

Beitrag zur quantitativen Verteilung mariner und „terrestrischer“ Bakterien im Wasser und in Sedimenten der Deutschen Bucht

HORST WEYLAND

Institut für Merresforschung, Bremerhaven

ABSTRACT: Contribution to the quantitative distribution of marine and "terrestrial" bacteria in water and sediments of the German Bight. Employing three different culture methods the population densities of heterotrophic bacteria were assessed in the free water (150 to 15000 bacteria/ml) and the upper sediment layers (6000 to 6500000 bacteria/cm³). The data were collected at 8 stations in the southern North Sea. Cultivation in fresh water agar, generally revealed only fractions (below 10 %) of these bacteria numbers. Within the geographical range studied bacteria numbers did not vary as a function of the station distance from the mainland. In contrast to the results obtained on marine bacteria, the reproduction rate of fresh water bacteria seems to be suppressed especially severely, if these occur in very low cell densities in the sea water.

EINLEITUNG

Bei der Erfassung der Lebensräume, in denen die heterotrophen Bakterien ihre Tätigkeit als notwendige Vermittler der Nahrung für Pflanze und Tier mittelbar oder unmittelbar entfalten, wird der Meeresboden noch verhältnismäßig wenig berücksichtigt. Auch in meeresökologischen Untersuchungen, die in erster Linie die Ermittlung der Bestandszahlen zum Ziel haben, wird vorwiegend die Anzahl der Bakterien im freien Wasser bestimmt. Bakterienzählungen im Sediment des Meeresbodens erfolgen vergleichsweise selten und zumeist unabhängig von jenen im Wasser. Aber wie im limnischen Bereich übersteigt auch im Meer die Anzahl der Bakterien pro Volumen Bodensediment die Zellzahl pro Volumen Wasser eines beliebigen Wasserkörpers über dem Boden um das Vielfache. Dadurch wird der Boden als Standort der intensivsten Mineralisationsvorgänge gekennzeichnet. Das ungleiche Verhältnis der Populationsdichten heterotropher Bakterien zwischen den Standorten Wasser und Boden besteht im allgemeinen sowohl in der Tiefsee als auch im Flachmeer. Zum Unterschied von den Verhältnissen in der Tiefsee, in welcher der Gesamtbestand aller im freien Wasser vorhandenen heterotrophen Bakterien trotz der geringen Individuendichte pro Volumen die Gesamtzahl der Bakterien im Meeresboden weit übertreffen kann, befindet sich im

Flachmeer gewöhnlich der Hauptanteil aller vorhandenen heterotrophen Bakterien am und im Meeresboden. Dieser Relation entsprechend wird hier auch dem Boden der absolut höchste Anteil an der Remineralisierung der organischen Stoffe und an der Bildung von Bakterienzellschubstanz zuzuordnen sein. Im Flachmeer kann folglich der Meeresboden als primärer Standort der heterotrophen Bakterien betrachtet werden, von dem, wegen der intensiven Durchmischungsmöglichkeit, sekundär die Besiedlung des Wassers hauptanteilig erfolgt.

Im Küstenbereich ist andererseits eine wesentliche Beeinflussung der marinen Bakterienpopulation durch die vom Land eingeschwemmten terrestrischen Bakterien zu erwarten. Theoretisch könnten die Bakterienmengen, die von dicht besiedelten Ländern mit Flüssen starker Wasserführung dem Meer zugeleitet werden, schon innerhalb eines Tages im Wasser von Flachmeeren Keimdichten bewirken, die denen der natürlichen marinen Bakterienpopulation nahe kämen (ZOBELL 1958). Abgesehen von den Ursachen, die das Absterben oder Überleben dieser Bakterien terrestrischer Herkunft im Meer bewirken, wird für die rapide Verminderung dieser Organismen im Wasser der Mündungsgebiete und des Küstenbereiches dem Faktor der Sedimentation Bedeutung zugemessen (WEISS 1951). Auch von diesem Gesichtspunkt her ist es erforderlich, bei einer Aufnahme der Bakterienbestandszahlen die des Meeresbodens mit einzubeziehen.

Um einen Überblick über die quantitative Verteilung heterotropher mariner und „terrestrischer“ Bakterien im Mündungsgebiet der Weser und in der südlichen Nordsee zu erhalten, wurden aus Wasser- und Sedimentproben von acht Stationen eines Schnittes von Tonne K in der Außenweser bis 8 sm NW Helgoland mit Hilfe der indirekten Methode, also nach Züchtung der Bakterien in verschiedenen Kulturmedien, die Bakterienzahlen ermittelt. Über die Ergebnisse dieser Untersuchung, für welche die Probenentnahmen und -verarbeitungen am 21. und 22. Juli 1966 von und an Bord des Forschungskutters „Victor Hensen“ erfolgten, wird hier berichtet. Weiter wurden einige experimentell-ökologische Untersuchungen über das Verhalten von limnischen Bakterien im Meerwasser durchgeführt. Ausgehend von der Beobachtung, daß die mit den Flüssen fortlaufend ins Meer gespülten Süßwasserbakterien zahlenmäßig einer stärkeren Abnahme pro Volumen Wasser unterliegen, als sie der Verdünnungsrate entspricht, wurden Versuche angesetzt, in denen geprüft werden sollte, inwieweit die räumliche Verdünnung der „terrestrischen“ Bakterienmasse im Meerwasser eine entwicklungsphysiologische Auswirkung auf die Bakterienpopulation zur Folge hat, das heißt, ob zwischen dem Entwicklungsvermögen limnischer und mariner Bakterien Unterschiede bestehen, wenn man sie in Abhängigkeit von der Zelldichte in natürlichem Meerwasser kultiviert, welches für das Experiment zuvor durch Filtration entkeimt wurde.

METHODIK

Die Wasserproben wurden mit einem modifizierten Wasserschöpfer nach COBET unter Verwendung steriler Neoprene-Gummibälle jeweils aus drei Tiefen – 1 m unter Wasseroberfläche, etwa 1 m über Boden und aus der Mitte der Wassersäule – ent-

nommen. Der Boden wurde mit einem VAN-VEEN-Greifer ($1/10 \text{ m}^2$) geholt. Die anschließende Entnahme der Sedimentprobe, etwa 20 cm^3 , erfolgte unter sterilen Vorichtsmaßnahmen nur aus den ersten 2 cm der Oberflächenschicht. Jeweils 1 cm^3 des gewonnenen Materials gelangte zur Weiterverarbeitung; Schütteln mit 100 ml sterilem Meerwasser in 200-ml-Flaschen und Weiterverdünnen in mit Meerwasser beschickten Röhrchen. Vor Anwendung des Gußplattenverfahrens wurden die Sedimentproben bis 10^{-7} , die Wasserproben bis 10^{-4} verdünnt. Die bakteriologische Aufarbeitung fand unmittelbar nach der Probeentnahme an Bord statt. Vor dem Gießen wurden die Agar-medien bis auf 42° C heruntergekühlt.

