

Zur Anwendbarkeit zweier bakteriologischer Verfahren bei der Untersuchung limnischer sandiger Sedimente

Schlitzer produktionsbiologische Studien Nr. 51

**Studies on the applicability of two bacteriological methods
to the investigation of sandy freshwater deposits**
Schlitz studies on productivity no. 51

JÜRGEN MARXSEN

Limnologische Flußstation des Max-Planck-Instituts für Limnologie, Schlitz

Abstract

Two methods were tested for their suitability in quantitative investigations of sediment bacteria in sandy freshwater deposits. After homogenizing the sediment (homogenizer type „Ultra-Turrax TP 18/2 N“) it was possible to determine the number and biomass of bacteria by epifluorescence microscopy. It was impossible to determine the abundance of bacteria by scanning electron microscopy. There were only limited possibilities to investigate the distribution of attached bacterial cells on sand particles.

On Nov. 30, 1979 $2.0 \cdot 10^9$ bacteria per ml sediment and 0.045 mg bacterial biomass (dry weight) per ml were found in the surface sediment of the Breitenbach, a small grassland stream in eastern Hesse. The bacterial biomass corresponded to 1.1 % of the total organic matter in the surface sediment.

Einleitung

Innerhalb des Projektes „Das ökologische Gleichgewicht im Grundwasser sandig-kiesiger Sedimente und seine Störung durch versickernde Verunreinigungen“ (HUSMANN 1972, 1974/75, 1978) wurden seit 1977 Untersuchungen zur Rolle der Bakterien in grundwasserführenden sandig-kiesigen Ablagerungen durchgeführt (MARXSEN 1981, im Druck). Zunächst wurden Wasserproben untersucht, die durch Pumpen aus Peilrohren gewonnen worden waren. Da jedoch davon auszugehen ist, daß der größte Teil der Grundwasserbakterien in sandig-kiesigen Sedimenten zur Aufwuchsflora gehört (mindestens 80 %, nach MATTHESS 1973), wurde nach einer Methode gesucht, mit der auch dieser wesentliche Teil erfaßt werden kann.

Im Hinblick darauf wurden zwei Verfahren überprüft: 1. Mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie hatten WEISE & RHEINHEIMER (1978) quantitative und qualitative Untersuchungen zur bakteriellen Besiedlung von Sandpartikeln aus dem marinen Bereich durchgeführt. 2. Zunächst GUNKEL (1964) bzw. HICKEL & GUNKEL (1968) und später MEYER-REIL et al. (1978) hatten die Menge der Bakterien in sandigen Meeresablagerungen nach der Behandlung der Sedimente mit einem Ultra-Turrax-Dispergiergerät ermittelt.

Beide Verfahren schienen auch zur Untersuchung grundwasserführender Ablagerungen geeignet. Da jedoch diese Schichten nicht leicht zu erreichen sind, wurden die Verfahren zunächst an den Oberflächensedimenten des Breitenbaches erprobt, die eine schnelle und problemlose Probenentnahme ermöglichen.

Methoden

Für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem kleinen, sterilisierten Becherglas Proben von der Oberfläche sandiger Sedimente des Breitenbaches entnommen. Die in feuchtem Zustand ins Labor gebrachten Sandproben wurden dort (ca. 1/2 Stunde nach der Entnahme) in frisch sterilfiltriertem Phosphatpuffer pH 7,0, der 2% Formaldehyd enthielt, fixiert. Ausnahmsweise wurden auch unfixierte Proben unmittelbar nach der Entnahme verarbeitet.

Zur Trocknung der Proben wurde das Verfahren, das KRAMBECK (1978, persönl. Mitt.) bei der Untersuchung von Seeplankton anwendet, übernommen. Mehrere Sandpartikel wurden in einem Filtrationsgerät (22 mm Innendurchmesser) auf ein Polycarbonat-Filter (0,2 µm Porenweite; Fa. Nuclepore Corp., Pleasanton, CA, USA) gegeben und dann über eine Ethanol-Freon 113-Reihe (Ethanol-Wasser-Gemisch: ca. 15, 30, 50, 70, 83, 96, 100% Ethanol; Ethanol-Freon-Gemisch: ca. 50, 75, 90, 100% Freon) entwässert und getrocknet. Zum Vergleich wurden auch Sandpartikel direkt luftgetrocknet.

