© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Wasser und Abwasser Band 35 (1990) 267 285

Aus der Biologischen Station der ÖAW, Lunz am See

Herrn Hofrat Univ.-Prof.Tzt.Dr. W. KOHL zu seinem 65. Geburtstag gewidmet.

PROBLEME BEI DER MESSUNG DER BAKTERIELLEN PRODUKTION IM UNTEREN SEEBACH

G.D. KASIMIR

Einleitung

Seit mehreren Jahren wird der Untere Seebach im Rahmen des RITRODAT-Projektes hinsichtlich seiner Biozönosen untersucht. Untersuchungen des POM sowie der Meio- und Makrofauna bildeten dabei den Schwerpunkt der Untersuchungen. Seit 1989 werden diese Arbeiten um eine weitere Komponente, das mikrobielle Kompartiment, erweitert.*) Dabei wurden zunächst die Abundanzen der Bakterien und der heterotrophen Nanoflagellaten im Bachwasser und im Porenwasser untersucht (KASIMIR 1990a). Im zweiten Projektjahr lag der Schwerpunkt dann auf der Untersuchung der Bettsedimente, insbesondere der im Biofilm gebundenen Bakterien. Es zeigte sich, daß hier der Großteil der bakteriellen Biomasse gebunden ist (KASIMIR 1990b).

Neben diesen statischen Parametern sollte als dynamische Größe aber auch die bakterielle Aktivität (heterotrophe Sekundärproduktion) abgeschätzt werden. Dafür hat sich seit ihrer Einführung durch FUHRMAN & AZAM (1980) die Abschät-

*) Diese Untersuchungen erfolgten im Rahmen des Projektes P-6995 des Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

zung über die Messung der bakteriellen DNS-Synthese in unterschiedlichen marinen und limnischen Biotopen bewährt (BELL 1984, GÜDE 1986, MORIARTY 1986, NAGATA 1987, RIEMANN 1984, SERVAIS 1989).

Diese Methode sollte nun zunächst erprobt und auf das untersuchte Gewässer geeicht werden.

Voraussetzungen für die Anwendung der ^{3}H-Thymidin-Inkorporationsmessung

Die Anwendung der Umrechnungsfaktoren aus der Literatur für Proben, die mit der "kalten TCA-Prozedur" aufgearbeitet werden, setzt die Erfüllung einiger Bedingungen voraus, die z.T. eher theoretischer Natur sind, z.T. aber auch von Fall zu Fall überprüft werden müssen (BELL 1986, BROCK 1971, FUHRMAN & AZAM 1980/1982, MORIARTY 1986, RIEMANN 1984).

Zu den zu prüfenden Vorausetzungen gehören folgende Fragen:

arbeitet man im gesättigten Bereich der ^{3}H-Thymidin-Konzentration?

befindet man sich mit den gewählten Inkubationszeiten im Bereich der zeitlichen Linearität der Thymidininkorporation?

inwieweit wird das ^{3}H-Thymidin durch natürlich vorkommendes intra- und extrazelluläres Thymidin verdünnt?

Wird die Tritium-Markierung ausschließlich in die DNS eingebaut?

Erst wenn die beiden ersten Fragen bejaht werden können und die beiden letzten gemessen bzw. überprüft wurden, kann die ^{3}H-Thymidin-Inkorporationsmethode für das untersuchte Ökosystem geeicht werden und kann unter Verwendung geeigne-

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

ter Umrechnungsfaktoren die bakterielle Produktion abgeschätzt werden. Im folgenden werden die drei wichtigsten Bedingungen und ihre Überprüfung am Oberen Seebach besprochen.

In Text und Abbildungen verwendete Abkürzungen

DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOC	dissolved organic Carbon
DOM	dissolved organic matter
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
POM	particulate organic matter
TCA	Trichloressigsäure
μ	Wachstumsrate
TTI	^{3}H-Thymidin-Inkorporation