Folgende Medien fanden für die Keimzahlbestimmung Verwendung:

- | | |
|---|--|
| <p>(1) Meerwassernähragar nach ZOBELL (im folgenden als SWA bezeichnet):</p> <p>5 g Difco-Bacto-Peptide 1 g Difco-Bacto-Yeast-Extract 15 g Difco-Bacto-Agar 10 mg Eisen-III-phosphat + $4 \text{ H}_2\text{O}$ 750 ml gealtertes Meerwasser (32 S ‰) 250 ml Aqua destillata pH 7,6</p> | <p>(2) Meerwassernähragar nach ZOBELL (nachstehend als SWA-Thio bezeichnet) mit zusätzlich 1 g Natriumthioglykolat, pH 7,6</p> <p>(3) Bouillonagar (nachstehend als BA bezeichnet):</p> <p>8 g Difco-Bacto-Nutrient Broth 15 g Difco-Bacto-Agar 1000 ml Aqua destillata pH 6,8</p> |
|---|--|

Die Auszählung der gebildeten Kolonien erfolgte nach sieben-, vierzehn- und einundzwanzigtägiger aerober Incubation bei 20° bis 22° C .

Zur Unterscheidung der marinen und terrestrischen Bakterien ist es üblich, bei der Keimzahlbestimmung Meerwassermedium für die eine Gruppe und Süßwassermedium für die andere Gruppe heterotropher Organismen zu verwenden, in diesem Fall SWA und BA, weil die Erfahrung zeigt, daß bei der ersten Züchtung, wie sie die Bakterienzahlbestimmung auf indirektem Wege darstellt, obligat marine Bakterien nicht auf Süßwassermedium zur Entwicklung gelangen, insbesondere nachdem im Gußplattenverfahren eine Vereinzelung der Zellen erfolgt ist. Andererseits wird ein Teil der Bakterien terrestrischer Herkunft auch auf Meerwasseragar zur Entwicklung kommen, da für die Süßwasserformen möglicherweise hemmende Prinzipien des Meerwassers durch die anderen Komponenten des Mediums in ihrer Wirkung aufgehoben werden. Auf Meerwassermedium werden wir daher Bakterienzahlen sowohl von marinen als auch Anteile von terrestrischen Formen ermitteln; auf Süßwassermedium dagegen nur Bakterienarten, die nicht auf Meerwasser angewiesen sind, also terrestrische Formen. Das hier benutzte Süßwassermedium (BA) entspricht wahrscheinlich noch nicht den optimalen Bedingungen und wurde für weitere Untersuchungen geändert.

Außer mit diesen beiden Nährböden wurden Bakterienzahlen mit einem Meerwasseragar ermittelt, der reduzierende SH-Gruppen enthielt (SWA-Thio). In anderen Untersuchungen wurden Bakterien aus Meerwasser isoliert, die ein ausgesprochen

mikroaerophiles Verhalten zeigten (WEYLAND 1966), nur in der Tiefe des Meerwasseragars zur Kolonienbildung fähig waren und ziemlich regelmäßig in Wasser von 8 bis 10 m NW Helgolands gelegenen Stationen nachgewiesen werden konnten. Durch Anwendung des Kulturmediums mit reduzierenden Bedingungen sollte herausgefunden werden, ob sich die hiermit ermittelten Werte der Bakterienzahlen wesentlich von den auf Meerwasseragar gefundenen unterscheiden und ob möglicherweise größere Anteile der mikroaerophilen Population zusätzlich miterfaßt werden.

Für die Laboratoriumsversuche wurden einige marine Bakterienstämme – im folgenden mit M1 bis M7 bezeichnet – aus Meerwasserproben vom 21. und 22. Juli 1966 von Meerwassernährboden (SWA) isoliert. Zur Auswahl gelangten Stämme, die sich kulturell oder im mikroskopischen Bild unterschieden. Sie wurden auf SWA reinzuechtet. Zum anderen sind einige limnische Bakterienstämme – im folgenden mit G1 bis G5 bezeichnet – aus Wasserproben der Geeste, die in Bremerhaven in die Weser mündet, auf Süßwasseragar isoliert worden. Die Wasserproben wurden am 5. August 1966 außerhalb des Stadtbereiches von Bremerhaven, 21 km flußaufwärts aus 2 m Tiefe entnommen. Der zur nachfolgenden Reinzüchtung benutzte Süßwasseragar wurde mit Geestewasser angesetzt, das der gleichen Entnahmestelle entstammte. Abgesehen von der Art des Wassers enthielt der Süßwasseragar die gleichen Komponenten wie der zur Reinzüchtung der marinen Organismen benutzte Meerwasseragar.

Nach Reinzüchtung der benötigten Organismen in den beschriebenen festen Medien wurden die Bakterienstämme für 24 Stunden in Meerwassernährlösung bzw. Süßwassernährlösung, dann für weitere 24 Stunden in verdünnten Nährlösungen, die nur $\frac{1}{10}$ der Konzentration an organischen Stoffen enthielten, vorgezuechtet. In diesen Kulturen wurden anschließend die erreichten Zelldichten mittels der Plattengußmethode bestimmt, um die erforderlichen Einsaatmengen für die endgültigen Meerwasserversuche festzulegen. Die Kulturen wurden bis zum Vorliegen der Zellzahlergebnisse 4 Tage bei 5° C kaltgehalten, um eine nennenswerte weitere Vermehrung zu verhindern. Die gewünschten Anfangszelldichten in den Meerwasserkulturen sollten sich jeweils (a) um einige tausend Zellen/ml und (b) um nur etwa 10 Zellen/ml Meerwasser bewegen. Die vor der Einsaat notwendigen Verdünnungen wurden mit sterilem Meerwasser vorgenommen, und zwar hier erstmals sowohl bei den marinen als auch bei den limnischen Bakterienarten. Unmittelbar nach dem Einimpfen in das Meerwasser wurden Proben entnommen, um die reale Anfangskeimdichte, wieder auf indirektem Wege, festzustellen. Diese Auszählungen, für die marinen Bakterien auf SWA und für die limnischen Bakterien auf Süßwasseragar, erfolgten nach 14 Tagen. In den Tabellen werden sie als „Einsaat“ bezeichnet. 72 Stunden nach dem Beimpfen des Meerwassers wurde auf dem gleichen Wege ermittelt, ob und inwieweit eine Vermehrung erfolgte. Eine dritte Zellzahlbestimmung wurde nach 12 Tagen vorgenommen. Nachstehend sind die in den Laboratoriumsversuchen benutzten Kulturmedien, abgesehen von dem durch Filtration entkeimten Meerwasser (siehe unten), aufgeführt:

(a) Meerwassernähragar = SWA
(siehe oben)

