

Aus der Bundesanstalt für Wassergüte, Wien-Kaisermühlen
Herrn Univ.-Prof. Tzt. Dr. W. KOHL zu seinem sechzigsten Geburtstag
gewidmet

**UNTERSUCHUNG DER ZÄHLBAREN UND DER ZÜCHTBAREN BAKTERIEN IN
EINEM LAUFSTAUÖKOSYSTEM (DONAUSTAU ALTENWÖRTH)**

G. KASIMIR, G. KAVKA

Einleitung:

Zur Einschätzung der bakteriologischen Wasserbeschaffenheit wird außer den Fäkalindikatoren (KAVKA, 1986) meist die Zahl der züchtbaren Bakterien (Koloniezahl der saprophytischen Bakterien) als Indikator für die Verunreinigung mit leicht abbaubaren organischen Substanzen herangezogen (MEVIUS, 1952/53; BAHR, 1953; LIEBMANN, 1959; HÖLL, 1979; WACHS, 1969; KOHL, 1975; KAVKA, 1987). Der Trend zu einer ökosystemorientierten Mikrobiologie neben der klassischen, hygienisch orientierten Mikrobiologie und die Erkenntnis, daß durch Plattenzuchtverfahren immer nur ein Bruchteil der natürlichen Bakterienflora eines Gewässers erfaßt werden kann (RAZUMOV, 1932; zit. n. REICHARDT, 1978), führte zur Entwicklung von Verfahren, um die Gesamtbakterienzahl im Wasser durch direkte Auszählung bestimmen zu können. Meist wurden dazu Proben mit Diachromen angefärbt, anschließend filtriert und dann bei starker Vergrößerung ausgezählt. Seit ihrer Einführung in den 50er Jahren haben sich zunehmend Fluoreszenzverfahren durchgesetzt. Insbesondere das Fluorochrom Acridinorange (JANNASCH, 1954; DEUFEL, 1959) wird allgemein verwendet. Aber erst die Einführung der effizienten Epifluoreszenzverfahren in Verbindung mit Poly-

carbonatfiltern führte dazu, daß solche Zählungen sich auch im Routinebetrieb durchzusetzen begannen (ZIMMERMANN & MEYER-REIL, 1974; HOBBIE et al., 1977; DALEY, 1979; HAGSTRÖM et al., 1979). Diesem Trend folgend, ist seit 1988 die Bestimmung der Gesamtbakterienzahl mittels Epifluoreszenzverfahren für die Untersuchung von Gewässern auch in den Richtlinien der ÖNORM M 6231 (1988) verankert. Von manchen Autoren (KORSCH, 1957, zit. n. MUCHA, 1967) wurde der Quotient aus zählbaren und züchtbaren Keimen als Bewertungskriterium vorgeschlagen, da beobachtet wurde, daß dieser sich mit zunehmender Verunreinigung verkleinert.

In der Literatur zur Methodik der Epifluoreszenz-Bestimmung werden zum Teil widersprüchliche Angaben bezüglich der zu verwendenden Membranfilter und der Fluorochrome gemacht. Beispielsweise wird von manchen Autoren empfohlen, trockene Filter auszuzählen, während andere (HOBBIE et al., 1977) darauf hinweisen, daß nur nasse Filter ausgezählt werden sollen. Schon JONES (1974) wies auf die Bedeutung kleiner methodischer Details hin und erhielt bei einer vergleichenden Untersuchung ein und derselben Wasserprobe Unterschiede, die eine Zehnerpotenz überschritten. DALEY (1979) faßt diesbezüglich Literatur zusammen und fordert eine Standardisierung der Methode, wobei er sich für Acridinorange als Fluorochrom ausspricht.

Deshalb wurden im Rahmen der "Ökosystemstudie Donaustau Altenwörth" (UNSECO-MAB 5/9) Untersuchungen durchgeführt, um die Methodik hinsichtlich des untersuchten Gewässers und der zur Verfügung stehenden Materialien und Ausrüstung zu optimieren. Zusätzlich sollte überprüft werden, inwieweit der Quotient aus zählbaren und züchtbaren Keimen eine Aussage über den trophischen Zustand des Gewässers erlaubt,

bzw. ob im Vergleich zu den Einzelparametern zusätzliche Informationen gewonnen werden. Obwohl solche Untersuchungen aus Seen und Fließgewässern vorliegen (vgl. Tab. 5), wurde unseres Wissens vor KAISER (1987) noch kein Laufstauökosystem diesbezüglich untersucht.

190 Wasserproben aus dem Zeitraum zwischen Februar 1987 und Februar 1988 wurden auf folgende Parameter hin untersucht: Die Zahl der mittels Epifluoreszenzverfahren zählbaren Bakterien, die Koloniezahl der saprophytischen Keime sowie die Koloniezahl der sporenbildenden Keime auf Trypticase Soy Agar (22 °C/48h).

Beschreibung des untersuchten Donaustauraumes

Der untersuchte Donaustauraum liegt im österreichischen Flußabschnitt zwischen den Stromkilometern 2014 und 1980,4 (Wehranlage).

Untersucht wurden die Probenstelle Str.km 2000, Mitte, sowie die Profile Str.km 1994, Str.km 1984 und Str.km 1980,9, jeweils rechts, Mitte und links.

Für weitere Angaben zur Limnologie des Stauraumes vgl. HERZIG (1987) und HERZIG et al. (1987).

Methodik

I. Probenentnahme

Die Entnahme der Wasserproben erfolgte mittels eines 50 l-Schindler-Patalas-Schöpfers aus dem obersten Meter (integrierte Probe). Die für die Direktzählung bestimmten Proben wurden sofort fixiert (1 ml Formol zu 20 ml Probe), die übrigen Proben wurden möglichst rasch gekühlt transportiert und innerhalb von 4 bis 8 h aufgearbeitet.

II. Gesamtbakterienzahl

Um für den Routinebetrieb eine an die untersuchten Gewässer und die vorhandenen Materialien angepaßte Methode zu standardisieren, wurden Wasserproben mittels verschiedener Varianten der gängigen Epifluoreszenzverfahren untersucht.

Die Aufarbeitung folgte im wesentlichen den Angaben von HOBBIE et al. (1977), wobei folgende Materialien verglichen wurden:

- a) Filtertypen: Polycarbonatfilter (Nuclepore, 25 mm Durchmesser, Porenweite 0,2 μm schwarz sowie farblos), Zellulosenitratfilter (Thomapor, Schleicher & Schüll, Sartorius, Oxoid)
- b) Fluorochrome: Acridinorange (Merck 1333, Merck Certistain 15931, Fluka, Aldrich, Reanal), Diamidinophenylindol; DAPI (Fluka 32670)
- c) Einbettungsmittel: Paraffin (Merck 7162, Fluka 76235), diverse Immersionsöle (siehe d)
- d) Immersionsflüssigkeiten: Glycerin fluoreszenzfrei (Merck 4095, Cargille B, Reichert CERHO, Leitz, Fluka 56821)
- e) Lampen: OSRAM HBO 50 W, 50 W Halogenlampe.

Folgende Vorgangsweise wurde angewendet: Farblösungen, Netzmittel und steriles Aqua dest. wurden wiederholt durch 0,1 μm Filter filtriert. Die Lösungen wurden mit Formol konserviert und im Kühlschrank aufbewahrt.