Material und Methoden

Die Vorgangsweise bei der ^{3}H-Thymidin-Inkorporationsmessung folgte im wesentlichen den Angaben von FUHRMAN & AZAM (1980, 1982). Je drei Parallelproben und zwei formolfixierte Kontrollen (2% Endkonzentration) zur Bestimmung der Nullraten wurden in situ und teilweise parallel dazu bei 20°C im Dunkeln unter Zugabe verschiedener Konzentrationen (0,5 bis 160 nM) ^{3}H-Thymidins (AMERSHAM, TRK 637, spezifische Aktivität 42-50 Ci/mmol) inkubiert. Die Werte dieser Kontrollen wurden von den Probenwerten subtrahiert. Die Inkubation wurde durch Zugabe von 2% Formol beendet. Nach zwanzigminütiger Extraktion mit eisgekühlter 20%iger TCA wurden die Proben durch Zellulosenitratfilter (SARTORIUS SM 11307-25-N oder SCHLEICHER & SCHÜLL; 25 mm, durchschnittliche Porenweite 0,2 μm), die mit kalter TCA (5%, 2 X 1 ml) vorgespült worden waren, filtriert. Das Filter und die inkubierten Probengefäße wurden zweimal mit 5 ml 10%iger TCA nachgespült. Das Filter wurde anschließend in ein Glasvial überführt, mit 12 ml FILTERCOUNT Scintillationscocktail aufgelöst und in einem PACKARD CA 2000 oder einem

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

PACKARD Tricarb 300 Szintillationszähler die inkorporierte Radioaktivität gemessen*). Die Zähleffizienz wurde mittels der "channels ratio" Methode unter Verwendung eines Sets gequenchter Standards (PACKARD) ermittelt. Die Quenchkorrektur erfolgte dabei automatisch. Porenwasserproben wurden wie Bachwasserproben behandelt, nur daß geringere Probenvolumina (6 bis 15 ml) verwendet wurden. Die ^{3}H-Thymidin-Inkorporation im Biofilm wurde durch Inkubation von in Metallkörbchen im Bettsediment exponierten und mit Biofilm bewachsenen runden Deckgläschen gemessen. Die inkubierten Deckgläschen wurden gut mit 10%-TCA gespült, als ganze in die Szintillation-Vials gelegt und nach Zugabe von 8 ml FILTERCOUNT Szintillationscocktail gemessen wie oben beschrieben.

Für die Routineproben wurde bei den Wasserproben und den epilithischen Bakterien (exponierte Deckgläser) eine Konzentration von 10 nM ^{3}H-Thymidin (Amersham, TRK 637, 45 Ci/mmol) und eine Inkubationszeit von 1-3 Stunden (Deckgläser: 6h) gewählt. Für die Porenwasserproben wurde eine Konzentration von 20 nM verwendet.

Als Inkubationstemperaturen wurden die jeweils in situ gemessenen Temperaturen gewählt. Zum Teil wurde auch direkt in situ (in einem dunklen, aber durchströmten Gefäß) inkubiert.

Messung der Isotopenverdünnung (DP)

Die Isotopenverdünnung durch intra- und extrazelluläres Thymidin wurde bei einigen Proben nach MORIARTY & POLLARD (1981) ermittelt, indem bei gleichbleibender Konzentration (10 nM) heißen (radioaktiven) Thymidins zunehmende Konzentrationen (0 bis 64 nM) kalten Thymidins (FLUKA 89270) zugegeben wurden. Sodann wurde die Regression aus dem

*) Für die Benützung der Szintillationszähler sei Prof.Dr. K. BUCHTELA (Atominstitut Wien) und Dr. A. GUNATILAKA (Zool. Institut, Abt. Limnologie) herzlich gedankt.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Kehrwert der Zerfälle/Minute und der Konzentration an kaltem Thymidin berechnet und deren Schnittpunkt mit der Abszisse zur Berechnung der Isotopenverdünnung herangezogen (BELL, 1986).

Inkorporation der ^{3}H-Markierung in andere Makromolekülfraktionen

In einigen Fällen wurde untersucht, in welchen Makromolekülfraktionen sich die ^{3}H-Thymidin-Markierung finden ließ, um die Inkorporation in die DNS entsprechend korrigieren zu können. Dazu wurde in Anlehnung an RIEMANN & SONDERGAARD (1984) die Probe aufgeteilt und einmal wie oben beschrieben mit eiskalter TCA 20 Minuten inkubiert und filtriert. Die zweite Teilprobe wurde mit 0,5 N NaOH (Endkonzentration) bei 60°C eine halbe Stunde lang extrahiert, anschließend abgekühlt und mit TCA (1g/ml) angesäuert (pH 0,7-1) und filtriert. Die dritte Teilprobe wurde mit der gleichen Menge 40% TCA eine halbe Stunde im Wasserbad gekocht und nach Abkühlen filtriert. Die Radioaktivität in den Makromolekülfraktionen wurden wie folgt berechnet:

DNS NaOH-Extraktion heiße TCA-Extraktion; RNS kalte TCA-Extraktion NaOH-Extraktion; Protein heiße TCA-Fraktion.