(b) Meerwassernährlösung, wie SWA, jedoch ohne Agar, pH 7,5

- | | |
|--|---|
| <p>(c) Verdünnte Meerwassernährlösung:</p> <p>0,5 g Difco-Bacto-Peptone 0,1 g Difco-Bacto-Yeast-Extract 10 mg Eisen-III-phosphat + 4 H₂O 750 ml gealtertes Meerwasser (32 S ‰) 250 ml Aqua destillata pH 7,5</p> | <p>(e) Süßwassernährlösung, wie Süßwassernähragar, jedoch ohne Agar, pH 7,5</p> |
| <p>(d) Süßwassernähragar:</p> <p>5 g Difco-Bacto-Peptone 1 g Difco-Bacto-Yeast-Extract 15 g Difco-Bacto-Agar 10 mg Eisen-III-phosphat + 4 H₂O 750 ml Flußwasser, aus der Geeste 250 ml Aqua destillata pH 7,5</p> | <p>(f) Verdünnte Süßwassernährlösung:</p> <p>0,5 g Difco-Bacto-Peptone 0,1 g Difco-Bacto-Yeast-Extract 10 mg Eisen-III-phosphat + 4 H₂O 750 ml Flußwasser, aus der Geeste 250 ml Aqua destillata pH 7,5</p> |

Außer den isolierten und vorgezüchteten Reinkulturen wurde auch rohes Flußwasser, als natürliches Bakteriengemisch, unter Berücksichtigung ähnlicher Anfangszellkonzentrationen im Meerwasser auf Vermehrung bzw. Überleben der limnischen Bakterienpopulation geprüft. Das Flußwasser wurde 5 Tage vor dem Versuchsbeginn aus der Geeste an der oben bezeichneten Stelle unter sterilen Bedingungen entnommen, die Keimzahl ermittelt (in der hierfür erforderlichen Zeit wurde das Wasser 4 Tage bei 5° C gehalten) und hiervon 6 verdünnte Proben dem sterilfiltrierten Meerwasser zugegeben. Die Anfangskeimzahlen nach der hohen bzw. geringen Einsaat sind in Tabelle 4 wiedergegeben. Die Bakterienzahlen dieser Mischpopulation wurden wie bei den anderen limnischen Bakterien in Süßwasseragar bestimmt.

Das als Versuchsmedium benutzte Meerwasser wurde am 30. August 1966 aus Oberflächenwasser bei der Ansteuerungstonne Helgoland geschöpft und einen Tag später durch Membranfilter mit einer durchschnittlichen Porenweite von 0,1 Mikron entkeimt. Dazu wurden Membranfilter der Membranfiltergesellschaft Göttingen, Type MF 10, 150 mm Durchmesser, in Verbindung mit einem Millipore-Filtergerät, 142 mm Durchmesser, das mit einer Teflonschicht überzogen ist, gebraucht. Die Filtration erfolgte direkt in die Versuchsgefäße: 150 ml Wasser pro 250-ml-Enghals-Steilbrustflasche. Der Salzgehalt des Wassers war 30,8 S ‰. Zur Kennzeichnung des Gehaltes an oxydierbarer Substanz wurde der Kaliumpermanganatverbrauch bestimmt. Er betrug nach der Filtration 15,2 mg KMnO₄/l. Im Vergleich hierzu hatte das Geestewasser, aus dem die limnischen Bakterien isoliert wurden, < 1 S ‰ und einen Kaliumpermanganatverbrauch von 80,3 mg KMnO₄/l. Der Versuch wurde bei Zimmertemperatur, 20° bis 22° C, durchgeführt. Die Meerwasserkulturen wurden während der Versuchszeit mit einer Alu-Folie gegen Lichteinwirkung abgedeckt und täglich mehrmals mit der Hand vorsichtig geschüttelt. Rührung erfolgte nicht; der Verschluss der Kulturgefäße bestand aus Zellstoff.

Die Beimpfung des sterilfiltrierten Meerwassers, und damit der Versuchsbeginn, erfolgte am 5. September 1966.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Standortuntersuchungen

In Abbildung 1 ist eine Übersicht über die Positionen der Stationen gegeben, auf denen während einer Fahrt in drei verschiedenen Wassertiefen und in der obersten Sedimentschicht die Anzahlen der heterotrophen Bakterien mit Hilfe von drei unter-

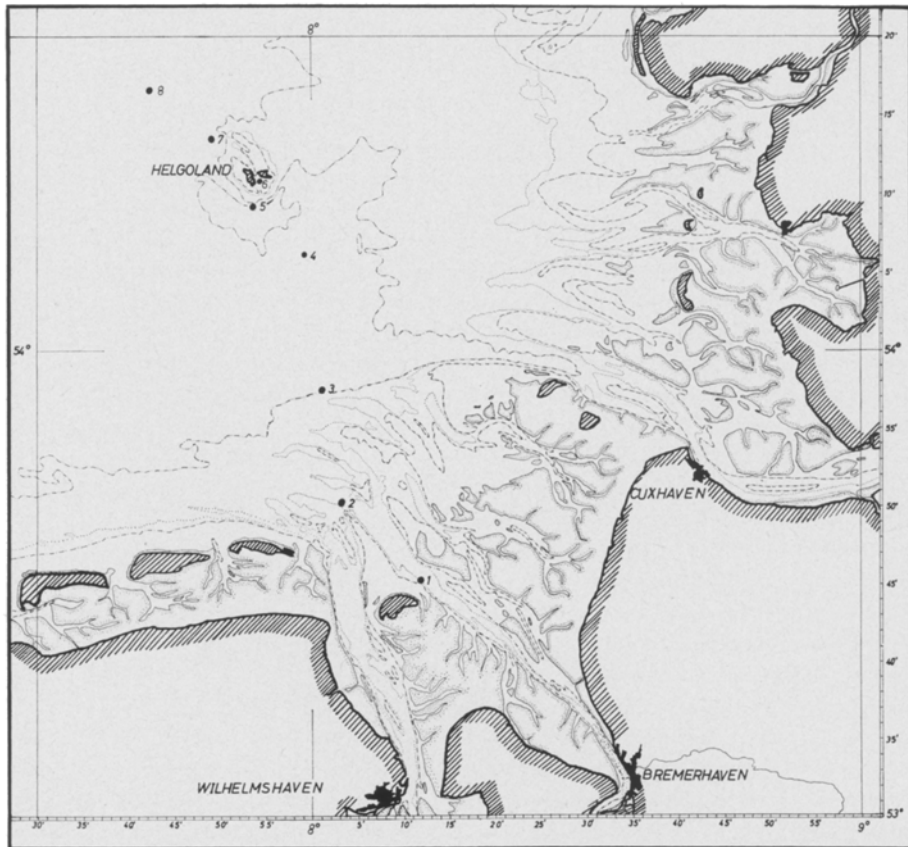


Abb. 1: Skizze der Deutschen Bucht. Die mit den Zahlen 1 bis 8 bezeichneten Punkte sind die Stationen, auf denen Wasser- und Bodenproben für bakteriologische Untersuchungen genommen worden sind

schiedlichen Kulturmedien ermittelt wurden. Die Stationen verteilen sich auf einen Schnitt zwischen der Außenweser und einer Position, die 8 sm NW von Helgoland und etwa 50 km von der Küste entfernt ist. In den meisten Fällen stimmen die Stationen mit der Lage von Tonnen überein:

| Station | Position | Entfernung von Bremerhaven in km (Luftlinie) |
|---------|-----------------------------------|--|
| 1 | Tonne K | 34 |
| 2 | Tonne D | 47 |
| 3 | Tonne Nordergründe | 59 |
| 4 | Tonne H 2 | 73 |
| 5 | Ansteuerungstonne Helgoland | 81 |
| 6 | Zwischen Helgoland Düne und Insel | 83 |
| 7 | Tonne Nathurn | 90 |
| 8 | 3 sm NW Nathurn | 99 |