Folgende Konzentrationen der Farblösungen wurden verwendet: Acridinorange: Endkonzentration 0,1 mg/ml; Diamidinophenylindol: Endkonzentration in der Probe 0,1 $\mu\text{g/ml}$. Nach Zugabe der Farblösung wurde kurz ge-

schüttelt, anschließend (nach 1 bis 5 Minuten) filtriert. Kontrollen wurden jeweils angesetzt, deren Zählwerte dann von denjenigen der Proben abgezogen wurden, falls sie nicht Null ergaben. Bei den untersuchten Donauproben mußten zwischen 0,5 ml und 4 ml Probenwasser (mit partikelfreiem A. dest. auf 6 ml aufgefüllt) filtriert werden. Abwasserproben mußten bis zu 1 : 1000 verdünnt werden.

Auf die 25 mm-Filtrationsapparatur (Schleicher & Schüll GV 025/0) wurden zuerst ohne Vakuum etwa 0,3 ml 0,4 ml Netzmittel (1 : 200) (HOBBIE et al., 1977) aufgebracht, darauf ein Zellulose-Filter (Porenweite 0,45 - 0,8 μ m) gelegt und darauf ca. 0,2 ml der Netzmittellösung gegeben. Auf diese wurde das Polycarbonatfilter (mit der glänzenden Seite nach oben weisend) luftblasenfrei aufgelegt. (Bei Verwendung von schwarzen Zellulosefiltern wurden weder Netzmittel noch Unterfilter verwendet.) Nach Anlegen des Vakuums wurde die Probe filtriert, die Eprouvette zweimal mit 1 ml partikelfreiem destilliertem Wasser nachgespült, ebenso wurde nach dem Filtrieren der Trichter nachgespült. Die als Unterlage benützten Zellulosefilter konnten etwa dreimal wiederverwendet werden, bei längerer Benützung verstopften sie und führten zu unhomogener Filtration und zu langen Filtrationszeiten. Die Filter wurden nummeriert und gekühlt im Dunkeln bis zu einer Woche aufbewahrt. Um die eventuelle Erfassung autofluoreszenter Partikel zu vermeiden, wurden vereinzelt ungefärbte Proben filtriert. Es konnten dabei jedoch nie autofluoreszente Partikel von Bakteriengröße gefunden werden.

Zum Auszählen wurde nach Entfernung der Randzone ein Filterstück in möglichst wenig fluoreszenzfreiem Paraffin oder Immersionsöl eingebettet, ein Deckglas aufgelegt, angedrückt und mit dem Immersionsobjektiv ausgezählt. Mit Hilfe des Netzokulars wurden so viele Felder ausgezählt, bis mindestens 400 Keime ausgezählt waren. Gezählt wurden alle (bei dieser Vorgangsweise orange) fluoreszierenden bakterienförmigen Gebilde. Die Zahl der an Partikel angehefteten Bakterien wurde in der Annahme einer gleichmäßigen Besiedlung der Partikel verdoppelt. Befanden sich Bakterien genau auf dem Rand des Netzfeldes, so wurde nur jedes zweite Bakterium davon mitgezählt.

Folgende mikroskopische Ausrüstung wurde verwendet: Aristoplan (LEITZ), bestückt mit den Filtersätzen A und 13 sowie den Objektiven Plan-Apo 100 und Plan-Apo 65. Die Lichtquelle war ein Hg-Brenner HBO/50 W (OSRAM), es wurde jedoch auch die Halogenlampe getestet.

Das Foto 1 zeigt Bakterien aus der Donau im Stauraum Altenwörth, das Foto 2 aus dem abwasserbelasteten Traisen-Sammelkanal. Im Abwasser ist der Anteil an relativ großen stäbchenförmigen Mikroorganismen deutlich größer.

Foto 1: Gesamtbakterienzahl Donau-Stauraum Altenwörth, Acridinorange, Epifluoreszenztechnik

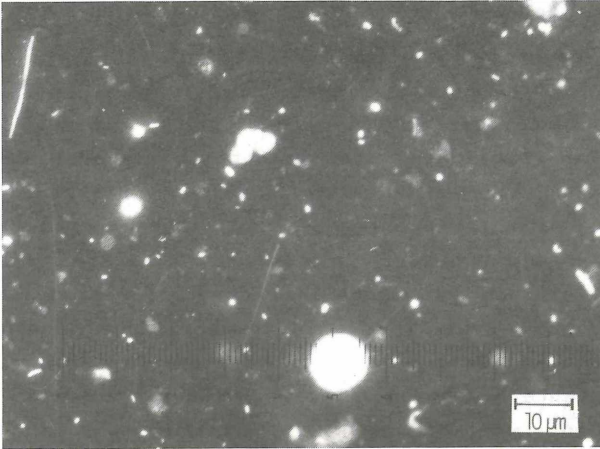
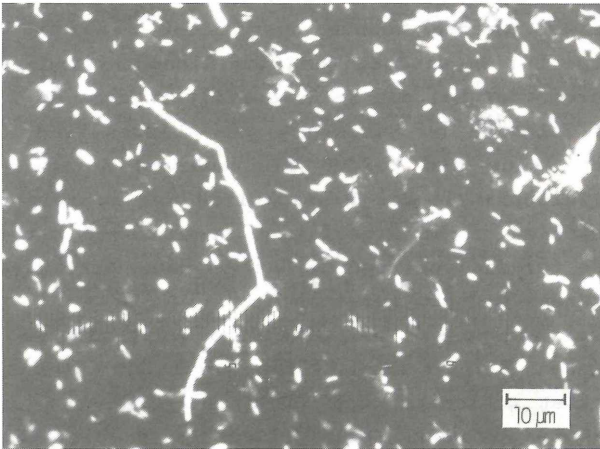


Foto 2: Gesamtbakterienzahl, Abwasser-Traisen-Sammelkanal Acridinorange, Epifluoreszenztechnik



Die Ergebnisse der Vorversuche werden im folgenden kurz zusammengefaßt:

Polycarbonatfilter sind den Zellulosefiltern weit überlegen. Die Zellulosenitrat- oder Mischesterfilter (Filter von Sartorius, Schleicher & Schüll, Oxoid und Thomapor wurden verglichen) sind wesentlich schwerer auszuzählen, da die Bakterien durch die schwammige Struktur der Filter nicht in einer Schärfeebene zu liegen kommen. Zudem sind Zellformen schwerer zu erkennen, kleinste Zellen werden z. T. in die Schwammstruktur der Filter eingesaugt, große Stäbchen können in die Filteroberfläche hineinragen und werden als Coccen gezählt. Da diese Filter auch nur dann konstante Ergebnisse liefern, wenn sie sofort naß gezählt werden, während die Polycarbonatfilter auch trocken gezählt werden können, sind letztere vor allem bei großen Probenzahlen den Zellulose-Filtern überlegen. Ein weiterer Vorteil der Polycarbonatfilter besteht darin, daß zumindest bei Verwendung von Acridinorange als Fluorochrom sofort erkennbar ist, ob eine homogene Filtration erreicht werden konnte oder nicht, während sich eine solche bei Verwendung von Diamidinophenylindol als Fluorochrom oder bei den Zellulosefiltern erst am Variationskoeffizienten der Zählergebnisse ablesen ließ.

Obwohl sich die beiden Fluorochrome Acridinorange und Diamidinophenylindol hinsichtlich der erzielbaren Bakterienzahlen nicht signifikant voneinander unterschieden, wurde für die vorliegende Untersuchung Acridinorange aus folgenden Gründen ausgewählt:

a) Das Fading war bei Diamidinophenylindol bei den verwendeten Filterkombinationen wesentlich schneller, der Kontrast schlechter und aus diesen Gründen eine reproduzierbare Erfassung der Zellzahlen schwieriger als mit Acridinorange.

b) Die Homogenität der Bakterienverteilung auf dem Filter konnte mit Acridinorange schon vor dem Auszählen beurteilt und inhomogene Filter verworfen werden.

c) Die Filter waren in getrocknetem Zustand länger auszählbar.