Abschätzung der bakteriellen Produktion

Die Berechnung einer nicht direkt meßbaren Größe wie der bakteriellen Produktion aus einer direkt gemessenen Größe (Thymidininkorporation) erfordert einige Umrechnungsfaktoren: einerseits für die Berechnung der pro nmol inkorporierten Thymidins produzierten Zellen, andererseits für die Umrechnung der Bakteriomasse in C-Einheiten.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

a) Berechnung der Biomasse

Um eine grobe Einschätzung der mengenmäßigen Bedeutung der erhaltenen Bakteriendichten im Vergleich zu anderen Ökosystemkomponenten zu ermöglichen, ist eine Umrechnung dieser Werte in Biomasseeinheiten, beispielsweise als Kohlenstoff, unumgänglich. Dazu ist einerseits die Bestimmung der Biovolumina der Teilkompartimente nötig, andererseits muß ein Umrechnungsfaktor für die Konversion der Biovolumina in Kohlenstoff-Einheiten ermittelt oder aus der Literatur übernommen werden.

Da eine eigene Bestimmung des durchschnittlichen Kohlenstoff-Gehaltes der Bakterien nicht möglich war, mußte hierfür auf Faktoren aus der Literatur zurückgegriffen werden. Hinsichtlich der Höhe eines solchen Umrechnungsfaktors herrschen jedoch kontroversielle Ansichten vor, die sowohl die methodischen Schwierigkeiten bei seiner Bestimmung als auch die Bandbreite des Kohlenstoffgehaltes in verschiedenen Populationen (natürliche Mischpopulationen aus unterschiedlichen Biotopen sowie Reinkulturen unter Laborbedigungen) reflektieren. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die an Reinkulturen oder an Mischpopulationen bestimmten Umrechnungsfaktoren:

Tab. 1: Unterschiedliche in der Literatur angegebene Umrechnungsfaktoren für die Konversion von bakteriellem Biovolumen in Kohlenstoff-Einheiten:

BAKKEN & OLSEN (1987)	0,07	0,18	$pgC/\mu m^3$
BJÖRNSEN (1986)	0,354		$pgC/\mu m^3$
BRATBAK (1985)	0,56		$pgC/\mu m^3$
BRATBAK & DUNDAS (1984)	0,22		$pgC/\mu m^3$
HELDAL et al. (1985)	0,12		$pgC/\mu m^3$
NORLAND et al. (1987)	0,05	0,1	$pgC/\mu m^3$
WATSON et al. (1977)	0,121		$pgC/\mu m^3$

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

In der vorliegenden Arbeit wurde der Faktor 0,25 pgC/μm^3 gewählt, weil er im oberen Bereich derjenigen Faktoren liegt, die aus gemischten Bakterienpopulationen gewonnen wurden, und allometrische Untersuchungen von NORLAND et al. (1987) gezeigt hatten, daß kleinere Bakterien, wie sie im Seebach überwiegend vorkommen, einen relativ höheren Trokkengewichtsanteil haben als große Bakterien.

b) Berechnung der bakteriellen Produktion

Die Umrechnung von inkorporiertem Thymidin in Produktion (Kohlenstoff) benötigt einerseits die obengenannten Größen Biovolumen und C-Gehalt, andererseits einen Faktor, der angibt, wieviele Bakterienzellen pro nmol inkorporierten ^{3}H-Thymidins produziert werden. Aufgrund des sehr langsamen Wachstums der Bakterien unter den gegebenen Bedingungen war die Bestimmung eines eigenen Umrechnungsfaktors über die Messung der Zellzunahme in Grazer-freien Kulturen nicht möglich, da der Zuwachs innerhalb der methodisch bedingten Variabilität bei der Zellzahlbestimmung blieb. Deshalb mußte auch hier ein Konversionsfaktor aus der Literatur gewählt werden. Bedingt durch die natürliche Variabilität dieser Größe und methodische Unterschiede bei ihrer Messung schwankt auch dieser Faktor beträchtlich (vergl. Tab.2).

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Tab. 2: Unterschiedliche in der Literatur angegebene Umrechnungsfaktoren für die Konversion von ^{3}H-Thymidin-Inkorporation in die Zahl produzierter Bakterienzellen

BELL (1984)	1.3	2.4 * 10^9	Zellen/nmol (See)
FUHRMAN & AZAM (1980)	0.2	1.3 * 10^9	Zellen/nmol (Meer)
FUHRMAN & AZAM (1982)	1.3	2.4 * 10^9	Zellen/nmol (Meer)
IRIBERRI et al. (1990)	1.27-	8.68* 10^9	Zellen/nmol
KIRCHMAN et al. (1982)	17	68 * 10^9	Zellen/nmol (Meer)
MORIARTY (1986)	2	* 10^9	Zellen/nmol
MORIARTY & POLLARD (1981)	1.3	* 10^9	Zellen/nmol (Meer)
SERVAIS (1989)	0.5	* 10^9	Zellen/nmol (Fluß)