In diesem Zustand wurden die Proben im Exsikkator von der Flußstation in Schlitz zum MPI für Limnologie in Plön transportiert. Dort wurden die Sandpartikel auf selbstklebende Kupferfolie aufgebracht, die zuvor mit Leitsilber auf den Probentellern befestigt worden war. Anschließend wurden die Präparate mit Gold bedampft (Kathodenzerstäubungsanlage der Fa. Hummer Technics Inc., Alexandria, VA, USA) und mit einem Rasterelektronenmikroskop Stereoscan 600 (Fa. Cambridge Instrument Co., Cambridge, England) untersucht (15 kV Beschleunigungsspannung).

Die von GUNKEL (1964) eingeführte Behandlung von Sedimenten mit einem Ultra-Turrax-Dispergiengerät liefert bei der Koloniezählbestimmung, für die dieses Verfahren ursprünglich entwickelt wurde, deutlich höhere Werte als andere Methoden. In Kombination mit der Auflichtfluoreszenzmikroskopie zur Bestimmung der Bakterienzahlen wurde dieses Verfahren von MEYER-REIL et al. (1978) bei der Untersuchung von Ufersedimenten der Ostsee angewendet.

Die Sedimente wurden für die Erprobung dieses Verfahrens an den gleichen Stellen wie für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen entnommen. Um eine ungestörte Probe zu erhalten, wurde das Sediment mit einer vorn abgeschnittenen Einwegspritze aus Kunststoff, die als Sedimentstecher diente, entnommen. Aus der oberflächenschicht dieser gewonnenen Probe wurde dann 0,5 ml Sediment in ein Reagenzglas mit 15 ml Phosphatpuffer pH 7,0 (partikelfrei filtriert über 0,2 µm Polycarbonatfilter, Fa. Nuclepore) überführt. Mit einem Zusatz von 2% Formaldehyd konnte dann die Probe fixiert werden.

Die Behandlung des Sediments mit dem Ultra-Turrax-Dispergiengerät (Fa. Janke & Kunkel, IKA-Werk, Staufen im Breisgau; Antriebseinheit T 18/10) erfolgt bei Kühlung mit Leitungswasser, um zu starkes Erhitzen zu vermeiden, zunächst für 2 Minuten. Der verwendete Schaft (TP 18/2 N) ist hitzesterilisiert. Nach der Behandlung der Probe wird der Schaft mit partikelfrei filtrierter Pufferlösung pH 7,0 gründlich gespült, dreimal mit 15 ml etwa 20 Sekunden, dann zweimal mit 20 ml etwa 30 und 60 Sekunden. Alle Lösungen werden zusammengegeben (= 100 ml \pm 0,5 ml Sediment). Von dieser Verdünnung werden 10 ml entnommen, die auf 15 ml aufgefüllt und wie vorher mit dem Dispergiengerät behandelt werden, jetzt aber 5 Minuten. Nach der anschließenden Spülung des Schaftes ergeben sich wiederum 100 ml Lösung, die jetzt 0,05 ml Sediment enthalten. Diese Behandlung kann, falls erforderlich, noch mehrfach wiederholt werden. Im allgemeinen reichen 2 bis 3 Stufen aus. Um eine mögliche Verunreinigung der Probe mit Fremdbakterien zu erfassen, wurden Parallelversuche ohne Sediment durchgeführt.

Je nach Erfordernis können dann verschiedene Verdünnungsstufen der Sedimentprobe auf ihren Bakteriengehalt mit einem auflichtfluoreszenzmikroskopischen Verfahren untersucht werden. Einzelheiten dazu wurden bereits mitgeteilt (MARXSEN 1981, im Druck). Daher erfolgt hier nur eine kurze Darstellung.

Nach der Filtration der Proben über Polycarbonat-Filter (0,2 µm Porenweite, Fa. Nuclepore), die schwarz gefärbt sind (24 h mit Irgalanschwarz GBL, 2 g · l⁻¹ in 2%iger Essigsäure), werden die Bakterien mit Acridinorange (0,1 g · l⁻¹ in Phosphatpuffer pH 7,0) gefärbt (3 min). Anschließend wird mit Propanol-(2) (5 min) und Xylol (3 min) entfärbt. Die Filter werden mit einem Zeiss-Photomikroskop (Lampe: HBO 50, Filterkombination: BP 450–490, FT 510, LP 520, Objektiv: Planapochromat 63/1,4 Öl, Vergrößerung: 1260 fach) nach Einbettung eines Ausschnittes in destilliertem Wasser oder Pufferlösung (pH 7,0) untersucht und dabei nach Form und Größe erfaßt. Für jede Formen- und Größenklasse wurde ein mittleres Volumen durch Schätzung ermittelt (s. Tab. 1) und zur Berechnung des gesamten bakteriellen Volumens herangezogen.