Von den verwendeten "fluoreszenzfreien" Immersionsölen konnte nur das alte Cargille-öl als Einbettungsmittel verwendet werden, die übrigen konnten wegen ihrer Eigenfluoreszenz zwar nicht als Einbettungsmittel verwendet werden, waren zum Immernieren jedoch alle gut geeignet. Auch fluoreszenzfreies Glycerin (Merck 4095) zeigte bei Verwendung als Einbettungsmittel Eigenfluoreszenz.

Als Einbettungsmittel bewährten sich Paraffin (Merck 7162 oder Fluka 76235) und Reichert-Cargille-öl (aber nur das alte: Glasflasche, Bezeichnung CERHO), eine Mischung (1:2) aus Eugenol und Zimtaldehyd (ZIMMERMANN & MEYER-REIL, 1974) zeigte Eigenfluoreszenz und löste Acridinorange aus den Zellen. Nicht verglichen werden konnte das Nikon-Immersionöl, das nach Angaben von BERGSTRÖM et al. (1986) und HERNDL (pers. Mitt.) ebenfalls gute Ergebnisse liefert.

Der Kontrast ist bei selber gefärbten Filtern etwas besser als bei schwarzen Nuclepore-Filtern, der Mehraufwand lohnt u.E. nach nur, wenn photographiert werden soll.

- Mit Acridinorange gefärbte Proben können auch unter Verwendung einer Halogenlampe ausgezählt werden, jedoch ist zu beachten, daß damit kleinste Zellen nicht oder wesentlich schlechter gesehen werden, so daß damit um 20 bis 40 % geringere Bakterienzahlen erhalten werden.

HG-Brenner ergeben gegen Ende ihrer Lebensdauer geringere Zählwerte.

Es empfiehlt sich, Rezepte nicht zu übernehmen, sondern die optimale Variante für jede Ausrüstung und Probenart neu zu erproben.

Wichtig ist vor allem, daß die Methodik der Aufarbeitung, das verwendete Material sowie die Auszählkriterien im Verlauf einer Untersuchung konsequent konstant gehalten werden, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

III. Koloniezahl der saprophytischen Bakterien

(Membranfiltertechnik, BD-Trypticase Soy Agar, 22°C/48h)

Die Koloniezahl der saprophytischen Bakterien ist definiert als Zahl der Kolonien, die sich unter standardisierten Kulturbedingungen aus einer definierten Wassermenge auf, bzw. in einem nährstoffreichen peptonhaltigen Kulturmedium entwickeln. Der Parameter wird auch als Koloniezahl, colony count, plate count, total plate count, standard count, standard plate count, heterotrophe Bakterien, zymogene Bakterien, Saprophytenzahl, saprophyte count, cold count, früher auch als Gesamtkeimzahl bezeichnet.

Auf die Verwendung des Begriffes "psychrophil" (kälte liebend) wird verzichtet, da er nicht einheitlich definiert ist.

Als Untersuchungsverfahren wurde die Membranfiltertechnik (MF-Technik) eingesetzt (THON & BELING, 1959; KOHL & ZIBUSCHKA, 1968; WACHS, 1969; DAUBNER, 1972; DEUFEL, 1972; DIN 38 411, 1983; WHO, 1984). Die Membranfiltermethode hat viele Vorteile: Es handelt sich um eine schnelle, praktikable Methode und liefert mit geringem apparativen Aufwand reproduzierbare Ergebnisse. Sie läßt sich am Standort (Feldlabor) einsetzen.

Als nährstoffreiches, peptonhaltiges Medium wurde ein standardisierter Universalnährboden (BD-Trypticase Soy Agar) verwendet. Zusammensetzung (g/l): Trypticase Pepton 15,0; Phytone Pepton 5,0; NaCl 5,0; Agar 15,0 (BECTON DICKINSON, 1980). Unter Heranziehung der MF-Technik und bei einer Inkubationszeit von zwei Tagen bei 20 ± 2 °C konnte hinsichtlich der Koloniausbeute ein nur geringer Unterschied zwischen den Medien Trypticase Soy Agar (BD), DEV-Nährgelatine Agar (MERCK), Plate count Agar (DIFCO), CPS-Medium (COLLINS, 1973) festgestellt werden.

Als Inkubationstemperatur wurden 20 ± 2 °C gewählt, einerseits um die Vergleichbarkeit zu Untersuchungen der vergangenen Jahre zu gewährleisten, andererseits um eine kurze Bebrütungsdauer zu erhalten. Zudem entspricht sie etwa der in der österreichischen Donau vorkommenden Maximaltemperatur und wird in einigen Standards empfohlen (DEV, 1971; BREITIG u. TÜMPLING, 1982; WHO, 1984). Die Bebrütungszeit von 48 h wurde verwendet, um nur die Bakterien zu erfassen, die als Indikatoren für die Verunreinigung mit leicht und rasch abbaubaren organischen Stoffen relevant sind. Es war also nicht das Ziel, eine maximale Koloniezahl, die durch verlängerte Inkubationszeit erzielt werden kann, zu erhalten. In Kombination mit der MF-Technik und dem Trypticase Soy Agar sind die Kolonien der saprophytischen Bakterien bereits nach zwei Tagen gut entwickelt. Das Gußplattenverfahren erfordert hingegen eine Mindestbebrütungszeit von drei Tagen. Die Auszählung hat bei zehnfacher Vergrößerung zu erfolgen.

IV. Koloniezahl der sporenbildenden Keime

(Membranfiltrationstechnik, Trypticase Soy Agar, 22°C/48h)

Die Aufarbeitung erfolgte, wie unter Punkt III. beschrieben, zusätzlich muß die Wasserprobe 20 Minuten lang bei 80 °C im Wasserbad vorbehandelt werden, um alle vegetativen Formen abzutöten.

Ergebnisse und Diskussion

Die Untersuchung von ca. 190 Wasserproben an zehn Entnahmetagen ergab folgende Werte für die einzelnen untersuchten Parameter: Die Gesamtbakterienzahlen schwankten zwischen 1,11 und 3,19 Mio/ml, das Mittel betrug 1,82 Mio/ml. Die Koloniezahlen lagen zwischen 450 und 21.000/ml (Mittel 3075/ml), der Razumov-Koeffizient schwankte zwischen 112 und 5667 und betrug im Mittel 1317. Das entspricht einem prozentuellen Anteil der Koloniezahl saprophytischer Bakterien an der Gesamtbakterienzahl von 0,02 bis 0,89. Vergleichsweise wurde auch der Traisen-Sammelkanal untersucht, der bei Str.km 1986,5 rechtsufrig in den Stauraum einmündet. Die entsprechenden Werte waren: GBZ: 280 Mio/ml, KZ: 7 Mio/ml Razumov-Koeffizient: 40, prozentueller Anteil der KZ an der GBZ: 2,5. Sporenbildner wurden in der Größenordnung von 12 bis 270, im Mittel von 76 Kolonien pro Milliliter nachgewiesen. Die entsprechenden Einzeldaten sind in den Tabellen 1 bis 4 aufgelistet.