Über die Wassertiefen, die Tiefen, aus denen die Proben genommen wurden, und über die Art des Sediments der gewonnenen Bodenproben unterrichtet Tabelle 1. Hier sind auch die absoluten Zahlen der mit dem Meerwassermedium (SWA) ermittelten Bakteriendichten und im Vergleich hierzu die relativen Werte der mit den beiden anderen Medien (BA und SWA-Thio) erfaßten Bakterienhäufigkeit wiedergegeben. Aus den ersteren lassen sich die erheblichen Unterschiede zwischen den Bakteriendichten im freien Wasser und jenen in der oberen Sedimentschicht ablesen. Im freien Wasser bewegen sie sich zwischen einhundert und einigen tausend Bakterien. Vorwiegend sind es einige hundert Bakterien pro ml Meerwasser. Nur in dem relativ flachen Wasser der Station 6 zwischen Helgoland Düne und Insel wurden um eine Zehnerpotenz höhere Werte gefunden. Hier und bei Station 3 lagen signifikante Unterschiede zwischen den Bakterienzahlen im Wasser der verschiedenen Schichten vor. Im Wasser der übrigen Stationen verteilten sich die Bakterien zu etwa gleichen Anteilen auf die geprüften Tiefen; eine geringe Verminderung der Werte 1 m über dem Boden ist gegenüber den Werten 1 m unter der Wasseroberfläche erkennbar.

Die Stationen dieses Schnittes weisen hinsichtlich ihrer Bakteriendichte im freien Wasser keine Abhängigkeit von der Entfernung zur Küste auf. Die Bakteriendichten von den Stationen 1 und 2 sowie 7 und 8 sind ähnlich hoch.

Die Bakteriendichten im Sediment unterscheiden sich von den Zelldichten im Wasser um einige Zehnerpotenzen. Hier wurden mit dem Meerwassermedium hunderttausend bis mehrere Millionen Bakterien/cm³ der obersten Sedimentschicht gezählt. Diese vergleichsweise hohen Dichten sind in erster Linie auf die große Oberfläche der festen Phase und die höhere Konzentration an Nährstoffen zurückzuführen. Eine Gegenüberstellung der Bakterienmasse in der gesamten Wassersäule zu der im Boden läßt sich mit diesen Daten nicht durchführen, weil nur die oberste Sedimentschicht berücksichtigt wurde. Die gefundenen Bakterienzahlen sind zudem begrenzt durch die Art der Aufbereitungsmethode des Sediments. Durch Behandlung mariner Sedimente mit geeigneten Homogenisatoren, z. B. mechanischen Hochfrequenzgeräten, durch die eine maximale Aufteilung der Bakterienaggregate im Boden erfolgt, werden bei der indirekten Bakterienzahlbestimmung gewöhnlich noch höhere Werte gefunden (GUNKEL 1964). Weiter ist zu berücksichtigen, daß beim Hieven der Bodenprobe mit dem VAN-VEEN-Bodengreifer Teile der oberen Sedimentschicht ausgespült werden. Das scheint

Tabelle 1

Quantitative Verteilung der heterotrophen Bakterien, die mit drei unterschiedlichen Medien im Wasser und in der oberen Sedimentschicht auf den 8 Stationen ermittelt wurden. Die in den einzelnen Proben mittels Süßwassermedium (BA) sowie Thioglykolat-Meerwassermedium (SWA-Thio) gefundenen Keimzahlen sind jeweils in Prozent der mit Meerwassermedium (SWA) erfaßten Bakterien wiedergegeben

| Art des Sedimentes | Tiefe (m) | Bakterienzahl/ml | | |
|----------------------|--------------|------------------|----------------------|-------------------------------|
| | | SWA | BA in % SWA = 100 | SWA-Thio in % SWA = 100 |
| Station 1 | 1 | 700 | 12 | 270 |
| | 7 | 2 000 | 4 | 43 |
| | 14 | 1 100 | 195 | 372 |
| Schlicksand | 15 | 6 187 000 | 9 | 250 |
| Station 2 | 1 | 600 | 13 | 48 |
| | 9 | 330 | 39 | 279 |
| | 18 | 520 | 10 | 187 |
| Sand | 19 | 6 100 | 69 | 145 |
| Station 3 | 1 | 1 200 | 7 | 10 |
| | 14 | 4 100 | 7 | 24 |
| | 27 | 160 | 13 | 66 |
| Schlicksand | 28 | 716 100 | 8 | 81 |
| Station 4 | 1 | 900 | 9 | 300 |
| | 16 | 300 | 3 | 32 |
| | 32 | 580 | 164 | 35 |
| Schlick | 33 | 6 400 000 | 0,4 | 13 |
| Station 5 | 1 | 440 | 30 | 48 |
| | 27 | 150 | 10 | 70 |
| | 54 | 180 | 33 | 151 |
| heterogener Grobsand | 55 | 102 400 | 7 | 21 |
| Station 6 | 1 | 5 000 | 4 | 800 |
| | 4 | 15 000 | 2 | 63 |
| | 7 | 14 000 | 2 | 56 |
| heterogener Grobsand | 8 | 790 000 | 2 | 39 |
| Station 7 | 1 | 1 080 | 4 | 41 |
| | 12 | 850 | 2 | 25 |
| | 23 | 910 | 13 | 45 |
| Schlicksand | 24 | 667 900 | 7 | 66 |
| Station 8 | 1 | 230 | 11 | 182 |
| | 15 | 340 | 9 | 69 |
| | 29 | 160 | 5 | 162 |
| Schlicksand | 30 | 1 014 000 | 5 | 256 |

insbesondere bei Sandböden ins Gewicht zu fallen. Im Boden der Station 2, der aus reinem Sand besteht, wurde eine auffallend geringe Bakteriendichte ermittelt. Dieser Wert erscheint gegenüber denen der anderen Sedimente auch dann als Ausnahme, wenn man einen sehr geringen Gehalt des Sandes an organischer Substanz in Betracht zieht, denn die hier ausgewiesene Bakteriendichte liegt noch unterhalb der maximal im Wasser gefundenen (Station 6). Die höchsten Bakterienzahlen wurden in den an organischer Substanz reichen Sedimenten der Stationen 1 und 4 gefunden. Sie übertreffen den im Sand der Station 2 ermittelten Wert um drei Größenordnungen.

Wie bei den Bakteriendichten im freien Wasser war auch hier keine Beziehung zwischen der Bakteriendichte der Sedimente und der Lage der Stationen zur Küste erkennbar. Die Bakterienzahlen verringerten sich nicht mit zunehmender Entfernung vom Land.