Tab. 1: Geschätztes mittleres Volumen der Zellen der unterschiedenen Bakteriengruppen. Die Gruppe der sonstigen Bakterien wurde bei der Berechnung des Gesamtvolumens nicht berücksichtigt; sie spielte quantitativ auch keine bedeutende Rolle.

Stäbchen		Kokken	
Länge µm	Volumen µm ³	Durchmesser µm	Volumen µm ³
< 1	0,05	< 0,5	0,03
1 — 2	0,2	0,5 — 1	0,25
2 — 3	0,3	1 — 2	2,0
3 — 4	0,4	> 2	6,0
> 4	0,6		

Material

Die Sedimentproben wurden aus dem Breitenbach im Bereich der Entnahmestelle Btb II früherer Untersuchungen (MARXSEN 1980 a) entnommen. Diese Untersuchungsstelle befindet sich unmittelbar oberhalb des jetzigen Hauses 2 der Emergenzuntersuchungen (ILLIES 1971, 1978). Der Bach hat dort eine mittlere Breite von etwa 0,8 m und ein Gefälle von ca. 3%. Fast 90% des entnommenen Sediments gehörte zum Korngrößenbereich 0,1 bis 0,63 mm. Es wurde jeweils aus einer makrophytenfreien Sandablagerung etwa 10 cm unterhalb der Wasseroberfläche im Bereich langsam fließenden Wassers entnommen.

Das Sediment für die Erprobung des Aufschlußverfahrens mit anschließender fluoreszenzmikroskopischer Untersuchung wurde am 30. 11. 1979 entnommen, die Sedimente für rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen stammen vom 20. 12. 1979 und vom 16. 2. 1981. Wasserführung (l · s⁻¹) und Wassertemperatur (°C, jeweils ca. 11.00 Uhr) besaßen die folgenden Werte: 30. 11. 1979: 8,4/7, 20. 12. 1979: 45,1/5 und 16. 2. 1981: 48,5/6. Die Werte für die chemischen Parameter bewegten sich im üblichen Rahmen des Breitenbaches (vgl. MARXSEN 1980 a).

Ergebnisse

Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen von Sandpartikeln auf ihre Bakterienbesiedlung hin wurden ohne zufriedenstellende Ergebnisse abgebrochen. Die Oberflächenstruktur der Körner war meist so unregelmäßig, daß eine Identifizierung von Bakterien in diesen Bereichen nur ausnahmsweise möglich war (s. Abb. 1). Auf relativ glatten Oberflächen waren zwar oft Partikel zu erkennen, die als Bakterien angesprochen werden konnten (Abb. 2), jedoch wurden auch sehr häufig Objekte beobachtet, die sich nicht eindeutig identifizieren ließen. Partikel, die direkt aus Wasser luftgetrocknet worden waren, ließen sich nicht unterscheiden von solchen, die einer Behandlung in einer Ethanol-Freon-Reihe unterzogen worden waren. Versuche mit der „Critical-point“-Trocknung, die vielleicht zu besseren Ergebnissen geführt hätte, waren nicht möglich.