Verwendet man die Streuung (Variationskoeffizient CV) der Werte pro Entnahmetag als Maß für die Homogenität bzw. Durchmischung des Stauraumes hinsichtlich eines Parameters, zeigt sich eine weitgehende Homogenität hinsichtlich der

Gesamtbakterienzahl (CV zwischen 4,8 und 28,7 %) und der Sporenbildner (CV zwischen 13,9 und 44,7 %), während sich bei der Koloniezahl der saprophytischen Bakterien der Einfluß des Traisen-Sammlers (Str.km 1986,5) und des Abflusses der Kläranlage der Stadt Krems (Str.km 1997,2, l.U.) durch Erhöhung des Variationskoeffizienten bis auf 166 bemerkbar machte. Bei den Sporenbildnern und der Gesamtbakterienzahl liegt der Variationskoeffizient innerhalb der methodischen Schwankungsbreite, die ermittelt wurde, indem an den Entnahmestellen Str.km 2000, Mitte und 1980,9, Mitte, jeweils sechs Parallelen aufgearbeitet wurden. Die größere Variabilität der Saprophyten zeigte sich außer in räumlicher auch in zeitlicher Hinsicht. Die Abbildungen 1 und 2 veranschaulichen dies am Beispiel der Proben aus der Strommitte. An einigen Entnahmetagen wurden auch Tiefenprofile der Gesamtbakterienzahlen entnommen (Daten hier nicht angeführt), die zeigten, daß sich auch keinerlei vertikale Schichtung hinsichtlich dieses Parameters feststellen ließ.

Die Abflußmenge spielt als Einflußgröße eine hervorragende Rolle und überlagert andere Faktoren. Aus organisatorischen Gründen konnten im Untersuchungszeitraum keine Hochwassersituationen hinsichtlich aller Parameter erfaßt werden. Eine signifikante positive Korrelation ($p = 0,05$) zur Abflußmenge, wie sie auch in ungestauten Fließstrecken der Donau (KASIMIR, 1987) gefunden werden konnte, zeigten die Sporenbildner (vgl. Abb. 3). Saprophytenzahlen und Gesamtbakterienzahlen zeigten bei Auswertung der hier berücksichtigten Daten keine Korrelation mit dem Abfluß. Die Gesamtbakterienzahlen wurden jedoch zusätzlich an weiteren sieben

Entnahmetagen ermittelt, wodurch auch zwei Hochwasserereignisse (Juli 1987, März 1988) erfaßt werden konnten. Werden diese Werte ebenfalls berücksichtigt, zeigt sich, daß die Gesamtbakterienzahlen bei niedriger und mittlerer Wasserführung negativ mit dem Abflußgeschehen korreliert sind, wie dies auch MUCHA (1967) und KAISER (1987) feststellen konnten, die Einbeziehung der Hochwasserereignisse diese Korrelation jedoch in eine deutliche positive Korrelation verwandelt.

Tab. 1: Donaustauraum Altenwörth, 1987 - 1988
Gesamtbakterienzahlen pro Milliliter

Str.km./Datum	26.2.	27.3.	23.4.	26.5.	29.6.	11.8.	22.9.	9.12.	12.1.	16.2.	Mittel
2000 Mi.	1380000	1960000	1800000	1330000	2250000	1860000	2280000	1860000	1750000	2100000	1857000
1994 r.U.	1770000	1840000	1110000	1810000	1950000	1700000	2550000	1860000	1900000	2500000	1899000
1994 Mi.	1280000	1780000	1170000	1800000	1840000	1580000	2680000	1600000	2300000	3190000	1922000
1994 l.U.	1450000	1950000	1380000	1790000	1850000	1650000	2930000	1810000	1440000	1700000	1795000
1984 r.U.	1760000	2060000	1440000	1900000	1900000	1680000	2350000	1740000	1760000	1600000	1810000
1984 Mi.	1770000	1950000	1310000	1450000	1860000	1720000	2230000	1790000	1660000	1280000	1702000
1984 l.U.	1700000	1870000	1300000	1680000	1680000	1600000	2830000	1410000	1870000	1400000	1740000
1980.9 r.U.	1520000		1430000	1930000	1740000	2350000		1860000	1900000	1818571	
1980.9 Mi.	1240000		1450000	1880000	1670000	2670000		1330000	1730000	1810000	1722500
1980.9 l.U.	1460000		1620000	1690000	2680000	1940000		2110000	2200000	1957143	
CV (%)	13.4	4.8	14.5	12.5	7.9	4.9	9.5	12.5	12.9	28.7	12.2

Tab. 2: Donau-Stauraum Altenwörth, 1987 - 1988
 Koloniezahlen der Saprophyten in KBE/ml

Str.-Km./Datum	26.2.	27.3.	23.4.	26.5.	29.6.	11.8.	22.9.	9.12.	12.1.1.	16.2.	Mittel
2000 Mi.	3900	7400	3000	2167	4567	1953	568	877	570	960	2596
1994 r.U.	4100	8600	3100	2000	2500	2700	450	690	570	760	2547
1994 Mi.	3900	7800	2700	2300	4400	2800	920	860	530	700	2691
1994 l.U.	6200	9200	1300	2200	2400	2000	3100	1900	4300	4800	3740
1984 r.U.	4800	8400	5700		7600	4100	21000	690	5900	1700	6654
1984 Mi.	7700	5900	1200		3400	2800	660	980	810	1600	2783
1984 l.U.	3800	4700	1600		1900	3100	580	730	1700	500	2068
1980.9 r.U.	4400	4600	1100		9600	2100	3900	2200	3200	1100	3578
1980.9 Mi.	2900	4400	2183	-	915	2417	6780	1063	2000	687	2594
1980.9 l.U.	3600	3200	1400	1900	3200	1300	520	600	960	680	1736
CV (%)	31.2	32.9	60.4	7.6	66.1	30.3	165.8	51.5	90	94.7	63

Tab.3: Donau-Stauraum Altenwörth, 1987 - 1988
Koloniezahlen der Sporenbildner in KBE/ml

Str.km./Datum	26.2.	27.3.	23.4.	26.5.	29.6.	11.8.	22.9.	9.12.	12.1.	16.2.	Mittel
2000 Mi.	130	150	73	113	141	100	25	42	35		90
1994 r.U.	80	270	53	82	130	140	18	35	16		92
1994 Mi.	82	170	54	95	100	82	34	34	24		75
1994 l.U.	82	120	55	84	140	96	29	17	26		72
1984 r.U.	130	92	53		120	94	18	39	32		72
1984 Mi.	80	98	47		120	230	22	51	32		85
1984 l.U.	12	130	61		100	120	22	26	28		62
1980.9 r.U.	120	88	57	72	90	100	24	34	26		68
1980.9 Mi.	90	94	56		150	113	18	35	33		74
1980.9 l.U.	100	78	45		100	130	26	24	31		67
CV (%)	37.9	44.7	13.9	17.6	17.6	35.2	21.9	28.6	19.9		26

Tab. 4: Donaustauraum Altenwörth, 1987 - 1988
 Razumov-Koeffizienten

Str.km./Datum	26.2.	27.3.	23.4.	26.5.	29.6.	11.8.	22.9.	9.12.	12.1.	16.2.	Mittel
2000 Mi.	354	265	600	614	493	952	4012	2122	3070	2188	1467
1994 r.U.	432	214	358	905	780	630	5667	2696	3333	3289	1830
1994 Mi.	328	228	433	783	418	564	2913	1860	4340	4557	1642
1994 l.U.	234	212	1062	814	771	825	945	953	335	354	651
1984 r.U.	367	245	253		250	410	112	2522	298	941	600
1984 Mi.	230	331	1092		547	614	3379	1827	2049	800	1208
1984 l.U.	447	398	813		884	516	4879	1932	1100	2800	1530
1980.9 r.U.	345		1300		201	829	603		581	1727	798
1980.9 Mi.	428		664		2055	691	394		1251	2636	1123
1980.9 l.U.	406		1157		889	-	5154		3233	3235	2325
CV (%)	22	26	47	15	78	26	76	35	78	58	46

Bei häufigerer Probenentnahme und Erfassung von Hochwasserereignissen ist ähnliches auch für die Saprophytenzahlen zu erwarten, die in unbelasteten Fließstreckenabschnitten ebenfalls positiv mit dem Abfluß korrelieren (KASIMIR, 1987).