Für die eigenen Berechnungen wurde der Faktor 1,2 * 10^9 Zellen/nmol gewählt, da für nährstofflimitierte Bakterienpopulationen verhältnismäßig niedrige Umrechnungsfaktoren anzunehmen sind. Für alle Teilkompartimente wurde derselbe Faktor verwendet, da nach IRIBERRI et al. (1990) sowohl für freilebende als auch für an Oberflächen gebundene Bakterien dieselben Umrechnungsfaktoren gelten, solange im selben System untersucht wird.

Ergebnisse

a) Aufnahmekinetik der Thymidininkorporation

Um eine möglichst geringe Isotopenverdünnung durch nichtradioaktives Thymidin zu erreichen und um zu gewährleisten, daß nicht die Menge an ^{3}H-Thymidin die Inkorporation begrenzt, sondern die unter den gewählten Bedingungen maximal mögliche Inkorporation heißen Thymidins erfolgt, muß die Inkubation im gesättigten Bereich der Thymidin-Inkorporation erfolgen. Dies wurde in Vorversuchen durch die Inkuba-

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

tion von Parallelproben mit steigender ^{3}H-Thymidin-Konzentration erprobt. Während jedoch bei früheren Untersuchungen an der Donau, am Neusiedlersee, am Balaton und am Schwarzen Meer stets typische Sättigungskurven (Sättigung zwischen 10 und 50 nM) gefunden wurden, konnten solche im Falle des Seebachs nicht erreicht werden. Vielmehr ergaben sich regelmäßig andere Muster, meist zweihöckrige (biphasische), aber auch multiphasische "Sättigungskurven", die die Vermutung nahelegen, daß es sich um Populationen hoher Diversität und folglich unterschiedlicher Aufnahmeraten handelt. Weiter geben sie einen Hinweis auf die Knappheit für die Bakterien leicht verfügbarer Nährstoffe in diesem Biotop, da anscheinend das Thymidin nicht nur in die DNS eingebaut wird, sondern auch als Kohlenstoff- und Stickstoff-Quelle genutzt werden muß.

Die zeitliche Linearität der Inkubation wurde wiederholt überprüft und war im Seebach innerhalb der ersten 4 Stunden stets gegeben.

b) Einbau der Markierung in andere Molekülfraktionen

Als weitere Bedingung muß gewährleistet sein, daß der überwiegende Teil der Tritium-Markierung auch tatsächlich in die DNS eingebaut wird. Nur dann kann der Einbau in die übrigen Makromolekülfraktionen vernachlässigt werden. Bei den frühen Untersuchungen von FUHRMAN & AZAM (1980, 1982) war dies der Fall, so daß viele andere Autoren in der Folge diese Voraussetzung als gegeben annahmen. In einigen Fällen konnte aber gezeigt werden, daß nur ein (z.T. geringer) Teil der inkorporierten Radioaktivität tatsächlich in der DNS-Fraktion nachzuweisen war (BELL 1984, ROBARTS et al. 1986). CARMAN et al. (1988) fanden in marinen Sedimenten manchmal nur 2% der Markierung in der DNS-Fraktion.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Da die Versuche zur Aufnahmekinetik die Vermutung erbracht hatten, daß das den Bakterien angebotene ^{3}H-Thymidin auch als Kohlenstoff- und Stickstoff-Quelle genutzt und daher in unterschiedliche Fraktionen eingebaut wird, lag es nahe, mittels der Säure-Base Hydrolyse in Anlehung an RIEMANN & SONDERGAARD (1984) durch getrennte Messungen der Radioaktivität der drei Makromolekülfraktionen DNS, RNS und Proteine zu bestimmen, welcher Anteil der ^{3}H-Thymidin-Markierung im Falle der Bakterienpopulationen des Seebachs tatsächlich in die DNS eingebaut wird. Danach soll die "kalte TCA-Fraktion" alle drei Makromolekülfraktionen, DNS, RNS und Proteine enthalten, die "heiße TCA-Fraktion" die Proteine und die "Base-Fraktion" die DNS+Protein-Fraktion. Durch einfache Subtraktion läßt sich dann der relative Anteil der DNS an der Gesamtradioaktivität feststellen.