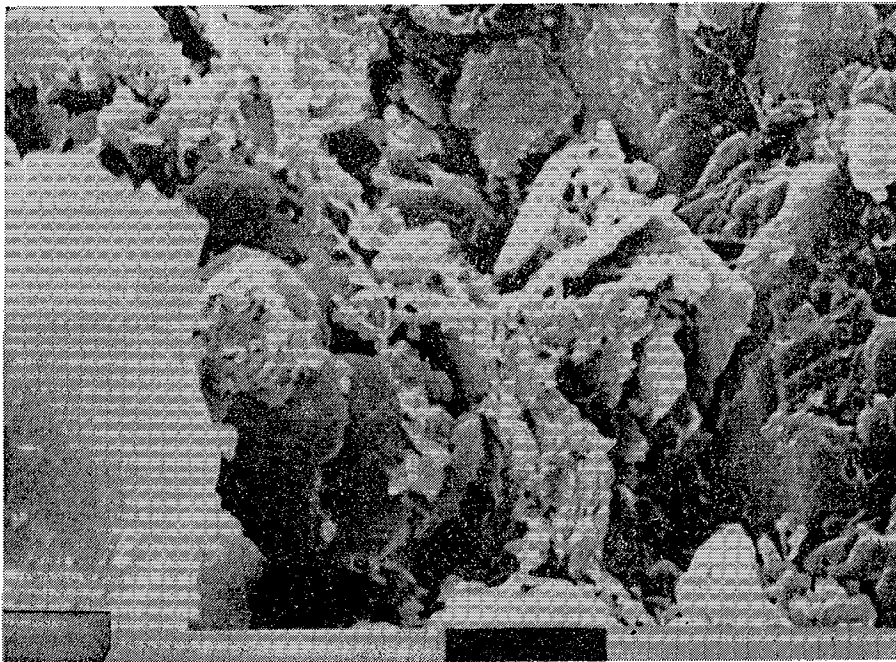


Abb. 1: Oberfläche eines Sedimentkornes aus dem Breitenbach vom 20. 12. 1979. Beispiel für eine Oberfläche, auf der zwar einzelne Bakterien erkennbar sein können, auf der jedoch eine auch nur annähernd repräsentative Erfassung der Bakterien ausgeschlossen ist: Die Zellen sind schlecht erkennbar, z. T. sind sie zwischen Partikeln auf der Kornoberfläche verborgen. Länge des schwarzen Balkens am unteren Rand: 4 μm . Fixierung mit Formaldehyd, Trocknung über Ethanol-Freon-Reihe.

Im übrigen zeigte sich bei den Untersuchungen, daß die Besiedlung der Sedimente mit Diatomeen offensichtlich mit der Rasterelektronenmikroskopie qualitativ und quantitativ gut zu erfassen ist (Abb. 3 und 4).

Wesentlich erfolgreicher waren die Versuche mit dem Ultra-Turrax-Aufschlußverfahren. Schwierigkeiten mit dem Gleichlauf des Gerätes, von denen gelegentlich berichtet wird

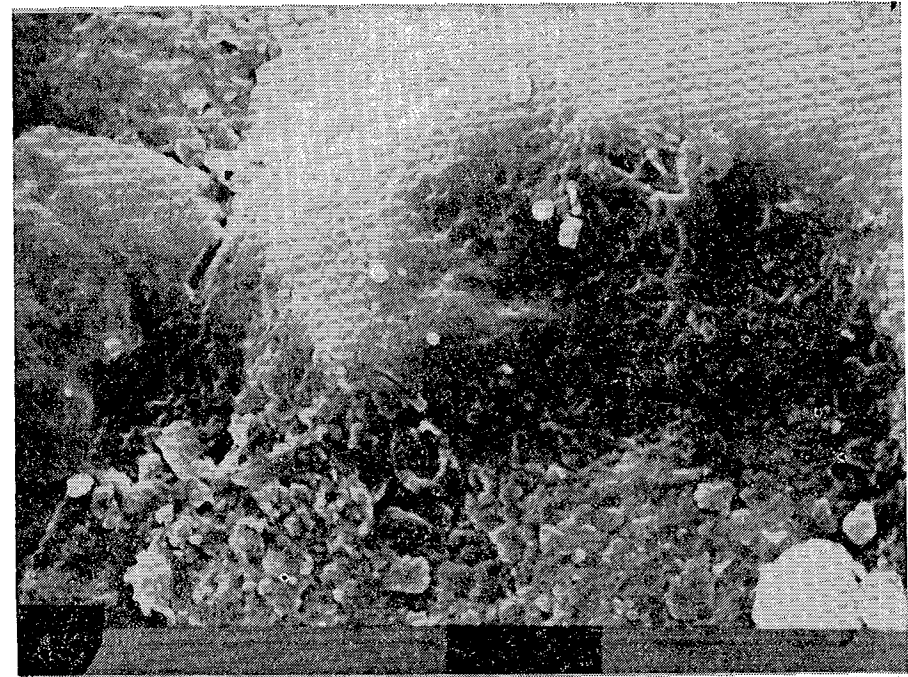


Abb. 2: Oberfläche eines Sandkornes aus dem Breitenbach vom 20. 12. 1979. Auf der relativ glatten Oberfläche sind bakterienförmige Partikel deutlich erkennbar. Jedoch können viele andere, insbesondere kleine Partikel, nicht eindeutig zugeordnet werden. Länge des schwarzen Balkens am unteren Rand: 4 μm . Fixierung mit Formaldehyd, aus Wasser luftgetrocknet.

(z. B. RHEINHEIMER 1977, WEISE & RHEINHEIMER 1979), traten beim Breitenbachsediment nicht auf. Dies dürfte auf die überwiegend fein- und mittelsandigen Bestandteile zurückzuführen sein. Spätere Versuche mit grobkörnigen Sedimenten brachten in der Tat einige Probleme.