Einige Literaturwerte der untersuchten Parameter aus anderen Gewässern sind in Tabelle 5 angeführt. Die durchschnittliche Gesamtbakterienzahl im Stauraum Altenwörth entspricht in etwa derjenigen, die in anderen Fließgewässern gefunden wurde, liegt aber meist eher im mittleren Bereich der Literaturwerte. So fanden GOCKE & RHEINHEIMER (1988) in der Elbe einen Jahresmittelwert von 11,4 Mio/ml und in der Trave von 10,5 Mio. Bakterien pro Milliliter. Vergleicht man die Werte mit anderen an der Donau durchgeführten Gesamtbakterienzählungen, so ergeben sich im Vergleich zum Unterlauf eher niedrige Zahlen. Vor allem im untersten Donaubereich (Delta) liegen sie um meist etwa eine Zehnerpotenz über den hier gefundenen Zahlen (BASCHMAKOVA, pers.Mitt.; KASIMIR, 1988).

Bei der Koloniezahl der saprophytischen Bakterien sind in Abhängigkeit von Abwasserbelastungen größere Unterschiede feststellbar. Wie die eventuell durch methodische Abweichungen bedingten Differenzen verschiedener Untersucher einzuschätzen sind, werden Vergleiche dieser Methoden, die während der internationalen wissenschaftlichen Donauberreinigung der IAD im März 1988 durchgeführt wurden, ergeben. Diesbezügliche Ergebnisse sind in Kürze zu erwarten.

Abb. 1: Donau, Stauraum Altenwörth; Str.km 2000, 1994, 1984 und 1980,9, jeweils Strommitte; Gesamtbakterienzahlen GBZ (Direct Counts)

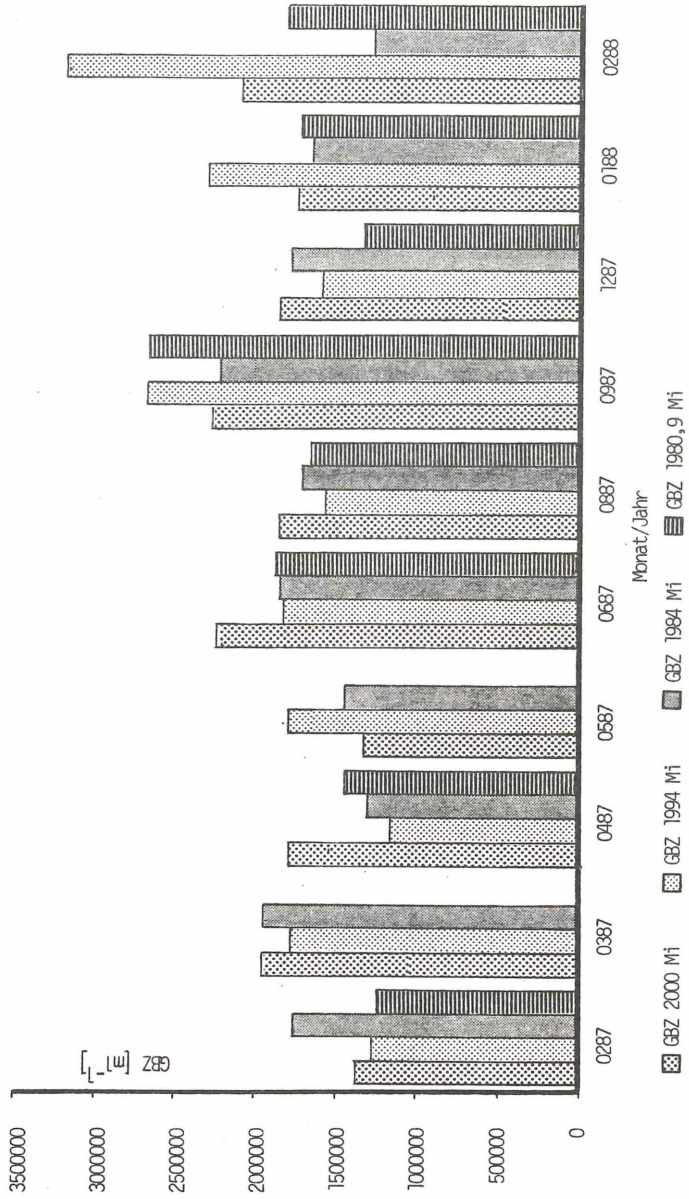


Abb. 2: Donau, Stauraum Altenwörth; Str.km 2000, 1994, 1984 und 1980, 9, jeweils Strommitte; Koloniezahlen der saprophytischen Bakterien KZ (Colony counts)

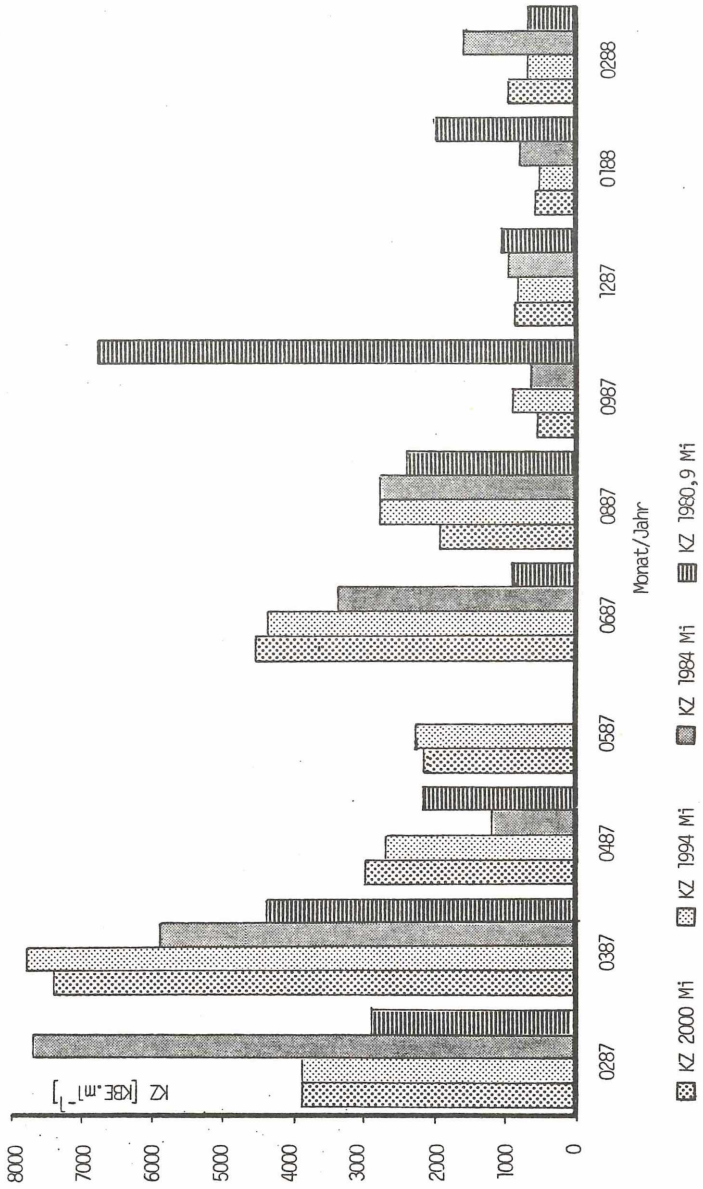
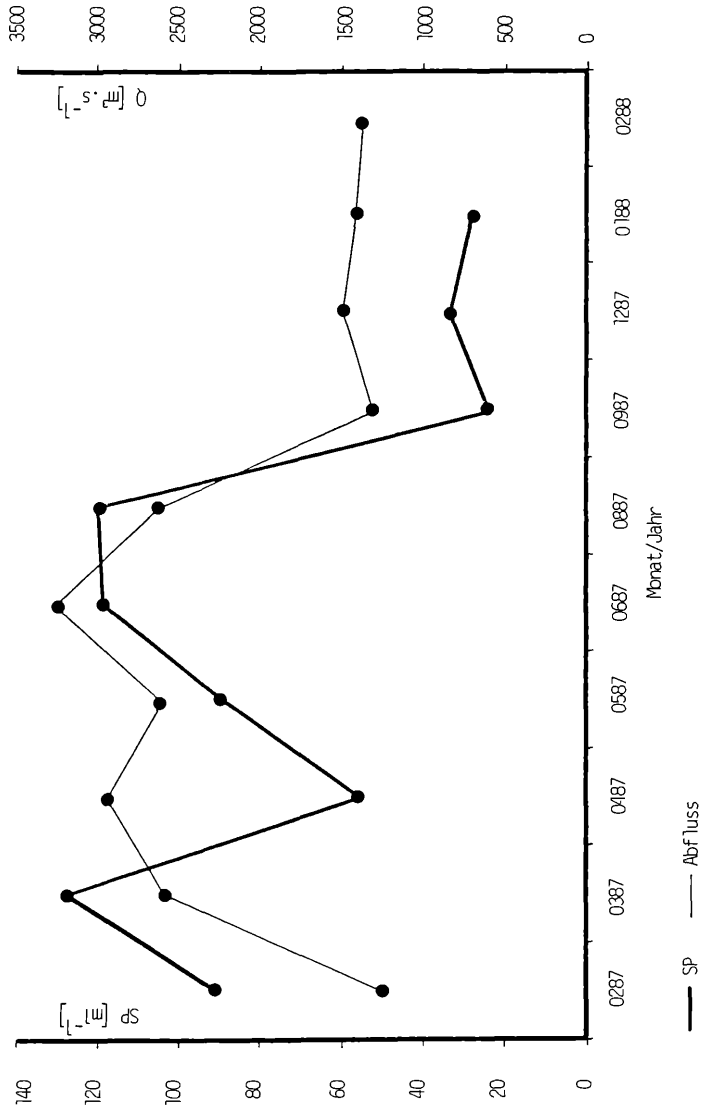