Im Vergleich zu diesen mit Meerwasseragar (SWA) gewonnenen Bakterienzahlen wurden mit Süßwasseragar (BA) an den gleichen Entnahmestellen sehr viel weniger Bakterien erfaßt. Zahlenmäßig erreichten die terrestrischen Formen in den meisten Proben nur Bruchteile des Bestandes der marinen Bakterienpopulation. Setzt man die Zahl der jeweils aus den einzelnen Proben auf SWA gewachsenen Bakterien gleich 100, so kamen aus den Sedimentproben, mit einer Ausnahme, stets weniger als 10 % Bakterien auf BA zur Entwicklung. Auffallend ist einerseits der hohe Wert – nahezu 70 % – im Sand der Station 2, die im Vergleich zu anderen Stationen die wenigsten Bakterienzahlen aufwies, und andererseits der sehr geringe Wert von 0,4 % im Schlick der Station 4, wo die höchsten Bestandszahlen – 6,4 Millionen Bakterien/ml Sediment – mit SWA ermittelt wurden. Weiterhin wurden in einzelnen Wasserproben, die 1 m über dem Boden auf den Stationen 1 und 4 entnommen waren, mit BA mehr Bakterien ermittelt als mit SWA. Das erscheint um so bemerkenswerter, weil die zugehörigen Bodenwerte wieder sehr gering sind. Inwieweit diesen Befunden Bedeutung zuzumessen ist, kann nur in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Im Durchschnitt wurden in den einzelnen Sedimentproben, mit Ausnahme von Station 2, geringere Anteile der Bakterienpopulation durch die terrestrischen Typen eingenommen als in den einzelnen Wasserproben. Unterstellt man eine starke Sedimentation der eingeschwemmten terrestrischen Bakterienmassen im Ästuar und dessen Vorfeld, so könnten jedoch höhere Anteile der terrestrischen Flora in den Sedimenten als im Wasser erwartet werden. Insbesondere sollte man eine deutliche Verringerung der Anteile der terrestrischen Formen an der Bakterienpopulation der Sedimente mit fortschreitender Entfernung von der Küste erwarten. Eine derartige Tendenz zeichnet sich jedoch hier nicht ab.

Ein ganz anderes Bild der Bakterienverteilung geben die Werte wieder, die mit dem Meerwassermedium erhalten wurden, das reduzierende SH-Gruppen enthielt (SWA-Thio). Hiermit wurden in den Wasser- und Sedimentproben der Stationen 1, 2 und 8, aber auch im Wasser anderer Stationen, mehr Bakterien erfaßt als mit dem Meerwassermedium nach ZOBELL. Diese Werte lagen um das 2- bis 3fache höher als die SWA-Zahlen. Hier können zusätzlich Bakterienformen erfaßt worden sein, die auf reduzierende Bedingungen angewiesen sind. Zum anderen kann ein Schutzeffekt der Thio-Verbindung gegen mögliche Hitzeschädigungen der Bakterien beim Plattengußverfahren wirksam geworden sein. Da viele Proben bei Anwendung von SWA-Thio

jedoch auch geringere Bakterienzahlen auswiesen als bei Verwendung von SWA, ist eine Erklärung der teilweise gesteigerten Bakterienzahlen im letzteren Sinne wenig überzeugend. Wahrscheinlicher ist, daß örtlich verschiedene physiologische Bakteriengruppen vorlagen, deren Entwicklung durch die Thioverbindung gefördert oder gehemmt wurde. Eine der geringsten mit SWA-Thio ermittelten Bakterienzahlen wurde entgegen der Erwartung im Schlicksediment, das sich gewöhnlich gegenüber anderen Sedimentarten durch ein negatives Redoxpotential unterscheidet, ausgewiesen. Die höheren Werte wurden sowohl in den Proben der landnahen als auch in jenen der ca. 50 km von der Küste entfernten Station gefunden.

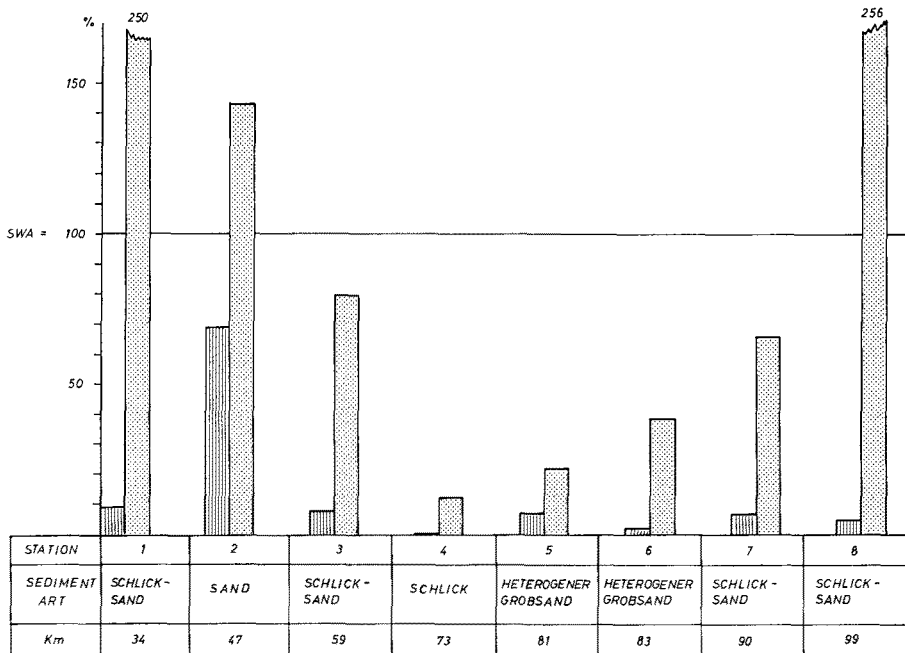


Abb. 2: Bakterien in den Sedimentproben. Anteile der mit Süßwasseragar (BA = linierte Säulen) sowie mit Thioglykolat-Meerwasseragar (SWA-Thio = punktierte Säulen) ausgewiesenen Bakterien in Prozent der jeweils bei den einzelnen Stationen mit Meerwasseragar (SWA = 100) erfaßten Bakterien. Kilometer-Angaben sind die Luftlinie-Entfernungen der Stationen von Bremerhaven

In den folgenden Abbildungen sind die mit den drei verschiedenen Medien ermittelten Bakteriendichten der oberen Sedimentschicht einander gegenübergestellt. Pro hundert marine Bakterien (Abb. 2) weisen sich in sieben von acht Stationen weniger als zehn Bakterien terrestrischer Herkunft aus. Ihr Anteil bleibt auf diesem Schnitt bei den einzelnen Stationen nahezu gleich hoch. Nimmt man an, daß ein Großteil der vom Land eingeschwemmten Bakterien quantitativ höhere Nährstoffansprüche hat als marine Bakterien, so erscheinen der hohe terrestrische Anteil im Sand der Station 2 und der verschwindend geringe Anteil im Schlick der Station 4 widersinnig. Sofern diese Verhältnisse nicht auf unkontrollierbaren Bedingungen des Bestimmungsverfahrens beruhen, kann hierfür noch keine Erklärung gegeben werden.