Um mögliche Verunreinigungen durch Fremdbakterien zu erfassen, wurden Kontrollversuche ohne Sediment durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß diese Kontaminationen nicht größer waren als bei der normalen Sterilfiltration, wie sie beispielsweise bei der Herstellung des Verdünnungswassers zur Anfertigung der Präparate für die Epifluoreszenztechnik vorgenommen wird. Dennoch empfiehlt sich eine regelmäßige Überprüfung dieser Verunreinigungsquelle. Insbesondere bei bakterienarmen und bei stark verdünnten Sedimentproben sind Korrekturen mit Kontrollproben angebracht.

Die Ergebnisse der verschiedenen Verdünnungsstufen stimmten im allgemeinen gut überein. Das gilt nicht für die Stufe 0, die 0,5 ml Sediment in 100 ml Lösung nach 2 Minuten Ultra-Turrax-Behandlung enthält. Hier treten noch zu viele größere Partikel mit Bakterienbesatz auf, was zu unzuverlässigeren Ergebnissen führt. Ebenso sind natürlich Verdünnungsstufen nicht geeignet, die nur noch wenige Sedimentbakterien enthalten. Dies trifft oft schon für die Stufe - 3 ($0,5 \cdot 10^{-3}$ ml Sediment in 100 ml Lösung) zu.

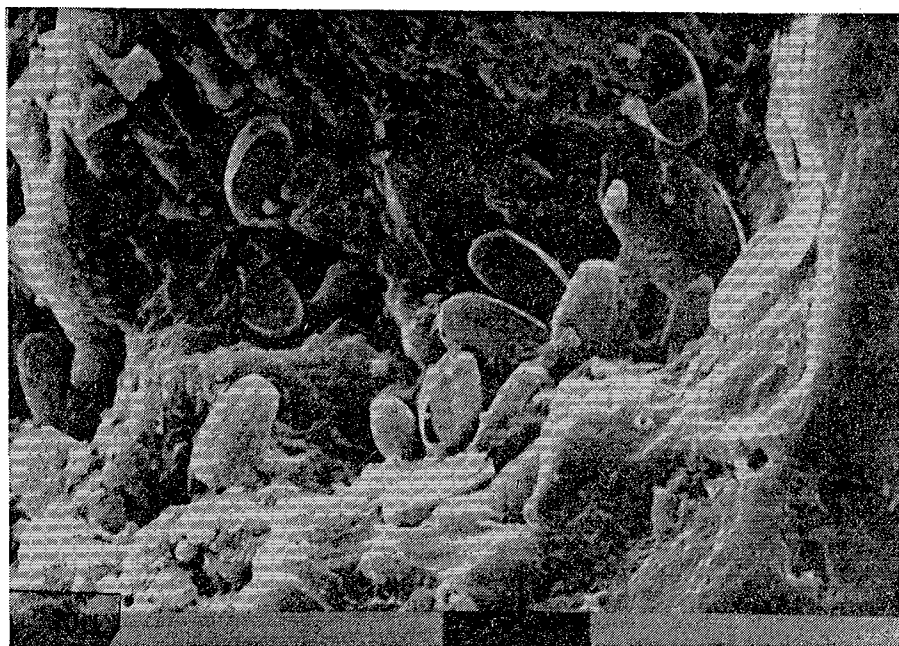


Abb. 3: Oberfläche eines Sandkornes aus der obersten Sedimentschicht des Breitenbaches vom 20. 12. 1979. Zahlreiche Diatomeen befinden sich vor allem in den Vertiefungen des Sandkornes. Erkennbar sind z. T. zerfallene Organismen, wahrscheinlich *Navicula cohnii* (HILSE) GRUNOW. Länge des schwarzen Balkens am unteren Rand: 10 μm . Fixierung mit Formaldehyd, aus Wasser luftgetrocknet.

Tab. 2: Bakterien im Oberflächensediment des Breitenbaches vom 30. 11. 1979.