Abb. 3: Signifikante Korrelation zwischen den gemittelten Koloniezahlen der sporenbildenden Keime (Mittelwerte) und den Abflussmengen in der Donau, Stauraum Altenwörth (n = 85, r = +0,6, p = 0,05)



Tab.5: Literaturdaten der untersuchten Parameter aus anderen Gewässern

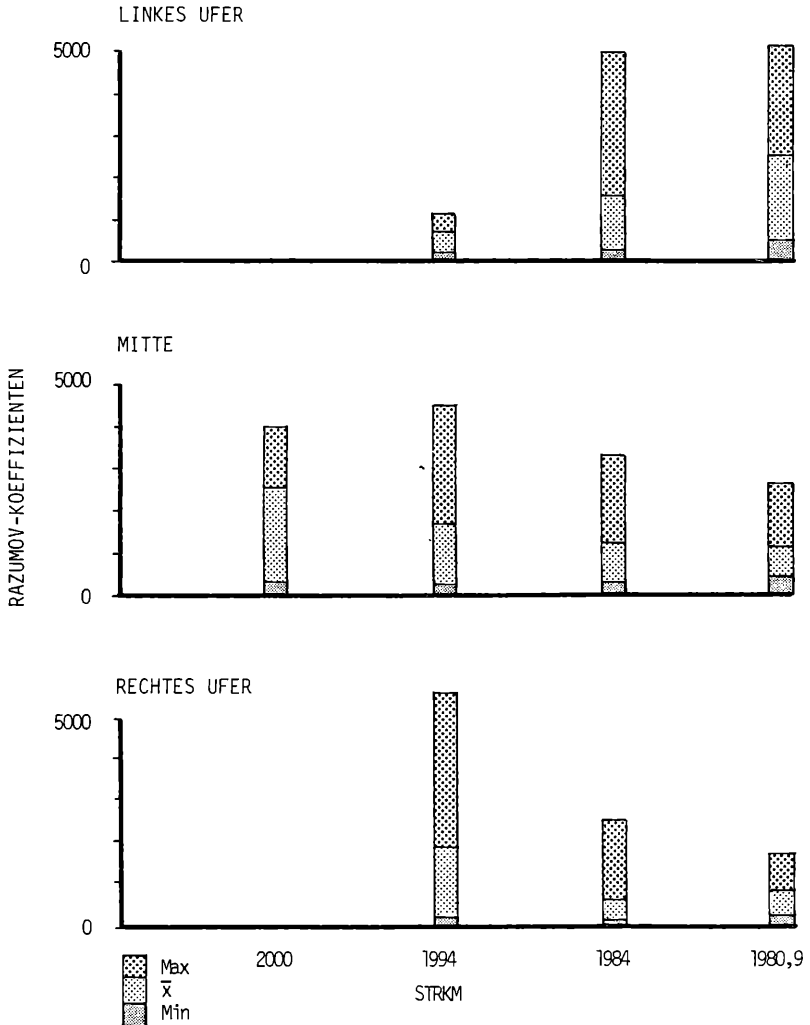
Autor	Gewässer	GBZ Mio/ml	KZ kBE/ml	Razumov- koeffiz.
GAK (1961)	Donau (USSR)	3,2	23,6	
MUCHA (1967)	Donau (YU)	1,5	6,3	129 3216
DEUFEL (1972)	Donau (Quelle-Ulm)	0,019	36	49 640000
MICHAJLENKO & FTOMOV (1979)	Donau (USSR)	6,7	26,7	3100 11100
MIKLOSOVICOVA (1979)	March (CS)	0,1	8,0	320 200000
TRZILOVA (1979)	Vah (CS)	0,14	4,0	850 94000
MICHAJLENKO (1981)	Dnjepr-Stausee (USSR)	2,1	10,4	640 31700
PUNCOCHAR (1981)	Sazava (YU)	13,2	52,3	80000 420000
RHEINHEIMER (1981)	Elbe (D)	3,4	34,2	1800 50300
KAISER (1987)	Donaustau (A)	0,45	3,64	1050 15900
GOCKE & RHEINHEIMER (1988)	Elbe (D) Trave (D)	11,4 (X̄) 10,5		3300 66100 2500 51900
MARXSEN (1980)	Breitenbach (D)	1,28	4,05	9300 16600
EIGENE DATEN	Donaustau (A)	1,11 -	3,19	450 21000
				87 2550
				125 259
				170 5123
				18 813
				10 1000
				180 1035
				138 244
				112 5667

Nur vereinzelt wurde bei mikrobiologischen Untersuchungen der Donau und ihrer Nebenflüsse auch der Razumov-Koeffizient bestimmt (MUCHA, 1967; GAJIN et al., 1987; KAISER, 1987; MIKLOSOVICOVA, 1979; TRŽILOVÁ, 1979). Die Werte lagen zwischen 10 und 5123, wobei die niederen Werte während der Zuckerrübenkampagne in der March erhoben wurden. Abb. 4 zeigt Mittelwerte, Minima und Maxima der im Stauraum erhobenen Razumov-Koeffizienten an den einzelnen Probenentnahmestellen. Erwartungsgemäß konnten die niedrigsten Werte unterhalb der Einleitung des Traisen-Sammlers (Str.km 1984, r.U.) bestimmt werden. Der relativ hohe Maximalwert an dieser Stelle ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Entfernung der Abwasserfahne vom rechten Ufer je nach Wasserführung variiert. Nach KAISER (1987) schichtet sich der Sammler häufig in tieferen Wasserschichten ein. Auch der Einfluß der Kläranlage Krems läßt sich am relativ niedrigen Razumov-Koeffizienten der unterhalb gelegenen Entnahmestelle Str.km 1994, l.U., ablesen. Diese Beeinträchtigungen lassen sich jedoch schon anhand erhöhter Saprophytenzahlen feststellen, so daß der Razumov-Koeffizient in diesem Fall keine wesentlichen zusätzlichen Aussagen ermöglicht. So wies auch DEUFEL (1972) darauf hin, daß nur die Mittelwerte großer Untersuchungsreihen in Verbindung mit anderen Unterlagen für die Einteilung nach KORSCH verwendet werden können, keinesfalls jedoch Einzelbestimmungen.