Im Verlauf dieser Versuche zeigte es sich, daß im Falle des Bachwassers nur zwischen 15 und 34% der Markierung in der DNS-Fraktion zu finden war. Zwischen 27% und 46% der Markierung fand sich in der Proteinfraktion, jeweils ca. 38% in der RNA-Fraktion. BELL (1984) fand dagegen beispielsweise im See Erken ca. 80% der Markierung in der DNS. Dieser vergleichsweise geringe Markierungs-Anteil, der im Fall des Lunzer Seebachs in die DNS eingebaut wird, ist ein weiterer Hinweis darauf, daß die Bakterien hier nährstofflimitiert sind und deshalb das Thymidin nicht nur zur DNS-Synthese, sondern auch als C- und N-Quelle zum Aufbau von Zellsubstanz verbrauchen.

Nach ROBARTS et. al. (1986) kann aus der Verteilung der Markierung in den einzelnen Fraktionen auf den "metabolischen Zustand" der Bakterienpopulationen geschlossen werden. Ein hoher Anteil der Markierung in der DNS-Fraktion

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

deutet auf ein gleichmäßiges Wachstum, ein niedriger Anteil auf wechselnde Wachstumszustände hin. Die genannten Autoren stellten jedoch auch starke, aber unregelmäßige Schwankungen dieses Anteils und damit auch des entsprechenden Umrechnungsfaktors bei ein und derselben Probe je nach Dauer der Inkubation fest.

Andererseits zitieren BJÖRNSEN et al. (1989) Arbeiten, nach denen der entsprechende Umrechnungsfaktor ab einer Generationszeit von 20 Stunden, also einer Größenordnung, die im Seebach kaum unterschritten wird, relativ konstant bleibt.

c) Isotopenverdünnung des ^{3}H-Thymidins durch intra- und extrazelluläres Thymidin.

Der sogenannte "degree of participation", das ist die interne und externe Isotopenverdünnung bei der ^{3}H-Thymidin-Inkorporation, konnte mit Seebachproben nicht korrekt bestimmt werden, da die Regressionsgerade (Regression zwischen Thymidinkonzentration und dem Kehrwert der Radioaktivität) fallweise mehr oder weniger parallel zur X-Achse verlief oder diese in einem völlig unrealistischen Bereich schnitt. Auch dieses Verhalten kann möglicherweise damit erklärt werden, daß das Thymidin als Kohlenstoff- und Stickstoff-Quelle verwertet wird. Angesichts der niedrigen Konzentrationen an gelösten Verbindungen [LEICHTFRIED (1986) fand beispielsweise im Mittel 1 mg N und 10 30 mg P pro Liter] kann man aber annehmen, daß der "degree of participation", also der Anteil an ^{3}H-Thymidin am insgesamt inkorporierten Thymidin, bei den verwendeten ^{3}H-Thymidin-Konzentrationen nahe am 100%-Wert lag.

Aus allen drei genannten Punkten (a-c) kann zusammenfassend gefolgert werden, daß im Fall des Oberen Seebachs eine

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

direkte Umrechnung der Inkorporation in bakterielle Produktion nur bedingt erfolgen darf. Auch beim Vergleich der reinen Inkorporationswerte muß man sich stets dessen bewußt sein, daß die Inkorporation in die DNS sicher überschätzt wird, da ein Teil des Thymidins (und damit der Markierung) direkt für den Aufbau von Biomasse verwendet wird. Unter der Annahme, daß der Fehler jedoch alle Teilkompartimente gleichmäßig betrifft, kann die relative Bedeutung der einzelnen Kompartimente angegeben werden und ergeben sich bei Beachtung der möglichen Fehlerquellen durchaus brauchbare Schätzwerte der Größenordnungen der bakteriellen Produktion im Seebach.