		Zahl der Bakterien		Bakterienvolumen	
		$10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$	Anteil %	$10^6 \cdot \mu\text{m}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$	Anteil %
Gesamtzahl		1986	100,0	226	100,0
Stäbchen	< 1 μm	766	38,6	38	16,9
Stäbchen	1 – 2 μm	321	16,1	64	28,4
Stäbchen	2 – 3 μm	13	0,7	4	1,8
Stäbchen	3 – 4 μm	40	2,0	16	7,1
Stäbchen	> 4 μm	9	0,4	5	2,4
Kokken	< 0,5 μm	566	28,5	17	7,5
Kokken	0,5 – 1 μm	254	12,8	63	28,1
Kokken	1 – 2 μm	9	0,4	18	7,9
Kokken	> 2 μm	0	0	0	0
Sonstige		9	0,4	—	—

Die Ergebnisse der Breitenbachsediment-Untersuchung vom 30. 11. 1979 sind aus Tab. 2 zu entnehmen. Aus dem Biovolumen ergeben sich bei Verwendung der Umrechnungs-

faktoren von TROITSKY & SOROKIN (1968) (1 mm^3 Biovolumen $\hat{=}$ 1 mg Feuchsubstanz $\hat{=}$ 0,2 mg Trockensubstanz $\hat{=}$ 0,1 mg Kohlenstoff) die Werte 0,045 mg Trockensubstanz oder 0,023 mg Kohlenstoff pro ml Sediment.

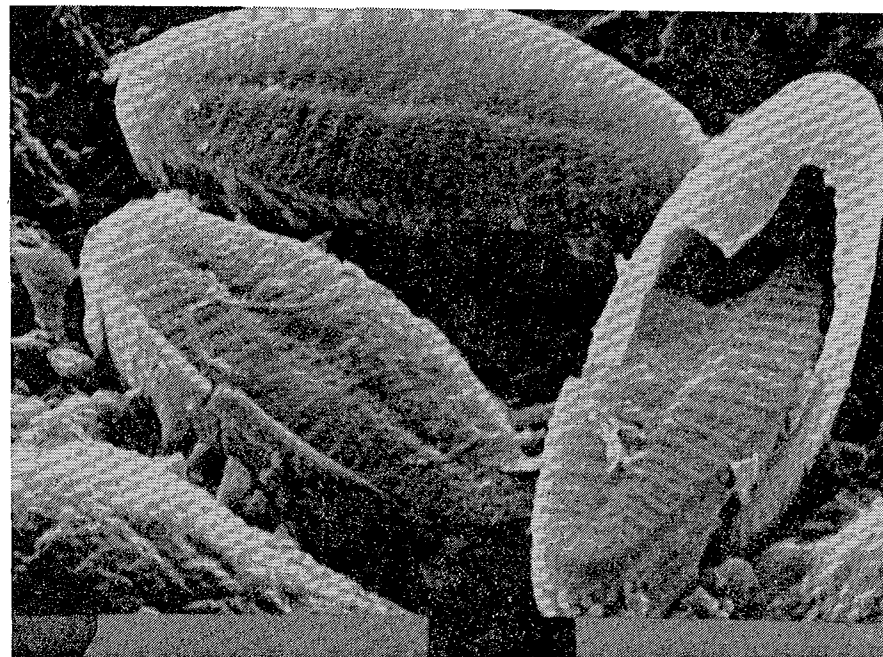


Abb. 4: Oberfläche eines Sandkornes, Herkunft und Behandlung wie bei Abb. 3. Die drei z. T. zerbrochenen Schalen von *Achnanthes lanceolata* BREB. sind von zahlreichen Bakterien besetzt. Länge des schwarzen Balkens am unteren Rand: 4 μm .

Schlußfolgerungen

Zur quantitativen Erfassung der bakteriellen Besiedlung sandiger Sedimente erwies sich das hier etwas abgeänderte Ultra-Turrax-Aufschlußverfahren nach GUNKEL (1964) als geeignet. Es ist allerdings relativ zeitaufwendig. Leider gibt die Methode keinen Aufschluß über die Verteilung der Bakterien auf den Sedimentpartikeln. Dieser Aspekt sollte mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie untersucht werden. Die Ergebnisse waren jedoch unbefriedigend, was methodische Gründe haben kann oder möglicherweise mit der Beschaffenheit der Sedimente im Breitenbach zusammenhängt, die von den anderen, mit größerem Erfolg untersuchten Sanden (WEISE & REINHEIMER 1978) abweichen.

Im Breitenbach-Sediment vom 30. 11. 1979 (Tab. 2) wurden $1,99 \cdot 10^9$ Bakterien pro ml Sediment mit einem Biovolumen von $0,226 \text{ mm}^3$ gefunden, entsprechend einem mittleren Bakterienvolumen von $0,11 \mu\text{m}^3$. Die Bakterienzahl der Sedimentoberfläche lag damit etwa um den Faktor 10^3 bis 10^4 höher als im darüberfließenden Wasserkörper (MARXSEN 1980 b).