Die Probenentnahmestellen wurden nach dem Beurteilungsschema nach KOHL (1975) und mittels des Korsch-Indexes (KORSCH, 1957) eingestuft. Hinsichtlich der Saprophytenzahl läßt sich für den Untersuchungszeitraum eine relativ konstante Wasserbeschaffenheit feststellen, die nach dem an der Bundesanstalt für Wassergüte verwendeten Einteilungsschema (KOHL, 1975; DANECKER & KAVKA, 1983) mit Ausnahme weniger Einzelproben einer mäßigen Verunreinigung mit

leicht abbaubaren organischen Substanzen entspricht. Anhand des Korsch-Indexes kann der Stauraum Altenwörth als rein bis mittelmäßig verunreinigt, also etwas günstiger beurteilt werden. Hier nicht angeführte Daten belegen, daß sich die Gütesituation jedoch bei Eintritt eines Hochwasserereignisses kurzfristig drastisch ändern kann, da durch Aufwirbelung der Sedimente eine Resuspension der im Sediment länger überlebenden Keime erfolgt, wie dies auch schon von KOHL (1975), KAVKA (1978), und KASIMIR (1987) festgestellt werden konnte. Einschränkend muß jedoch betont werden, daß Gewässerbeurteilungen nur unter Einbeziehung mehrerer Fachdisziplinen durchgeführt werden sollten. Darüber hinaus ist zu beachten, daß Beurteilungsschemata nicht ohne weiteres auf jedes Gewässer übertragbar sind.

Abb. 4: Donau, Stauraum Altenwörth, Längsschnitt
 Str.km 2000 Mitte, Str.km 1994, 1984 und 1980,9
 jeweils linkes Ufer, Mitte, rechtes Ufer;
 Razumov-Koeffizienten (\bar{x} , Minima, Maxima)



Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die zählbaren und züchtbaren Bakterien in einem Laufstauökosystem (Donaustau Altenwörth) untersucht. Ausführliche Überlegungen Methodik werden angestellt.

Die Gesamtbakterienzahlen schwankten zwischen 1,11 und 3,19 Mio/ml, die Koloniezahlen zwischen 450 und 21.000 KBE aus 1 ml. Der Razumov-Koeffizient bewegte sich zwischen 112 und 5567; der prozentuelle Anteil der Koloniezahlen der saprophytischen Bakterien an der Gesamtbakterienzahl betrug 0,02 0,89%. Ein Vergleich mit einem abwasserbelasteten Kanal (Traisensammler) wird angestellt.

Die Homogenität des Stauraums hinsichtlich der untersuchten Parameter und der Einfluß des Abflusses werden diskutiert.

Die Einschätzung der bakteriologischen Beschaffenheit des Stauraumes erfolgt nach KORSCH (1957) und KOHL (1975). Die Aussagekraft des Razumov-Koeffizienten wird diskutiert und die Problematik der Gewässerbeurteilung anhand weniger Parameter und nur einer Fachdisziplin aufgezeigt.

SUMMARY

An investigation of direct counts and colony counts in the Altenwörth impoundment of the River Danube in Austria

Direct counts fluctuated from 1.11 to 3.19 x 10⁶/ml, the colony counts from 0,45 to 21.0 x 10³ CFU/ml and the Razumov-coefficient from 112 to 5567; the percentage of colony counts was 0.02 0.89 of direct counts. These data were compared with those from a sewage canal (Traisen-sammler), discharging into the impoundment. The homogeneity

of the impoundment is discussed with regard to the variables investigated and the influence of the sewage canal discharge.

The bacteriological quality of the water in the impoundment was assessed according to KORSCH (1957) and KOHL (1975). The value of the RAZUMOV-coefficient is discussed and the difficulties of water quality assessment using few variables of only one scientific discipline are illustrated.

Literatur

- BAHR, H. (1953): Zur Biologie der Abwasserreinigung.- Desinfektion und Gesundheitswesen 45, Sonderheft, 40-46 (zit. nach WACHS, B., 1969).
- BECTON DICKINSON GmbH. (1980): Mikrobiologisches Handbuch.- Eigenverl. Heidelberg.
- BERGSTRÖM, I., HEINÄNEN, A., SALONEN, K. (1986): Comparison of acridine orange, acriflavine and bisbenzimidazole stains for enumeration of bacteria in clear and humic water.- Appl. Environ. Microbiol. 51, 664-667.
- BREITIG, G., TÜMPLING, W. von (1982): Ausgewählte Methoden der Wasseruntersuchung. Bd. II, 2. Auflg.- Vlg. G. Fischer, Jena.
- BUCK, J. D. (1979): The plate count in aquatic microbiology. In: Native aquatic bacteria: enumeration, activity and ecology (Eds. COSTERTON & COLWELL).- ASTM STP 695, 19-28.
- COLLINS, G. v., et al (1973): Sampling and Estimation of Bacterial Populations in the Aquatic Environment. In: Sampling - Microbiological Monitoring of Environments (Eds. BOARD, R. G., LOVELOCK).- Society for Applied Bacteriology, Technical Series No. 7, Academic Press, London.

- DALEY, R.J. (1979): Direct epifluorescence enumeration of native aquatic bacteria: Uses, limitations and comparative accuracy. In: Native aquatic bacteria: enumeration, activity and ecology (Eds. COSTERTON & COLWELL).- ASTM STP 695, 29-45.
- DANECKER, E., KAVKA, G. (1983): Gewässergüte des Burgenlandes. Jahresbericht 1982 über die Fließgewässer des Burgenlandes (Hauptmeßstellennetz).- Schr. "Wasserwirtschaft - Wasservorsorge" des BMLF, Wien.
- DAUBNER, I. (1972): Mikrobiologie des Wassers.- Akademie-Verlag., Berlin.
- DEUFEL, J. (1959): Zählung von Wasserbakterien auf Membranfiltern mittels Fluoreszenzmikroskopie.- Nat Wiss 23, 654.
- (1972): Die Bakterien- und Keimzahlen im Oberlauf der Donau bis Ulm.- Arch Hydrobiol Suppl. 44, 1-9.
- DEV Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (1971): Gruppe K 5: Mikrobiologische Verfahren - Bestimmung der Gesamtkeimzahl.
- DIN 38411 (1983): DEV, Gruppe K 5 Mikrobiologische Verfahren - Bestimmung vermehrungsfähiger Keime mittels Membranfilterverfahren
- GAK, D.Z. (1961): Bakterioplankton nizhnevo tetschenija Dunaja. In: Dunaj i pridunajskije vodojemy v predelach SSSR. Izd. ANUSSR, Kiew (zit. nach MUCHA, 1967).
- GAJIN, S., MATAVULJ, M., PETROVIC, O., et al. (1987): Die mikrobiologischen Kennziffern des Einflusses der Stauwerke auf die Wasserqualität des Theissflusses.- 25. Arbeitstagung der IAD, Bratislava 1985, Wiss. Kurzfref., 155-158.
- GOCKE, K., RHEINHEIMER, G. (1988): Microbial investigations in rivers. VII. Seasonal variations of bacterial numbers and activity in eutrophied rivers of Northern Germany.- Arch Hydrobiol 112, 197-219.
- HAGSTRÖM, A., LARSSON, U., HÖRSTEDT, P., et al. (1979): Frequency of dividing cells, a new approach to the determination of bacterial growth rates in aquatic environments.- App. Environ. Microbiol. 37, 805-812.