Aktivitätsdaten der einzelnen Teilkompartimente

Trotz der oben gemachten Einschränkungen bezüglich der Umrechenbarkeit in Kohlenstoff-Produktion können angesichts der großen Unterschiede die Inkorporationsdaten größenordnungsmäßig mit denen anderer Gewässer verglichen werden. Dabei zeigt es sich, daß einerseits die am Oberen Seebach (Bachwasser) erhaltenen Werte mit 0,0001 nmol/l*h im Winter bis 0,0015 nmol/l*h (Sommerwert) zu den allerniedrigsten gemessenen Inkorporationswerten gehören, andererseits aber hohe spezifische Aktivitäten der Thymidininkorporation (Ink./Zelle) festzustellen waren. Diese lagen zwischen 1,4 * 10^{-12} nmol/Zelle*h und 2,5 * 10^{-11} nmol/Zelle*h. In der österreichischen Donau wurden vergleichsweise Inkorporationsraten zwischen 0,017 und 0,070 nmol/l*h gemessen (KASIMIR, 1992), in der Maas 0,05 bis 0,3 nmol/l*h (SERVAIS 1989) und in der Ybbs 0,003 bis 0,239 nmol/l*h (KASIMIR & ZELAYA 1991). Maximalwerte konnten SERVAIS & GARNIER (1990) mit 0,14 bis 0,80 nmol/l*h in der Seine messen. Die Abb.1 veranschaulicht die Unterschiede in der Thymidininkorporation graphisch.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Im Lückenraumwasser der Bettsedimente wurden zwanzig- bis fünfzigfach höhere Inkorporationsraten gemessen. Die ^{3}H-Thymidin-Inkorporationsraten der im Bettsediment exponierten Deckgläschen ergaben wegen der geringen Bakteriendichten sehr niedrige Werte um 0,02 bis 0,2 pmol/cm^{2}*h. Besonders hoch war hier mit 8,39 * 10^{-11} nmol/Zelle*h die spezifische Aktivität. Als grobe Hochrechnung werden in der folgenden Abbildung 2 die relativen Anteile der einzelnen Teilkompartimente an der Gesamtaktivität gezeigt. Der Abbildung liegt eine Situation nach Durchgang eines größeren Hochwassers zugrunde, bei der der lichtexponierte Biofilm der Sediment/Wasser-Grenzschichte durch Abrasion zerstört wurde und somit als Spezialfall des epilithischen Biofilms entfällt. Im Falle eines gut ausgebildeten lichtexponierten Biofilms wären dort wohl, gefördert durch die Ausscheidungen gelöster organischer Substanzen der dicht aufwachsenden Diatomeen und Fadenalgen, hohe Produktionsleistungen der dort dicht zwischen und auf den Algen lebenden Bakterienpopulation zu erwarten. Aus der Abbildung geht die Bedeutung der Bettsedimente für das Bachökosystem deutlich hervor. Trotz der niedrigen Inkorporationsraten findet hier der Großteil der mikrobiellen Aktivitäten statt, da aufgrund der großen für die bakterielle Besiedlung zur Verfügung stehenden Oberflächen dieses bakterielle Teilkompartiment des Seebach-Bachökosystems auch im Hinblick auf die Biomassen dominiert (KASIMIR 1990b).

Bei Umrechnung in C-Produktionseinheiten ergeben sich unter Verwendung der obengenannten Umrechnungsfaktoren für das Bachwasser des Seebachs Werte zwischen 0,04 und 20 µgC/m^{3}*d, für das Porenwasser Werte zwischen <0,1 und 11 mgC/m^{3}*d.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Abb.1: ^{3}H-Thymidin-Inkorporationsraten-Vergleich verschiedener Gewässer

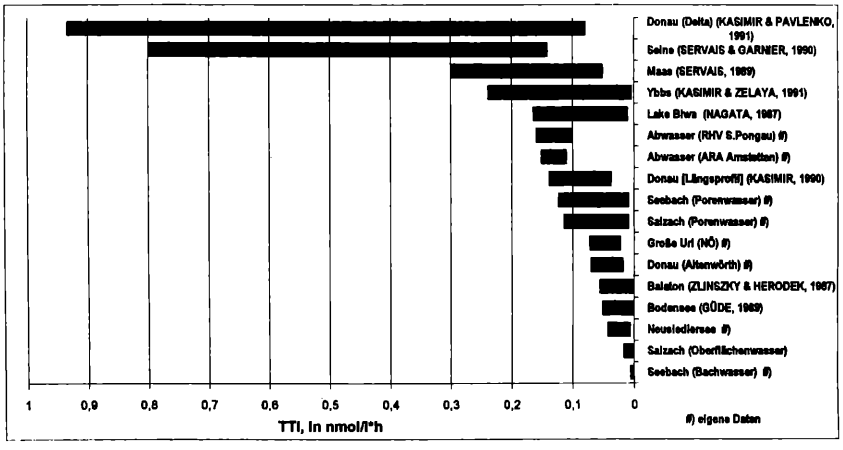
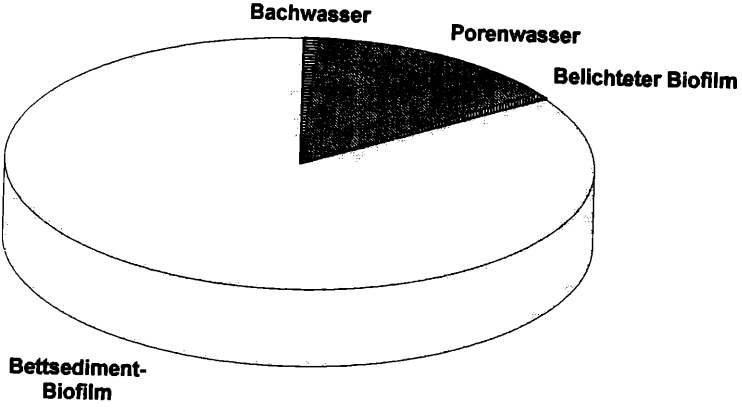