Die Untersuchung des Breitenbachsedimentes vom 20. 12. 1979 ergab für 1 ml Sediment 1,59 g Trockensubstanz und 4,02 mg Glühverlust (550°C , 2 h). Nimmt man danach 4,02

mg pro ml Sediment als organische Trockensubstanz an, so ergibt sich aus dem Vergleich mit der bakteriellen Trockensubstanz von 0,045 mg pro ml Sediment ein Anteil von ca. 1,1 % bakterieller Biomasse an der gesamten organischen Substanz. Dieser Wert kann natürlich nicht mehr als die ungefähre Größenordnung zu dieser Zeit angeben, zumal die Bestimmung des Glühverlustes an einer später entnommenen Probe vorgenommen wurde. Allerdings ist die Dynamik dieses Parameters zu dieser Jahreszeit im Breitenbach nicht allzu groß (PIEPER 1978).

Im übrigen erhält man durch Umrechnung der Werte vom 22. 12. 1974, die in der zuletzt zitierten Arbeit mitgeteilt werden, für das Sediment des Breitenbaches bis zur Tiefe von 5 cm für den Krebs *Gammarus fossarum* KOCH eine mittlere Biomasse von 0,036 mg Trockensubstanz pro ml Sediment. Sie liegt damit etwa in der gleichen Größenordnung wie die der Bakterien.

MEYER-REIL et al. (1978) erhielten für sandige Ufersedimente der Ostsee Bakterienzahlen von $0,3 \cdot 10^9$ bis $2,3 \cdot 10^9$, im Mittel $1,1 \cdot 10^9$ pro ml Sediment und für die bakterielle Biomasse (Trockensubstanz) Werte von 0,009 bis 0,12 mg, im Mittel 0,050 mg pro ml Sediment (Werte z. T. umgerechnet). Die für den Breitenbach ermittelte Bakterienzahl liegt damit im oberen Bereich der Ostseewerte, die Biomasse im Breitenbach dagegen etwas unter dem Mittel der Biomasse der marinen Sedimente. Aus den Daten ergibt sich auch, daß die Sedimentbakterien der untersuchten Probe aus dem Breitenbach im Durchschnitt deutlich kleiner sind als die aus der Ostsee.

Zusammenfassung

An sandigen Ablagerungen im Breitenbach wurden 2 Methoden auf ihre Brauchbarkeit zur quantitativen Erfassung der Sedimentbakterienflora geprüft. Das Verfahren, bei dem ein Ultra-Turrax-Dispergiergerät zum Aufschließen des sandigen Substrates unter weitgehender Schonung der Bakterienzellen angewendet wird, ermöglichte in Kombination mit der Auflichtfluoreszenzmikroskopie, bei allerdings erheblichem Arbeitsaufwand, eine recht zuverlässige Ermittlung von Bakterienzahl und -biomasse. Mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie gelang keine quantitative Erfassung der bakteriellen Besiedlung; die Analyse der Verteilung der Bakterien auf den Sedimentpartikeln war nur mit Einschränkungen möglich.

Im Oberflächensediment vom 30. 11. 1979 aus dem Breitenbach wurden $2,0 \cdot 10^9$ Bakterien pro ml Sediment ermittelt entsprechend 0,045 mg bakterieller Trockensubstanz pro ml Sediment, die damit einen Anteil von ca. 1,1 % an der gesamten organischen Substanz des Oberflächensedimentes erreichte.

Danksagung

Die Untersuchungen wurden durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft an Dr. S. Husmann, Schlitz, finanziell gefördert. Mein Dank gilt sowohl der DFG als auch besonders Dr. S. Husmann für seine vielfältige Förderung der Untersuchungen. Ich danke auch Prof. Dr. J. Overbeck, Direktor des Max-Planck-Instituts für Limnologie in Plön, für seine Unterstützung. Für die Hilfe bei den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen sei Dr. Rita Oberhäuser, MPI für Limnologie, Plön, für die Bestimmung der Algen auf den REM-Fotos Dr. Ute Müller, Botanisches Institut der Universität Hamburg, herzlich gedankt.