Ein ähnliches Ergebnis, das im Widerspruch zu den physiko-chemischen Bedingungen dieser beiden Sedimente steht, lieferte das durch Natriumthioglykolat reduzierend wirkende Meerwassermedium. Ungeachtet dieser Relation wird angenommen, daß die in den einzelnen Sedimenten gesteigerten oder verminderten Bakterienzahlen – gegenüber der zum Vergleich dienenden Bakterienpopulation, die mit SWA ermittelt wurde – ursächlich durch das im SWA-Thio gesenkte Redoxpotential bedingt sind.

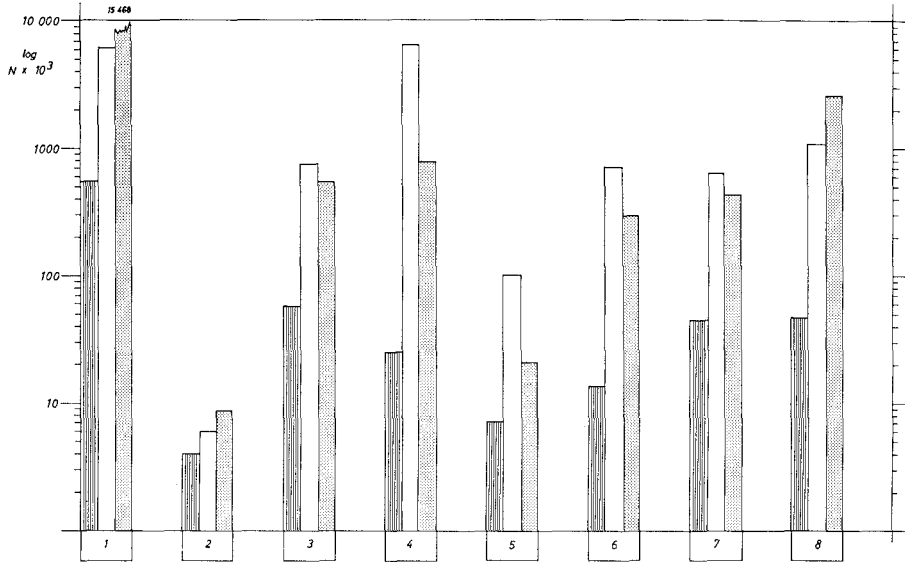


Abb. 3: Bakteriendichten in den Sedimentproben. Absolute Bakterienzahlen (in Tausend) pro cm^3 Sediment. Auf den 8 Stationen jeweils bestimmt mit Meerwasseragar (SWA = weiße Säulen), Süßwasseragar (BA = linierte Säulen) und Thioglykolat-Meerwasseragar (SWA-Thio = punktierte Säulen)

Die Darstellung der absoluten Bakterienzahlen in den Sedimentproben (Abb. 3) zeigt, daß es sich bei den in Abbildung 2 als geringe Anteile ausgewiesenen terrestrischen Bakterien (BA) um nicht unwesentliche Mengen handelt. Im Sediment der landnahen Station 1 wurden $500\,000/\text{cm}^3$ gezählt, in jenen der seewärts gelegenen Stationen 7 und 8 sind es noch $50\,000$ Bakterien, die aber keine Dichteverminderung gegenüber allen übrigen Stationen bedeuten.

Die auf diesem Schnitt ermittelten Werte deuten eher darauf hin, daß diese auf Süßwassermedium nachweisbaren Mikroben auch im übrigen Meeresgebiet in nennenswerter Zahl zu finden sein werden, sich wahrscheinlich auch im marinen Raum vermehren und nicht nur kürzere oder längere Zeit hier überleben können.

Inwieweit die hier getroffene Unterscheidung zwischen marinen Bakterien und Bakterien terrestrischer Herkunft auf Grund der im Zählverfahren angewandten Meerwasser- bzw. Süßwassermedien gerechtfertigt ist, werden zukünftige Versuche eindeutiger zu klären haben.

Laborversuche

Vorstehende Daten zeigen, daß im Vorfeld des Weserästuars sowohl im Wasser als auch im Sediment nur relativ geringe Anteile einer Mikroflora nachgewiesen werden konnten, die auf Süßwasseragar zur Entwicklung gelangen. Bei Untersuchungen im Wasser der Kieler Förde konnte RHEINHEIMER (1966) im Bereich von Abwassereinleitungen sehr hohe Anteile dieser Bakterien feststellen, die sich seewärts sehr schnell verringerten. Unterstellt man, daß hier auch im Sediment ähnliche Verhältnisse vorlagen, dann kann hieraus geschlossen werden, daß ein Großteil der in den marinen Bereich eingeschwemmten Bakterien entweder abstirbt oder in der Reproduktionsrate stärker gehemmt wird, als sie zur Kompensation der Verbrauchsrate durch tierische Organismen notwendig ist. Über den Prozeß dieser Populationsänderung ist ursächlich noch wenig bekannt. KETCHUM, AYERS & VACCARO (1952) haben im Raritan River am Beispiel von Abwasserbakterien fäkalen Ursprungs versucht, die Wirkung der Faktoren quantitativ zu erfassen, welche die starke zahlenmäßige Abnahme der coliformen Bakterien im Wasser des tidenbewegten Mündungsgebietes beeinflussen können.

Sie schließen aus ihren Untersuchungen, daß dem Verbrauch durch Zooplankter und der hohen Verdünnung des Flußwassers im Meerwasser per se nur geringe Bedeutung, der „bakteriziden Wirkung des Meerwassers“ (ZOBELL 1936, 1946) jedoch der höchste Einfluß zuzuordnen ist.

In den nachstehend beschriebenen Versuchen sollte ermittelt werden, wie sich limnische Bakterien verhalten, wenn man sie – entsprechend der hohen Verdünnung im Ästuar – in stark verringerter Dichte in natürliches Meerwasser einschwemmt. Dafür mußte steriles Meerwasser verwendet werden. Die Entkeimung erfolgte durch Filtration, um eine chemische Veränderung des Wassers und eine Anreicherung an organischen Stoffen, was die Folge einer Sterilisation rohen Meerwassers mittels Hitze gewesen wäre, auszuschließen. Als Kontrollen wurden Vergleichsuntersuchungen mit Bakterien mariner Herkunft durchgeführt. Sämtliche als Reinkultur in den Versuch genommenen Bakterien, die marinen sowohl als auch die limnischen, erwiesen sich als Gram-negativ. Zu den Einzelheiten der Versuchsdurchführung sei hier nochmals auf die Ausführungen zur Methodik verwiesen.

In Tabelle 2 ist dargestellt, in welchen Zellkonzentrationen die marinen Bakterien in Meerwasser eingesät wurden und wie sich deren Entwicklung nach 72 Stunden gestaltete. Von sieben verschiedenen Bakterienstämmen mariner Herkunft konnte der größte Teil eine hohe Population bilden, und zwar nicht nur in den Ansätzen, die eine relativ hohe Anfangskeimzahl enthielten, sondern auch dort, wo pro ml Meerwasser nur einzelne Keime am Beginn des Versuchs vorhanden waren.