Abb.2: Anteile der einzelnen Teilkompartimente an der bakteriellen Produktion im Seebach



© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Schlußfolgerungen und Zusammenfassung

In Gewässern, in denen zu erwarten steht, daß die Bakterien nährstofflimitiert sind, muß stets der in die DNS inkorporierte Anteil der Markierung bestimmt werden, wenn aus der ^{3}H-Thymidin-Inkorporation auf Produktion in Kohlenstoffeinheiten umgerechnet werden soll.

Aufgrund der niedrigen Konzentration an gelösten organischen Nährstoffen und der niedrigen Temperaturen im Seebach sind die bakteriellen Aktivitätsraten gering und ihre Messung daher mit Schwierigkeiten verbunden.

Durch die Strategie der Anheftung im epilithischen Biofilm und wegen der hohen Biomasse der benthischen Bakterienpopulation kann trotz der langen Generationszeiten in die Bettsedimente gelangendes organisches Material effektiv verwertet und umgesetzt werden.

SUMMARY

Measuring bacterial activities in an alpine gravel stream: problems and results

The application of the tritiated thymidine incorporation method for the assessment of bacterial production showed to be problematic in the "Oberer Seebach", a second order calcareaous alpine gravel stream, since low temperatures and low nutrient concentrations led to low incoporation rates. Consequently, calibration of the tritiated thymidine incorporation method was difficult. However, the measurements undertaken allow rough estimates of bacterial activities and their relative distribution among the different bacterial compartments.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Literatur

BAKKEN, L.R., OLSEN, R.A. (1983): Buoyant densities and dry-matter content of microorganisms: conversion of a measured biovolume into biomass.- Appl. Environm. Microbiol. 45, 1188-1195.

BELL,R.T.(1984): Thymidine incorporation rates and bacterioplancton dynamics during early spring in Lake Erken.- Arch.Hydrobiol.Beih.Limnol.19, 81-89.

BELL,R.T. (1986): Further verification of the isotope dilution approach for estimating the degree of participation of ^{3}H-thymidine in DNA synthesis in studies of aquatic bacterial production.- Appl.Environm.Micobiol. 52, 1212-1214.

BJÖRNSEN,P.K. (1986): Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis.- Appl.Environm.-Microbiol. 51, 1199-1204.

BJÖRNSEN,P.K., RIEMANN,B., POCK-STEEN,J., NIELSEN,T.G., HORSTED,S.J. (1989): Regulation of bacterioplankton production and cell volume in a eutrophic estuary.- Appl.Environm.Microbiol. 55, 1512-1518.

BRATBAK,G. (1985): Bacterial biovolume and biomass estimations.- Appl.Environm.Microbiol. 49, 1488-1493.

BRATBAK,G., DUNDAS,I. (1984): Bacterial dry matter content and biomass estimations.- Appl.Environm.Microbiol. 48, 755-757.

BROCK,T.D. (1971): Microbial growth rates in nature.- Bact.Rev. 35, 39-58.

CARMAN,K.R., DOBBS,F.C., GUCKERT,J.B. (1988): Consequences of thymidine catabolism for estimates of bacterial production: an example from a coastal marine sediment.- Limnol. Oceanogr. 33, 1595-1606.

FUHRMAN,J., AZAM,F. (1980): Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica and California.- Appl. Environm. Microbiol. 39, 1085-1095.

FUHRMAN,J., AZAM,F. (1982): Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton produktion in marine surface waters: Evaluation and field results.- Mar. Biol. 66, 109-120.

GÜDE,H. (1986): Loss processes influencing growth of planktonic bacterial populations in Lake Constance.- J.of Plankton Res. 8/4, 795-810.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

HELDAL,M., NORLAND,S., TUMYR,O. (1985): X-ray microanalytic method for measurements of dry matter and elemental content of individual bacteria.- Appl. Environm. Microbiol. 50, 1251-1257.

IRIBERRI,J., UNANUE,M., AYO,B., BARCINA,I., EGEA,L. (1990): Bacterial production and growth rate estimation from [^{3}H]thymidine incorporation for attached and free-living bacteria in aquatic systems.- Appl. Environm. Microbiol. 56, 483-487.