Literatur

GUNKEL, W. (1964): Die Verwendung des Ultra-Turrax zur Aufteilung von Bakterienaggregaten in marinen Proben. — Helgoländer wiss. Meeresunters. **11**, p. 287–295

- HICKEL, W. u. GUNKEL, W. (1968): Untersuchungen über die Häufigkeit der Bakterien in der obersten Sedimentschicht der Deutschen Bucht in Beziehung zu den Substrateigenschaften. — Helgoländer wiss. Meeresunters. **18**, p. 213–231
- HUSMANN, S. (1972): Das ökologische Gleichgewicht im Grundwasser sandig-kiesiger Ablagerungen und seine Störung durch versickernde Verunreinigungen; mit besonderer Berücksichtigung vertikaler Infiltrationsvorgänge. — Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie (Gießen 1972) Band **1**, p. 89–96
- , — (1974/75): Versuche zur Erfassung der vertikalen Verteilung von Organismen und chemischen Substanzen im Grundwasser von Talauen und Terrassen; Methoden und erste Befunde. — Int. J. Speleol. **6**, p. 271–302
- , — (1978): Die Bedeutung der Grundwasserfauna für biologische Reinigungsvorgänge im Interstitial von Lockergesteinen. — gwf-wasser/abwasser **119**, p. 293–302
- ILLIES, J. (1971): Emergenz 1969 im Breitenbach. Schlitzer Produktionsbiologische Studien (1). — Arch. Hydrobiol. **69**, p. 14–69
- , — (1978): Vergleichende Emergenzmessung im Breitenbach 1969–1976 (Ins.: Ephemeroptera, Trichoptera, Plecoptera). Schlitzer Produktionsbiologische Studien (25). — Arch. Hydrobiol. **82**, p. 432–448
- KRAMBECK, C. (1978): Changes in planktonic microbial populations — an analysis by scanning electron microscopy. — Verh. Internat. Verein. Limnol. **20**, p. 2255–2259
- MARXSEN, J. (1980 a): Untersuchungen zur Ökologie der Bakterien in der fließenden Welle von Bächen. I. Chemismus, Primärproduktion, CO₂-Dunkelfixierung und Eintrag von partikulärem organischen Material. Schlitzer Produktionsbiologische Studien (23–1). — Arch. Hydrobiol./Suppl. **57**, p. 461–533
- , — (1980 b): Untersuchungen zur Ökologie der Bakterien in der fließenden Welle von Bächen. II. Die Zahl der Bakterien im Jahreslauf. Schlitzer Produktionsbiologische Studien (23–2). — Arch. Hydrobiol./Suppl. **58**, p. 26–55.
- , — (1981): Bacterial biomass and bacterial uptake of glucose in polluted and unpolluted groundwater of sandy and gravelly deposits. — Verh. Internat. Verein. Limnol. **21**, p. 1371–1375.
- , — (im Druck): Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung der Bakterienflora und Bestimmung ihrer heterotrophen Aktivität in organisch belastetem und unbelastetem Grundwasser sandig-kiesiger Ablagerungen. — Int. J. Speleol. **11**.
- MATTHESS, G. (1973): Die Beschaffenheit des Grundwassers. — Gebrüder Bornträger, Berlin, Stuttgart
- MEYER-REIL, L.-A., DAWSON, R., LIEBEZEIT, G. u. TIEDGE, H. (1978): Fluctuations and interactions of bacterial activity in sandy beach sediments and overlying waters. — Mar Biol **48**, p. 161–171
- PIEPER, H.-G. (1978): Ökophysiologische und produktionsbiologische Untersuchungen an Jugendstadien von *Gammarus fossarum* KOCH 1835. Schlitzer Produktionsbiologische Studien (31). — Arch. Hydrobiol./Suppl. **54**, p. 257–327
- RHEINHEIMER, G. (1977): Bakteriologisch-ökologische Untersuchungen in Sandstränden an Nord- und Ostsee. — Bot. Mar. **20**, p. 385–400
- STRASKRABOVA, V. u. SOROKIN, Y. I. (1972): Determination of cell size of microorganisms for the calculation of biomass. — In: SOROKIN, Y. I. u. KADOTA, H., Techniques for the assessment of microbial production and decomposition in fresh waters, London, p. 48–50
- TROITSKY, A. S. u. SOROKIN, Y. I. (1967): On the methods of the calculation of the bacterial biomass in water bodies. — Trans. Inst. Biol. Inland Waters, Acad. Sci. USSR **19**, p. 85–90. Zitiert nach STRASKRABOVA u. SOROKIN (1972)
- WEISE, W. u. RHEINHEIMER, G. (1978): Scanning electron microscopy and epifluorescence investigation of bacterial colonization of marine sand sediments. — Microb. Ecol. **4**, p. 175–188
- , — (1979): Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Bakterienbesiedlung mariner Sandsedimente. — Bot. Mar. **22**, p. 99–106

Anschrift des Verfassers:

Dr. JÜRGEN MARXSEN, Limnologische Flußstation des Max-Planck-Institutes für Limnologie, D 6407 Schlitz