Bei den limnischen Bakterienarten (Tab. 3) kam es in Einzelfällen nur zu einer nennenswerten Entwicklung, wenn eine hohe Einsaatdichte vorlag. Wenige Zellen pro Volumen waren nur zu einer geringen Zellvermehrung fähig. In Mischkultur mit schnellwüchsigen marinen Bakterien kann angenommen werden, daß diese Bakterienarten, die in hoher Verdünnung im Meerwasser eine sehr geringe Vermehrungsrate aufweisen, sehr schnell überwachsen werden und keine vergleichbare Populationsdichte ausbilden können. Zwei der limnischen Bakterienstämme starben ab, auch nach höherer Einsaat.

Tabelle 2

Entwicklung von 7 Bakterienstämmen mariner Herkunft im Meerwasser nach hoher und geringer Einsaat

| Meeres- bakterien- stamm | Bakterienzahl/ml Meerwasser | |
|--------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| | Einsaat | 72 h |
| M 1 | 900 9 | 700 8 |
| M 2 | 2 200 6 | 3 200 000 2 400 000 |
| M 3 | 20 000 17 | 680 000 640 000 |
| M 4 | 2 200 5 | 650 000 520 000 |
| M 5 | 3 900 10 | 90 000 50 |
| M 6 | 16 000 5 | 2 300 000 43 |
| M 7 | 60 000 51 | 1 300 000 1 900 000 |

Tabelle 3

Entwicklung von 5 Bakterienstämmen limnischer Herkunft im Meerwasser nach hoher und geringer Einsaat

| Süßwasser- bakterien- stamm | Bakterienzahl/ml Meerwasser | |
|-----------------------------------|-----------------------------|------------------|
| | Einsaat | 72 h |
| G 1 | 11 000 16 | 0 0 |
| G 2 | 1 100 12 | 160 000 350 |
| G 3 | 5 300 8 | 0 0 |
| G 4 | 3 600 4 | 880 000 5 800 |
| G 5 | 12 000 11 | 34 000 70 |

Eindeutiger war das Verhalten, wenn ein natürliches Gemisch limnischer Bakterien dem Meerwasser zugesetzt wurde (Tab. 4). Hier kamen zwar alle Proben bei höherer Einsaat zur Entwicklung, wenngleich auch nicht die Populationsdichten erreicht wurden wie im Durchschnitt von den marinen Stämmen. Geringe Einsaaten vermochten sich jedoch hier nicht durchzusetzen.

Tabelle 4

Entwicklung einer natürlichen Mischpopulation limnischer Bakterien im Meerwasser nach Einsaat von 6 Flußwasserproben in hoher und geringer Verdünnung

| Probe | Bakterienzahl/ml Meerwasser | |
|-------|-----------------------------|---------|
| | Einsaat | 72 h |
| 1 | 2200 | 15 000 |
| | 12 | 7 |
| 2 | 2100 | 50 000 |
| | 13 | 32 |
| 3 | 2500 | 70 000 |
| | 17 | 0 |
| 4 | 3000 | 260 000 |
| | 13 | 140 |
| 5 | 2000 | 110 000 |
| | 10 | 3 |
| 6 | 2600 | 800 000 |
| | 11 | 60 |

Die nach 72 Stunden ermittelten Bakterienzahlen stellen jeweils die maximal erzielten Populationsdichten dar. In späteren Keimzahlbestimmungen blieben die Werte entweder konstant oder nahmen wieder mehr oder weniger stark ab.

Diese Vergleichsuntersuchungen weisen ein unterschiedliches Entwicklungsvermögen geringer Zelldichten von Bakterien mariner oder limnischer Herkunft im Meerwasser aus. In höherer Zelldichte können sich auch limnische Bakterien im Meerwasser vermehren. Hier macht sich dann ein Einfluß des Salzgehaltes, sofern dieser überhaupt für eine Vermehrungshemmung verantwortlich gemacht werden kann, nicht bemerkbar.

Die Versuchsbedingungen können als sehr extrem gewählt betrachtet werden, da die limnischen Bakterien ohne kontinuierlichen Übergang unmittelbar hochsalinem Meerwasser ausgesetzt wurden, andererseits standen sie in dem filtrierten Meerwasser nicht der konkurrierenden marinen Flora gegenüber und wurden bei optimalen Temperaturen kultiviert. Versuche mit Mischkulturen von marinen und limnischen Bakterien sind wegen der sehr aufwendigen Differenzierungsverfahren bei den Keimzahlbestimmungen jedoch schwer durchführbar. Eine einfache Unterscheidung mit Meerwasser- oder Süßwassermedien ist in langzeitigen Versuchen nicht immer möglich. Im übrigen sind diese dynamischen Vorgänge in experimentell-ökologischen Untersuchungen wahrscheinlich mit Hilfe von Fließkulturen besser zu verfolgen.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Mit Hilfe von drei verschiedenen Kulturmedien wurden die Dichten heterotropher Bakterien im Wasser und in der oberen Schicht der Bodensedimente auf acht Stationen in der südlichen Nordsee bestimmt.
2. Mit Meerwassermedium wurden im freien Wasser 150 bis 15 000 Bakterien/ml, in den Sedimenten 6000 bis 6 500 000 entwicklungsfähige Bakterien/cm³ ermittelt. Die

- geringste Bakteriendichte in den Sedimenten wurde im Sand, die höchste im Schlick ausgewiesen.
3. Meerwassermedium, das reduzierende SH-Gruppen enthielt, erbrachte aus einem Teil der Wasser- und Sedimentproben höhere Keimzahlen. In einigen Bodenproben stehen die mit Thioglykolat-Meerwassermedium ermittelten Bakteriendichten im Widerspruch zu den physiko-chemischen Bedingungen der Sedimente.
 4. Mit Süßwasseragar wurden im allgemeinen nur Bruchteile der mit Meerwasseragar gewonnenen Bakterienzahlen erfaßt. Mit einer Ausnahme lagen diese Anteile in den Sedimenten unter 10 ‰. In wenigen Proben bodennahen Wassers wurden mit diesem Medium höhere Bakterienzahlen ausgewiesen als mit Meerwasseragar. Die prozentualen Anteile dieser „terrestrischen“ Bakterien waren in den Sedimentproben nicht höher als in den Wasserproben. Mit fortschreitender Entfernung von der Küste verringerten sich die Anteile dieser Formen an der Bakterienpopulation der Sedimente nicht. Deshalb wird angenommen, daß sie ein normaler Bestandteil der Bakterienpopulation der Nordsee sind. Im Sediment einer ca. 50 km von der Küste entfernten Station wurden noch 50 000 Bakterien/cm³ mit Süßwassermedium nachgewiesen. Entgegen unseren Erwartungen war der Anteil dieser Bakterien in einem Sandsediment sehr hoch, in einem Schlicksediment sehr klein.
 5. Im Bereich der untersuchten Stationen war keine Abhängigkeit der Bakteriendichten im Wasser und im Sediment von der Entfernung der Stationen von der Küste erkennbar.
 6. Vergleichsuntersuchungen, in denen Bakterien mariner und limnischer Herkunft in Abhängigkeit von der Zelldichte in natürlichem, durch Filtration entkeimtem Meerwasser kultiviert wurden, wiesen ein unterschiedliches Entwicklungsvermögen der Mikroorganismen aus. Im Gegensatz zu den marinen Arten scheint die Vermehrung limnischer Bakterien besonders stark gehemmt zu werden, wenn diese Bakterienarten in sehr geringer Zelldichte im Meerwasser vorliegen.

