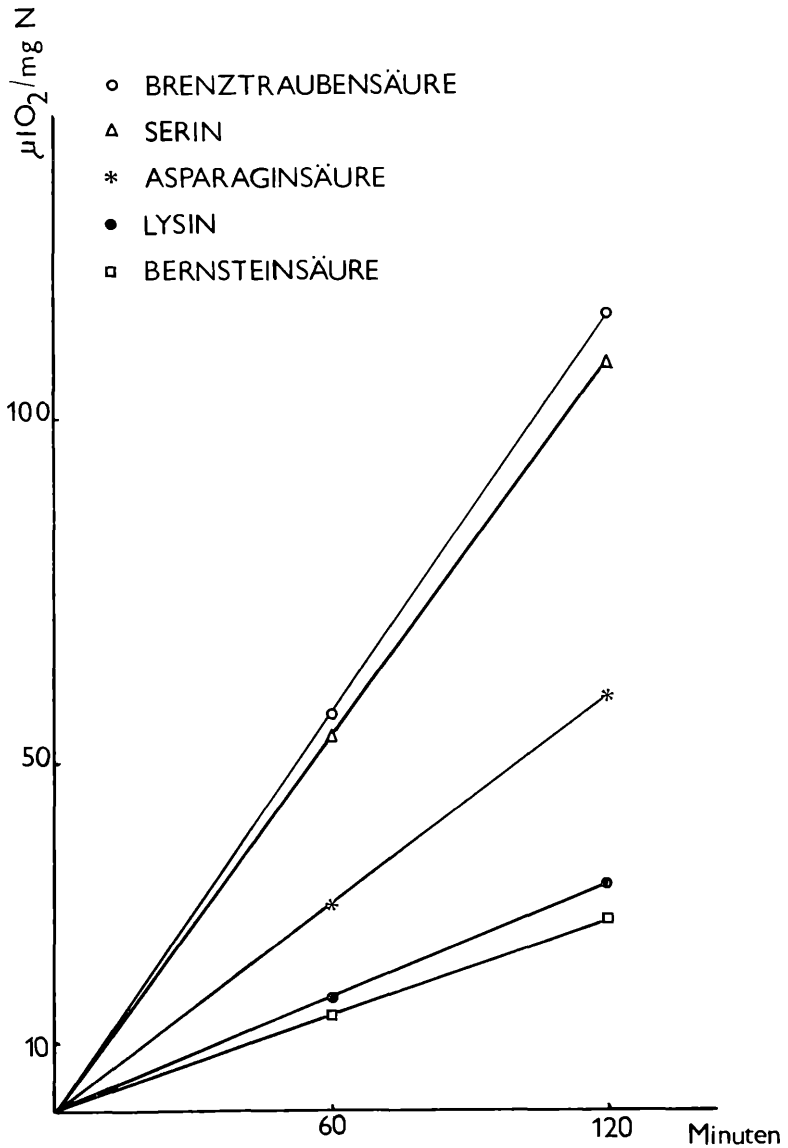


Abbildung 4

Werte der metabolischen Aktivität heterotropher Bakterien (20° C/72 St)
Substrat: verschiedene Amino- und organische Säuren

Zusammenfassung

Es wurde die metabolische Aktivität (Verbrauch von O_2 im Warburggerät) bei heterotrophen Bakterien und deren sporulierendem Anteil, bei $20^\circ C$ und $37^\circ C$ kultiviert, an 10 Substraten untersucht, die potentiell im untersuchten Oberflächenwasser (Donau, Str. km 1868) vorkommen. Die höchsten Werte der metabolischen Aktivität der untersuchten Bakterien wurden bei Aminosäuren festgestellt, namentlich bei Serin und Asparaginsäure. Bei den verwendeten Sacchariden beobachteten wir den höchsten Sauerstoffverbrauch bei der Utilisierung der Glukose. Ferner stellten wir fest, daß die Wasserflora nicht zur direkten Utilisierung der Pentosen geeignet ist, was sich auch in den Werten ihrer Utilisierung widerspiegelte. Der Einfluß Temperatur auf die Intensität und das Spektrum der metabolischen Aktivität konnte bestätigt werden.

Literatur

- BONNER, J. (1950): Plant Biochemistry — Acad. Press Inc., New York.
- DAUBNER, I. (1972): Mikrobiologie des Wasser. — Akademie Verlag, Berlin.
- KUSNEZOW, S. I. (1959): Die Rolle der Mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen. — VEB Dtsch. Verlag d. Wiss, Berlin.
- LOWRY, H. O. et al (1951): Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. — J. Biol. Chem. 193, 265—275.
- MUCHA, V., DAUBNER, I. (1965): Hydromikrobiologie im Rahmen der limnologischen Erforschung der Donau in der ČSSR. — Arch. Hydrobiol. (Suppl.) 30, 1—23.
- RHEINHEIMER, G. (1971): Mikrobiologie der Gewässer — Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- STRZELCZYK, E., KAMYSZEK, Z. (1971): Preliminary Studies on Metabolic Activity of Bacteria Isolated from Water of Two Different Lakes. — Zesz. Nauk. UMK 6, 45—56.
- STRZELCZYK, E. et al (1974): Studies on Metabolic Activity of Benthic Bacteria Isolated from Three Lakes. — Acta Microbiol. Polon. Ser. B., 6, 125—132.
- TRŽILOVÁ, B. et al (1974): Erforschung der Indikatoren der Verunreinigung des Donauwassers unter Berücksichtigung des Gehaltes an Fäkalbakterien. Forschungsbericht.

Anschrift der Verfasser: Dr. Božena TRŽILOVÁ, Dr. Lubica MIKLOŠOVIČOVÁ, Ústav experimentálnej biológie a ekológie SAV, ul. Obrancov mieru 3, ČSSR-885 34, Bratislava.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Wasser und Abwasser](#)

Jahr/Year: 1976-1977

Band/Volume: [1976-1977](#)

Autor(en)/Author(s): Trzilová B., Miklošovicová L.

Artikel/Article: [Über die metabolische Aktivität heterotropher Bakterien im Wassermilieu 335-344](#)