- HERZIG,A., (1987): Donaustau - Altenwörth Zur Limnologie eines stauregulierten Flusses.- Wasser und Abwasser 31, 215-237.
- HERZIG,A., BRETSCSKO,G., GAVIRIA,E.A., et al. (1987): Quantitative Zoobenthosuntersuchungen im Stauraum Altenwörth.- 26. Arbeitstagung der IAD, Passau 1987, Wiss. Kurzfref., 127-132.
- HOBBIE,J.E., DALEY,R.J., JASPERS,S. (1977): Use of Nucel-pore filters for counting bacteria by epifluorescence microscope.- Appl.Environ.Microbiol.33, 1225-1228.
- HÖLL,K. (1979): Wasser. 6.Auflg.- Vlg. W. de Gruyter, Berlin.
- JANNASCH,H.W. (1954): Kurze Mitteilung zur Anwendung der Fluoreszenzmikroskopie bei bakteriologischen Wasseruntersuchungen.- Ber. limnol. Flußstat. Freudenthal 6, 60.
- JONES,J.G. (1974): Some observations on direct counts of freshwater bacteria obtained with a fluorecence microscope.- Limnol Oceanogr 19, 540-543.
- KAISER,M. (1987): Orientierende Untersuchung zur Verteilung und Abundanz des Bakterioplanktons im Donaustauraum Altenwörth von Juli bis Dezember 1986.- Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien.
- KASIMIR,G. (1987): Nachweis und Vorkommen von Actinomyceten in der österreichischen Donau mittels selektiver Membranfilterverfahren, zusammen mit einigen anderen bakteriologischen Parametern.- Arch Hydrobiol Suppl. 68, 479-488.
- (1988): Messung der bakteriellen Produktion in der Donau: Vergleich zweier Methoden (FDC, TTI).- 27. Arbeitstagung der IAD, Constanza 1988, in Druck.
- KAVKA,G. (1978): Zur Frage der Nachweisbarkeit und Überlebenszeit von Kolibakterien in verschiedenen Biotopen.- Dissertation an der Universität Wien.
- (1986): Zur Methodik des Fäkalstreptokokkennachweises in Abwasser und Flußwasser.- Wasser und Abwasser 30, 185-203.

- KAVKA,G. (1987): Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Donau aus dem Jahre 1986.- 26. Arbeitstagung der IAD, Passau 1987, Wiss. Kurzfref., 489-492.
- KOHL,W. (1975): Über die Bedeutung bakteriologischer Untersuchungen für die Beurteilung von Fließgewässern, dargestellt am Beispiel der österreichischen Donau.- Arch Hydrobiol Suppl.44, 392-461.
- KOHL,W., ZIBUSCHKA,F. (1968): Die bakterielle Belastung des Donaukanals.- Wasser und Abwasser Bd. 1968,9-23.
- KORSCH,L.S. (1957): Die Bewertung der Verfügungen zum Schutz des Moskauer Kanals (in russisch).- Z. Gigena 22, 10 (zit. nach MUCHA, 1967).
- LIEBMANN,H. (1959): Methodik und Auswertung der biologischen Wassergütekartierung.- Münchener Beiträge 6, 134-156.
- MARXSEN,J. (1980): Untersuchungen zur Ökologie der Bakterien in der fließenden Welle von Bächen. II. Die Zahl der Bakterien im Jahresverlauf.- Arch Hydrobiol Suppl. 58, 26-55.
- MEVIUS,W. (1952/53): Der Stand der hydrobiologischen Forschung im Hinblick auf die Möglichkeit ihrer Anwendung zur Reinerhaltung der Fließgewässer.- Mitteilungen der Wasser- und Schifffahrtsdirektion Hamburg.
- MICHAJLENKO,L.E. (1981): Die vieljährige Bakterioplanktondynamik in eutrophen Dnjepr-Stauseen und ihre Rolle in der Ernährung von Wassertieren.- III. Internationales hydromikrobiologisches Symposium, Bratislava 1981, 139-142.
- MICHALJENKO,L.E., FTOMOV,A.S. (1979): Vergleichende sanitätsmikrobiologische Auswertung der Mündungsgebiete des Dnjepr, Dnjestr und der Donau.- 21. Arbeitstagung der IAD, Novi Sad 1979, 562-569.
- MIKLOSOVICOVA,L. (1979): Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung des Wassers der March (Morava) vor ihrer Einmündung in die Donau.- 21. Arbeitstagung der IAD, Novi Sad 1979, 119-127.
- MUCHA,V. (1967): Die Mikrobiologie der Donau. In: Limnologie der Donau (Hsg.: LIEPOLT,R.).- Vlg. Schweizerbarth, Stuttgart.

- ÖNORM M 6231 (1988): Anforderungen an die ökologische Untersuchung stehender Gewässer.- Hsg.: öst. Normungsinstitut, Wien.
- PUNCOCHAR, P. (1981): Attached component of bacterial populations in the river community.- III. Internationales hydromikrobiologisches Symposium, Bratislava 1981, 79-90.
- RAZUMOV, A.S. (1932): A method for direct bacteria count in waters and its comparison with KOCH's method.- Mikrobiologija 1, 131-146 (russisch).
- REICHARDT, W. (1978): Einführung in die Methoden der Gewässermikrobiologie.- Vlg. G. Fischer, Stuttgart.
- RHEINHEIMER, G. (1981): Beeinflussung der Bakterienpopulation von Flüssen durch Temperatur und Abflussschwankungen.- III. Internationales hydromikrobiologisches Symposium, Bratislava 1981, 29-38.
- THON, D., BELING, A. (1959): Beitrag zur Methodik bakteriologischer Fließwasseruntersuchungen.- Zbl Bakt Parasit Kde I. Abt. Orig. 176, 542-555.
- TRŽILOVÁ, B. (1978): Ergebnisse der mikrobiologischen Forschung auf dem tschechoslowakischen Donauabschnitt.- VEDA XXIV/5 (Biologické práce).
- TRŽILOVÁ, B. (1979): Die mikrobiologische Charakteristik des Waagwassers (Vah) vor der Einmündung in die Donau.- 21. Arbeitstagung der IAD, Novi Sad 1979, 137-144.
- WACHS, B. (1969): Zur Bewertung der Wassergüte von Fließgewässern nach dem bakteriologischen Befund.- Münchener Beiträge 15, 12-22.
- WHO (1984): Guidelines for Drinking Water Quality. Vol. WHO, Genf.
- ZIMMERMANN, R., MEYER-REIL, L.A. (1974): A new method for fluorescence staining of bacterial populations on membrane filters.- Kieler Meeresforsch. 30, 24-27.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: [1988](#)

Autor(en)/Author(s): Kasimir G.D., Kavka G.

Artikel/Article: [Untersuchung der Zählbaren und der züchtbaren Bakterien in einem Laufstauökosystem \(Donaustau Altenwörth\) 57-88](#)