Frl. H. SCHAPSKY und Frl. R. MÜLLER danke ich herzlich für ihre gewissenhafte Mitarbeit. Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

ZITIERTE LITERATUR

- GUNKEL, W., 1964. Die Verwendung des Ultra-Turrax zur Aufteilung von Bakterienaggregaten in marinen Proben. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **11**, 287–295.
- KETCHUM, B. H., AYERS, J. C. & VACCARO, R. F., 1952. Processes contributing to the decrease of coliform bacteria in a tidal estuary. *Ecology* **33**, 247–258.
- PRAMER, D., CARLUCCI, A. F. & SCARPINO, P. V., 1963. The bactericidal action of sea water. In: Symposium on marine microbiology. Ed. by C. H. Oppenheimer. C. C. Thomas, Springfield, Ill., 567–571.
- RHEINHEIMER, G., 1966. Einige Beobachtungen über den Einfluß von Ostseewasser auf limnische Bakterienpopulationen. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.* (Sonderbd) **2**, 237–243.
- WEISS, C. M., 1951. Adsorption of *E. coli* on river and estuarine silts. *Sewage ind. Wastes* **23**, 227–237.
- WEYLAND, H., 1966. Untersuchungen über die Vermehrungsrate mariner Bakterien in Seewasser. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.* (Sonderbd) **2**, 245–253.
- ZOBELL, C. E., 1936. Bactericidal action of sea water. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **34**, 113–116.

- 1946. Marine microbiology; a monograph on hydrobacteriology. Chronica botanica Co., Waltham, Mass., 240 pp.
- 1958. Occurrence and fate of coliform bacteria in the sea. *Resúmenes Trab. Congr. Lat.-Am. (Mexico)* 1, 58–69 (zit. nach PRAMER, CARLUCCI & SCARPINO, 1963).

Diskussion im Anschluß an den Vortrag WEYLAND

OVERBECK: Haben Sie verschieden konzentrierte Nährböden verwendet? Bei unseren Arbeiten stellen wir immer wieder fest, daß niedriger konzentrierte (stark verdünnte) Nährböden die höchsten Keimzahlen aufweisen.

WEYLAND: Bei einigen früheren Versuchen hatten wir nicht den Eindruck, daß man von Meerwasserproben höhere Keimzahlen erzielt, wenn der Meerwasseragar niedrigere Peptonkonzentrationen enthält. Die Anwendung von niedriger konzentriertem Meerwasseragar resultierte lediglich in einer Verlangsamung der Kolonienbildung.

MONNIOT: Avez-vous une idée de la répartition des bactéries dans l'épaisseur du sédiment? Les bactéries sont-elles abondantes surtout dans le film de surface ou sont-elles réparties d'une manière homogène dans les premiers centimètres du sédiment?

WEYLAND: Untersuchungen über die Verteilung der Bakterien in den Sedimentschichten habe ich nicht durchgeführt, insbesondere, weil mit dem VAN VEEN-Bodengreifer keine ungestörte, natürlich gewachsene Bodenprobe entnommen werden konnte. Ich habe nur die oberste Schicht der Bodenprobe entnommen und vermute hier die höchste Bakteriendichte.

PERSOONE: In what kind of device have you performed your experiments? There may be a possible influence of the surface of the vial on the development of the bacteria as ZOBELL has stated.

WEYLAND: The sterile sea-water was kept in 250 ml bottles containing 150 cc of water each. After addition of the bacteria these bottles were kept at 22° C and shaken several times a day.

RHEINHEIMER: Konnten jahreszeitliche Unterschiede des Anteils an Süßwasserbakterien festgestellt werden?

WEYLAND: Ich habe noch keine Untersuchungen zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt.

HUECK: Haben Sie bei Ihrem Verdünnungsversuch, bei dem Sie die Vermehrung nach 72 Stunden angeben, nachgeprüft (etwa nach 24 Stunden), ob die Vermehrung ohne vorangehende Absenkung der Bakterienzahl (etwa infolge „Schocks“) stattfindet oder ob die Anzahl stetig zunimmt? Im Falle einer Schockwirkung wäre es denkbar, daß die sehr verdünnte Einsaat (10 Bakt./ml) nahezu völlig zugrunde geht und der Aufbau daher wohl längere Zeit in Anspruch nehmen wird.

WEYLAND: Das könnte theoretisch der Fall sein. Ich habe auch außer der Bestimmung der Einsaatdichte keine Keimzahlbestimmung vor den erwähnten 72 Stunden vorgenommen. Aber in späteren Bestimmungen haben die Bakterienzahlen nicht zugenommen. Unter den Bedingungen dieses Versuchs kam ein unterschiedliches Entwicklungsvermögen recht eindeutig zum Ausdruck.

KAYSER: Wurden Untersuchungen angestellt über den Einfluß von Meerwasser auf die Anzahl der Coli-Bakterien oder pathogenen Bakterien?

WEYLAND: Ich habe die Verbreitung von Coli-Bakterien im Weserästuar noch nicht systematisch untersucht. Aber in Laboratoriumsversuchen, in denen der Einfluß von Meerwasser auf die Vermehrungs- und Lebensfähigkeit von *E. coli* geprüft wurde, konnte ich diesen Organismus in Fließkulturen, in denen sterilfiltriertes natürliches Meerwasser benutzt wurde, im Meerwasser monatelang kultivieren.

MEYERS: What is the effect of particulate material on your final count? Have you examined individual particles to see if you are dealing with a bacterium or a colony of bacteria?

WEYLAND: Das ist nicht geprüft worden. Ich verweise in diesem Zusammenhang auf Untersuchungen von Herrn GUNKEL.

GUNKEL: Seit 5 Jahren führen wir Untersuchungen zur Bakterienverbreitung in der Nordsee durch und bestimmen dabei zwischen Feuerschiff Elbe II – Helgoland – Feuerschiff P 8 auf 13 Stationen einmal monatlich unter anderem die Anzahl von Seewasserbakterien und auch den Anteil an Süßwasserbakterien. Ich glaube, daß zumindest in unserem Gebiet der Einfluß der Häufung von Bakterien auf Partikeln (viele Bakterien bilden eine Kolonie auf der Platte) im Falle des Seewassers überschätzt wird. Versuche mit dem Ultra-Turrax zeigten nur eine geringfügige Erhöhung der Bakterienanzahl nach Zerschlagung derartiger Aggregate bei Seewasserproben. Sehr starke Erhöhung der Koloniezahlen wurden dagegen bei Behandlung von Sedimentproben mit dem Ultra-Turrax erhalten.