KASIMIR,G.D. (1990a): Mikrobiologische Untersuchungen im Lunzer Seebach (Ritrodat).- Jber. Biol. Stn. Lunz 12 (1990), 55-69.

(1990b):Die mikrobiellen Biozönosen eines alpinen Baches.- S. 245-250 in: I. DAUBNER (Hsg.): V. Internationales Hydromikrobiologisches Symposium (VEDA, Bratislava).

(1990c): Bakterienzahl, bakterielle Biomasse und Produktion in der Donau anhand eines Donaulängsprofiles.- S.263-271 In: "Ergebnisse der Internationalen Donauexpedition 1988", IAD/Wien.

(1992a): Microbial investigations in the Danube: Measuring microbial activities and biomass.- Arch.Hydrobiol., Suppl.Donauforschung 84, 101-114.

KASIMIR,G.D., PAVLENKO,A. (1991): Untersuchungen des Picoplanktons im Donaudelta und am Dnjestr, Teil 1: Bakterien.- "Limnologische Berichte" der 29. Arbeitstagung der IAD, Kiew, 18-20.

KASIMIR,G.D., ZELAYA,A. (1991): Microbial Selfpurification Processes in the River Ybbs (Lower Austria) as Measured by Different Methods.- Jber. Biol. Stn. Lunz 13, 53-65.

KIRCHMAN,D., DUCKLOW,H., MITCHELL,R. (1982): Estimates of bacterial growth from changes in uptake rates and biomass.- Appl.Environm.Microbiol. 44, 1296-1307.

LEICHTFRIED,M. (1986): Räumliche und zeitliche Verteilung der partikulären organischen Substanz (POM - Particulate organic matter) in einem Gebirgsbach als Energiebasis der Biozönose.- Diss.Univ.Wien.

MORIARTY,D.J.W. (1986): Measurements of bacterial growth rates in aquatic systems from rates of nucleic acid synthesis.- Adv.Microb.Ecol. 9, 245-280.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

MORIARTY,D.J.W., POLLARD,P.C. (1981): DNA synthesis as a measure of bacterial productivity in sea grass sediments.- Mar.Ecol.Prog.Ser. 5, 151-156.

NAGATA,T. (1987): Production rate of planctonic bacteria in the north basin of Lake Biwa, Japan.- Appl. Environm. Microbiol. 53, 2872-2882.

NORLAND,S., HELDAL,M., TUMYR,O. (1987): On the relation between dry matter and volume of bacteria.- Microb. Ecol. 13: 95-101.

RIEMANN,B. (1984): Determining growth rates of natural assemblages of freshwater bacteria by means of 3H-Thimidine incorporation into DNA: comments on methodology.- Arch.Hydrobiol. Beih. 19, 67-80.

RIEMANN,B., SONDERGAARD,M. (1984): Measurements of diel rates of bacterial secondary production in aquatic environments.- Appl.Environm.Microbiol. 47, 632-638.

ROBARTS,R.D., WICKS,R.J., SEPHTON,L.M. (1986): Spatial and temporal variations in bacterial macromolecule labeling with [methyl-^{3}H-thymidine in a hypertrophic lake.- Appl.Environm.Microbiol. 52, 1368-1373.

SERVAIS,P. (1989): Bacterioplanktonic biomass and production in the River Meuse (Belgium).- Hydrobiologia 174, 99-110.

SERVAIS,P., GARNIER,J. (1990): Activité bacterienne hétérotrophe dans la Seine: profils d'incorporation de thymidine et de leucine tritiées.-C.R.Acad.Sci.Paris t.311 Serie III, 353-360.

WATSON,S.W., NOWITSKY,T.J., QUINBY,H.L., VALOIS,F.W. (1977): Determination of bacteria numbers and biomass in the marine environment.- Appl.Environm.Microbiol. 33, 940-946.

ZLINSZKY,J., HERODEK,S. (1987): DNS-Synthese des mikrobiellen Planktons in zwei verschieden eutrophierten Teilen des Balatonsees.- Referate des IV. Int.Hydromikrobiol.Symp. VEDA, Bratislava: 77-80.

Anschrift des Verfassers: Dr.G.D. KASIMIR, Institut für Umweltmedizin, Feldg. 9, A.1080 Wien.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Wasser und Abwasser

Jahr/Year: 1991

Band/Volume: 1991

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

Artikel/Article: Probleme bei der Messung der bakteriellen Produktion im unteren Seebach 267-284